

Proyecto Fin de Carrera

Caracterización físico – química de familias seleccionadas para baja pungencia en la Cebolla Fuentes de Ebro

Autor

María Pilar Francés Salvador

Directores

Dra. Ester Sales Clemente

Dra. Cristina Mallor Giménez

Escuela Politécnica Superior de Huesca

ÍNDICE

INDICE	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE TABLAS	4
1 INTRODUCCIÓN	6
1.1 La cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	6
1.1.1 Taxonomía y botánica	6
1.1.2 El cultivo de la cebolla	9
1.1.3 Tipos y variedades de cebollas	12
1.2 El carácter picante de la cebolla	13
1.2.1 Bioquímica del aroma y del sabor de la cebolla	13
1.2.3 Factores que influyen en el sabor de la cebolla	15
1.2.4 Métodos de evaluación de la pungencia	16
1.3 Mejora genética de la cebolla	17
1.3.1 Sistema reproductivo, vigor híbrido y androesterilidad	18
1.3.2 Mejora genética de la calidad de la cebolla	22
1.3.3 Métodos de selección y mejora	26
1.4 La cebolla 'Fuentes de Ebro'	28
1.4.1 Origen e Historia	28
1.4.2 Descripción	28
2 ANTECEDENTES	30
3 OBJETIVOS	32
4 MATERIAL Y MÉTODOS	33
4.1 Material vegetal	33
4.2 Descripción del ensayo	34
4.3 Parámetros determinados en los bulbos	35

4.3.1 Diámetro máximo y altura	36
4.3.2 Índice de ahusamiento	36
4.3.3 Contenido en sólidos solubles	36
4.3.4 Determinación de la firmeza	36
4.3.5 Cuantificación del picor	36
5 RESULTADOS	39
5.1 Caracterización morfológica de los bulbos obtenidos	40
5.1.1 Peso medio	40
5.1.2 Forma	42
5.2 Caracterización química de los bulbos	43
5.2.1 Pungencia	43
5.2.2 Contenido en sólidos solubles	44
5.3 Otros parámetros de calidad	46
5.3.1 Firmeza	46
5.3.2 Puntos germinativos	47
5.4 Correlaciones	48
5.5 Respuesta a la selección y heredabilidad de la pungencia	49
6 DISCUSIÓN	50
7 CONCLUSIONES	54
8 REFERENCIAS	56
ANEXO I	63

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Diferentes estados fenológicos de la cebolla	7
FIGURA 2: Detalle de una umbela de cebolla	8
FIGURA 3: Centros de origen y diversificación de la cebolla	10
FIGURA 4: Semilleros de material vegetal seleccionado de cebolla Fuentes de Ebro en las instalaciones del CITA.	
FIGURA 5: Realización del trasplante de material seleccionado de Cebolla Fuentes o	de Ebro a
la parcela de ensayos ubicada en Fuentes de Ebro.	34

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Sulfóxidos de cisteína de la cebolla (Jones y col., 2004)
TABLA 2: Rendimiento (kg) y número de bulbos obtenidos para las 12 familias de medios hermanos seleccionadas por su mejor calidad en material vegetal de cebolla Fuentes de Ebro. Las plantas se cultivaron en parcelas experimentales situadas en dos localidades de la provincia de Zaragoza en 2009. Los datos son media y desviación típica de cuatro repeticiones. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no difirieron significativamente de acuerdo al test de Tukey-B.
TABLA 3: Peso medio de las cebollas producidas por plantas de 12 familillas de medios
hermanos seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
TABLA 4: Forma de las cebollas de 12 familillas de medios hermanos seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación
típica de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada
parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo
al test de Tukey-B
TABLA 5: Contenido en ácido pirúvico de las cebollas de 12 familillas de medios hermanos
TABLA 5: Contenido en ácido pirúvico de las cebollas de 12 familillas de medios hermanos seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son
·
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico expresado en µmoles de ácido purúvico por gramo de tejido fresco, de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B

20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron
diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B
TABLA 8: Puntos germinativos de cebolla Fuentes de Ebro que se cultivaron en dos parcelas
en dos localidades de la provincia de Zaragoza. Los datos son media y desviación estándar de
cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela,
valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de
Tukey-B
TABLA 9: Coeficientes de correlación de Pearson

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- La cebolla (*Allium cepa* L.)

1.1.1.- Taxonomía y botánica

La cebolla es una especie monocotiledónea perteneciente a la familia de las Aliáceas (Stearn, 1992). No obstante, debido a que anteriormente su género, *Allium*, ha sido incluido dentro de la familia de las Liliáceas (Brewster, 1994), se puede encontrar clasificada, según autores, en cualquiera de las dos familias citadas. Según el XVI Congreso Internacional de Botánica celebrado en St. Louis en 1999 y su posterior publicación en el "International Code of Botanical Nomenclature" en el año 2000, la cebolla quedaría encuadrada taxonómicamente con la siguiente estructura jerárquica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Subdivisión: Magnoliophytina

Clase: Liliopsida

Subclase: Liliidae

Superorden: Lilianae

Orden: Amaryllidales

Familia: Alliaceae

Subfamilia: Allioideae

Tribu: Allieae

Subtribu: Allinae

Género: Allium

Especie: Allium cepa L.

El género *Allium* comprende más de 750 especies (Stearn, 1992) herbáceas, perennes, glabras o, a veces, parcialmente pelosas, casi siempre olorosas. Se caracteriza por poseer un órgano de reserva, generalmente en forma de bulbo y un tallo escaposo con hojas basales o algunas caulinares envainadoras. La inflorescencia es umbeliforme, con flores hermafroditas, trímeras, que presentan un perianto con 6 tépalos blancos, verdosos, amarillos, rosados o purpúreos. El androceo presenta 6 estambres, mientras que el gineceo contiene 3 carpelos soldados en un ovario súpero. El fruto en cápsula contiene 1 o 2 (4) semillas angulosas y negras por lóculo. Todas las especies del género contienen compuestos sulfurados derivados del sulfuro

de alilo, como la aliína, sulfuro derivado de la cisteína que se transforma en alicina, con propiedades potencialmente antibacterianas y antifúngicas, entre otras. Del género *Allium* se cultivan varias especies de gran importancia económica como el ajo, el puerro, la escalonia, el cebollino o la cebolla (Talavera y col., 2013).

La cebolla, *Allium cepa* L., es una planta de ciclo bienal (Figura 1), cultivándose como anual para obtener el órgano de aprovechamiento: el bulbo. Si el objetivo es obtener semilla el cultivo se mantendrá durante los dos años de su ciclo natural.

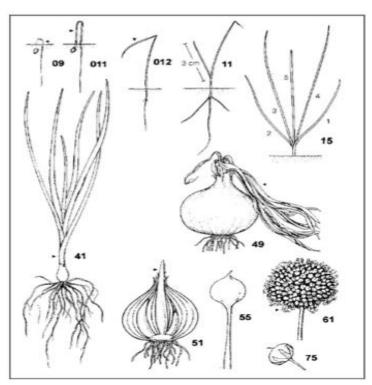


Figura 1. Diferentes estados fenológicos de la cebolla (codificación BBCH): 09, emergencia; 011, "gancho"; 012, "látigo"; 11 y 15, desarrollo de las hojas; 41, engrosamiento o alargamiento de la base de la hoja; 49, hojas muertas, dormancia, bulbo seco; 51, inicio alargamiento del bulbo; 55, longitud final del tallo floral, espata cerrada; 61, inicio floración; 75, 50% de las cápsulas de las flores cerradas (Feller y col., 1995).

Las plantas de cebolla tienen un sistema radicular superficial, formado por un gran número de raíces fasciculadas blancas de grosor entre 0,5 y 2 mm. Por su parte, el tallo es subterráneo, con forma de disco y de longitud corta. Está situado en la base del bulbo, y es el órgano en donde se generan las hojas y los primordios radicales que darán lugar al sistema radicular adventicio de la planta.

Las hojas de la cebolla están constituidas por dos partes: la basal o vaina envolvente y la parte superior, redondeada y hueca, que en realidad se trata de un peciolo ensanchado ya que no hay un limbo desarrollado. Son de color verde azuladas, están recubiertas por una cutícula de cera y se disponen con inserción opuesta. Cada nueva hoja parte de un orificio situado en el punto de unión de la vaina y limbo de la hoja anterior, de forma que la nueva hoja está envuelta por la hoja inmediatamente exterior. Las catáfilas, túnicas o, comúnmente, capas, son hojas modificadas cuyo conjunto da origen a una de las partes del bulbo.

Las inflorescencias, que como se ha mencionado son en forma de umbela (Figura 2), se sustentan sobre un tallo hueco llamado escapo floral, que se desarrolla en el segundo año del ciclo vegetativo y surge como elongación del entrenudo entre la última hoja y la bráctea que protege a la umbela. Dicha umbela está compuesta por un número de flores blancas con rayas verdes que varía entre 50 y 2000. Cada flor se compone de seis tépalos, seis estambres y un ovario con tres lóculos, albergando cada uno de ellos a dos óvulos. Se reproducen principalmente mediante polinización cruzada entomófila, aunque también se puede dar la autopolinización debido a que no todas las flores se abren al mismo tiempo, por lo que la polinización puede darse entre flores de la misma umbela (autogamia) o de otras umbelas (alogamia). Las semillas producidas son negras, con forma triangular e irregular en sus bordes. Cada flor genera unas 6 semillas de 3 ó 4 mg cada una, muy sensibles a la humedad del entorno.



Figura 2: Detalle de una umbela de cebolla. Se observan flores en diferentes estados de apertura.

El bulbo, órgano de aprovechamiento de la especie, tiene la misión de acumular reservas (carbohidratos y otros compuestos) durante el primer año del ciclo. Los bulbos múltiples o hijuelos son yemas laterales que originan catáfilas que envuelven las hojas de rebrote, formando centros secundarios de crecimiento.

La estructura de los bulbos está conformada del exterior a interior, por de una a tres catáfilas secas cuya función es protegerlo, cuatro catáfilas (habitualmente) engrosadas y, por último, de tres a cuatro catáfilas engrosadas, pero sin hoja de lámina, las cuales envuelven cuatro o cinco hojas de rebrote (Brewster, 1994). La formación del bulbo depende en gran medida de la duración de día, ya que, según las condiciones del fotoperiodo, se generan los compuestos de reserva. Por este motivo, las cebollas se clasifican en tres grupos (Goldman y Schroeck, 2001):

- Variedades de día corto: cultivadas en latitudes sur 35° con fotoperiodos entre 12 y 14 horas aproximadamente.
- Variedades de día intermedio: para cultivos de siembra otoñal y recolección a final de primavera e inicio de verano, en latitudes medias entre 32° y 38°.
- Variedades de día largo: para cultivos con siembra en primavera y cosecha a final de verano o principio de otoño, en latitudes norte superiores a 38°.

Si el fotoperiodo es demasiado corto para las necesidades de la variedad, no se da la formación del bulbo, únicamente raíces y hojas. Para un fotoperiodo dado, la formación del bulbo se adelanta conforme aumentan las temperaturas. Por otro lado, también las temperaturas bajas inducen la floración prematura. Además de estos dos factores, el desarrollo del bulbo se ve condicionado por el propio tamaño de la planta, la densidad de plantación, algunos mecanismos hormonales en los que intervienen auxinas, citoquininas y etileno, la intensidad lumínica, la disponibilidad de nitrógeno y el tipo varietal (Maroto, 2002).

1.1.2.- El cultivo de la cebolla

La producción mundial de cebollas alcanzó en 2016 casi 85 billones de t, principalmente en países como China, India, Estados Unidos, Irán y Rusia. En España la cebolla es la segunda hortaliza en superficie cultivada, después del tomate. Se cultivan un total de 24.969 ha de cebolla, tanto en secano como en regadío. La producción total en nuestro país en 2016 fue de 1.384.098 t. En Aragón se cultivan 1.601 has de cebolla, de las cuales solo 15 son en secano, con una producción de 118.110 t (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Anuario de Estadística Agraria, 2016).

El cultivo de la cebolla (*Allium cepa* L.) es conocido por el hombre desde hace varios miles de años, siendo ésta una hortaliza muy apreciada por los antiguos pobladores de las riberas mediterráneas, en especial por las poblaciones egipcia y caldea, que atribuían a esta hortaliza, además de sus características alimenticias, propiedades curativas e incluso mágicas (Roberts, 2001). En la actualidad la ciencia ha confirmado la creencia tradicional de que los compuestos organosulfurados responsables del sabor de estas hortalizas son además beneficiosos para la salud, puesto que reducen la coagulación sanguínea y tienen propiedades antimicrobianas (ver referencias en McCallum y col., 2007).

A pesar de que no se ha localizado la planta silvestre, un gran número de autores atribuyen como centro primario (donde se inició el proceso de domesticación, selección y mejora de la especie) en el III Centro Vavilov Indo-Afganistano de Asia Central (Vavilov, 1926), donde todavía existen las cinco especies silvestres de las que, probablemente, descienda de alguna de ellas la cebolla actual: *Allium oschaninii, A. praemixtum, A. psekemense, A. vavilovii* y *A. galanthum* (Roberts, 2001). Así mismo, Vavilov determinó como centros secundarios de diversificación el IV Centro de Oriente Medio y el V Centro Mediterráneo, donde se originaron las cebollas de bulbo grande ampliamente cultivadas en la actualidad.

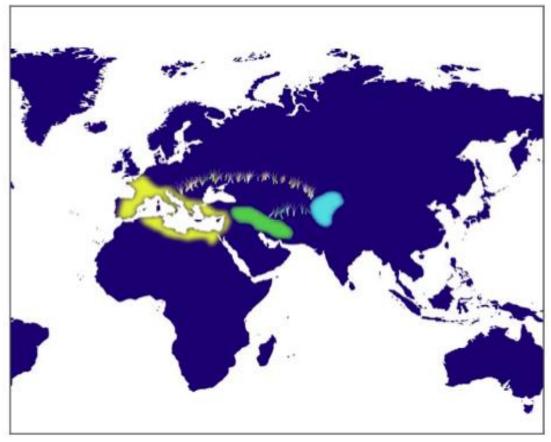


Figura 3. Centros de origen y diversificación de la cebolla: en azul III Centro Vavilov; en verde, IV Centro Vavilov; en amarillo, V Centro Vavilov.

Se han encontrado en la antigua ciudad de Jericó (Palestina) vestigios de bulbos que datan desde hace más de 7000 años de antigüedad, demostrando que la cebolla es una de las plantas más antiguas cultivada por el hombre, concretamente por la civilización del Antiguo Egipto donde, desde el año 3200 a.C., el consumo de esta especie se hace patente en las decoraciones de las tumbas de los faraones. Hacia el año 200 a.C. el pueblo griego de los Minoicos favoreció su dispersión por el Mediterráneo oriental y, desde ahí, a la zona occidental y al este de la India.

Ya en la Edad Media, la cebolla era una hortaliza muy común en Europa, tanto por su valor alimenticio como medicinal (esta última propiedad ya era ampliamente conocida desde las civilizaciones griega y romana, entre el 430 a.C. y el 79 d.C.). En la época medieval, la cebolla experimentó distintas selecciones según el tamaño del bulbo, siendo los de calibre más grande los que dieron origen a las variedades modernas. A partir del descubrimiento de América en el siglo XV, los españoles introdujeron el cultivo y contribuyendo a su expansión posterior en todo el continente americano. A día de hoy, la cebolla se distribuye primordialmente en las zonas templadas del hemisferio norte, salvo algunas variedades del hemisferio sur o de zonas tropicales (Talavera y col., 2013).

En la actualidad, estudios científicos confirman que el consumo de cebolla y de otras especies del género Allium disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares debido a la presencia de compuestos organosulfurados con propiedades antioxidantes como la quercetina, reduciendo la coagulación sanguínea e impidiendo la formación de trombos (Rodrigues y col., 2003; Block, 1985; Rose y col., 2005). Por otra parte, se ha demostrado que dichos compuestos tienen efecto protector frente a enfermedades cancerígenas que afectan al esófago, estómago, próstata y cerebro (Bianchini y Vainio, 2001; Rose y col., 2005; Gao y col., 1999; Hsing y col., 2002; Hu y col., 1999). También recientes estudios confirman que la alicina volátil y otros tiosulfinatos, que dan pungencia en las plantas del género Allium, son agentes antimicrobianos. Los tiosulfinatos pueden descomponerse para formar compuestos de azufre adicionales, incluyendo dialil, metil alilo y dipropil mono-, di-, tri-tetra-sulfuros sin perder actividad antimicrobiana. Además de estos compuestos, la cebolla y el ajo se caracterizan por tener compuestos polares de origen esteroidal y fenólico, a menudo glicosilados, que no son picantes y son más estables durante la cocción, y poseen también actividad antimicrobiana. Recientemente ha habido una creciente atención científica hacia tales compuestos, fundamentalmente los flavonoides como la quercetina el kaempferol, dada su participación en las propiedades beneficiosas de los Allium para la salud (Segovia y Almajano, 2012), e incluso por su posible aplicación como aditivos conservantes en alimentos (Santas y col., 2010). Finalmente, varios compuestos orgánicos nitrogenados, como alcaloides y polipéptidos, también se han aislado de estas plantas y han mostrado actividad antimicrobiana (Lanzotti y col., 2013).

1.1.3.- Tipos y variedades de cebollas

La cebolla es un cultivo muy extendido a nivel mundial y esto es debido a que existe un gran número de cultivares adaptados a las diferentes condiciones ambientales que influyen en su vegetación. Estos cultivares muestran además una gran variabilidad en diferentes características de importancia hortícola. En la clasificación agronómica de las variedades de cebolla se tiene en cuenta una serie de características morfológicas como son la abundancia de follaje y la forma, dimensiones, color y consistencia del bulbo. También se consideran otros aspectos como son la precocidad de la formación del bulbo, necesidades de fotoperiodo para la bulbificación, resistencia a la subida a flor prematura (accidente que deprecia comercialmente el producto), aptitud para la conservación, sabor del bulbo y contenido en materia seca (Maroto, 2002).

Según el uso culinario español se distinguen varios tipos de cebolla. Para cocinar se prefieren variedades de bulbo grande, con sabor variable de suave a fuerte y con color también variable de blanco a rojo. Las cebollas más blancas suelen consumirse en ensalada, además de ser utilizadas para la obtención de cebolla deshidratada que se utiliza en la industria agroalimentaria (los bulbos destinados a deshidratación tienen un mayor contenido en materia seca). Entre una y otra variedad la presencia de esta hortaliza en los mercados a lo largo de todo el año está garantizada, aunque la roja se cultiva en áreas restringidas. Para ensalada suelen emplearse las conocidas cebolletas de manojo o cebollas blancas dulces, de sabor dulce y de gran demanda en la actualidad. Para encurtir se usan las cebollas blancas pequeñas que a veces se colorean de rosa (Carravedo y Mallor, 2007).

Como ya se ha indicado, la formación del bulbo se debe a una interacción entre la temperatura y la duración del día, por lo que la longitud del día exacta requerida varía con las condiciones ambientales y con la latitud. Las variedades de día corto se cultivan en latitudes con fotoperiodos de 12 - 14 horas. Las de día intermedio se utilizan como cultivos de siembra otoñal en las latitudes medias, donde se cosechan a finales de primavera y principios de verano. Las variedades de día largo se siembran típicamente durante la primavera en las latitudes norte y se cosechan a finales de verano o principios de otoño. La longitud del día ideal para la formación del bulbo se da durante la mitad del verano, obteniendo así un bulbo de tamaño adecuado antes de que empiecen las heladas. Estas características de fotoperiodo repercuten en la distribución geográfica, de forma que los cultivares de día corto se adaptan en general a latitudes al sur de los 35°, las variedades intermedias suelen adaptarse a latitudes comprendidas entre 32° y 38° y las de día largo se aconsejan para áreas cuya latitud es superior a los 38°.

Las principales variedades de cultivo en España pertenecen a los tipos Babosa, Valenciana, Liria, Grano de Oro y Recas, variedades típicamente levantinas cuyo cultivo se ha extendido debido a las buenas características particulares de cada una de ellas. La cebolla tipo Babosa es una variedad de consistencia tierna, dentro de la que se incluyen distintas características como sabor dulce, piel amarillenta y carne blanca. La cebolla tipo Grano de Oro es de piel amarillenta y en algunos casos rojiza, siendo su carne blanca y dura. La variedad tipo Liria es de color amarillento y sabor dulce. La variedad Recas es esférica, amarillenta-cobriza, con cuello delgado, gran consistencia y buena conservación.

La mayor parte de la superficie dedicada a este cultivo en Aragón está ocupada por las variedades Grano y Babosa. En menor medida se cultivan variedades autóctonas aragonesas como la cebolla de Pintano, la cebolla de Torres de Alcanadre, Albal de verano y la cebolla Zaragozana (Carravedo y Mallor, 2007). Entre las variedades aragonesas destaca, con una superficie cultivada de 150 hectáreas aproximadamente la variedad Cebolla Fuentes de Ebro, cuya zona de producción se extiende entre los ríos Ginel y Ebro y corresponde a las comarcas de Zaragoza y Ribera Baja de Ebro. La Cebolla Fuentes de Ebro es un referente entre las hortalizas de la zona por sus especiales características. Tiene el tallo grueso, forma globosa redondeada por la raíz y ligeramente alargada hacia el tallo, coloración externa blanco-paja y las túnicas blancas y crujientes. Pero lo que caracteriza principalmente a la Cebolla Fuentes de Ebro, que es objeto del presente trabajo, es su escaso picor. El consumidor valora también muy positivamente su suculencia y sabor, que no deja retrogusto desagradable en la boca. Por estas características se suele consumir en fresco.

1.2.- El carácter picante de la cebolla

1.2.1.- Bioquímica del aroma y del sabor de la cebolla

El género *Allium* se caracteriza por contener compuestos azufrados que les proporcionan su particular olor y sabor. La mayor parte del azufre que contienen las células de estas plantas se encuentra en forma de distintos aminoácidos no proteicos que incluyen los precursores del aroma y del sabor (Brewster, 2001), los denominados S-alcenil sulfóxidos de cisteína (ACSOs). En la cebolla se dan tres sulfóxidos de cisteína: S-metil, S-propil y S-(1-propenil) sulfóxido de cisteína, responsables del efecto lacrimógeno (Lancaster y Boland, 1990). La estructura química de estos compuestos se muestra en la Tabla 1.

Precursor	Abreviatura	Fórmula
S-metil sulfóxido de cisteína	MCSO	S COOH
Trans-S-1propenil sulfóxido de cisteína	PeCSO	S COOH
S-porpil sulfóxido de cisteína	PCSO	S COOH

Tabla 1: Sulfóxidos de cisteína de la cebolla (Jones y col., 2004).

Cuando las células de la cebolla se rompen, los ACSOs y la enzima aliinasa (los cuales se encuentran antes de que se dañe la célula en el citoplasma y la vacuolas, respectivamente) entran en contacto y se desencadena, en presencia de oxígeno, una primera reacción en la que se producen amonio, ácido pirúvico y ácidos sulfénicos. Estos últimos sufren una serie de reacciones que como resultado originan compuestos azufrados volátiles, responsables del sabor y del aroma picante de la cebolla.

Estos compuestos volátiles son los causantes de la irritación de las mucosas. Como se ha mencionado, un subproducto de la primera reacción es el ácido pirúvico, por lo que sin ser este compuesto responsable directo del picor, es un buen indicativo del mismo. Debido a ello el contenido en ácido pirúvico se emplea como criterio para clasificar las cebollas en función de su picor. Para que una cebolla se considere suave o 'dulce' (término incorrecto pero de uso común), su contenido en ácido pirúvico debe ser inferior a 5,5 µmoles por gramo de tejido fresco, según el Reglamento de Certificación de cebollas aplicado en Estados Unidos en la variedad de referencia Vidalia (Vidalia Sweet Onion). En este sentido, es preciso tener en consideración que algunos trabajos publicados recientemente demuestran que existen variaciones en el contenido de ácido pirúvico de los jugos extraídos dependiendo de los métodos usados para la extracción de éste: prensado, maceración, mezcla sin agua o mezcla con agua, siendo este último el más aconsejable (Yoo y col., 2016).

1.2.3.- Factores que influyen en el sabor de la cebolla

El sabor de la cebolla es muy variable, puesto que es función del dulzor y de la proporción de los distintos precursores ACSO. Desde un principio se estableció que la pungencia está fuertemente influenciada por el aporte de azufre, pero también por el aporte de nitrógeno, el genotipo y otros factores ambientales, que del mismo modo afectan a los niveles de los precursores ACSO. Aunque la base molecular de la variación genética no ha sido aún dilucidada, estudios fisiológicos han revelado diferencias significativas entre variedades pungentes y suaves en cuanto a la absorción, asimilación y almacenamiento del sulfato y de compuestos orgánicos sulfurados (McCallum y col., 2007; 2011).

Diversos autores han realizado estudios genéticos que determinan la heredabilidad del carácter pungente o picante de la cebolla (Lin y col., 1995; Simon, 1995; Wall y col., 1996; Randle, 1997), no obstante este componente genético puede verse alterado por el entorno, siendo los factores ambientales que más afectan a la intensidad del sabor el aporte de agua, la temperatura y la fertilización con nitrógeno y azufre (Platenius y Knott, 1941; Freeman y Mossedeghi, 1973; Coolong y Randle, 2003a y 2003b). De estos estudios, se han obtenido conclusiones como que los cultivares de secano son más picantes que los de regadío, que las concentraciones de azufre y pungencia en la cebolla se incrementan al aumentar la temperatura y que aportaciones excesivas de nutrientes azufrados y nitrogenados pueden incrementar el picor.

Así mismo, ensayos realizados por Randle (1997) en 62 cultivares de cebolla, abarcando un amplio rango genético y bajo condiciones ambientales uniformes, mostraron que la intensidad del picor de la cebolla, así como la concentración de azufre en el bulbo, varía entre cultivares. La correlación entre el picor y el contenido en azufre fue baja, aunque significativa, lo que sugiere que algunos cultivares son más eficientes que otros en metabolizar el azufre a través de la ruta biosintética del sabor y el aroma, demostrando por tanto que algunos genotipos en condiciones de alta concentración de azufre pueden producir cebollas dulces.

Por otro lado, el carácter dulce de la cebolla se percibe en función del nivel de picor ya que los compuestos organosulfurados dominan la percepción organoléptica, de modo que sólo si la cebolla es poco picante se aprecia la dulzura de la misma. Esta relación entre los niveles de picor y los del azúcar establecen que, para determinar si una cebolla es suave o dulce consumida en fresco, primero hay que considerar el picor y después la concentración de azúcares que confieren el sabor dulce a la cebolla: glucosa, fructosa y sacarosa. El contenido en azúcares varía en función del cultivar y, dentro de un mismo cultivar, del tiempo de almacenado y la localización (los

niveles de glucosa, fructosa y sacarosa en los cultivares de día corto son mayores que en los de día largo)

El sabor dulce de la cebolla lo proporcionan la glucosa, la fructosa y la sacarosa. Estos tres compuestos varían en su grado de dulzor. Si se toma como referencia la sacarosa con un dulzor del 100 %, entonces la glucosa tiene un grado de dulzor del 70 % y la fructosa del 170 %. La correlación entre el contenido de azúcares y la pungencia es muy pobre y ambos caracteres se han mostrado como dos funciones independientes (Randle y Bussard, 1993), por lo que es un campo abierto a la mejora de cultivares con alto contenido en azúcar y poco picor.

Entre los diversos factores ambientales a los que el cultivo de cebolla está expuesto durante su desarrollo, los que más afectan a la intensidad del sabor son en primer lugar la disponibilidad de agua: condiciones de secano se traducen en un aumento de la intensidad del sabor, mientras que un riego abundante produce una menor concentración de precursores del sabor; en segundo lugar la temperatura, puesto que la concentración de azufre y la pungencia pueden aumentar cuando aumenta la temperatura; y finalmente la fertilización en forma de azufre y nitrógeno, ya que la producción de cebollas en suelos con bajo contenido en azufre reduce el picor de las mismas, y por otro lado se ha demostrado que la disponibilidad de nitrógeno influye en la ruta biosintética de los compuestos precursores del sabor y el aroma de la cebolla (ver referencias en Carravedo y Mallor, 2007). Por otro lado, la cebolla es un cultivo en el que el azufre tiene relación directa tanto con la productividad del cultivo, como con la calidad. Existe un estudio en el que se demuestra que no aplicar azufre, reduce hasta en un 16% la producción (de Souza y col., 2015). Por el contrario, factores como la densidad de plantación y el riego deficitario no afectaron a la pungencia ni al contenido de sólidos solubles en los trabajos realizados por Leskovar y col. (2012). Sharma y Lee (2016), por su parte, estudiaron el efecto de la temperatura de almacenamiento en la calidad de las cebollas.

1.2.4.- Métodos de evaluación de la pungencia

Los principales métodos para cuantificar el picor de la cebolla son los paneles de cata, la medición del contenido en ácido pirúvico como estimación indirecta del picor y la determinación directa de ACSOs mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (High Performance Liquid Cromatography, HPLC). En cuanto a la cuantificación de los azúcares, destaca la estimación mediante determinación del contenido de sólidos solubles mediante refractómetro y el método de cuantificación enzimática empleando un espectrofotómetro.

Los paneles de cata son una medida directa del picor, ya que los panelistas pueden evaluar cualidades como son el picor, la dulzura o la textura. Para llevar a cabo las catas se requiere de personas debidamente formadas y de un diseño adecuado del panel de cata. Su utilización en análisis rutinarios es complicada puesto que sólo se puede analizar un máximo de cuatro muestras antes de que el paladar se sature.

Puesto que cada mol de ACSO hidrolizado por la aliinasa produce un mol de ácido pirúvico, este compuesto ha sido empleado extensivamente para determinar la pungencia (ver referencias en McCallum y col., 2007). El método consiste en producir una reacción colorimétrica (en función del contenido en ácido pirúvico) que se cuantifica con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 420 nm. Este método se ha aplicado con éxito en muestreos de campo para la evaluación de la pungencia (Randle y col., 1998) y, debido a su sencillez, se puede aplicar de forma rutinaria en controles de calidad (Crowther y col., 2005). La cuantificación de los ACSO mediante HPLC se ha aplicado con éxito en cebolla, proporcionando una evaluación más precisa del picor (Ianni y col., 2016). Aunque en general el contenido en acido pirúvico se correlaciona bien con la percepción organoléptica de la cebolla, en algunos casos se observan discrepancias entre el contenido en acido pirúvico y la percepción en paneles de cata (Crowther y col., 2005).

También se puede determinar el picor de la cebolla evaluando el contenido del ion amonio mediante electroforesis capilar. Llamazares y Pérez (2003) corroboraron que existía una buena correlación entre resultados obtenidos del análisis del pirúvico y los obtenidos de medir el ion amonio, por lo que tanto el contenido en ácido pirúvico como en amonio son buenos indicativos de la pungencia.

1.3.- Mejora genética de la cebolla

Los *Allium* comestibles se dividen en dos grupos en lo que a la mejora y la selección de nuevos cultivares se refiere. El grupo principal, que incluye cebollas, puerros, cebollas japonesas y cebollinos, está formado por especies fértiles que producen semillas. El segundo grupo, que incluye a los ajos entre otros, no sufre una fecundación cruzada normal para producir semillas, su propagación es vegetativa o, en el caso del cebollino chino, las semillas producidas son genéticamente idénticas a la planta madre. Las técnicas de mejora convencional, que suponen la hibridación entre líneas parentales y los posteriores selección y entrecruzamiento en las progenies de dichos cruces, sólo son aplicables al primer grupo. (Inden y Ashira, 1990; Poulsen, 1990).

La cebolla es diploide y tiene ocho pares de cromosomas (2n = 2x = 16). Estos son de gran tamaño y con una morfología bien definida de las cromátidas y de la posición del centrómero.

Además, tiene un genoma de gran tamaño, puesto que el complemento haploide consta de 15.000 Megabases (Mb = 106 bases), lo que equivale a 17 pg de ADN. El gran tamaño del genoma de los Allium complica las estrategias de clonación y secuenciación de genes, resultando en un avance más lento en el conocimiento de la genética molecular de estas especies. Existe un proyecto en marcha para la secuenciación completa del genoma de la cebolla, Sequon (http://www.oniongenome.net/) empleando una línea doble haploide (se precisa la mayor homocigosis posible) y equipos de secuenciación masiva. También se puede encontrar información sobre la anotación de este genoma en la web del Onion Genomic Resource (http://webtom.cabgrid.res.in/ogr/). Kim y col. (2015) publicaron un trabajo en el que la secuenciación de ARN permitió identificar más de 50000 secuencias génicas. Otras especies como Allium fistulosum también son objeto de proyectos de secuenciación de su transcriptoma (Sun y col., 2016).

1.3.1.- Sistema reproductivo, vigor híbrido y androesterilidad

La cebolla es una especie alógama, es decir, produce flores fértiles y se reproduce mediante polinización cruzada. Aunque éste es el comportamiento predominante, no es sin embargo exclusivo, ya que las plantas son perfectamente capaces de autopolinizarse. Las anteras de las flores individuales maduran y liberan el polen antes de que los estigmas sean completamente receptivos, lo que se denomina protandria. En los *Allium* silvestres, que poseen unas pocas flores por umbela, probablemente suponga una barrera eficaz contra la autopolinización. Sin embargo, las especies cultivadas tienen hasta 1000 flores por inflorescencia, y como la apertura de las diferentes flores se puede prolongar desde dos semanas hasta cuatro, es fácil que el polen fecunde el estigma receptivo de una flor más desarrollada de la misma umbela. Por lo tanto, la protandria supone sólo una barrera parcial frente a la autopolinización. En ciertas condiciones, por ejemplo, en las jaulas de malla utilizadas por los mejoradores para aislar las plantas de los insectos portadores de polen no deseado, el grado de polinización cruzada puede disminuir hasta sólo el 23-56%, porque las abejas y las moscas suelen ser menos activas bajo estas condiciones (Brewster, 2001).

Las poblaciones de plantas que se reproducen por alogamia están constituidas por individuos altamente heterocigóticos. En las especies alógamas, generalmente el vigor y la tasa de supervivencia de las plántulas derivadas de autopolinización son mucho menores que en las procedentes de polinización cruzada. Este es el caso de la cebolla, especie en la que se ha referido por ejemplo un descenso del 75% al 50% en el porcentaje de plantas que sobrevivieron hasta producir bulbos una vez sembradas en el campo, entre semillas procedentes de cruzamiento y procedentes de autopolinización (Currrah y Ockenden, 1983). Esta es una

manifestación del fenómeno denominado depresión por consanguinidad. Consiste en que los descendientes obtenidos por cruzamientos entre individuos genéticamente próximos muestran menor vigor generalizado y menor aptitud reproductiva. Se debe fundamentalmente a la aparición en homocigosis de alelos recesivos que muestran caracteres letales o subletales. Tras tres generaciones de autofecundación, en cebolla las tasas de supervivencia de las plantas pueden bajar hasta un 50%, observándose una disminución del vigor que hace que sólo el 70% de los supervivientes sean capaces de producir semilla (Jones y Mann, 1963).

El fenómeno opuesto a la depresión por consanguinidad es el vigor híbrido o heterosis. En las plantas alógamas se observa un aumento general de vigor en la descendencia híbrida, cuando se recupera la heterocigosis mediante el cruzamiento de dos líneas autofecundadas. Esta descendencia híbrida suele presentar mejores caracteres que las poblaciones parentales originales. Por ejemplo, Synnevag (1988) cruzó una cebolla finesa multiplicadora con un cultivar noruego de bulbo grande y obtuvo híbridos con un vigor superior a cualquiera de los progenitores, aunque con un periodo de crecimiento más corto que el progenitor de bulbo grande. En estos híbridos, la influencia de cualquier alelo homocigoto recesivo desfavorable de las líneas parentales puede estar enmascarada por alelos dominantes favorables del otro progenitor. Cuando se cruza una serie de líneas parentales, incluso si ellas mismas son débiles y consanguíneas, algunos de los híbridos resultantes pueden ser extremadamente vigorosos e incluso tener un rendimiento superior al de una línea alógama vigorosa. Fijar los genotipos que presenten este vigor híbrido en los cultivares híbridos F1 se ha convertido en la tendencia principal de la mejora de cebollas en los últimos años. Por otro lado, desde un punto de vista comercial, la ventaja de los híbridos F1 radica en que, si los agricultores se guardan sus semillas para sembrarlas, no darán lugar a plantas como las parentales y deberán producirse de nuevo cada generación a partir de las líneas parentales apropiadas, que permanecen bajo el control de la empresa de semillas.

Cuando son pocos los genes que controlan un carácter, podemos distinguir clases fenotípicas y contar cuántos individuos hay de cada tipo en la descendencia de un cruzamiento, es decir, hacer grupos que se diferencian entre sí por una cualidad. Estamos entonces observando un carácter que muestra variación discontinua o carácter cualitativo. Los genes implicados en este tipo de caracteres se denominan genes mayores, en los que las consecuencias en el fenotipo de la presencia o ausencia en los cromosomas de alelos particulares están muy claras.

Algunos rasgos de interés en la cebolla presentan control genético cualitativo o mendeliano. Por ejemplo, existe un alelo recesivo que en homocigosis da como resultado pedúnculos seminales enanos. También el color de la piel de la cebolla está determinado por el efecto combinado de una serie de genes mayores, cada uno de ellos con diferentes alelos

causantes de efectos cualitativos bien definidos (El-Shafie y Davis, 1967). El control genético de este carácter es un ejemplo clásico de epistasia, un importante fenómeno genético en el que el resultado fenotípico está determinado por la interacción de los alelos de varios genes distintos, en este caso si el bulbo de la cebolla tendrá la piel blanca, amarilla o roja.

Los genes cualitativos más importantes para la mejora de los *Allium* comestibles, sin embargo, son los causantes de la androesterilidad. En las plantas androestériles, el polen no se desarrolla y por tanto son incapaces de autopolinizarse. De esta forma, cualquier semilla que se produzca será el resultado de una polinización cruzada. Esta característica se ha utilizado para obtener cultivares híbridos F1, ya que las líneas androestériles se usan como madres en los cruzamientos. En ausencia de androesterilidad, la polinización cruzada controlada sólo se consigue eliminando trabajosamente a mano las anteras de las flores de la umbela antes de que desprendan el polen, y transfiriendo manualmente el polen deseado a los estigmas cuando se encuentran receptivos. Este procedimiento es demasiado laborioso para todo lo que no sean unos pocos cruces controlados en un trabajo experimental o de mejora.

Jones y Clarke en 1925 fueron los primeros en aprovechar la androesterilidad de la cebolla utilizando un espécimen androestéril del cultivar Italian Red que encontraron en unos campos experimentales en Davis, California. Afortunadamente, cuando se impide que esta planta sufra una polinización cruzada, se producen bulbillos en la umbela que se pueden propagar. Jones y Clarke (1943) publicaron un artículo histórico que describía la genética de la androesterilidad y que indicaba como podía utilizarse para producir cultivares híbridos. Basándose en estas técnicas, desarrolladas originariamente en cebolla, se ha utilizado desde entonces la androesterilidad para obtener híbridos de otras plantas hortícolas importantes.

Las flores de plantas androestériles son al principio de apariencia similar a las flores fértiles, pero en ellas no tiene lugar la microsporogénesis y no se desarrollan los granos de polen. De esta manera, en vez de producirse una antesis normal, las anteras se marchitan, adoptando una coloración parda y una forma arrugada. En un futuro y de forma gradual, todas las anteras que aparecen de color amarillo-verdoso también se marchitarán.

Se ha comprobado que la androesterilidad de la cebolla depende del efecto combinado de un gen nuclear (es decir, cromosómico) y un factor citoplasmático. El gen nuclear posee dos formas: la forma dominante Ms que, cuando está presente, siempre conduce a polen fértil, y la forma recesiva ms que en homocigosis puede dar lugar a polen estéril. Los genotipos homocigotos ms sólo causan androesterilidad si se combinan con el factor de esterilidad citoplasmática S. El citoplasma de la ovocélula puede ser portador del factor S, permitiendo que

los genotipos *msms* se expresen como estériles, o puede ser portador del factor *N*, que siempre da como resultado una planta con polen fértil, independientemente del contenido en alelos *Ms* o *ms* de sus genes nucleares.

En una cebolla diploide pueden existir tres genotipos para el gen de la androesterilidad: *MsMs*, *Msms* y *msms*. Cada uno de estos genotipos puede ocurrir en un citoplasma que sea portador, bien del factor *N*, bien del factor *S*. La única combinación que tiene como resultado la androesterilidad es *S/msms*. El factor citoplasmático se transmite en un cruzamiento únicamente vía el progenitor femenino. Von Kohn y col. (2013) secuenciaron el genoma cloroplástico de plantas con citoplasma androestéril y otras con citoplasma normal para encontrar polimorfismos que permitieran diseñar marcadores para seleccionar plantas androestériles en los cruzamientos, acortando de esta forma el tiempo necesario para obtener líneas avanzadas de mejora.

Se han encontrado sistemas de androesterilidad análogos, condicionados por la combinación de un factor citoplasmático y un factor génico mayor, en la cebolla japonesa (Inden y Ashira, 1990) y en el cebollino (Poulsen, 1990); en ambas plantas este sistema se ha aprovechado para desarrollar cultivares híbridos. En el cebollino se ha demostrado que el factor citoplasmático de androesterilidad se encuentra en la mitocondria.

La mayor parte de los caracteres, incluida la mayoría de los que son importantes para la productividad del cultivo y por lo tanto para la mejora, están sin embargo controlados por los efectos combinados de un número mayor de genes que influyen cada uno de ellos en pequeña medida en el carácter. Por ejemplo, el rendimiento, la fecha de madurez y la precocidad de floración están cada uno de ellos condicionados por el efecto aditivo de varios genes. Como consecuencia, los cruzamientos entre tipos extremos para la fecha de madurez dan lugar a híbridos intermedios entre los parentales, pero de los híbridos se obtiene en las generaciones posteriores una población en la que se observa una distribución continua para el carácter, y no unas pocas clases diferenciadas, de fechas de madurez. Los caracteres presentan variación continua, son medibles, y se dice que tienen entonces un control genético cuantitativo.

Además, el efecto de los genes cualitativos con efectos mayores discretos a menudo resulta potenciado o atenuado por una serie de genes modificadores menores con influencia cuantitativa. Este es el caso del gen mayor para la longitud del pedúnculo seminal descrito anteriormente, y también para el importante gen que confiere resistencia a la enfermedad de la raíz rosada en la cebolla.

El objetivo de la mejora es combinar en el genotipo de una variedad los alelos que sean favorables para cada carácter de relevancia agronómica. En el caso de la cebolla, el programa de mejora tendrá como objetivo la obtención de las mejores líneas progenitoras homogéneas que en combinación muestren el mayor vigor híbrido en la variedad híbrida F1. Los alelos favorables dominantes solo es preciso fijarlos en una de las líneas progenitoras, mientras que si el alelo favorable es recesivo, es preciso fijarlo en las dos líneas que se van a emplear como progenitoras.

Además de los alelos favorables, puede haber variantes deletéreas de cada gen que es preciso eliminar en el proceso de selección. Por ejemplo, en cebollas y puerros existen muchos alelos deletéreos que provocan la falta de síntesis de clorofila, lo que da lugar a plántulas albinas inviables. Dichos alelos persisten como recesivos, enmascarados en los heterocigotos por los alelos dominantes viables. Su presencia se pone de manifiesto por autofecundación, que dará como resultado el 25% de descendencia homocigota para cualquiera de los alelos recesivos deletéreos.

1.3.2.- Mejora genética de la calidad de la cebolla

Según el uso que se le vaya a dar a la cebolla (consumo en fresco, cocinado o procesado industrial) los objetivos de la mejora de esta especie podrán ser diferentes, pero en general, los programas de mejora genética en cebolla van encaminados a la obtención de cultivares que presenten las siguientes características: buena adaptación a las condiciones de cultivo de una determinada zona, homogeneidad en los bulbos, buena conservación, sabor menos acre, precocidad, resistencia a plagas y enfermedades de campo, grillado tardío y resistencia a podredumbre en almacén (Shingyo y Kirk, 2008).

En el marco de la mejora de la calidad, uno de los objetivos más perseguidos es la obtención de cebollas con bajo nivel de picor o acritud, denominadas comúnmente cebollas dulces. Las cebollas dulces se caracterizan por tener bajo nivel de pungencia, un elevado contenido en fructosa y glucosa y un bajo contenido en sacarosa (Randle y Bussard, 1993; Hamilton y col. 1998; Rodrigues y col., 2003). Son apreciadas principalmente por los consumidores de muchos países de Europa, Estados Unidos y Japón. En estos países las cebollas dulces tienen una mayor demanda en el mercado y los precios son generalmente superiores en un 25-50% a los de otras variedades de cebolla (Luo y Ewart, 1997).

La relación entre el nivel de picor y los niveles de azúcares, como se comentó anteriormente, determina la percepción de la dulzura en la cebolla. Idealmente, una cebolla dulce debería de tener altos niveles de azúcares y bajos niveles de picor. Sin embargo, altos niveles de

picor pueden enmascarar altos niveles de azúcares, de modo que la cebolla no se perciba dulce, mientras que cebollas con bajos niveles de picor y bajos niveles de dulzura pueden ser percibidas como suaves. En los bulbos de cebolla, el contenido en azúcar es menos variable que el contenido en compuestos azufrados implicados en el picor, por ello hasta ahora la selección se ha basado en buscar cultivares con bajo contenido en estos compuestos azufrados. Sin embargo, una vez realizada esta selección, el contenido de azúcares puede jugar un papel importante en el futuro.

Se ha determinado que tanto el picor como el contenido en azúcares son caracteres heredables y por lo tanto susceptibles de ser mejorados a través de programas de mejora. Sin embargo, este es un proceso lento debido a que, además de requerirse dos años para completar una generación, como en todas las especies bienales, en el picor influyen factores tanto genéticos como ambientales que hacen más difícil su evaluación. En concreto se ha determinado que más del 80 % del picor de la cebolla está determinado por factores genéticos (Yoo y col., 2006). Simon (1995) estudió la genética del contenido en ácido pirúvico y sólidos solubles, concluyendo que ambos caracteres se encuentran determinados por genes dominantes aditivos. Su control genético aditivo, así como su heredabilidad, indican que ambos pueden ser seleccionados efectiva e independientemente.

Los estudios en genética cuantitativa estimaron la heredabilidad en sentido amplio de la pungencia en un rango de 0.5-0.7, con efectos predominantemente aditivos (Lin y col., 1995; Simon, 1995; Wall y col., 1996). Otros estudios y los programas de mejora llevados a cabo hasta el momento han mostrado buena respuesta a la selección para baja pungencia.

Los estudios realizados en los últimos años con diversas herramientas moleculares como marcadores de ADN y secuencias expresadas (*expressed sequence tags, ESTs*) han localizado regiones del genoma con influencia en distintos caracteres relacionados con la calidad del bulbo de la cebolla, como el contenido en sólidos solubles, el porcentaje de materia seca y la pungencia (Galmarini y col., 2001; McCallum y col., 2006; 2007). Se han detectado dos QTLs, uno en el cromosoma 3 y otro en el 5, relacionados con el contenido en sólidos solubles y la pungencia. En una región del cromosoma 3 se han mapeado dos genes relacionados con la absorción y el metabolismo del azufre, por lo que se postula que mutaciones en dichos genes o en elementos reguladores de su expresión que se localicen en su proximidad en el cromosoma (se denominan factores en cis) podrían condicionar la variación en la pungencia. En un estudio posterior, McCallum y col. (2011) analizaron los niveles de cisteína y de ACSOs, así como la expresión de genes implicados en el metabolismo del azufre, en dos variedades de cebolla con distintos niveles de pungencia, en cultivo hidropónico en condiciones de déficit de este mineral y en condiciones

estándar. Encontraron interacciones genotipo x tratamiento significativas para un transportador de raíz que tiene elevada afinidad por el azufre y en la expresión de una ferredoxin-sulfito reductasa, mientras que los niveles de expresión de la ATP sulfurilasa (enzima implicada en la fijación de azufre en las plantas) fueron significativamente mayores en el cultivar picante en condiciones de presencia de azufre. El hecho de que los loci detectados posean efectos pleiotrópicos en el contenido de sólidos solubles y en la pungencia sugiere que la selección fenotípica para bajo picor puede resultar en una selección indirecta para un reducido contenido en sólidos solubles, lo que tendría un efecto negativo en la conservación de los bulbos. De forma inversa, la selección para mejor conservación podría traducirse en un incremento indirecto de la pungencia o picor. Para evitar este problema en los programas de mejora para reducir la pungencia, McCallum y col. (2007) propusieron dos estrategias: en primer lugar, analizar familias de bulbos para identificar aquéllas con una baja correlación entre pungencia y sólidos solubles, y en segundo lugar emplear en la selección los marcadores de ADN que se han detectado en los loci específicos de pungencia.

El contenido en sólidos solubles de los bulbos de cebolla sirve como estimador del contenido en materia seca, el cual depende hasta en un 80% de la acumulación de fructanos (polisacáridos de fructosa), glucosa, fructosa y sacarosa. Los fructanos refuerzan el valor funcional de la cebolla, puesto que estos compuestos reducen los niveles sanguíneos de lípidos e insulina. Existen diferencias entre variedades en su capacidad para almacenar fructanos, pero estas no se deben al patrón de compuestos biosintetizados, sino a la cantidad de los mismos. Algunas variedades siguen acumulando fructanos en el bulbo durante todo el desarrollo del mismo, mientras que las variedades con menor contenido en materia seca alcanzan rápidamente el nivel máximo de sólidos almacenados (McCallum y col., 2006).

El contenido en sólidos solubles de los bulbos de cebolla se expresa normalmente en °Brix, empleándose un refractómetro para las determinaciones. Aunque los valores obtenidos de esta forma son considerados una buena aproximación al contenido en azúcares, hay que considerar que el sistema refractométrico suma a su lectura otros componentes celulares hidrosolubles como por ejemplo aminoácidos, proteínas, vitaminas, ácidos orgánicos, etc. El contenido en sólidos solubles está altamente relacionado con la conservación de los bulbos, a más sólidos solubles mayor contenido en materia seca (menor cantidad de agua) y mayor aptitud para la conservación. Las cebollas de larga conservación suelen tener un contenido en sólidos solubles entre 15 y 25 °Brix (Voss, 2005).

El contenido en carbohidratos del bulbo es así mismo un carácter altamente heredable. Varios estudios han obtenido estimas de la heredabilidad en sentido amplio en un rango de 0.6-

0.83, y también han encontrado correlación con otros caracteres como el tamaño del bulbo y la pungencia (ver referencias en McCallum y col., 2006). La síntesis de fructanos a partir de azúcares reductores parece depender de un solo gen que muestra dominancia para alto contenido de fructanos. Este gen mayor se ha denominado *Frc* y se ha asignado al cromosoma 6 (McCallum y col., 2006). El gen regulador del contenido de azúcares reductores, por su parte, ha sido asignado al cromosoma 8 (Hang y col., 2004).

Estas investigaciones son directamente aplicables a los programas de mejora cuyo objetivo sea la obtención de variedades de cebolla con reducido picor y elevado contenido en azúcares, o cebollas dulces, sin menoscabo de su aptitud para la conservación.

Otros caracteres relevantes en la calidad de las cebollas son el calibre, la forma y el número de puntos germinativos. La firmeza también es un carácter de interés en la mejora de la calidad, puesto que la baja firmeza está relacionada con características tales como la suculencia y la terneza, las cebollas más tiernas son las que tienen valores más bajos de firmeza.

Otro factor de calidad es la mejora de la aptitud para la conservación. Este es un objetivo importante desde el punto de vista del comercio internacional de cebollas, gran parte del cual se desarrolla entre hemisferios. Además, una buena aptitud para la conservación permite prolongar el periodo de oferta de algunas variedades que actualmente se comercializan de forma estacional. La aptitud para la conservación de las cebollas depende estrechamente de las características varietales, asociándose en general una escasa vida post-recolección a los cultivares tempranos que, aun bajo condiciones refrigeradas, no supera los cuatro meses (Namesny, 1996). Existe un estudio reciente en el que se concluye que las condiciones de almacenamiento, en cuanto a temperaturas se refiere, son fundamentales para la conservación de la calidad de los bulbos, ya que se han observado cambios en el contenido de ácido pirúvico, de enzimas como la glucosidasa y de azúcares dependiendo de la temperatura de almacenamiento, siendo 4°C la temperatura que conservó mejor la calidad de los bulbos (Sharma y col., 2016).

Uno de los objetivos más recientes que se están incorporando en los programas de mejora es la obtención de cultivares con un mayor nivel de antioxidantes (quercetina y antocianinas), por su demostrada importancia en la prevención de determinadas enfermedades (Barry, 1987; Augusti, 1996; Havey, 1999; Rose y col., 2005). Se ha determinado que existe una gran variabilidad en la composición química de las cebollas, debida principalmente a factores genéticos, que pueden ser utilizados en programas de selección (Rodrigues y col., 2003). En el caso de las cebollas blancas, como la de Fuentes de Ebro, los niveles de actividad antioxidante (AOA), son menores que en el caso de las de color (Lee y col., 2015).

1.3.3.- Métodos de selección y mejora

Como ya se ha comentado con anterioridad, la cebolla es un cultivo que manifiesta una marcada depresión por consanguinidad y la protandria en esta especie favorece la fecundación cruzada. Este hecho, junto con la menor eficacia de los insectos polinizadores en las jaulas de aislamiento que en el campo, impide una reducción drástica en los tamaños poblacionales a lo largo de un programa de selección. La mejora suele realizarse mediante la evaluación de un elevado número de bulbos en cada generación, seleccionando del 20 al 25% de los bulbos que más interesen, por ejemplo, en un programa de mejora para dulzor, por su bajo picor y su alto nivel de azúcares.

La selección implica reproducir sólo los individuos con los mejores valores fenotípicos. En una población en la que se evalúa un cierto carácter cuantitativo, la variación detectada en el valor fenotípico determinado para cada individuo (la varianza) se descompone en componentes atribuibles a diferentes causas, en primer lugar, a las influencias del genotipo (conjunto de genes) y del ambiente (agentes no genéticos). La importancia relativa de la componente genética frente a la ambiental se expresa como heredabilidad en sentido amplio (H) del carácter, y mide el grado de parecido entre parientes. La heredabilidad en sentido estricto (h²) expresa el grado en el cual los fenotipos son condicionados por los alelos presentes en cada gen implicado en el carácter (es el denominado valor aditivo). La heredabilidad interesa al mejorador por su valor predictivo, ya que indica la fiabilidad de la selección que se realiza en función del valor fenotípico, anticipando la respuesta de la población (desviación de la media) tras la selección. Esta respuesta o ganancia genética depende también del diferencial de selección, es decir, de la diferencia en el valor fenotípico promedio de los individuos seleccionados como progenitores y el valor medio de la población (Falconer, 1986).

Los métodos de selección que pueden ser utilizados en cebolla incluyen la selección masal, la selección genealógica y el desarrollo de híbridos F1 o híbridos de tres vías. La selección masal consiste en permitir exclusivamente la reproducción de aquellos individuos cuya expresión genotípica resulte más interesante, rechazando el resto. La selección masal es efectiva, por ejemplo, cuando se requiere un cambio importante para adaptar una población mejorada a una nueva localidad, debido a que los bulbos fuera de tipo son obvios y numerosos. Esta selección ha sido ampliamente utilizada hasta hace 25 años para desarrollar cultivares europeos de cebolla en polinización abierta (Dowker y col., 1984). La selección masal es simple y requiere poca especialización, por ello resulta adecuada cuando existen pocos recursos, mientras que es muy difícil avanzar con esta técnica en aquellas poblaciones que ya están muy mejoradas. El método genealógico consiste en seleccionar en base a la media de las familias de medios hermanos y sus

desviaciones respecto a la media de la población. La recolección de la semilla se hace de cada planta individualmente, formando así las familias de medios hermanos (misma madre y diferentes padres). Este método se traduce en un mayor avance en la selección porque permite identificar aquellas familias que acarrean más variantes deletéreas. Finalmente, la producción de híbridos evita la depresión por consanguinidad y aprovecha la heterosis. La semilla derivada exclusivamente de polinización cruzada, como es el caso de los cultivares híbridos, tiene mayor supervivencia y rendimiento potencial que la semilla de un cultivar de polinización abierta, que siempre contiene una proporción de autofecundación (Brewster, 2001). Para la producción de híbridos en cebolla, como vimos, se hace uso de la androesterilidad, que permite cruces controlados económicamente viables.

Las herramientas moleculares como los marcadores de ADN han demostrado en muchos cultivos su utilidad para acortar los programas de mejora. En el caso particular de la cebolla, el ciclo bienal, la alogamia y la alta depresión endogámica que presenta la especie hacen que el uso de estas nuevas herramientas en combinación con los métodos de selección convencionales, tenga un especial atractivo. En particular, se han desarrollado marcadores moleculares para el análisis de germoplasma y para el mapeo de genes de interés agronómico (Khosa y col., 2016).

Por ejemplo, los marcadores microsatélite se emplearon para caracterizar 17 variedades de cebolla del noroeste de España. Los análisis realizados revelaron que Oimbra era el genotipo más distintivo, mientras que los restantes 16 genotipos de cebolla fueron en parte clasificados de acuerdo a algunos rasgos morfológicos de los bulbos. La pungencia y el contenido de sólidos solubles de estas cebollas también fueron analizados y variaron mucho entre las variedades locales estudiadas (González-Pérez y col., 2015).

En cuanto a la aplicación de los marcadores en programas de mejora para seleccionar genes de interés agronómico, por ejemplo, se han desarrollado marcadores basados en la PCR ligados a genes de resistencia a mildiu (Kim y col., 2106) y al gen *Ms* restaurador de la fertilidad (Bang y col., 2011). Como se ha mencionado, McCallum y col. (2007) identificaron un QTL relacionado con la pungencia en cebolla.

A pesar de su importancia culinaria y económica mundial, el conocimiento de la diversidad de los recursos genéticos disponibles para la mejora de la cebolla es limitado. Mallor y col., (2011) realizaron un estudio en el que caracterizaron morfológica y fisicoquímicamente ochenta y seis variedades de cebolla procedentes de España. Estos autores encontraron una gran variabilidad en el material vegetal evaluado para rasgos como peso, forma, firmeza, contenido de sólidos solubles (SSC), pungencia y contenido de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), de manera que las

variedades estudiadas podrían emplearse en programas de selección y mejora. Además, las correlaciones encontradas entre varios de los rasgos evaluados, podrían ayudar a establecer estrategias de selección adecuadas.

1.4.- La cebolla 'Fuentes de Ebro'

1.4.1.- Origen e Historia

El origen del cultivo de esta cebolla en el término municipal de Fuentes de Ebro y sus alrededores se remonta a los primeros asentamientos romanos, que construyeron un sistema de riegos. Se dice que el consumo de cebolla entre los romanos era muy común para hacer fuerte al soldado o como método curativo para varias dolencias. Con la llegada de los musulmanes se mejoró el uso del agua mediante la construcción de una extensa red de acequias desde los azudes hasta los campos de la comarca. En Fuentes de Ebro aún se conserva este sistema de riego de origen árabe.

En la Edad Media, sus propiedades culinarias se ensalzaron. La leyenda dice que tras la victoria del Cid Campeador contra Sancho Ramírez para impedir el descenso del límite del Reino de Aragón, el rey Almutamán, sus hijos y su séquito, así como una muchedumbre de zaragozanos, salieron a su encuentro en Fuentes de Ebro para festejar su llegada, dándole un recibimiento triunfal. Según esta leyenda, mientras el Cid disfrutaba de dicho recibimiento, fue invitado a degustar un plato típico de la gastronomía de Fuentes de Ebro, "Pichones con Cebolla Fuentes de Ebro".

En los archivos del Ayuntamiento de Fuentes de Ebro, se ha encontrado recientemente un documento fechado el 10 de agosto de 1931, en el cual se menciona el "Diploma de Mérito concedido al Ayuntamiento por las cebollas presentadas en la exposición Nacional de Horticultura celebrada en Madrid en noviembre de 1930, quede expuesto en secretaría, y se proceda a reclamar el premio de 50 pesetas". Se trata por tanto de una variedad cuyo cultivo es de larga tradición, poco a poco los agricultores de esta zona, con la tradición oral y la práctica de cultivo han conseguido mantener hasta la actualidad un producto de calidad diferenciada.

1.4.2.- Descripción

La Cebolla de Fuentes de Ebro es una variedad autóctona aragonesa que goza de gran prestigio en nuestra comunidad, es un referente entre las hortalizas de la zona que se caracteriza

por sus cualidades organolépticas, principalmente por su escaso picor. El consumidor también valora positivamente su suculencia y sabor.

La "Cebolla Fuentes de Ebro" presenta capas interiores muy tiernas y suculentas, con un mayor contenido de agua, lo que hace que sea más suave y tierna al comerla, que tenga un menor contenido y que estén más diluidos los compuestos azufrados, haciendo más leve el picor de esta cebolla en relación a otras variedades, destacada así por su consumo en fresco.

La planta tiene el tallo grueso, y da lugar un bulbo de forma globosa redondeada por la raíz y ligeramente alargada hacia el cuello, con coloración blanco-paja en las capas externas, que será blanco-verdoso en la cebolla temprana, y las capas internas blancas, carnosas y crocantes.

Esta variedad se cultiva en un marco geográfico delimitado que se caracteriza por tener un microclima estepario, ventoso y con escasas lluvias, sumado a un suelo fértil con presencia abundante de yeso y carbonato cálcico y con pH elevados. También se debe de tener en cuenta la influencia de las prácticas de cultivo, siendo algunas etapas del proceso todavía manuales, para mantener la calidad de esta cebolla tan delicada.

Las cebollas dulces son habitualmente cultivadas en tierras con bajas cantidades de azufre, por lo que suelen tener niveles de ácido pirúvico inferiores a 5,5 μ mol/g PF frente a las cebollas de almacenamiento (cebolla común o no dulce) que generalmente alcanzan 10–13 μ mol/g PF.

Desde 1997 la cebolla Fuentes de Ebro cuenta con la distinción de la C de Calidad Alimentaria, actual C'Alial (Orden de 13 de agosto de 1997 del Departamento de Agricultura y Medio Ambiente de la Diputación General de Aragón, BOA 3-9-97) y posteriormente fue reconocida como Denominación de Origen Protegida, según Orden de 25 de noviembre de 2013, de la Consejería de Agricultura Gradería y medio Ambiente, por la que se modifica la orden de 26 de octubre de 2010, por la que se aprueba la normativa específica de la Denominación de Origen Protegida y se concede la protección transitoria, BOA 28-5-12 y Reglamento de Ejecución (UE) nº 1146/2013 de la comisión de 5 de noviembre de 2013 por el que se inscribe una denominación en el Registro de Denominaciones de Origen Protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas [Cebolla Fuentes de Ebro (DOP)], Diario Oficial de la Unión Europea 15-11-13.

2.- ANTECEDENTES

En el año 2005, el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), inició una línea de estudio de la variedad de cebolla Fuentes de Ebro. En 2007, se aprobó un proyecto financiado por el INIA con el título: "Caracterización y mejora de la calidad de cebollas con bajo nivel de pungencia", cuyo objetivo, entre otros, era el inicio de un programa de mejora con esta variedad. La variedad seleccionada y mejorada mediante este programa debería responder a la tipología característica de la misma, adaptándose además a las condiciones actuales de producción en parámetros como homogeneidad en forma y tamaño de los bulbos, así como de su principal cualidad organoléptica: su ausencia o escasez de picor.

Durante dos campañas agrícolas (2006 y 2007) se evaluó en dos parcelas situadas en la localidad de Fuentes de Ebro material vegetal de esta variedad procedente de agricultores locales, representativos de la variabilidad existente en la zona de producción. Los ensayos pusieron de manifiesto la heterogeneidad del material vegetal que se estaba cultivando en la zona en cuanto a sus características productivas y de pungencia, y por tanto la necesidad de seleccionar aquél que correspondiera con las características de la variedad, aumentando la calidad y la homogeneidad de la variedad (Mallor y col., 2007; 2008). Se pretendió obtener un producto que siguiera los estándares de la demanda actual, principalmente en lo referente a la uniformidad de forma, tamaño y nivel de pungencia, pero que mantuviera sus características históricas.

Durante la campaña 2006 se realizó una selección masal de los mejores bulbos de cebolla evaluados, clasificándolos en función de su contenido en ácido pirúvico en cuatro grupos, de acuerdo a una combinación de las escalas que usa la empresa estadounidense certificadora de cebollas "Vidalia Labs Internacional", desarrollada conjuntamente con la Universidad de Georgia y Nuevo México. Según esta combinación de escalas, cuando los valores son iguales o inferiores a 3.5 μmoles de ácido pirúvico / g de tejido fresco las cebollas se clasifican como 'muy suaves', de 3.6 a 5.5 como 'suaves', de 5.6 a 7.5 como 'de picor moderado' y más de 7.5 μmol/g como 'picantes'.

Durante la campaña 2007, cinco bulbos de cada uno de estos grupos se plantaron en cuatro jaulas de aislamiento (una por cada grupo) para evitar las fecundaciones con polen no deseado procedente de plantas de los otros grupos. La polinización dentro de cada jaula se realizó utilizando moscas (Calliphora vomitoria) y las semillas se recolectaron de cada bulbo individualmente. De este modo se dispuso de un total de 20 familias de medios-hermanos (misma madre y diferente padre) que constituyeron el material vegetal de partida para los siguientes

estudios en los que se estudió la respuesta a la selección del carácter picante en la cebolla Fuentes de Ebro. Los bulbos de estas 20 familias fueron caracterizados en la campaña 2008 en cuanto a su peso, diámetro, altura, forma, contenido en sólidos solubles, firmeza y pungencia. Los resultados de este trabajo mostraron que la variación fenotípica observada para el peso del bulbo, el tamaño y el contenido de sólidos solubles fue significativamente afectada por la ubicación de la parcela, la temporada de crecimiento y la familia, mientras que la pungencia dependió de la familia y la ubicación de la parcela. Se encontraron mayores niveles de variación genética para el tamaño y la forma del bulbo que para el contenido de sólidos solubles, y correlaciones fenotípicas significativas indicaron que cebollas más suaves tienden a mostrar mayor tamaño y menor contenido de sólidos solubles. Después de un ciclo de selección, se obtuvo progenie con niveles de pungencia significativamente más bajos a partir de las madres con contenido en ácido pirúvico inferior a 3,5 µmol/g. En base a estos resultados, se estimó una heredabilidad de 0,67 para la pungencia en este material vegetal (Mallor y col., 2011).

Paralelamente a los estudios de la heredabilidad del carácter pungente, en la campaña 2008 se volvieron a realizar los ensayos de campo en Fuentes de Ebro. La heterogeneidad del material vegetal estudiado en 2006 y 2007, justificó llevar a cabo un programa de selección con la variedad de Cebolla Fuentes de Ebro. De un total de 450 bulbos analizados en la campaña 2007, se seleccionaron 35 que cumplían los siguientes requisitos: (1) contenido en ácido pirúvico inferior a 5,5 µmol/g PF; (2) contenido en sólidos solubles superior a 5,5º Brix (promedio de la población inicial); (3) firmeza superior a la media y (4) peso inferior a 400 g. La parte inferior de esos bulbos se plantó en una jaula de aislamiento y se introdujeron moscas para favorecer la polinización cruzada. Se recogió individualmente la semilla, constituyendo por tanto 35 familias de medios hermanos. De entre ellas, se obtuvo suficiente semilla de 12 familias, cuya evaluación fue objeto del presente proyecto.

3.- OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo consistió en caracterizar morfológica, química y productivamente 12 familias de medios hermanos de la variedad de cebolla Fuentes de Ebro, que fueron obtenidas a partir de la selección por su bajo contenido en ácido pirúvico, pero también atendiendo a otros criterios como mayor contenido en sólidos solubles, mayor firmeza y menor peso, en un ensayo realizado en 2007. Es decir, se trata de material vegetal que procede del primer ciclo de selección para baja pungencia. La caracterización de la pungencia de las cebollas producidas permitirá así mismo estudiar la respuesta a la selección del carácter picante en la variedad Cebolla Fuentes de Ebro.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.- Material vegetal

El material vegetal de partida para este trabajo fue la semilla recolectada en 2008 de 12 plantas obtenidas tras dos ciclos de selección para baja pungencia en material vegetal de cebolla Fuentes de Ebro. Los 35 bulbos seleccionados entre los 450 disponibles tras el primer ciclo de selección suponen una presión de selección del 7,8%. Una familia derivada de semilla no seleccionada en la población inicial se empleó como material control en los ensayos. Esta semilla se sembró en el CITA en enero de 2009 (Figura 4), empleando semilleros de bandeja de alveolos con una mezcla de turba y arena en una proporción de 3/1.



Figura 4. Semilleros de material vegetal seleccionado de cebolla Fuentes de Ebro realizados en las instalaciones del CITA en Montañana.

Las plántulas producidas se trasplantaron (21 y 28 de abril de 2009) a dos parcelas, una ubicada en las instalaciones del CITA, en Montañana, y otra en la localidad de Fuentes de Ebro (Figura 5). Estas plantas constituyen las familias de medios hermanos que se evaluaron en el presente trabajo. En las mismas condiciones se sembró semilla procedente de plantas no seleccionadas, y las plantas obtenidas se cultivaron en las mismas parcelas a modo de control.



Figura 5. Realización del trasplante de material seleccionado de cebolla Fuente de Ebro a la parcela de ensayo ubicada en Fuentes.

4.2.- Descripción del ensayo

Las plantas de las doce familias seleccionadas para bajo picor, y la familia procedente de semilla no seleccionada, se dispusieron en dos parcelas, una situada en el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón en Montañana (Zaragoza), denominada parcela 1, y otra en la localidad de Fuentes de Ebro (Zaragoza), denominada parcela 2, en la zona tradicional de cultivo. Se utilizó un diseño estadístico de bloques al azar con cuatro repeticiones para cada una de las 13 muestras (12 familias y el control), siendo las parcelas elementales de 80 plantas, dispuestas en dos filas de 40 plantas separadas 15 cm, lo que supone una densidad de plantación de 266.666 plantas/ha. Las parcelas elementales estaban separadas 50 cm. Las dos parcelas de ensayo se rodearon de plantas de la población no seleccionada para evitar el efecto borde. De cada parcela elemental se determinó la producción total y se tomaron al azar 20 bulbos, lo cual hizo un total de 2.080 bulbos, según se detalla a continuación:

2 parcelas x 13 familias (12 familias seleccionadas + 1 población no seleccionada) x 4 repeticiones x 20 bulbos / repetición = 2.080 bulbos.

El suelo donde se ubica la parcela de Fuentes de Ebro se caracteriza por presentar una textura franco-arcillo-limosa, pH básico y contenidos relativamente altos de sal. La parcela del CITA en Montañana se caracteriza por su textura franca, pH básico, y unos contenidos de sal más moderados que los encontrados en la parcela de Fuentes de Ebro.

Los análisis de suelos (ver Anexo I) mostraron concentraciones medias de materia orgánica en la parcela de CITA (2,28 %) y los niveles elevados de distintos nutrientes como NO₃ (77 mg/kg), S (256 ppm), P (64 mg/kg), K (731 mg/kg) y también contenido elevado en carbonatos (36%). La parcela ubicada en Fuentes de Ebro mostró un alto nivel de materia orgánica (3,63%) y niveles normales de NO₃ (14 mg/kg), mientras que los análisis encontraron niveles muy altos de S (177 ppm), P (53 mg/kg), K (496 mg/kg) y de carbonatos (36%). En la parcela establecida en el CITA, el riego fue aplicado por un sistema de riego por goteo, mientras que el abastecimiento de agua fue por riego por inundación en Fuentes de Ebro. La parcela (dimensiones totales 45,5 x 5 m) del CITA se abonó en sementera con estiércol del año anterior y con 100:100 kg/ha de N, P₂O₅ y K₂O en el mes de abril. Antes del trasplante se pasó el subsolador, el chísel y el rotovator con la finalidad de preparar el terreno. La dosis de riego fue de 4 l/h y se regó a demanda, aproximadamente dos riegos semanales de 2 horas. En la parcela de Fuentes de Ebro, la fertilización consistió en 50:50:70 kg/ha de N, P₂O₅ y K₂O en sementera, 100 kg/ha de N en el mes de mayo, y 30 kg/ha de N y 100 kg/ha y K₂O en el mes de junio. El riego fue a demanda, hasta dos semanas antes de cosechar. La eliminación de malas hierbas se realizó mediante escarda manual.

Para cada repetición se determinó el rendimiento en kg y se escogieron al azar 20 cebollas para las determinaciones de calidad. Estas cebollas se embolsaron y etiquetaron para poder ser almacenadas a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis. Las bolsas se identificaron mediante dos números, el primero que hacía referencia a la familia (1 - 13) y el segundo que indicaba la repetición (1 - 4). Antes de embolsarlas se descartaron en campo los bulbos fuera de tipo, es decir, aquellos que presentaron a simple vista una gran diferencia de color (más blanco) respecto al resto.

4.3.- Parámetros determinados en los bulbos

Los parámetros que se evaluaron en las cebollas fueron: (1) el peso, expresado en gramos; (2) el índice de ahusamiento (ratio diámetro/altura); (3) el número de puntos germinativos; (4) el contenido en sólidos solubles, en ^oBrix; (5) la firmeza, expresada en kg/cm² y (6) el picor o pungencia, expresada en μmoles/g de tejido fresco ácido pirúvico. Estos parámetros se evaluaron

para un total de 2080 bulbos, resultantes de cuatro repeticiones de 20 bulbos, de cada una de las 13 familias (12 familias seleccionadas + 1 familia sin seleccionar) y por cada parcela.

4.3.1.- Diámetro máximo y altura

Las medidas (expresadas en milímetros) se realizaron con un calibre digital. La medida del diámetro máximo se realizó en la zona más ancha de la sección transversal de cada bulbo. Para la altura se midió la sección longitudinal desde la zona media del nacimiento de las raíces hasta el inicio del cuello.

4.3.2.- Índice de ahusamiento

Para facilitar el análisis estadístico se calculó el índice de ahusamiento como cociente entre la altura y el diámetro máximo. Valores superiores a la unidad correspondieron entonces a bulbos alargados, mientras que los inferiores a uno se correspondían con bulbos planos. Cocientes similares a uno se obtuvieron en bulbos esféricos.

4.3.3.- Contenido en sólidos solubles

En cada bulbo se midió, con un refractómetro manual (Euromex RF532), el contenido en sólidos solubles de una muestra de jugo procedente de la zona media del mismo, que se extrae cortando por la mitad la cebolla, mediante rascado del tejido. Los resultados vienen expresados en ^oBrix.

4.3.4.- Determinación de la firmeza

La firmeza se determinó mediante ensayos de penetración, utilizando un penetrómetro digital (tr® mod. 53205) con un punzón de acero de 8 mm. Las mediciones se realizaron en dos zonas opuestas de la zona ecuatorial del bulbo, obteniendo así dos valores (kg/cm²) para cada una de las cebollas estudiadas. Los análisis se realizaron empleando para cada bulbo el promedio de estos dos datos.

4.3.5.- Cuantificación del picor

La evaluación de la pungencia o picor de la cebolla se realizó mediante el método de la cuantificación del ácido pirúvico producido enzimáticamente tras la rotura celular. En las células de

la cebolla existen compuestos alojados en diferentes orgánulos que se ponen en contacto cuando éstas se rompen, por ejemplo, en la masticación. Un subproducto de la primera reacción es el ácido pirúvico, que, sin ser responsable directo del picor, es un buen indicativo del mismo. La pungencia de las cebollas se determinó mediante cuantificación del ácido pirúvico. El método utilizado fue descrito por Schwimmer y Weston (1961) y modificado posteriormente por Boyhan y col. (1999).

En primer lugar se prepararon muestras de jugo de cada bulbo fresco mediante el prensado manual de una rodaja de la zona ecuatorial de aproximadamente 5 mm de grosor. El jugo obtenido se centrifugó para separar la fase semisólida. La muestra se congeló tras tomar una alícuota de 0.5 ml para la determinación de azúcares, que se conservó también congelada tras su dilución en agua milliQ (1:5) a -18 °C hasta el momento del análisis.

Para la cuantificación del ácido pirúvico, 100 μl de jugo se diluyeron en 3.9 ml de agua milliQ. A continuación, 30 μl de esa dilución se añadieron a una placa de microtitración junto con 50 μl de 2,4 dinitrofenilhidracina (0.0125 %) en HCl 2N y se incubó la placa durante 10 minutos a 37 °C. Transcurrido este tiempo, se añadieron 150 μl de NaOH 0.6N, produciéndose la reacción colorimétrica. La absorbancia se midió en un espectofotómetro (Multiskan® EX, Thermo Electro Corporation) a 420 nm. Los datos obtenidos se compararon con una recta de calibrado realizada previamente con piruvato sódico. Los resultados se expresaron como micromoles de ácido pirúvico por gramo de tejido fresco (μmoles/g).

4.4.- Análisis estadístico

Los resultados de las determinaciones efectuadas se sometieron a análisis estadísticos empleando el programa SPSS 15.0 (IBM). En primer lugar, se comprobó si los datos de las variables se ajustaban a una distribución normal teórica (p > 0,05), mediante el test estadístico de Kolmogorov-Smirnov. Además, se comprobó la homogeneidad de la varianza entre familias mediante el test de Levene (p > 0,05). Se realizaron análisis de varianza (ANOVAs) para estudiar el efecto de la parcela y de la familia en los parámetros de calidad determinados. Para la comparación de medias de las variables, cuyos datos mostraron una distribución normal y homocedasticidad, se empleó el análisis de Tukey-b, siendo los niveles de confianza del 95%, mientras que las variables sin homocedasticidad se estudiaron mediante el test T2 de Tamhane.

Se determinó la respuesta a la selección del contenido en ácido pirúvico o pungencia de la cebolla Fuentes de Ebro, R, como desviación de la media de la progenie de los individuos de las familias con menor pungencia con respecto a la media de la población control no seleccionada. De

Caracterización físico – química de familias seleccionadas para baja pungencia en Cebolla Fuentes de Ebro

obtuvo una estima de la heredabilidad en sentido amplio del carácter h², a partir del coeficiente R/S, donde S es el diferencial de selección, es decir, la diferencia entre a media de los progenitores seleccionados y la de la población original (Falconer, 1986). Para ello se usó la siguiente fórmula:

$$h^2 = (P'_1 - P'_0) / (P'_s - P_0)$$

Siendo:

h²: Heredabilidad en sentido amplio

P'₀: Media de la población control no seleccionada, en 2009.

P'₁: Media de la progenie de las familias menos picantes, en 2009.

P's: Media de los bulbos seleccionados como menos picantes, en 2007.

P₀: Media de la población original en 2007.

5.- RESULTADOS

Las dos parcelas de ensayo se recolectaron manualmente el 30 de julio de 2009. Los resultados en cuanto al rendimiento para cada familia y localidad se muestran en la Tabla 2. En promedio, las plantas cultivadas en la parcela ubicada en Fuentes de Ebro produjeron significativamente menos kg de cebollas que las cultivadas en la parcela del CITA ubicada en la localidad de Montañana (p < 0.001). En concreto, se recolectaron de media 26.0 ± 3.9 kg por subparcela en Montañana frente a los 12,6 ± 3,7 kg por subparcela en Fuentes de Ebro. Este menor rendimiento probablemente se debió al fuerte ataque de mosca de la cebolla (Delia antiqua) que tuvo lugar en dicha parcela y que produjo serios daños en los bulbos, por consiguiente, se vio afectado el rendimiento, dado que se recogieron menos bulbos comercialmente útiles (Tabla 2). El análisis de la varianza no encontró diferencias significativas entre las familias ensayadas en cada parcela (p = 0.115), pero sí una interacción significativa (p =0,004) entre la familia y la parcela, de manera que el comportamiento de las familias seleccionadas dependió de la parcela de ensayo. En concreto, en la parcela del CITA la producción de todas las familias fue similar (p = 0.058), mientras que en la parcela de Fuentes sí que se observaron diferencias significativas en la producción de las 13 familias ensayadas (p =0,019). Los rendimientos en esta localidad de las familias de medios hermanos oscilaron entre 9,0 ± 1,9 kg en la familia 5 y 17,2 kg ± 3,6 kg recolectados para la familia 4. Estas diferencias en el rendimiento pudieron ser debidas al estado fitosanitario de las plantas, particularmente en el ensayo de Fuentes, pero también a que el rendimiento de cada familia se viera afectado de forma distinta por las diferentes prácticas culturales realizadas en las dos parcelas, sobre todo en cuanto al riego (por goteo en Montañana y a manta en Fuentes de Ebro) y el abonado.

En cuanto al número de cebollas recolectadas en cada subparcela, este parámetro dependió de la localidad (p < 0,001) y de la familia (p < 0,001), así como de la interacción entre ambos factores (p = 0,031). Cuando se recolectaron más de 80 bulbos se debió a la formación de bulbos dobles, como en el caso de la parcela de Montañana, en la que se registró una media de $88,0 \pm 8,3$ cebollas por subparcela, mientras que la incidencia de plagas y enfermedades se tradujo en que se recolectaron menos de 80 bulbos en varias subparcelas de la parcela de Fuentes de Ebro, en la que se registraron en promedio $74,7 \pm 12,3$ bulbos. El número de bulbos por subparcela varió entre familias de medios hermanos únicamente en la localidad de Montañana (Tabla 2).

Tabla 2. Rendimiento (kg) y número de bulbos obtenidos para las 12 familias de medios hermanos seleccionadas por su mejor calidad en material vegetal de cebolla Fuentes de Ebro. Las plantas se cultivaron en parcelas experimentales situadas en dos localidades de la provincia de Zaragoza en 2009. Los datos son media y desviación típica de cuatro repeticiones. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no difirieron significativamente de acuerdo al test de Tukey-B.

	LOCALIDAD			
	Mon	tañana	ana Fuentes de	
FAMILIA	Rendimiento (kg)	Número de bulbos	Rendimiento (kg)	Número de bulbos
1	$28,4 \pm 2,2$	83,0 ± 4,3 c	10,5 ± 2,0 ab	69,7 ± 6,1
2	$25,7 \pm 1,7$	$85.8 \pm 5.4 \ bc$	14,6 ± 3,6 ab	61,5 ± 8,3
3	$25,0 \pm 2,0$	$77.0 \pm 5.6 c$	15,3 ± 2,1 ab	77,0 ± 2,6
4	$27,3 \pm 2,7$	95,7 ± 7,4 ab	17,2 ± 3,6 a	70,7 ± 11,0
5	$25,1 \pm 4,6$	100,5 ± 5,8 a	$9.0 \pm 1.9 b$	84,7 ± 15,8
6	$27,5 \pm 3,7$	$102,5 \pm 28,1 \text{ bc}$	9,5 ± 1,8 ab	77,0 ± 12,4
7	$24,2 \pm 2,1$	82,0 ± 1,4 c	11,8 ± 4,9 ab	78,5 ± 16,1
8	$20,7 \pm 2,2$	$85,5 \pm 3,3 \ bc$	13,3 ± 2,4 ab	77,7 ±14,6
9	$22,9 \pm 5,0$	$88,0 \pm 2,2 bc$	15,5 ± 4,6 ab	89,0 ± 17,0
10	$29,3 \pm 2,7$	85,7 ± 1,3 bc	12,1 ± 3,9 ab	68,2 ± 10,0
11	$25,4 \pm 6,0$	$87,2 \pm 3,8 \ bc$	11,2 ± 3,5 ab	67,2 ± 4,1
12	27.3 ± 3.4	82,7 ± 1,9 c	12,2 ± 1,7 ab	67,7 ± 2,2
No selecc.	28,7 ± 4,8	102,7 ± 8,7 a	11,2 ± 2,6 ab	82,0 ± 8,2
ANOVA	g.l.	Rendimiento	o N	úmero de bulbos
Parcela	1	4681,433 **		4604,46 **
Familia	12	17,763 NS		321,74 **
Parcela x Familia 12		30,799 * 149,35 *		149,35 *

NS: no significativo, * p < 0.05, ** p < 0.001

5.1.- Caracterización morfológica de los bulbos obtenidos.

5.1.1.- Peso medio

El peso medio de los bulbos recolectados en los ensayos (Tabla 3) dependió tanto de la parcela como de la familia seleccionada (ρ < 0,001). En concreto, en la parcela del CITA, se obtuvieron bulbos de mayor tamaño que en la parcela de Fuentes (343,8 ± 88,1 g frente a 234,9 ± 76,2 g, respectivamente). El análisis de la varianza detectó así mismo una interacción significativa

(p < 0.001) entre la familia y la parcela, de manera que el peso medio de las cebollas producidas por las plantas de cada familia dependió de la parcela de ensayo.

Tabla 3: Peso medio de las cebollas de 12 familillas de medios hermanos seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B.

	LOCALIDAD		
FAMILIA	Montañana	Fuentes de Ebro	
1	390,2 ± 83,5 a	196,2 ± 54,4 de	
2	$342,1 \pm 82,7 \text{ bcd}$	$248,9 \pm 77,1 bc$	
3	360,3 ± 84,9 abc	$263,3 \pm 60,8 b$	
4	343.8 ± 84.8 bcd	304,1 ± 71,7 a	
5	$320,0 \pm 79,7$ cde	191,0 ± 68,2 e	
6	352,8 ± 101,2 abc	194,2 ± 62,8 de	
7	341.8 ± 58.0 bcd	$224,2 \pm 79,5$ cd	
8	296,9 ± 75,8 e	$265.8 \pm 70.9 b$	
9	306,1 ± 85,0 de	$238,0 \pm 76,01$ bc	
10	367,7 ± 85,4 ab	$242,6 \pm 68,7 \text{ bc}$	
11	351,5 ± 100,7 abc	$235,0 \pm 86,0 bc$	
12	$347.0 \pm 76.0 \ bc$	$232,2 \pm 63,7 \text{ bc}$	
No seleccionada	349,1 ± 100,9 abc	217,7 ± 65,7 cd	
ANOVA	g.l.	Peso medio de los bulbos	
Parcela	1	6170221,1 **	
Familia	12	51451,758 **	
Parcela x Familia	12	79805,835 **	

NS: no significativo, * p < 0,05, ** p < 0,001

Las cebollas de menor tamaño se recolectaron de las familias 1, 5, 6 y 7 en la parcela ubicada en Fuentes, mientras que las de mayor peso se recolectaron en la parcela del CITA de las familias 1, 3, 6, 10 y 11. No se observaron diferencias significativas para el peso medio entre la mayor parte de las familias de medios hermanos y las cebollas producidas por las plantas de la familia no seleccionada.

5.1.2.- Forma

La forma de los bulbos, expresada como el índice de ahusamiento, dependió tanto de la parcela como de la familia seleccionada (p < 0.001, Tabla 4). Los bulbos producidos en la parcela del CITA mostraron en promedio una forma más aplanada (0.94 ± 0.11) y los de la parcela de Fuentes de Ebro ligeramente más ahusada (1.03 ± 0.10), aunque ambos valores estaban en torno a 1, lo que implica que fundamentalmente las cebollas producidas a partir del material vegetal seleccionado de la variedad Fuentes de Ebro mostraron forma esférica.

Tabla 4. Forma de las cebollas de 12 familillas de medios hermanos seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B.

	LOCALIDAD		
FAMILIA	Montañana	Fuentes de Ebro	
1	0,92 ± 0,09 a	1,04 ± 0,12 ef	
2	0,95 ± 0,10 ab	$1,00 \pm 0,11$ cde	
3	0,95 ± 0,13 ab	0,92 ± 0,10 a	
4	0,96 ± 0,10 abc	$1,05 \pm 0,08 \text{ ef}$	
5	0,94 ± 0,10 ab	0.98 ± 0.14 bcd	
6	$0.98 \pm 0.12 bc$	$0,97 \pm 0,10 bc$	
7	0.98 ± 0.09 bcd	1,06 ± 0,10 f	
8	1,06 ± 0,12 e	$1,03 \pm 0,10 \text{ def}$	
9	0,95 ± 0,11 ab	$1,03 \pm 0,10 \text{ def}$	
10	$1,01 \pm 0,11$ cd	$1,04 \pm 0,10 \text{ ef}$	
11	$1,03 \pm 0,12 de$	1,08 ± 0,11 f	
12	0,92 ± 0,09 a	0,95 ± 0,09 ab	
No seleccionada	0,94 ± 0,11 ab	1,03 ± 0,10 def	
ANOVA	g.l.	Forma	
Parcela	1	1,032 **	
Familia	12	0,226 **	
Parcela x Familia	12	0,089**	

NS: no significativo, * p < 0.05, ** p < 0.001

El análisis de la varianza además detectó interacción significativa entre la familia y la parcela (p < 0,001), de manera que la forma de las cebollas producidas por las distintas familias seleccionadas varió en función de la parcela de ensayo (Tabla 4).

5.2.- Caracterización química de los bulbos

5.2.1.- Pungencia

La pungencia de las cebollas analizadas, determinada como contenido en ácido pirúvico, dependió tanto de la familia (p < 0,001) como de la localidad donde se cultivaron (p < 0,001) pero la interacción entre ambos factores no fue significativa (p = 0,051), de manera que las plantas de cada familia de medios hermanos produjeron bulbos con niveles similares de pungencia en las dos parcelas de ensayo (Tabla 5). Las cebollas recolectadas en la parcela del CITA en Montañana mostraron en promedio contenidos en ácido pirúvico significativamente superiores (5,42 \pm 2,18 μ moles/g de peso fresco) a los obtenidos en los análisis realizados a las recolectadas en la parcela situada en Fuentes de Ebro (4,06 \pm 1,67 μ moles/g PF).

Los bulbos de las familias seleccionadas con menores contenidos en ácido pirúvico se detectaron en las plantas de las familias 1 y 2 en ambas parcelas de ensayo, en Montañana y en Fuentes de Ebro, mientras que, por el contrario, las cebollas recogidas en la familia 8 presentaron los mayores contenidos en ácido pirúvico, igualmente para ambas parcelas. Según la separación de medias y teniendo en cuenta los datos de las dos parcelas, los bulbos recolectados en plantas de las familias 1, 2, 3, 9 y 12 mostraron contenidos en ácido pirúvico significativamente inferiores a los de las cebollas producidas por plantas no seleccionadas.

Tabla 5: Contenido en ácido pirúvico de las cebollas de 12 familillas de medios hermanos seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación típica del contenido en ácido pirúvico (μmoles/g PF), de 4 réplicas con 20 bulbos cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B.

	LOCALIDAD		
FAMILIA	Montañana	Fuentes de Ebro	
1	3,89 ± 1,24 e	2,98 ± 1,00 d	
2	3,87 ± 1,99 e	$2,76 \pm 1,08 d$	
3	$4,81 \pm 2,13 \text{ cd}$	$3,79 \pm 1,43 c$	
4	5,99 ± 1,66 b	4,64 ± 1,51 ab	
5	5,91 ± 2,11 b	4,10 ± 1,60 bc	
6	$5,63 \pm 2,22 \text{ bc}$	$4,04 \pm 1,50 \text{ bc}$	
7	5,98 ± 1,91 b	4,59 ± 1,70 ab	
8	6,97 ± 1,98 a	5,02 ± 1,65 a	
9	$4,68 \pm 2,32 de$	$3,84 \pm 1,57$ c	
10	$5,34 \pm 2,11$ bcd	$3,75 \pm 1,49 c$	
11	5,90 ± 2,16 b	4,05 ± 1,69 bc	
12	$4,90 \pm 1,78 \text{ cd}$	$3,72 \pm 1,66 c$	
No seleccionada	6,52 ± 2,05 ab	5,44 ± 1,74 a	
ANOVA	g.l.	Contenido en ácido pirúvico	
Parcela	1	961,384 **	
Familia	12	110,258 **	
Parcela x Familia	12	5,510 NS	

NS: no significativo, * p < 0.05, ** p < 0.001

5.2.2.- Contenido en sólidos solubles

Los niveles de sólidos solubles de los bulbos producidos en el ensayo dependieron tanto de la parcela como de la familia (p < 0.001). En concreto, en la parcela del CITA, se obtuvieron bulbos de mayor contenido en sólidos solubles que en la parcela de Fuentes (5.41 ± 1.91 g frente a 4.06 ± 1.49 g, respectivamente). La interacción parcela x familia fue significativa: los niveles de sólidos solubles de las cebollas de cada familia fueron diferentes en las dos parcelas de ensayo. Las cebollas de las familias 1, 2 y 5 presentaron los menores niveles de sólidos solubles en la parcela de Fuentes, mientras que los bulbos con mayores contenidos en sólidos solubles fueron

producidos por las plantas de las familias 7, 9, 11 y 13 en la parcela de Montañana. Las diferencias entre las familias seleccionadas y las no seleccionadas fueron detectadas sobre todo en el ensayo realizado en Fuentes de Ebro, ya que las cebollas producidas por las familias 4, 8, 11 y 12 mostraron contenidos en sólidos solubles significativamente mayores, mientras que esta respuesta no se observó en ninguna familia seleccionada cuando se cultivaron en Montañana.

Tabla 6: Contenido en sólidos solubles (°Brix) de cebollas de 12 familillas de medios hermanos seleccionados en la variedad Fuentes de Ebro y cultivados en dos localidades. Los datos son media y desviación estándar de cuatro repeticiones con 20 bulbos cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B.

	LOCALIDAD		
FAMILIA	Montañana	Fuentes de Ebro	
1	$6,04 \pm 0,65$ cd	5,02 ± 0,56 e	
2	$6,20 \pm 0,76$ cd	5,01 ± 0,58 e	
3	$6,06 \pm 0,91$ cd	$5,44 \pm 0,72 d$	
4	$6,36 \pm 0,86$ bc	5,80 ± 0,72 abc	
5	$6,09 \pm 0,83$ cd	5,11 ± 0,64 e	
6	$5,96 \pm 0,72 d$	$5,44 \pm 0,74 d$	
7	6,73 ± 0,89 ab	5,75± 0,80 bcd	
8	$6,40 \pm 0,91$ bc	6,02 ± 0,77 ab	
9	6,64 ± 0,84 ab	$5,64 \pm 0,67$ cd	
10	$6,04 \pm 0,78$ cd	$5,52 \pm 0,70$ cd	
11	6,87 ± 0,79 a	$6,13 \pm 0,80 a$	
12	$6,38 \pm 0,83$ bc	6,00 ± 0,68 ab	
No seleccionada	6,58 ± 0,92 abc	5,45 ± 0,69 d	
ANOVA	g.l.	Contenido en sólidos solubles	
Parcela	1	308,539 **	
Familia	12	14,993 **	
Parcela x Familia	12	3,327 **	

NS: no significativo, * p < 0.05, ** p < 0.001

5.3.- Otros parámetros de calidad

5.3.1.- Firmeza

La firmeza de los bulbos (Tabla 7) dependió tanto de la parcela como de la familia seleccionada, así como de la interacción entre ambos factores (p < 0,001), de manera que la firmeza de las cebollas producidas por cada familia de medios hermanos varió en las dos parcelas de ensayo.

Tabla 7: Firmeza de los bulbos de plantas de cebolla Fuentes de Ebro que se cultivaron en dos parcelas en dos localidades de la provincia de Zaragoza. Los datos son media y desviación estándar de la firmeza expresada en kg/cm² de cuatro repeticiones en las que se muestrearon 20 bulbos de cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B.

	LOCALIDAD		
FAMILIA	Montañana	Fuentes de Ebro	
1	4,15 ± 0,95 f	3,76 ± 0,71 d	
2	$4,25 \pm 0,99 f$	$4,00 \pm 0,90$ bcd	
3	4,26 ± 0,65 f	4,24 ± 0,89 abc	
4	$4,83 \pm 0,65$ cd	$4,40 \pm 0,70 a$	
5	$4,82 \pm 0,97$ cde	$3,75 \pm 0,72 d$	
6	$4,44 \pm 0,75 \text{ def}$	$3,90 \pm 0,69 \text{ cd}$	
7	5,35 ± 1,18 ab	$4,39 \pm 0,78 a$	
8	5,55 ± 1,33 a	$4,40 \pm 0.87$ a	
9	$5,06 \pm 0,92 bc$	4,06 ± 0,75 abcd	
10	$4,35 \pm 0,91 \text{ ef}$	4,16 ± 0,88 abc	
11	$5,03 \pm 1,20 \text{ bc}$	$4,34 \pm 0,70$ ab	
12	$4,80 \pm 0,82$ cde	4,12 ± 0,77 abcd	
No seleccionada	4,47 ± 1,23 def	4,05 ± 0,74 abcd	
ANOVA	g.l.	Firmeza	
Parcela	1	186,208 **	
Familia	12	14,911 **	
Parcela x Familia	12	5,190 **	

NS: no significativo, * p < 0,05, ** p < 0,001

En promedio, las cebollas recolectadas en el CITA mostraron niveles de firmeza significativamente superiores a los de las cebollas de la parcela de Fuentes $(4,57 \pm 0,96)$ frente a $4,33 \pm 0,77$ kg/cm², respectivamente). Estas variaciones, sin embargo, no implicaron diferencias significativas para la firmeza de los bulbos producidos en Fuentes de Ebro por las familias procedentes de madres seleccionadas y la familia de plantas no seleccionadas. En el ensayo realizado en la parcela del CITA sí que se observaron diferencias significativas para la firmeza entre las cebollas de la familia no seleccionada y las producidas por plantas de las familias 7, 8, 9 y 11.

5.3.2.- Puntos germinativos

Las cebollas producidas en nuestro ensayo mostraron un número de puntos germinativos variable, en función tanto de la parcela como de la familia (p < 0,001). El análisis de la varianza detectó así mismo una interacción significativa (p = 0,001) entre la familia y la parcela, de manera que el comportamiento de las familias seleccionadas dependió de la parcela de ensayo. La mayor parte de los bulbos analizados en las plantas de las 12 familias seleccionadas mostraron un único punto germinativo, con un valor promedio de 1,44 \pm 0,55 puntos germinativos/bulbo para la parcela del CITA y 1,17 \pm 0,40 puntos germinativos/bulbo para la parcela de Fuentes.

Tabla 8: Puntos germinativos de cebolla Fuentes de Ebro que se cultivaron en dos parcelas en dos localidades de la provincia de Zaragoza. Los datos son media y desviación estándar de cuatro repeticiones con 20 bulbos cada una. Para cada parcela, valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey-B.

	LOCALIDAD		
FAMILIA	Montañana	Fuentes de Ebro	
1	1,78 ± 0,75 a	1,01 ± 0,11 d	
2	1,59 ± 0,67 ab	$1,13 \pm 0,40$ cd	
3	1,58 ± 0,84 ab	$1,24 \pm 0,46$ bc	
4	1,58 ± 0,69 ab	1,35 ± 0,53 ab	
5	$1,38 \pm 0,58$ bc	$1,09 \pm 0,28 \text{ cd}$	
6	$1,33 \pm 0,52$ bc	$1,04 \pm 0,19 \text{ cd}$	
7	$1,40 \pm 0,67$ bc	$1,13 \pm 0,37$ cd	
8	$1,20 \pm 0,43 c$	1,40 ± 0,56 ab	
9	1,79 ± 0,79 a	1,44 ± 0,73 a	
10	1,11 ± 0,39 c	1,01 ± 0,11 d	
11	$1,40 \pm 0,61$ bc	$1,14 \pm 0,38$ cd	
12	$1,14 \pm 0,35 c$	$1,10 \pm 0,37$ cd	
No seleccionada	$1,36 \pm 0,58$ bc	$1,10 \pm 0,34$ cd	
ANOVA	g.l.	Puntos germinativos	
Parcela	1	36,623 **	
Familia	12	3,500 **	
Parcela x Familia	12	1,990 **	

NS: no significativo, * p < 0.05, ** p < 0.001

5.4.- Correlaciones

Se estudiaron las posibles correlaciones entre los distintos parámetros determinados en las cebollas, mediante la estimación de los coeficientes de correlación de Pearson (Tabla 9). En base a estos resultados, se encontró que las cebollas de mayor peso mostraron en promedio mayores niveles de firmeza, sólidos solubles y pungencia, aunque en este último caso el coeficiente estimado fue muy bajo. Las cebollas de mayor peso presentaron también mayor número de puntos germinativos y una forma más aplanada. Las cebollas con mayores niveles de pungencia mostraron mayores contenidos en sólidos solubles (p < 0,001) y también mayores niveles de firmeza (p < 0,001).

Tabla 9: Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables relacionadas con la calidad que fueron determinadas en cebollas producidas por plantas de la variedad Fuentes de Ebro seleccionadas para baja pungencia.

	PESO	FORMA	FIRMEZA	P.GERMINATIVOS	S.SOLUBLES
PESO	1				
FORMA	-0,135**	1			
FIRMEZA	0,205**	0,039NS	1		
P. GERMINATIVOS	0,291**	-0,123**	0,099**	1	
S. SOLUBLES	0,220**	0,068**	0,365**	0,166**	1
PUNGENCIA	0,089**	0,049*	0,220**	0,068**	0,313**

NS, no significativa; * p < 0.05; ** p < 0.01

5.5.- Respuesta a la selección y heredabilidad de la pungencia

Las cebollas producidas por las plantas de las 12 familias de medios hermanos mostraron un contenido promedio en ácido pirúvico de 3,9 μ moles/g PF, mientras que la media de las plantas no seleccionadas fue de 5,4 μ moles/g PF. Por tanto, tras un ciclo de selección la ganancia genética obtenida en el material vegetal de Fuentes de Ebro, o respuesta a la selección (R), fue de -1,5 μ moles/g PF. Dado que el diferencial de selección aplicado en 2007 fue S = -2 μ moles/g PF, puesto que el promedio de la población cultivada fue de 5,7 μ moles/g PF y el promedio de las 12 madres seleccionadas fue de 3,7 μ uoles/g PF, se pudo estimar una heredabilidad realizada en el material vegetal de Fuentes de Ebro de μ 0 = R/S = 0,75.

6.- DISCUSIÓN

Las 12 familias de medios hermanos obtenidas por selección para cuatro características de calidad del bulbo (pungencia, contenido en sólidos solubles, firmeza y peso) en el material vegetal de cebolla Fuentes de Ebro se cultivaron en 2009 y produjeron mayores rendimientos en la parcela ubicada en Montañana, en las instalaciones del CITA, en la que se empleó riego localizado, que cuando se cultivaron en una parcela de la localidad de Fuentes de Ebro, donde el riego fue tradicional, a manta. En esta parcela se obtuvieron menores rendimientos medios y se observaron diferencias significativas en la producción de las diferentes familias, mientras que el rendimiento de las 12 familias en la parcela de Montañana fue similar. La producción de cebolla depende en gran medida de factores como la densidad de plantación y el manejo del abonado a lo largo del ciclo de la planta, así como de la incidencia de plagas y enfermedades. En el ensayo, el manejo de las dos parcelas fue diferente en cuanto a riego y abonado, y además las plantas cultivadas en la localidad de Fuentes de Ebro se vieron afectadas por un fuerte ataque de mosca (*Delia antiqua*). Estos factores explicarían las diferencias en rendimiento observadas entre ambas parcelas de ensayo.

En cuanto a las características de calidad de las cebollas producidas, las procedentes de plantas cultivadas en la parcela del CITA mostraron mayor peso medio y también mayores contenidos en ácido pirúvico y en sólidos solubles que las de plantas cultivadas en Fuentes. Esto pudo ser debido a las distintas condiciones de manejo agronómico, como se ha mencionado, sobre todo en cuanto al aporte del riego, y también a los mayores niveles de NO₃ y S que se detectaron en el análisis de suelo de la parcela del CITA frente a los niveles del suelo de la parcela de Fuentes: 77 mg/kg frente a 14 mg/kg de NO₃ y 256 ppm frente a 177 ppm de S. Estos dos nutrientes influyen de manera muy significativa en los contenidos de compuestos organosulfurados de las cebollas (Coolong y Randle, 2003a; McCallum y col., 2005).

Las cebollas de las familias de medios hermanos evaluadas mostraron diferencias significativas en el contenido de ácido pirúvico, con independencia de la parcela de ensayo. Los menores niveles se determinaron en las cebollas de las familias 1, 2, 3, 9 y 12, que mostraron en los dos ensayos contenidos en ácido pirúvico significativamente inferiores a los determinados en las cebollas de las plantas no seleccionadas. Por el contrario, las cebollas recogidas en la familia 8, tanto de la parcela del CITA como de la parcela de Fuentes de Ebro, presentaron los mayores contenidos en ácido pirúvico. La respuesta a la selección para menor contenido en ácido pirúvico dependió por lo tanto de la familia. En cuanto a la heredabilidad del carácter en este material vegetal, se obtuvo una estima ligeramente superior a la calculada en un trabajo previo, en

concreto 0,75 frente a 0,69 (Mallor y col., 2011). Estos valores son similares a los referidos por otros autores en otras variedades de cebolla (Lin y col., 1995; Simon, 1995).

En la selección de las plantas se tuvo en cuenta también el contenido en sólidos solubles y la firmeza, dos parámetros que están correlacionados con la pungencia, de forma que la selección de cebollas menos picantes suele implicar que el material obtenido muestre menores niveles de sólidos solubles y también menor firmeza (McCallum y col., 2006; Mallor y col., 2011). Estas correlaciones se detectaron de hecho en las cebollas analizadas en este trabajo (0,313, p < 0.01 y 0,220 p < 0,01 respectivamente). Probablemente debido a esta desfavorable correlación, la selección de bulbos con mayor contenido en sólidos solubles y con mayor firmeza entre los de menor pungencia no se tradujo en un avance genético significativo en las familias obtenidas, ya que solo las familias 4, 8, 11 y 12 cuando se cultivaron en la parcela de Fuentes de Ebro mostraron contenidos en sólidos solubles significativamente superiores a los de las cebollas no seleccionadas. Resultados similares se observaron en cuanto a la firmeza de las cebollas seleccionadas, ya que solo los bulbos de las familias 7, 8, 9 y 11 mostraron niveles de firmeza significativamente superiores a los de las cebollas control, y únicamente cuando se cultivaron en la parcela del CITA en Montañana. Las familias que mostraron contenidos en ácido pirúvico significativamente inferiores a los de la semilla no seleccionada presentaron en la mayor parte de los casos contenidos en sólidos solubles y niveles de firmeza similares a los de las cebollas de las plantas control.

Finalmente, en la selección de los bulbos se había tenido en cuenta también el peso, ya que la selección para baja pungencia se traduce en una selección indirecta para el mayor tamaño de la cebolla, lo cual se aleja de las preferencias del mercado. De forma similar a lo observado para el contenido en sólidos solubles y la firmeza, en general del peso de los bulbos de las familias que mostraron los menores niveles de pungencia no fue significativamente superior al de las cebollas producidas por las plantas control.

En base a los resultados de este trabajo, se seleccionaron las familias 1 y 2 como material vegetal más adecuado para continuar con el proceso de evaluación y selección de la variedad. Los medios bulbos se plantaron en 2010 y en 2011 se realizó un nuevo ensayo en el que se compararon las semillas de estas familias con el material original de cebolla Fuentes de Ebro conservado en el Banco de Germoplasma de Hortícolas de Zaragoza y con material comercial. Los resultados de este ensayo corroboraron la eficacia del programa de selección realizado, ya que se obtuvieron plantas que produjeron cebollas más dulces $(3,5 \pm 1,2 \mu moles/g PF, en promedio)$ que el material comercial y que el no seleccionado $(4,9 \pm 2,2 \text{ y } 4,6 \pm 1,6 \mu moles/g PF, respectivamente)$. Los resultados de este trabajo, junto con los de la evaluación de las 12 familias

de medios hermanos que se presenta en este Trabajo Fin de Carrera se recogieron en una publicación en la revista Scientia Horticulturae (Mallor y Sales, 2012). Además, los resultados de este Trabajo Fin de Carrera fueron presentados en el V Congreso de Mejora Genética de Plantas, celebrado en Madrid en julio de 2010 (Mallor y coll., 2010).

En la campaña 2012 se realizaron ensayos demostrativos a escala comercial con la semilla obtenida de las dos familias en la localidad de Fuentes de Ebro. En estos ensayos las selecciones presentaron unos buenos niveles de picor o pungencia, inferiores a la población no seleccionada, sin embargo, la producción fue inferior a los controles, con una disminución entre un 20% y un 25%, lo que pudo deberse a la marcada depresión por consanguinidad que presenta esta especie alógama.

La cebolla produce flores fértiles y normalmente predomina la polinización cruzada. Sin embargo, estas plantas son perfectamente capaces de autofecundarse. En esta especie, las anteras de las flores individuales maduran y liberan el polen antes de que los estigmas sean completamente receptivos, lo que se denomina protandría o proterandria. Si consideramos que la cebolla puede tener hasta 1.000 flores por umbela y que la apertura de las diferentes flores se puede prolongar durante dos a cuatro semanas, es fácil que el polen fecunde el estigma receptivo de una flor más desarrollada de la misma inflorescencia. Por lo tanto, la protandría es una barrera parcial frente a la autopolinización. En los campos de producción de semilla de cebolla al aire libre, se produce un 75-90% de semillas por polinización cruzada. Mientras que, en ciertas condiciones, por ejemplo, en las jaulas de malla que han sido utilizadas en este programa de mejora para aislar las plantas de los insectos portadores de polen no deseado, el grado de polinización cruzada puede disminuir hasta sólo el 23-56%, porque las moscas suelen ser menos activas bajo estas condiciones. El vigor y la tasa de supervivencia de las plántulas derivadas de autopolinización son mucho menores que en las procedentes de polinización cruzada. Las selecciones de cebolla obtenidas en el programa de mejora probablemente están manifestando esta depresión por consanguinidad, que es común en las especies alógamas.

Con el fin de solucionar este inconveniente y recuperar el vigor de las plantas, en la campaña 2013 se regeneraron las selecciones mediante la plantación de los bulbos madre en parcelas al aire libre, para favorecer la fecundación cruzada, y mezclando los bulbos de las dos selecciones, ya que ambas habían demostrado un buen comportamiento, con el fin de recuperar el vigor híbrido. La semilla obtenida de este material vegetal es la que se evaluó en las campañas 2014 y 2015 con resultados satisfactorios.

Esta semilla seleccionada fue transferida al Consejo Regulador de la Denominación de Origen Protegida "Cebolla Fuentes de Ebro" para su utilización a nivel comercial. El Consejo Regulador tiene el título de productor-multiplicador de semillas de plantas hortícolas del Centro de Semillas y Plantas de Vivero, con nº de pasaporte fitosanitario ES/02/50-0462, para poder abastecer a los agricultores inscritos en la Denominación de Origen de semilla de categoría estándar, ya que es un requisito que marca el Pliego de Condiciones de la DOP.

Una vez finalizado el programa de mejora de la variedad Fuentes de Ebro, se ha continuado trabajando en el CITA con el material vegetal seleccionado, con vistas a su aprovechamiento como fuente de genes de interés para la mejora de la calidad de las cebollas destinadas a consumo en fresco. En concreto se han realizado trabajos de búsqueda de genotipos androestériles mediante marcadores moleculares ligados a estos genes (López-Villalba, 2014) y en el desarrollo de líneas doble haploides (Fayos y col., 2015).

7.- CONCLUSIONES

- Se observaron diferencias en el comportamiento del material vegetal en estudio entre las dos parcelas de ensayo. La parcela de Montañana fue más productiva que la de Fuentes de Ebro, presentando además bulbos de mayor peso medio y mayores contenidos en ácido pirúvico y en sólidos solubles, lo que se relacionó con diferencias en el manejo del cultivo, riego y abonado principalmente, en el estado fitosanitario de las plantas, así como en las condiciones edafoclimáticas.
- El material cultivado en la zona tradicional de cultivo (Fuentes de Ebro) presentó niveles significativamente inferiores de pungencia, indicando que, aunque el conjunto de sabor y aroma de la cebolla se encuentra determinado genéticamente, puede ser modificado por el ambiente en el cual se desarrollan las plantas y por las técnicas culturales. Estos resultados que vinculan las características de esta cebolla con el territorio, se incluyeron en la documentación aportada para la tramitación de la Denominación de Origen Protegida.
- Los contenidos en ácido pirúvico de las cebollas producidas por las plantas de las doce familias de medios hermanos seleccionadas presentaron diferencias significativas en función de la familia, confirmando el efecto del genotipo en este carácter. En concreto nueve de las doce familias mostraron niveles significativamente inferiores a los de la familia no seleccionada cuando se evaluaron en la zona tradicional de cultivo, y cinco de ellas (1, 2, 3, 9 y 12) mantuvieron este comportamiento también en la parcela de Montañana.
- El avance genético conseguido para los otros caracteres de calidad considerados en la selección (contenido en sólidos solubles, firmeza y peso medio) fue mucho menor, posiblemente debido a la desfavorable correlación que muestran estos caracteres con la pungencia.
- Los resultados obtenidos de la evaluación de las 12 familias permitieron seleccionar las familias 1 y 2 como material vegetal más adecuado, principalmente por su baja pungencia, presentando los demás parámetros valores similares al resto de las familias. Siguiendo el método de selección genealógico, en la parcela de ensayo ubicada en Fuentes de Ebro (zona tradicional de cultivo), se seleccionaron los mejores bulbos de estas dos familias, con el fin de obtener semilla y continuar con el proceso de evaluación y selección de la Cebolla Fuentes de Ebro.

• La respuesta a la selección obtenida permitió estimar la heredabilidad del carácter como h² = 0,75, estima ligeramente superior a lo referido en la bibliografía y que supone un importante avance en la mejora de la variedad en un solo ciclo de selección. La variación fenotípica detectada entre familias y dentro de familias, abre la posibilidad de seguir mejorando este material vegetal, contando con una relevante componente genética de la variación que permite predecir un avance significativo en este proceso, esto es, conseguir una variedad de menor pungencia y mayor uniformidad con pocos ciclos de selección.

8.- REFERENCIAS

- Augusti K.T. 1996. Therapeutic values of onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.). Indian Journal of Experimental Biology, 34: 634-640.
- Barry S. 1987. Garlic (*Allium sativum L.*) and onion (*Allium cepa L.*): a review of their relationship to cardiovascular disease. Preventive Medicine, 16: 670-680.
- Bang H., Cho D.Y., Yoo K., Yoon M., Patil B.S., Kim S. 2011. Development of simple PCR-based markers linked to the Ms locus, a restorer-of-fertility gene in onion (*Allium cepa* L.). Euphytica, 179: 439-449
- Bianchini F., Vainio H. 2001. *Allium* vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer? Environmental Health Perspectives, 109: 893-902.
- Block E. 1985. The chemistry of onions and garlic. Scientific American, 252: 94-99.
- Boyhan G.E., Schmidt N.E., Woods F.M., Himelrick D.G., Randle W.M. 1999. Adaptation of a spectrophotometric assay for pungency in onion to a microplate reader. Journal of Food Quality, 22: 225-233.
- Brewster J.L. 2001. Las cebollas y otros alliums. Editorial Acribia S.A., Madrid.
- Brewster J.L. 1994. Onions and other vegetable Alliums. CAB International, Wallingford, UK. 236.
- Carravedo M., Mallor C. 2007. Variedades autóctonas de cebollas españolas conservadas en el Banco de Germoplasma de Especies Hortícola de Zaragoza. Centro de Investigación de Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Gobierno de Aragón, Zaragoza, España. 382.
- Coolong T.M., Randle, W.M. 2003a. Sulfur and nitrogen availability interact to affect the flavor biosynthetic pathway in onion. Journal of the American Society for Horticulture Science, 128: 776-783.
- Coolong T.M., Randle W.M. 2003b. Temperature influences flavor intensity and quality in "Granex 33" onion. Journal of the American Society for Horticulture Science, 128: 176-181.
- Crowther T., Collin H.A., Smith B., Tomaset A. B., O' Connor D., Jones M.G. 2005. Assessment of the flavour of fresh uncooked onions by taste-panels and analysis of flavour precursors, pyruvate and sugars. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85: 112-120.
- Curranh L. y Ockenden, D.J. (1983). Onion pollination by blowflies and honeybees in large cages. Annals of Applied Biology, 103: 497-506.

- De Souza, L.F.G.a, Filho, A.B.C.a,b, de Túlio, F.A.a, Nowaki, R.H.D.a Effect of sulphur dose on the productivity and quality of onions (2015) Australian Journal of Crop Science, 9 (8), pp. 728-733.
- Dowker B.D., Horobin J.F. Crowther, T.C., Fennell J.F.M. 1984. Breeding of improved open pollinated populations of spring sown onions. Journal of Agricultural Science. Cambrige, 102: 615-623.
- El-Shafie M.W. y Davis G.N. 1967. Inheritance of bulb colour in the onion (*Allium cepa L.*) Hilgardia, 38: 607-622.
- Falconer D.S. 1986. Introducción a la genética cuantitativa. CECSA, México DF, México.
- Fayos O., Vallés M.P., Garcés-Claver A., Mallor C., Castillo A.M. 2015. Doubled haploid production from Spanish onion (*Allium cepa* L.) germplasm: embryogenesis induction, plant regeneration and chromosome doubling. Frontiers in Plant Science 6, 384.
- Feller C., H. Bleiholder L. Buhr H. Hack M. Hess R. Klose U., Meier R, Stauss T. Van Den Boom E. Weber. 1995a. Phänologische Entwicklungsstadien von Gemüsepflanzen: I. Zwiebel-, Wurzel-, Knollen- und Blattgemüse. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 47, 193-206.
- Freeman G.C. y Mossedeghi N. 1973. Studies on the relationship between water regime and flavour strength in water cress (*Rorippa nasturtium-aquaticum* [L] Hayeck), cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) and onion (*Allium cepa*). Journal of the American Society for Horticulture Science, 48: 365-378.
- Galmarini C.R., Goldman I.L., Havey M.J. 2001. Genetic analyses of correlated solids, flavour and health-enhancing traits in onion (*Allium cepa L.*). Molecular Genetics and Genomics, 265: 543-551.
- Gao C.M., Takezaki T., Ding J.H., Li M.S., Tajima K. 1999. Protective effect of *Allium* vegetables against both esophageal and stomach cancer: a simultaneous case-referent study of high-epidemic area in Jiangsu Province, China. Jpn. J. Cancer Res., 18: 553-606.
- Goldman I.L., Schoeck G. 2001. History of public onion breeding programs in the United States. Plant Breeding Reviews, 20: 67-103.
- González-Pérez S., Mallor C., Garcés-Claver A., Merino F., Taboada A., Rivera A., Pomar F., Perovic D., Silvar C. 2015. Exploring genetic diversity and quality traits in a collection of onion (*Allium cepa L.*) landraces from North-West Spain (2015) Genetika, 47: 885-900.
- Hamilton B.K., Yoo K.S., Pike L.M. 1998. Changes in pungency of onions by soil type, sulphur nutrition and bulb maturity. Scientia Horticulturae, 74: 249-256.

- Hang T.T., Shigyo M., Yaguchi S., Yamauchi N., Tashiro Y. 2004. Efffect of single alien chromosome from shallot (*Allium cepa L.* Aggregatum group) on carbohydrate production in leaf blade of bunching onion (*A. fistulosum L.*) Genes and Genetic Systems, 79: 345-350.
- Havey M.J. 1999. Advances in new *Alliums*. En: Perspectives on new crops and new uses (Janick J. Ed.). ASHS Press. Alexandria, VA. 374-378.
- Hising A.W., Chokkalingam A.P., Gao Y.T., Madigan P., Deng J., Gridley G., Fraumeni J.E. 2002. *Allium* vegetables and the risks of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia: a population-based study. Journal of Natural Cancer Institute, 94: 1648-1651.
- Hu J., La Vecchia C., Negri E., Chatenoud L., Bosett, C., JIA, X., Liu R., Huang G., Bi D., Wang C. 1999. Diet and brain cancer in adults: a case-control study in northeast China. Int. J. Cancer, 81: 20-23.
- Ianni F., Marinozzi M., Scorzoni S., Sardella R., Natalini B. Quantitative evaluation of the pyruvic acid content in onion samples with a fully validated high-performance liquid chromatography method (2016) International Journal of Food Properties, 19 (4), pp. 752-759.
- Inden H. y Asahira T. 1990. Japanese bunching onion (*Allium* fistulosum L.). En: Onions and Allied Crops Vol. 3 (Rabinowitch HD y Brewster JL, Eds.). CRC Press. Boca Raton. Florida: 159-178.
- Jones H.A. y Clarke A.E. 1943. Inheritance of male sterility in the onion and the production of Hibrid seed. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 43: 189-194.
- Jones H.A. y Mann L.K. 1963. Onions and Their Allies. Leonard Hill. London.
- Jones M.G., Hughes J., Tregova A., Milne, J., Tomsett A.B., Collin H.A. 2004. Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic. Journal of Experimental Botany, 55:1903-1918.
- Kim S., Kim M.S., Kim Y.M., Yeom, S., Cheong K., Kim K.T., Jeon J., Kim S., Kim D.S., Sohn S.H., Lee Y.H., Choi D. 2015. Integrative structural annotation of de novo RNA-Seq provides an accurate reference gene set of the enormous genome of the onion (*Allium cepa* L.). DNA Research, 22:19-27.
- Khosa J.S., McCallum J., Dhatt A.S., Macknight R.C. 2016. Review Enhancing onion breeding using molecular tools. Plant Breeding, 135, 9–20.
- Lancaster J.E., Boland M.J. 1990. Flavor biochemistry. En: Rabinowitch, H.D. y Brewster, J.L. (eds). Onions and Allied Crops. Vol. 3. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida: 33-72.
- Lanzotti V., Bonanomi G., Scala F. 2013. What makes *Allium* species effective against pathogenic microbes? Phytochemistry Reviews, 12: 751-772.

- Lee, E.J., Patil, B.S., Yoo, K.S. 2015. Antioxidants of 15 onions with white, yellow, and red colors and their relationship with pungency, anthocyanin, and quercetin. LWT Food Science and Technology, 63:108-114.
- Leskovar D., Agehara, S., Yoo K., Pascual-Seva N. 2012. Crop coefficient-based deficit irrigation and planting density for onion: Growth, yield, and bulb quality. HortScience, 47: 31-37.
- Llamazares A., Perez L.P. 2003. Parámetros que caracterizan a la cebolla (II). Informaciones Técnicas, Dirección General de Tecnología Agraria, Gobierno de Aragón Nº 127, 11.
- Lin M. Watson, J.F., Bagget J.R. 1995. Inheritance of soluble solids and pyruvic acid content of bulb onions. Journal of the American Society of Horticultural Science, 120: 119-122.
- López-Villalba, J.L. 2014. Validación de marcadores moleculares asociados a la androesterilidad en cebolla (*Allium cepa* L.). Aplicación a la selección en poblaciones mejoradas de Cebolla Fuentes de Ebro. Trabajo Fin de Carrera de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Zaragoza.
- Luo C. y Ewart L.C. 1997. Analysis, evaluation and improvement of flavour traits in long-day onions germplasm. *Allium* Improvement Newsletter, 7: 4-6.
- Mallor C., Balcells M., Mallor F., Sales E. 2011. Genetic variation for bulb size, soluble solids content and pungency in the Spanish sweet onion variety Fuentes de Ebro. Response to selection for low pungency. Plant Breeding, 130: 55-59.
- Mallor C., Carravedo M., Estopañan G., Mallor F. 2011b. Characterization of genetic resources of onion (*Allium cepa* L.) from the Spanish secondary centre of diversity. Spanish Journal of Agricultural Research 9: 144-145.
- Mallor C., LLamazares A., Gutiérrez M., Bruna P., Mallor F., Arnedo M.S., Alvarez J.M. 2007. Evaluación morfológica, de pungencia y contenido en sólidos solubles de la cebolla 'Fuentes de Ebro'. ITEA, 103: 212-223.
- Mallor C., LLamazares A., Gutiérrez M. 2008. Cebolla Fuentes de Ebro: Estudios sobre la calidad del material vegetal en Aragón. Informaciones Técnicas, Dirección General de Tecnología Agraria, Gobierno de Aragón. Nº 194, 7.
- Mallor C., Francés P., Sales E. 2010. Comportamiento de las familias de cebolla Fuentes de Ebro seleccionadas para baja pungencia. Actas de Horticultura, 55: 215-216.
- Mallor C., Sales E. 2012. Yield and traits of bulb quality in the Spanish sweet onion cultivar 'Fuentes de Ebro' after selection for low pungency. Scientia Horticulturae, 140: 60-65.
- Maroto J.V. 2002. Horticultura herbácea especial (5ª edición). Ediciones Mundi prensa, Madrid.

- McCallum J., Clarke A., Pither-Joyce M., Shaw M., Butler R., Brash D., Scheffer J., Sims I., Vanheusden S., Shigyo M., Havey M.J. 2006. Genetic mapping of a major gene affecting onion bulb fructan content. Theoretical and Applied Genetics, 112: 958-967.
- McCallum J., Pither-Joyce M., Shaw M., Kenel F., Davis S., Butler R., Scheffer J., Jakse J., Havey MJ. 2007. Genetic mapping of suphur assimilation genes receals a QTL for onion pungency. Theoretical an Applied Genetics, 114: 815-822.
- McCallum J., Porter N., Searle B., Shaw M., Bettjeman B., McManus M. 2005. Sulfur and nitrogen fertility affects flavour of field-grown onions. Plant and Soil 269: 151–158.
- McCallum J., Thomas L., Shaw M., Pither-Joyce M., Leung S., Cumming M., McManus M.T. 2011. Genotypic variation in the sulfur assimilation and metabolism of onion (*Allium cepa* L.) I. Plant composition and transcript accumulation. Phytochemistry, 72: 882-887.
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medioambiente. 2016. Anuario de Estadística Agraria 2016. Avances de superficies y producciones de cultivos. Resultados agosto 2017. http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos/. 23 de octubre de 2017.
- Namesny A. 1996. Post-recolección de hortalizas. Vol. II. Bulbos, tuberculos, rizomas... Compendios de Horticultura, 7.
- Platenius H., Knott J.E. 1941. Factors affecting onion pungency. Journal of Agricultural Resarch, 62: 371-379.
- Poulsen N. 1990. Chives (*Allium schoenoprasum* L.) En: Onions and Allied Crops Vol. 3 (Rabinowitch HD y Brewster JL, Eds.). CRC Press. Boca Raton. Florida, 321-250.
- Shigyo M. y Kirk C. 2008. Onion. En: Prohens J., Nuez F. 2008. Vegetables II. Fabaceae, liliaceae, Solanaceae and Umbeliferae, 122-159.
- Randle W.M., Bussard M.L. 1993. Pungency and sugars of short-day onions as affected by sulphur nutrition. Journal of the American Society of Horticultural Science, 118: 766-770.
- Randle W.M. 1997. Onion flavour chemistry and factors influencing flavour intensity. En: Spices: Flavour chemistry and antioxidant properties (Risch S.J., Ho C. y Wash D.C., Eds.). American Chemical Society, 41-52.
- Randle W.M., Kopsell D.A., Kopsell D.E., Snyder R.L., Torrance R. 1998. Field sampling short-day onions for bulb pungency. HortTechnology, 8: 329-332.
- Roberts J., 2001. Cabbages & kings the origins of fruits & vegetables. Harper Collins Publishers Ltd. London, United Kingdom.

- Rodrigues A.S., Fogliano V., Grazianl G., Mendes S., Vale A.P., Gonçalves C. 2003. Nutritional value of onion regional varieties in northwest Portugal. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 2: 6.
- Rose P., Whiteman M., Moore P.K., Zhu Y.Z. (2005). Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents. Natural Products Reports, 22: 351-368.
- Santas J., Almajano M.P., Carbó R. Onion A natural alternative to artificial food preservatives. 2010. Agro Food Industry Hi-Tech, 21 (5), 44-46.
- Schwimmer S., Weston W.J. 1961. Enzymatic development of pyruvic acid as a measure of pungency. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 9: 301-304.
- Segovia F., Almajano M.P. 2012. Onion consumption and Health, 91-120.
- Sharma K.A., Lee Y.R. 2016. Effect of different storage temperature on chemical composition of onion (*Allium cepa* L.) and its enzymes. Journal of Food Science and Technology, 53: 1620-1632.
- Simon P.W. 1995. Genetic-Analysis of pungency and soluble solids in long-storage onions. Euphytica, 82: 1-8.
- Stearn W.T. 1992. How many species of *Allium* are Know? Kew magazine, 9: 180-182.
- Sun X., Yu X., Zhou S.M., Liu S.Q. 2016. De novo assembly and characterization of the welsh onion (*Allium fistulosum* L.) transcriptome using illumina technology. Molecular Genetics and Genomics, 291: 647-659.
- Synnevag G. 1988. Genetic contributions from the multiplier onion to the breeding of the common onion. En: Proceedings of the 4th Eucarpia *Allium* Symposium. Institute of Horticultural Research, Wellesbourne, United Kingdom. 133-138.
- Talavera S., Andrés C., Arista M., Fernández Piedra M.P., Rico E., Crespo M.B., Quintanar A., Herrero A. & C. Aedo (eds.). 2013. Flora Ibérica - Vol. XX. Liliaceae-Agavaceae. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid, 1-4.
- Vavilov N.I. 1926. Centers of origins of cultivated plants. En: Origin and geography of cultivated plants. Traducido por: Love D. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Von Kohn C., Kiełkowska A., Havey M.J., Bonen L. 2013. Sequencing and annotation of the chloroplast DNAs and identification of polymorphisms distinguishing normal male-fertile and male-sterile cytoplasms of onion. Genome, 56: 737-742.
- Voss R.E. 2005. La producción de cebolla para deshidratado en California. Centro de Información e Investigación de Hortalizas, University of California, 4.

- Wall M.M., Mohammad A., Corgan J.N. 1996. Heritability estimates and response to selection for the pungency and single center traits in onion. Euphytica, 87: 133-139.
- Yoo K.S., Lee, E.J., Hamilton, B.K., Patil, B.S. 2016. A comparison of juice extraction methods in the pungency measurement of onion bulbs. Journal of the Science of Food and Agriculture, 96: 735-741.
- Yoo K.S., Pike L., Crosby K., Jones R., Leskovar D. 2006. Differences in onion pungency due to cultivars, growth environment, and bulb sizes. Scientia Horticulturae, 110: 144-149.

Caracterización físico – química de familias seleccionadas para baja pungencia en Cebolla Fuentes de Ebro

ANEXO I

Applus Agroambiental, S.A. Pertide Setsembs, s/n E - 25222 Sidamon (Lleida) T+34 973 71 70 00 F+34 973 71 70 33 agroembiental@appluscorp.com www.appluscorp.com



BOLETÍN DE ANÁLISIS

TIPO DE MUESTRA: Suelos

8/ REFERENCIA: P1-CARRETERA CÓDIGO MUESTRA: 01 155360

MENÚ/ANÁLISIS: FERTILIDAD BASICA + TEXTURA FECHA INICIO:

FECHA LLEGADA: 02/02/2009

HORA: 18:00

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL CLIENTE

NOMBRE: CITA-UNIDAD SUELOS Y RIEGOS-Cristin DIRECCIÓN: Avda. Montañana, 930 50059 ZARAGOZA

PARCELA:

T.M.:-CULTIVO: -VARIEDAD:

LOCALIZACIÓN: POL: PAR.:

HUMEDAD 105 °C	2,4	%
pH (ext. 1:2.5 H2O)	8,2	
COND.ELEC. 25°C(Pr.Pre)	1,04	dS/m
MAT. ORGANICA (Walkley-Black)	3,81	%
NITROGENO-NITRICO (N-NO3)	28	mg/kg
FOSFORO (P) (Olsen)	38	mg/kg
POTASIO (K) (ext. ac. amónico)	376	mg/kg
CARBONATOS	38	%
MAGNESIO (Mg) (ext. ac. amónico	664	mg/kg
CALCIO (Ca) (ext. ac. amónico)	7516	mg/kg
SODIO (Na) (ext. ac. amónico)	255	mg/kg
ARENA TOTAL (0.05 <d<2 mm)<="" td=""><td>11,3</td><td>%</td></d<2>	11,3	%
LIMO GRUESO (0.02 <d<0.05 mm<="" td=""><td>10,7</td><td>5</td></d<0.05>	10,7	5
LIMO FINO (0.002 <d<0.02 mm)<="" td=""><td>38,9</td><td>5</td></d<0.02>	38,9	5
ARCILLA (D<0.002 mm)	39,1	%
CLASE TEXTURAL USDA		
HUMEDAD DE SATURACION	51	%
pH (ext. saturado)	8,2	
COND. ELEC. 25°C(ext. saturado)	3,88	dS/m
NITRATOS (ext. saturado)	2,8	meq

INTERPRETACIÓN

Moderadamente básico

Alte Alter

Normal-alto

Allo

Muy alto Muy calcáreo

Muy alto

Alto

Alto

FRANCO-ARCILLO-LIMOSA

FECHA DE EMISIÓN: 25/02/2009

- Reconocido por el DAR Núm. Registro 212.
 Autorizado por el Dpto. de Senidad Núm. Registro R1-150-00.

Jefe de análisis

P. Hurilles

V.º B.º Responsable laboratorio

Sus datos personales, facilitados para este servicio de análisis, forman parte de un flotero automaticado de la empresa y se utilizan solamente para la finalidad indicada de servicio de análisi contratado, de acuerdo con lo que dispone la Ley 15/1999 sobre Profección de Carácter Pensonal. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación y cancelación en la dirección

Applus Agroambiental, S.A. Partida Setsambs, s/n E - 25222 Sidemon (Lleida) T+34 973 71 70 00 F+34 973 71 70 33 agroambiental@appluscorp.com www.appluscorp.com



BOLETÍN DE ANÁLISIS

TIPO DE MUESTRA: Suelos S/ REFERENCIA: P1-CARRETERA

MENÚ/ANÁLISIS: FERTILIDAD BASICA + TEXTURA CÓDIGO MUESTRA: 01155380

FECHA INICIO: FECHA LLEGADA: 02/02/2009

HORA: 18:00

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL CLIENTE

NOMBRE CITA-UNIDAD SUELOS Y RIEGOS-Cristin DIRECCIÓN: Avda. Montañana, 930 50059 ZARAGOZA

PARCELA:

T.M.:-CULTIVO: -VARIEDAD:

LOCALIZACIÓN: POL: PAR.:

POTASIO (ext. saturado)	1,6	megi
CALCIO (ext. saturado)	30,9	megi
SODIO (ext. saturado)	11,2	megi
MAGNESIO (ext. saturado)	9,1	megi
CLORUROS (ext. saturado)	3,8	megi
SULFATOS (ext. saturado)	43,8	megi
CARBONATOS (ext. saturado)	0,6	megi
BICARBONATOS (ext. saturado)	3,8	megi
S.A.R. (pasta saturada)	2,5	

INTERPRETACIÓN

FECHA DE EMISIÓN: 25/02/2009

Reconocido por el DAR Núm. Registro 212.
 Autorizado por el Doto. de Senidad Núm. Registro R1-150-00.

P. Muelle

V.º B.º

Responsable laboratorio

Sus datos personales, facilitados para este servicio de análisis, forman parte de un fichero automaticado de la empresa y se utilizan aciamente para la finalidad indicada de servicio de análisis, contratado, de acuerdo con lo que dispone la Ley 15/1989 sobre Protección de Datos de Carácter Personal. Puede ejencer sus derechos de acceso, rectificación y cancelación en la dirección

Los resultados obtenidos adio dan fe de la muestra analizada.

APPLUS AGROAMSENTAL, S.A. Insorta en el Registro Mercantil de Lieida, Tomo 34, Folio 137, Sección III, Hoja L423-insortpolón 14. C.I.F. A35344849.

Applus Agroambiental, S.A. Partida Setsambs, s/n E - 25222 Sidamon (Uelda) T +34 973 71 70 00 F +34 973 71 70 33 agroambiental@appluscorp.com www.appluscorp.com



BOLETÍN DE ANÁLISIS

TIPO DE MUESTRA Suelos 8/ REFERENCIA: CITA P10 CÓDIGO MUESTRA: 01155361 MENÚ/ANÁLISIS: ANALISIS PASTA SATURADA FECHA INICIO:

FECHA LLEGADA: 02/02/2009

HORA: 18:00

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL CLIENTE

NOMBRE: CITA-UNIDAD SUELOS Y RIEGOS-Cristin DIRECCIÓN: Avda. Montañana, 930 50059 ZARAGOZA

PARCELA:

T.M.:- CULTIVO:- VARIEDAD:

LOCALIZACIÓN: POL: PAR:

ANÁLISIS

HUMEDAD 105 °C	0,7	9
pH (ext. 1:2.5 H2O)	8,3	
COND.ELEC. 25°C(Pr.Pre)	0,97	dS/m
MAT. ORGANICA (Walkley-Black)	2,28	9
NITROGENO-NITRICO (N-NO3)	77	mg/kg
FOSFORO (P) (Olsen)	64	mg/kg
POTASIO (K) (ext. ac. amónico)	731	mg/kg
CARBONATÓS	36	9
MAGNESIO (Mg) (ext. ac. amónico	190	mg/kg
CALCIO (Ca) (ext. ac. amónico)	5800	mg/kg
SODIO (Na) (ext. ac. amónico)	211	mg/kg
ARENA TOTAL (0.05 <d<2 mm)<="" th=""><td>33,8</td><td>9</td></d<2>	33,8	9
LIMO GRUESO (0.02 <d<0.05 mm<="" th=""><td>20,7</td><td>9</td></d<0.05>	20,7	9
LIMO FINO (0.002 <d<0.02 mm)<="" th=""><td>28,8</td><td>9</td></d<0.02>	28,8	9
ARCILLA (D<0.002 mm)	18,9	9
CLASE TEXTURAL USDA		
HUMEDAD DE SATURACION	37	9
pH (ext. saturado)	8,1	
COND. ELEC. 25°C(ext. saturado)	7,31	dS/m
NITRATOS (ext. saturado)	19,3	med

INTERPRETACIÓN

Moderadamente básico Ligeramente alta Merio

Muy alto Muy alto

Muy sito Muy calcáreo Normal

Alto Alto

FRANCA

ip.≕inapreolable

FECHA DE EMISIÓN: 25/02/2009

- Reconocido por el DAR Núm. Registro 212.
- Autorizado por el Dpto. de Sanidad Núm. Registro R1-150-00.

Jefe de análisis

P. Hurilla

ran Bar

Responsable laboratorio

Sus datos personales, facilitados para este servicio de análisis, forman parte de un flotero automaticado de la empresa y se utilizan solamente para la finalidad indicada de servicio de análisi contratado, de acuerdo con lo que dispone la Ley 15/1666 sobre Protección de Datos de Carácter Personal. Puede ejencer sus devechos de acceso, recificación y cancelación en la dirección indicada en acta todato.

Los resultados obtenidos adio dan fe de la muestra analizada.
APPLUS AGRICAMBIENTAL, S.A. Insorta en el Registro Mercantil de Lleida, Tomo 34, Folio 127, Sección 8, Hoja L423-Insortpolón 11. C.L.F. A353-M849-9

Applus Agroambiental, S.A. Partide Setsembs, s/n E - 25222 Sidemon (Uelda) T +34 973 71 70 00 F +34 973 71 70 33 agroambiental@appluscorp.com www.appluscorp.com



BOLETÍN DE ANÁLISIS

TIPO DE MUESTRA: Suelos

MENÚ/ANÁLISIS: ANALISIS PASTA SATURADA

S/ REFERENCIA: CITA P10 CÓDIGO MUESTRA: 01155361 FECHA INICIO: FECHA LLEGADA: 02/02/2009

HORA: 18:00

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL CLIENTE

NOMBRE: CITA-UNIDAD SUELOS Y RIEGOS-Cristir DIRECCIÓN: Avda. Montañana, 930 50059 ZARAGOZA

PARCELA

T.M.:- CULTIVO:- VARIEDAD:

LOCALIZACIÓN: POL: PAR:

ANÁLISIS

POTASIO (ext. saturado)	15,5	megi
CALCIO (ext. saturado)	30,6	megi
SODIO (ext. saturado)	23,1	megi
MAGNESIO (ext. saturado)	7,7	megl
CLORUROS (ext. saturado)	29,0	megi
SULFATOS (ext. saturado)	16,0	megi
CARBONATOS (ext. saturado)	lp.	megl
BICARBONATOS (ext. saturado)	5,0	megi
S.A.R. (pasta saturada)	5,3	

INTERPRETACIÓN

ip.=inapreolable

FECHA DE EMISIÓN: 25/02/2009

- Reconocido por el DAR Núm. Registro 212.
- Autorizado por el Dpto. de Sanidad Núm. Registro R1-150-00.

Jefe de análisis

P. Hwelle

Responsable laboratorio

Sus datos personales, facilitados para este servicio de análisis, forman parte de un fichero automatizado de la empresa y se utilizan solamente para la finalidad indicada de servicio de análisi contratado, de acuerdo con lo que dispone la Ley 15/1989 sobre Protección de Datos de Carácter Personal. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación y cancelación en la dirección indicada en acta horistri.

Los nesultados obtenidos adio den fe de la muestra analizada.

APPLUS AGROAMBENTAL, S.A. Inscrita en el Registro Mercantil de Lleida, Tomo 34, Folio 137, Sección 8, Hoja L423-Inscripción 1º. C.I.F. A353-HB49

Applus Agroembiental, S.A. Partida Setsembs, s/n E - 25222 Sidemon (Lleida) T + 34 973 71 70 00 F + 34 973 71 70 33 agroembiental@appluscorp.com www.appluscorp.com



BOLETÍN DE ANÁLISIS

TIPO DE MUESTRA: Suelos MENÚ/ANÁLISIS: FERTILIDAD BASICA + TEXTURA

8/ REFERENCIA: P2-MIGUEL FECHA INICIO:

CÓDIGO MUESTRA: 01155382 FECHA LLEGADA: 02/02/2009 HORA: 18:00

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL CLIENTE

NOMBRE: CITA-UNIDAD SUELOS Y RIEGOS-Cristir DIRECCIÓN Avda. Montañana, 930 50059 ZARAGOZA

PARCELA:

T.M.:- CULTIVO:- VARIEDAD:

LOCALIZACIÓN: POL: PAR:

ANÁLISIS

HUMEDAD 105 °C	3,6	%
pH (ext. 1:2.5 H2O)	8,5	
COND.ELEC. 25°C(Pr.Pre)	0,60	dS/m
MAT. ORGANICA (Walkley-Black)	3,63	%
NITROGENO-NITRICO (N-NO3)	14	mg/kg
FOSFORO (P) (Olsen)	58	mg/kg
POTASIO (K) (ext. ac. amónico)	498	mg/kg
CARBONATOS	38	96
MAGNESIO (Mg) (ext. ac. amónico	528	mg/kg
CALCIO (Ca) (ext. ac. amónico)	7463	mg/kg
SODIO (Na) (ext. ac. amónico)	242	mg/kg
ARENA TOTAL (0.05 <d<2 mm)<="" td=""><td>10,7</td><td>%</td></d<2>	10,7	%
LIMO GRUESO (0.02 <d<0.05 mm<="" td=""><td>11,8</td><td>%</td></d<0.05>	11,8	%
LIMO FINO (0.002 <d<0.02 mm)<="" td=""><td>40,4</td><td>%</td></d<0.02>	40,4	%
ARCILLA (D<0.002 mm)	37,1	%
CLASE TEXTURAL USDA		
HUMEDAD DE SATURACION	52	%
pH (ext. saturado)	8,4	
COND. ELEC. 25°C(ext. saturado)	2,13	dS/m
NITRATOS (ext. saturado)	0,1	megl
•		

INTERPRETACIÓN

Ugeramente alcalino
Ugeramente alta
Alto

Muy alto Muy calcáreo Muy alto Alto

Normal Muy alto

Allo

FRANCO-ARCILLO-LIMOSA

FECHA DE EMISIÓN: 25/02/2009

- Reconocido por el DAR Núm. Registro 212.
- Autorizado por el Dpto. de Sanidad Núm. Registro R1-150-00.

Jefe de análisis

Responsable laboratorio

V.ºB.º

P. Hurille

Sus datos personales, facilitados para este servicio de análisis, forman parte de un fichero automatizado de la empresa y se utilizan solamente para la finalidad indicada de servicio de análisis continado, de acuesto con lo que dispone la Ley 15/1666 aobre Protección de Datos de Carácter Personal. Puede ejercer sus derechos de acueso, rectificación y cancelación en la dirección indicada en acte todato.

Applus Agroambiental, S.A. Partide Setsembs, s/n E - 25222 Sidemon (Lieide) T +34 973 71 70 00 F +34 973 71 70 33 agroembiental@appluscorp.com www.acciuscorp.com



BOLETÍN DE ANÁLISIS

TIPO DE MUESTRA: Suelos MENÚ/ANÁLISIS: FERTILIDAD BASICA + TEXTURA

8/ REFERENCIA: P2-MIGUEL FECHA INICIO:

CÓDIGO MUESTRA:01155362 FECHA LLEGADA: 02/02/2009 HORA: 18:00

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL CLIENTE

NOMBRE: CITA-UNIDAD SUELOS Y RIEGOS-Cristir DIRECCIÓN: Avda. Montañana, 930 50059 ZARAGOZA

PARCELA:

T.M.:- CULTIVO:- VARIEDAD:

LOCALIZACIÓN: POL: PAR:

ANÁLISIS

POTASIO (ext. saturado)	1,5	megi
CALCIO (ext. saturado)	11,3	meg/
SODIO (ext. saturado)	8,3	megi
MAGNESIO (ext. saturado)	3,5	megi
CLORUROS (ext. saturado)	5,4	meg/
SULFATOS (ext. saturado)	11,1	megi
CARBONATOS (ext. saturado)	0,6	megi
BICARBONATOS (ext. saturado)	4,2	megi
S.A.R. (pasta saturada)	3,1	

INTERPRETACIÓN

FECHA DE EMISIÓN: 25/02/2009

- Reconocido por el DAR Núm. Registro 212.
- Autorizado por el Doto, de Sanidad Núm. Registro R1-150-00.

Jefe de análisis P. Murci Us V.º B.º

Responsable laboratorio

Sus datos personales, facilitados para este servicio de análisis, forman parte de un fichero automatizado de la empresa y se utilizan aciamente para la finalidad indicada de servicio de análisis contratado, de acuerdo con lo que dispone la Ley 15/1999 active Protección de Datos de Carácter Personal. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación y cancelación en la dirección indicada en este boletín.

Los resultados obtenidos adio dan fe de la muestra analizada.

APPLUS AGRICAMSIENTAL, SIA. Inscrita en el Registro Mercantil de Lieida, Tomo 34, Folio 137, Sección 8, Hoja L423-Inscripción 11. C.I.F. A353-M849.