



UNIVERSIDAD DE LEÓN

ESCUELA SUPERIOR Y TÉCNICA DE INGENIERÍA AGRARIA

INGENIERÍA DE BIOSISTEMAS

Tese de Doutoramento

**Estudos de fertilização de azoto, fósforo, potássio e boro em
oliveira**

*Estudios de fertilización de nitrógeno, fósforo, potasio y boro en
olivo*

Isabel Alexandra de Queirós Morais Ferreira

Diretores:

Professor Doutor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues

Professora Doutora Maria Margarida Pereira Rodrigues Arrobas

Professor Doutor Manuel Antonio Vidal Bardán

León, 2018



Os estudos apresentados nesta tese foram realizados no Laboratório de Solos, no Centro de Investigação de Montanha da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Portugal.

**À memória
do meu pai**

Agradecimentos

A concretização deste trabalho não teria sido possível sem a cooperação de várias pessoas, às quais quero expressar a minha sincera gratidão.

Em primeiro lugar, ao meu orientador, Professor Doutor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues, pela orientação, disponibilidade, incentivo, apoio e amizade, dedicados ao longo deste trabalho.

À Professora Doutora Maria Margarida Pereira Rodrigues Arrobas, minha co-orientadora, pelo incentivo e pelas palavras no decorrer dos trabalhos.

Obrigada a ambos por nunca deixarem que me faltassem meios para o correto desenvolvimento dos diferentes trabalhos desenvolvidos neste projeto.

Ao Professor Doutor Manuel Antonio Vidal Bardán por ter aceitado ser meu tutor.

Ao Professor Doutor José Manuel Moutinho-Pereira e ao Professor Doutor Carlos Manuel Correia, bem como à equipa de colegas bolseiros da UTAD que lideram, pelas medições fisiológicas efetuadas.

À Professora Doutora Margarida Arrobas, responsável pelo laboratório de solos da Escola Superior Agrária de Bragança (ESAB), bem como à Técnica Rita Diz e à Engenheira Ana Pinto pelo apoio na realização das análises químicas das amostras deste trabalho.

Ao Engenheiro José Rocha, ao Engenheiro João Pires, e ao Engenheiro Amilcar Pimentel, bem como toda a equipa de trabalhadores das quintas e das estufas da ESAB, pela permanente disponibilidade e tempo dispensado para o apoio da parte prática deste trabalho.

Às colegas Sandra Afonso, Cidália Lino, Adília Alves por nunca me deixarem desistir.

Ao Eje Røndahl pela ajuda no trabalho minucioso das raízes.

Ao meu tio Álvaro e tia Clemência, pelo incentivo e apoio dado ao longo destes anos.

À minha mãe e à minha irmã, por sempre acreditarem em mim e estarem sempre ao meu lado nos bons e maus momentos.

Ao meu marido Miguel, pelo seu amor, amizade, paciência e compreensão, e pelo seu apoio incondicional.

Ao Tiago, que embora ainda não tenha nascido, já amo tanto e, por me dar força e coragem para terminar este trabalho.

Obrigada!

ÍNDICE

Abstract	i
Resumen	v
i. Capítulo 1 – Introducción general	v
ii.ii. Fósforo	x
ii.iii. Potássio	xii
ii.iv. Boro	xv
iii. Capítulo 3 - Material y Métodos	xviii
iii.i. Ensayos de campo	xviii
iii.i.i. Primer ensayo de campo	xviii
iii.i.ii. Segundo ensayo de campo	xx
iii.ii. Ensayos en macetas	xxi
iii.ii.i. Nitrógeno	xxi
iii.ii.ii. Fósforo	xxii
iii.ii.iii. Potasio	xxiii
iii.ii.iv. Boro	xxiv
iv. Capítulo 4 (Resultados) y Capítulo 5 (Discusión)	xxv
iv.i. Nitrógeno	xxv
iv.ii. Fósforo	xxvii
iv.iii. Potasio	xxix
iv.iv. Boro	xxxii
v. Capítulo 6 – Conclusiones	xxxiv
v.i. Nitrógeno	xxxiv
v.ii. Fósforo	xxxiv
v.iii. Potasio	xxxv
v.iv. Boro	xxxv
vi. Capítulo 7 – Referencias Bibliográficas	xxxvi
Índice de Figuras	xliv
Índice de Quadros	xlviii
Capítulo 1	1
1. Introdução Geral	2
1.1. Importância socioeconómica da oliveira	2
1.2. Conhecimento atual sobre nutrição da oliveira	3
1.3. Objetivos da tese	5
1.4. Estrutura da tese	6

Capítulo 2	8
2. Revisão Bibliográfica	9
2.1. Azoto	9
2.1.1. Azoto nas plantas	10
2.1.1.1. Função do azoto nas plantas	10
2.1.1.2. Absorção e assimilação de azoto nas plantas	10
2.1.1.3. Fornecimento de azoto, crescimento e composição das plantas	12
2.1.1.4. Deficiência e excesso de azoto nas plantas	13
2.1.2. Azoto no solo	14
2.1.2.1. Formas de azoto no solo	14
2.1.2.2. Dinâmica do azoto no solo	16
2.1.2.3. Fixação biológica de azoto	21
2.1.3. Resposta da oliveira à aplicação de azoto	22
2.2. Fósforo	26
2.2.1. Fósforo nas plantas	27
2.2.1.1. Funções do fósforo nas plantas	27
2.2.1.2. Absorção, assimilação e transporte	28
2.2.1.3. Deficiência e excesso de fósforo nas plantas	29
2.2.2. Fósforo no solo	30
2.2.2.1. Formas de fósforo no solo	30
2.2.2.2. Ciclo do fósforo no solo	32
2.2.2.3. Fatores que afetam a disponibilidade de fósforo no solo	33
2.2.2.4. Deslocação do fósforo no solo	36
2.2.3. Fósforo no meio ambiente	36
2.2.3.1. Perdas de fósforo pelos solos e eutrofização das águas	36
2.2.3.2. Metais pesados	37
2.2.4. Resposta das plantas à disponibilidade de fósforo no solo	38
2.2.5. Resposta da oliveira à aplicação de fósforo	40
2.3.1. Potássio nas plantas	44
2.3.1.1. Absorção e transporte	44
2.3.1.2. Funções do potássio nas plantas	45
2.3.1.3. Deficiência e excesso de potássio nas plantas	48
2.3.2. Potássio no solo	49
2.3.2.2. Fatores que afetam a disponibilidade de potássio	51
2.3.2.3. Interação entre nutrientes	53
2.3.3. Resposta das plantas à aplicação de potássio	54
2.3.4. Resposta da oliveira à aplicação de potássio	55
2.4.1. Boro nas plantas	59
2.4.1.1. Funções do boro nas plantas	59
2.4.1.2. Absorção e transporte	62
2.4.1.3. Deficiência e excesso de boro nas plantas	63
2.4.2. Boro no solo	64

2.4.2.1. Formas de boro no solo	64
2.4.2.2. Fatores que afetam a disponibilidade de boro no solo	66
2.4.3. Resposta da oliveira à aplicação de boro	68
Capítulo 3	72
3. Material e métodos	73
3.1. Caracterização geral das condições experimentais	73
3.2. Ensaio de campo	75
3.2.1. Primeiro ensaio de campo	75
3.2.2. Segundo ensaio de campo	78
3.3. Ensaio em vasos	79
3.3.1. Azoto	79
3.3.2. Fósforo	80
3.3.3. Potássio	81
3.3.4. Boro	83
3.4. Análises laboratoriais	84
3.4.1. Solos	84
3.4.1.1. Textura	84
3.4.1.2. pH	85
3.4.1.3. Carbono orgânico facilmente oxidável	85
3.4.1.4. Carbono orgânico total	85
3.4.1.5. Azoto Kjeldahl	85
3.4.1.6. Fósforo no solo	86
3.4.1.7. Potássio	87
3.4.1.8. Capacidade de troca catiónica	87
3.4.1.9. Micronutrientes	87
3.4.1.10. Atividade da fosfatase ácida	88
3.4.1.11. Azoto facilmente mineralizável	88
3.4.1.12. Extração de aniões com membranas de troca aniónica inseridas diretamente no solo	89
3.4.2. Plantas	89
3.5. Análise estatística dos dados	90
Capítulo 4	91
4. Resultados	92
4.1. Azoto	92
4.2. Fósforo	101
4.3. Potássio	111
4.4. Boro	121

Capítulo 5	128
5. Discussão	129
5.1. Azoto	129
5.2. Fósforo	135
5.3. Potássio	139
5.4. Boro	143
Capítulo 6	147
6. Conclusões	148
6.1. Azoto	148
6.2. Fósforo	149
6.3. Potássio	150
6.4. Boro	151
Capítulo 7	153
7. Referências Bibliográficas	154

Abstract

Nitrogen is the element that generally most limits plant productivity in natural and agricultural ecosystems. The response to applied nitrogen mainly depends on the potential crop productivity and on the natural soil nitrogen availability. In Trás-os-Montes, Portugal, most soils display low or even very low phosphorus levels when determined by soil analysis. However, when the phosphorus status of the orchards is assessed by leaf analysis, the results are often found within the "adequate" range. The region's soils often display high levels of potassium. However, there have been observed situations of visible symptoms of potassium deficiency in olive trees and in some situations already diagnosed by leaf analyzes. In the region, there is also a natural limitation of boron in the soil, being frequent the occurrence of boron deficiency symptoms in dicotyledonous species, such as in olive. Boron application in olive groves is currently a regular practice, although few studies with this nutrient had been done. Thus, the general goal of this work is to collect information that could help laboratories and producers to improve the fertilization programs for the macronutrients nitrogen, phosphorus and potassium and also for boron, the four elements that are most likely to cause nutritional disorders in the olive groves of the region of Trás-os-Montes.

To study the olive tree response to the application of nitrogen, phosphorus, potassium or boron, two field trials (with the cultivar 'Cobrançosa') and seven pot experiments were installed. The first field trial (Field1) was established in a three-year-old olive grove in which a basal fertilization program with nitrogen, phosphorus, potassium and boron was established as the control treatment. The other four treatments consisted on removing each one of the nutrients. The fertilizers were applied manually at early April localized close to the trunk of the trees. Phosphorus and potassium were applied in areas of 16 (4 m x 4 m) m² (2 m from the trunk for each quadrant) and nitrogen and boron in areas of 4 m² (1 m from the trunk for each quadrant). Nitrogen, phosphorus, potassium and boron were applied, respectively, at the rates of 48, 70, 133 and 1.2 g tree⁻¹ year⁻¹. The fertilizers used were ammonium nitrate (34.5 %N), superphosphate (18 % P₂O₅), potassium chloride (60 % K₂O) and borax (11 % B). The second field experiment (Field2) was established after of planting young olive trees specifically for this work. In this experiment, nitrogen, phosphorus, potassium and boron were applied annually, respectively, at the rates of 200, 175, 332 and 6 g per experimental unit (10 trees). The study of nitrogen included a pot experiment (PotN)

with four nitrogen rates (0, 0.4, 0.8 and 1.6 g pot⁻¹ year⁻¹). Phosphorus was studied from a first experiment (PotP1) in which four phosphorus rates (0, 0.35, 0.70 and 1.05 g pot⁻¹ year⁻¹) were used and from a second experiment (PotP2) in which two rates of phosphorus (0 and 1.05 g pot⁻¹ year⁻¹) were included in a randomized block design where four different soils act as blocks. Potassium was studied from a first pot experiment (PotK1) which includes three potassium rates (0, 0.66 and 1.33 g pot⁻¹ year⁻¹) and from a second experiment (PotK2) arranged as a factorial, with two potassium rates (0 and 0.66 kg pot⁻¹ year⁻¹), two water regimes (normal and stress) and two cultivars ('Cobrançosa' and 'Arbequina'). Boron was also studied from two experiments, the first (PotB1) consisting of the application of boron to the soil [annual application of 0.29 g of borax (11 % B)] and as foliar spray [annual application of 0.04 mL of Tradebor 11 % B] and the second (PotB2) consisting of the application of boron as a foliar spray [annual application of 0.04 mL of Tradebor (11 % B)] in only a few tagged branches of the plant. This second experiment involved the cultivars 'Cobrançosa' and 'Arbequina'. Depending on the experiment, several determinations were performed, regarding the biometry of fruits, crop nutritional status, soil properties and olive yield in the first field trial. Whenever considered relevant, chlorophyll fluorescence and transient fluorescence based on the OJIP test were evaluated using the OS-30p+ fluorometer, as well as an index of sclerophylly, leaf tissue density (D), and two water status indices of the plant (relative water content, CRA, and saturation water content, CAS).

The results of the first field trial, in which was possible to assess olive yield, showed a significant increases in olive yield only in one of the three years of study, probably because the reduced nitrogen removal by the young trees. In the Field2, nitrogen application significantly increased dry matter yield, leaf nitrogen concentration and nitrogen removal. The pot experiment showed a typical nitrogen response curve, where the production of biomass increases while the availability of nitrogen limits plant growth followed by a stabilization at a plateau or even decreasing when nitrogen is supplied at a high or excessive rate. The increase in nitrogen availability leads to an increase in the ratios between aerial biomass and roots and between leaves and stems. The results also showed that the leaves are a priority sink for nitrogen due to their content of chlorophyll. They also suggest that nitrogen could be taken up by the plant in luxury consumption.

The experimental data stressed the difficulty in obtaining response in olive tree growth and yield to phosphorus application. However, in the PotP2, where four different soils were used, some of them with a very low pH, phosphorus application significantly increased total dry matter yield, phosphorus concentration in the tissues, and improved the photosynthetic activity of the leaves. Phosphorus enhanced root growth, showing the ability to accumulate in the root system when it is available in the soil, seeming to be able to buffer the supply of phosphorus to the shoot.

In the field trials, potassium did not have a significant effect on tree's growth and yield. Other parameters related to chlorophyll *a* fluorescence and leaf water status, also did not significantly vary with potassium application, which apparently reduces the importance of potassium fertilization in these soils. In pot experiments potassium application increased the shoot/root ratio and also the potassium concentration in the root proportionally more than that in the shoot, indicating that shoot is a priority sink for potassium and also that potassium accumulated in the root can act as a reserve for the plant when potassium uptake is reduced. Water stress reduced dry matter yield and potassium concentration in the roots. 'Arbequina' showed greater sensitivity to water stress than 'Cobrançosa', but produced more dry biomass under well irrigated conditions, possibly because 'Arbequina' is an early maturing crop.

Boron application increased the nutrient concentration in all tissues but did not cause any relevant effect on the agronomic performance of the plant including olive yield. The results indicate that different sufficiency ranges should be used for samples collected in the summer, at endocarp sclerefication, and in the winter, in the resting period of the olive tree. In PotB1 tissue boron concentrations were significantly higher in the plants from the pots receiving boron to the soil in comparison to those receiving foliar boron, whereas the later showed significantly higher tissue boron concentrations than the plans of the control treatment. The results of PotB2 suggest that boron may have some mobility in the phloem, since after had been applied to the shoot, boron concentration in the root increased. However, the results also suggest that boron mobility in olive may be cultivar dependent. The younger leaves of 'Arbequina' showed lower boron concentration than older leaves after the later had been sprayed with boron, an aspect not observed with 'Cobrançosa'.

Keywords: *Olea europaea*; crop fertilization; field trials; pot trials; olive yield; ‘Cobrançosa’; ‘Arbequina’.

Resumen

La tesis se encuentra estructurada en seis capítulos principales:

La **introducción general (capítulo 1)** donde se hace una pequeña introducción sobre la importancia socioeconómica del olivo, del conocimiento actual sobre la nutrición del olivo, los objetivos y la estructura de la tesis.

La **revisión bibliográfica (capítulo 2)** está, a su vez, dividida en cuatro tópicos principales, dedicados a nitrógeno, fósforo, potasio o boro. Para cada uno de estos elementos se presenta una breve revisión sobre su efecto sobre las plantas y su comportamiento en el suelo y, cuando relevante, su relación con los problemas ambientales. Se finalizan estos tópicos presentando la información relativa a estudios con estos elementos en olivar.

En **material y métodos (capítulo 3)** se describen el aparato experimental de campo y las experiencias en macetas, así como las metodologías de campo y de laboratorio que permiten recoger los efectos de los tratamientos en los suelos y en las plantas.

Los capítulos de **resultados (capítulo 4)** y **discusión (capítulo 5)** vuelven a ser presentados por nutriente, como en la revisión bibliográfica, una vez más con la intención de facilitar la lectura y la interpretación de los resultados a los lectores.

Como **conclusiones (capítulo 6)** fueron seleccionados los aspectos más relevantes que confieren un nuevo conocimiento o la consolidación de resultados encontrados en la bibliografía actual.

Forman parte de la lista de **referencias bibliográficas (capítulo 7)** las obras que nos parecieron más importantes en cada uno de los asuntos, haciendo un esfuerzo para que trabajos científicos relevantes o publicaciones recientes no dejen de mencionarse en la tesis, aunque la enorme diversidad de revistas científicas y el ritmo de publicación actual dificulten esta tarea.

i. Capítulo 1 – Introducción general

En Portugal, la aceituna tiene una gran importancia socioeconómica. El olivo es considerado una de las principales culturas y está presente en todas las regiones agrarias del continente. Las principales regiones, en términos de área, son Alentejo y Trás-os-

Montes (INE, 2017), regiones completamente distintas en términos de cultivares e intensificación cultural. El gran crecimiento de la región del Alentejo surge principalmente en los últimos diez años, con el aumento de la disponibilidad del agua para riego, siendo instaladas nuevas plantaciones irrigadas con elevado número de plantas por hectárea, principalmente con variedades extranjeras, donde se alcanzan elevadas productividades unitarias. Contrariamente, en Trás-os-Montes, los olivares son conducidos extensivamente, manteniendo plantaciones antiguas de una variada gama de variedades tradicionales, cultivadas en bajas densidades, implantadas en terrenos de declives acentuados, con bajo grado de mecanización y en régimen de secano (Duarte et al., 2008; Rodrigues y Cabanas, 2009). Estas condiciones de cultivo llevan a una baja rentabilidad de los olivares en comparación con los nuevos olivares irrigados (Duarte et al., 2008). Sin embargo, el aceite producido en esta región es de buena calidad, debido a las condiciones ecológicas de la región en asociación con cultivares tradicionales conducidos con prácticas de baja intensificación. Son aceites particulares, con óptimas características químicas y sensoriales, lo que permitió delimitar el área geográfica de producción de Aceite de Trás-os-Montes como una Denominación de Origen Protegida (Diário da República, Despacho 34/94).

El trabajo científico realizado hasta el presente sobre nutrición mineral y fertilización del olivar no es abundante si se compara con lo que ocurre con otras culturas de gran importancia mundial. Las dudas e incertidumbres sobre la respuesta del olivo a la aplicación de fertilizantes son diversas y dificultan el trabajo de los laboratorios y técnicos de campo en el apoyo a los oleicultores sobre la fertilización del olivar.

Los estudios aquí presentados objetivan la obtención de información que ayude a los laboratorios y a los productores a mejorar los programas de fertilización para los macronutrientes nitrógeno, fósforo y potasio y para el boro, siendo los cuatro elementos considerados prioritarios en olivar de secano de la región transmontana.

ii. Capítulo 2 – Revisión bibliográfica

ii.i. Nitrógeno

En general, la utilización de nitrógeno en la agricultura, con todas las implicaciones asociadas, desde el efecto en la productividad, calidad de las

producciones, así como aspectos de eficiencia de uso del nutriente y los problemas ambientales, ha sido investigada en mayor extensión que la utilización de cualquier otro elemento esencial.

El nitrógeno es un elemento determinante de la productividad agrícola. La adecuada disponibilidad de nitrógeno en el suelo causa un rápido estímulo de crecimiento y productividad. En deficiencia restringe fuertemente el crecimiento de las plantas y en exceso puede causar diversas perturbaciones, como inducir deficiencias de otros nutrientes, perturbar el crecimiento de las plantas y causar importantes impactos ambientales.

El nitrógeno se encuentra en el suelo en formas orgánicas y minerales. La gran dificultad asociada a la gestión del nitrógeno en los ecosistemas agrícolas se refiere a la gran dinámica del nutriente en el suelo, en qué formas orgánicas se pueden convertir en minerales y viceversa por la acción de la microbiología del suelo, y también a procesos biológicos y no biológicos que conducen a la entrada y salida de nitrógeno del sistema suelo/planta. Estas transformaciones siempre dependen de variables ambientales siendo las tasas y ritmos bastante imprevisibles, llevando a veces a una gran ineficiencia en el uso del nutriente por las plantas.

El nitrógeno es el elemento al que los olivos responden más rápidamente y en mayor medida, incrementando la productividad y reduciendo la alternancia (Therios, 2009; Gregoriou y El-Kholy, 2010). La falta de nitrógeno retrasa el crecimiento, reduce el tamaño de las ramas del año y la floración y, en general, las plantas se descoloran presentando un color verde menos intenso (Therios, 2009; Gregoriou y El-Kholy, 2010).

Aunque los estudios de fertilización del olivo no son abundantes, en comparación con lo que ocurre para los grandes cultivos anuales, la fertilización nitrogenada es, sin embargo, el tipo de estudio más frecuente en el marco de la fertilización del olivar. Los estudios de fertilización nitrogenada del olivar han dado un conjunto de pistas, aunque no sean siempre en el mismo sentido, lo que hace este tema aún más interesante desde el punto de vista científico.

Estudios iniciales conducidos por Hartmann et al. (1966) mostraron que el nitrógeno ejerció un efecto marcado en la productividad en suelos poco fértiles y ausencia de respuesta en suelos de mayor fertilidad. También Ferreira et al. (1984)

observaron que sólo los árboles de mayor potencial de producción, supuestamente con mayores necesidades nutricionales, respondieron a la fertilización nitrogenada. En el mismo sentido, Bouhafa et al. (2014) registraron un aumento de la producción por el uso de nitrógeno en árboles adultos (> 35 años) sin que haya habido un efecto significativo en árboles jóvenes de 7 y 9 años de edad supuestamente de menores necesidades de nitrógeno.

Otros estudios han mostrado un efecto positivo inequívoco de la fertilización nitrogenada. Jasrotia et al. (1999) registraron un aumento de crecimiento y producción en respuesta a la fertilización azotada en árboles 'Fontoio' con 15 años de edad cultivadas en un suelo arenoso. También Morales-Sillero et al. (2009) y Marcelo et al. (2010) registraron aumentos de productividad hasta dosis moderadas del nutriente. Fernández-Escobar et al. (2004) en estudios en macetas con aplicación de varias fuentes de nitrógeno, especialmente abonos de liberación lenta y utilizando turba y arena como sustrato, concluyeron que la fertilización es necesaria para asegurar el crecimiento de las plantas aunque no en exceso. En un estudio en macetas y usando perlite como sustrato, Erel et al. (2008; 2013a) verificaron el aumento de la intensidad de la floración, desarrollo de los frutos y producción en la cv. "Barnea" hasta dosis moderadas de nitrógeno. Rodrigues et al. (2011b), registraron una pérdida de producción de aceitunas en 'Verdeal Transmontana' en un tratamiento en el que retiraron la fertilización azotada durante 4 años en comparación con el testigo fertilizado con nitrógeno anualmente. En otros trabajos con 'Cobrançosa', Rodrigues et al. (2015) verificaron que una cobertura vegetal de leguminosas sembradas mejoraron el estado nutricional nitrogenado de los árboles y la producción de aceitunas en comparación con un tratamiento con aplicación anual de 60 kg N ha⁻¹, y el testigo no fertilizado produjo resultados significativamente más bajos que las demás modalidades. Boussadia et al. (2010) en estudios con los cvs. 'Meski' y 'Koroneiki' verificaron que la ausencia de aplicación de nitrógeno originó plantas con menor contenido de nitrógeno en las hojas, menor contenido en clorofila y, consecuentemente, menor capacidad fotosintética de las plantas. En las plantas deficientes se han acumulado carbohidratos (almidón, manitol, sacarosa y glucosa) que han inhibido la fotosíntesis. Como resultado, la biomasa total fue fuertemente reducida en las dos cultivares. Este estudio mostró también tolerancia diferente de las dos variedades a la deficiencia de nitrógeno, siendo 'Meski' la más tolerante.

En otros estudios, sin embargo, no se registró aumento de la producción por la aplicación de nitrógeno. En estudios con duración de 13 años con ‘Picual’ en el sur de España, Fernández-Escobar et al. (2009a) no encontraron respuesta en el crecimiento de los árboles, en las características de los frutos y en la productividad por la aplicación de nitrógeno. En otro estudio con duración de cinco años y cuatro olivares en contextos agroecológicos distintos, Fernández-Escobar et al. (2009b) tampoco tuvieron beneficios de la aplicación de nitrógeno en el crecimiento vegetativo, tamaño de los frutos, contenido en aceite y productividad. Fernández-Escobar et al. (2012) presentan un estudio de balance de nitrógeno en el sistema y estima que el nitrógeno recuperado por la planta y removido en la leña de poda es equivalente al nitrógeno introducido por la mineralización de la materia orgánica. Estimaron aún cantidades mínimas de nitrógeno lixiviado y volatilizado, siendo estos componentes más bajos que el nitrógeno introducido en el agua de lluvia. Este estudio, en combinación con los anteriores, lleva a los autores a concluir que en suelos fértiles la aplicación anual de nitrógeno no es necesaria.

Si los estudios que evalúan la performance de la planta en términos de desarrollo vegetativo y productividad no siempre han producido resultados en el mismo sentido, los que se dedican a los aspectos de la calidad del aceite muestran una tendencia a la reducción de algunos parámetros de la calidad con dosis excesivas del nutriente (Fernández-Escobar et al., 2006; Marcelo et al., 2010; Erel et al., 2013a; Tekaya et al., 2013a), aunque otros nutrientes pueden tener un efecto negativo más marcado que el nitrógeno en la calidad del aceite de oliva (Tekaya et al., 2013b).

Si persisten incertidumbres sobre la respuesta del olivo a la aplicación de nitrógeno, los laboratorios y organismos oficiales no parecen temer a la hora de recomendar la aplicación del nutriente. Gregoriou y El-Kholy (2010) presentan un resumen de las recomendaciones oficiales para diversos países del Oeste de Asia y Norte de África. Recomendaciones de nitrógeno en el orden de $100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ para secano y $200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ para regadío son frecuentes, o valores anuales próximos a 0,5 a 1,0 kg de nitrógeno por árbol. Estos valores no difieren mucho de lo que se utiliza habitualmente en los cultivos anuales, aun teniendo en cuenta que el olivo tiende a exportar menos en la cosecha. Rodrigues et al. (2012) estimaron la exportación anual de nitrógeno en los frutos en sólo 5,5 kg en un olivar de secano de 10 años con una

producción media de 2500 kg ha⁻¹ y 4 kg ha⁻¹ de nitrógeno extraídos en la leña de poda en un régimen de poda ligera anual.

Algunos investigadores han propuesto como un acercamiento posible al problema de administrar la fertilización nitrogenada en función del estado nutricional del olivo. En este caso, como intervalo de concentraciones adecuadas de nitrógeno se acepta normalmente 1,2 a 2 % (Freeman y Carlson, 2005; Connell y Vossen, 2007; Gregoriou y El Kholly, 2010; Fernández-Escobar, 2017), aunque Bryson et al. (2014) amplíen el intervalo a valores más elevados, en particular de 1,5 a 2,5 % de nitrógeno. Fernández-Escobar (2017) proponen como zona deficiente valores inferiores al 1,4 % y Therios (2009) como valores excesivos por encima del 2,2 %. En cualquier caso, estos intervalos se establecen en función de la mayor probabilidad de ocurrencia y no basados en las relaciones entre los niveles de nitrógeno en las hojas y los niveles de productividad, por lo que no están completamente libres de error.

En la gestión del nitrógeno, siendo un elemento muy móvil en el suelo, debe prestarse especial atención no sólo a las dosis aplicadas, sino también a las fechas y técnicas de aplicación.

ii.ii. Fósforo

El fósforo parece ser un elemento importante en la fertilización de los cultivos anuales. Sin embargo, la gran diversidad de estudios que demuestran la respuesta de los cultivos anuales a la aplicación de fósforo contrasta con la reducida información disponible para especies arbóreas perennes. Parece que en las culturas perennes y leñosas la importancia del fósforo se reduce.

En el caso del olivo, no hay estudios que evidencien de forma clara una respuesta del árbol a la aplicación de fósforo. Los libros de texto más recientes acentúan de manera general la falta de respuesta del olivo al fósforo (Freeman y Carlson 2005; Connell y Vossen, 2007; Gregoriou y El-Khoby, 2010; Fernández-Escobar, 2017). La falta de respuesta al fósforo por parte del olivo puede deberse a la reducida exportación de fósforo en el fruto, que puede representar sólo 0,7 kg kg⁻¹ de oliva (Fernández-Escobar, 2017), o por tratarse de plantas que, probablemente se benefician de asociaciones micorrízicas que favorecen la absorción de fósforo incluso en suelos pobres en fósforo (Freeman y Carlson, 2005; Gregoriou y El-Kholly, 2010). Los árboles

de una manera general pueden defenderse mejor de la falta de fósforo debido a la mayor extensión del sistema radicular (Freeman et al., 2005). Sin embargo, a pesar de la falta de respuesta probable, es posible admitir que los árboles cultivados en suelos muy pobres pueden alcanzar niveles de nutrientes en las hojas suficientemente bajas que puedan responder a la aplicación de fósforo (Fernández-Escobar, 2017).

El intervalo de suficiencia para la concentración de fósforo en las hojas es normalmente considerado entre el 1 y el 3 % (Freeman y Carlson, 2005; LQARS, 2006; Connell y Vossen, 2007; Gregoriou y El-Kholy, 2010; Bryson et al., 2014; Fernández-Escobar, 2017), siendo que se considera el 0,05 % como el nivel deficiente (Gregoriou y El-Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Therios (2009) admite un intervalo más rígido para la concentración óptima de fósforo en las hojas, en particular de 0,09 a 0,11%.

En el olivo se han considerado dos períodos distintos para el muestreo de hojas para el análisis elemental. El período de invierno, coincidiendo con el reposo vegetativo, caracterizado por concentraciones más estables de los macronutrientes en las hojas, incluyendo el fósforo, ha sido adoptado como el más adecuado para el muestreo por algunos investigadores (Bouat, 1987; Therios, 2009). Otros consideran la época de alta actividad biológica del árbol como el momento adecuado para el muestreo (Freeman y Carlson, 2005; Connell y Vossen, 2007; Gregoriou e El-Kholy, 2010; Bryson et al., 2014; Fernández-Escobar, 2017). Otros admiten como aceptable muestrear en las dos épocas referidas (LQARS, 2006).

La unanimidad de opiniones y observaciones de los autores sobre la falta de respuesta del olivo a la aplicación de fósforo, quedando normalmente sólo reservas para situaciones en las que los niveles de fósforo en las hojas descienden por debajo del límite inferior del intervalo de suficiencia, transmite la idea de que se debe aplicar poco fósforo en olivar. Sin embargo, Gregoriou y El-Kholy (2010) revisaron los programas oficiales de recomendación de fósforo para varios países del Oeste de Asia y Norte de África, se mostrando estos, en general, generosos en las recomendaciones de fósforo. En el caso de Siria, para árboles adultos (> 12 años) en secano se recomiendan 110 kg ha⁻¹ año⁻¹ de superfosfato 46% (P₂O₅) y en regadío 220 kg ha⁻¹ año⁻¹ del mismo fertilizante. Las recomendaciones para los demás países presentan valores del mismo orden de magnitud. En el caso de Portugal, las normas oficiales de laboratorio (LQARS, 2006) recomiendan la aplicación de fósforo para la instalación en suelos clasificados por el

análisis de la tierra (método Egner-Riehm) como muy pobres, pobres y fósforo medio, respectivamente, en cantidades de 200, 150 y 100 kg (P₂O₅) ha⁻¹. En olivares en plena producción, para producciones superiores a 8 t ha⁻¹ y estados nutricionales adecuados determinados por análisis foliar, se recomienda la aplicación de 40 a 60 kg (P₂O₅) ha⁻¹ año⁻¹.

En esta perspectiva, parece haber alguna irracionalidad en el uso de los fertilizantes fosfatados en olivar. Fernández-Escobar (2017) atribuye el uso eventual excesivo de fertilizantes en olivar al hecho de que los costos con la fertilización representan sólo del 5 al 10 % de los costes de producción. En el caso del fósforo, parece haber evidencia para otros cultivos de que los métodos de análisis de tierras subestiman la disponibilidad del nutriente en el suelo llevando a aplicaciones innecesariamente elevadas del nutriente (Arrobas et al., 2018).

ii.iii. Potásio

El potasio es el quinto elemento más abundante en la materia seca de las plantas, después de carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno y el más abundante entre cationes metálicos. A pesar de no integrar estructuras orgánicas, el potasio ejerce innumerables papeles relevantes en diversos aspectos del metabolismo de las plantas.

El potasio es el elemento más exportado en olivar, representando valores del orden de cerca de 4,5 (Fernández-Escobar, 2017) a 5,5 (Rodrigues et al., 2012) kg por tonelada de aceituna. En la cosecha se encuentran en los frutos valores del orden del 40 % (Rodrigues et al., 2012) al 60 % (Gregoriou y El-Kholy, 2010) del potasio total de la biomasa aérea. Estos valores son completamente distintos de lo que ocurre en otros cultivos, como los cereales, en los que la paja puede contener más del 70 % del potasio en la planta (Zörb et al., 2014) quedando este potasio en el suelo con posibilidades de ser utilizado en la estación de crecimiento siguiente.

Los estudios de respuesta al potasio en el olivo no son abundantes. Algunos estudios confirman una respuesta tenue en la producción pero son experiencias poco consolidadas y de corta duración. Jasrotia et al. (1999) reportan un aumento marginal de producción por la aplicación de potasio en un ensayo que tuvo lugar en la India durante un año en árboles de 15 años de edad y en un suelo franco-arenoso. Centeno y Campo (2011) reportan resultados de un estudio de aplicación de potasio por vía foliar que se

desarrolló en España e implicó dos cultivares ('Picual' y 'Arbequina') en un ensayo de dos años (2007 y 2008), el primero en secano y el segundo en regadío. Los autores registraron un aumento de producción en 2008 sólo en 'Arbequina'. Erel et al. (2013b), a partir de un ensayo que se produjo en Israel en macetas con perlite como sustrato (la perlite es un sustrato prácticamente inerte), verificaron que sólo una deficiencia severa y prolongada de potasio redujo la intensidad de la floración y la productividad.

La literatura que muestra aumento de la concentración de potasio en los tejidos vegetales (hojas, frutos) por la aplicación de potasio como fertilizante al suelo o por vía foliar es más abundante (Restrepo-Díaz et al., 2008; 2009; Morales-Sillero et al., 2009; Saykhul et al., 2014). Los estudios de efecto de la aplicación de potasio en el contenido y la calidad del aceite de oliva son raros y con resultados de baja relación entre las variables (Jasrotia et al., 1999; Dag et al., 2009). Rosati et al. (2015), por ejemplo, tuvieron un efecto positivo en el peso de los frutos y el contenido de grasa por la aplicación conjugada de nitrógeno y potasio, lo que hace imposible aislar el efecto del potasio.

El contenido de potasio en las hojas parece variar significativamente a lo largo de la estación de crecimiento y en función del ciclo bienal del olivo. A partir del verano la concentración en las hojas disminuye probablemente asociada a la translocación del elemento para los frutos (Sibbett y Ferguson, 2002; Bustan et al., 2013). En los años de alta cosecha la concentración de potasio en las hojas tiende también a ser más baja (Sibbett y Ferguson, 2002; Bustan et al., 2013). Bustan et al. (2013), sobre la base del balance de los macronutrientes en la totalidad de la planta, calculado después de la cosecha, concluyen que las reservas funcionales en la planta de nitrógeno y fósforo pueden garantizar la producción del año siguiente, mientras que las de potasio no, estando la planta más dependiente de la futura absorción de este elemento.

El papel del potasio en la fotosíntesis vía regulación de la conductividad estomática y apertura y cierre de los estomas está bien demostrado en el olivo (Arquero et al., 2006). Así, el problema de la falta de potasio puede ser particularmente importante en condiciones de estrés hídrico. En estas condiciones, las plantas pueden tener dificultades para absorber potasio, sobre todo debido a las restricciones a la difusión del elemento en el suelo (Havlin et al., 2014), y también se demuestra que el estrés hídrico dificulta la absorción del elemento por vía foliar (Restrepo-Díaz et al., 2008).

A pesar de la inexistencia de estudios en cantidad suficiente que demuestren de forma inequívoca respuesta del olivo a la aplicación de potasio, los síntomas de deficiencia están bien establecidos. Los primeros síntomas de carencia de potasio comienzan por clorosis en los ápices de las hojas y progresiva decoloración hasta las partes basales. Cuando la deficiencia es severa la clorosis evoluciona a necrosis en particular en las hojas más viejas que se extiende posteriormente hacia las hojas más jóvenes (Gregoriou y El-Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Freeman et al. (2005) describen que en ‘Manzanillo’ los árboles quedan reubicados, con las ramas debilitadas, entrenudos cortos, hojas más pequeñas que las normales y cloróticas, siendo la clorosis más intensa en las hojas más viejas. La deficiencia es más probable en olivar de secano en que la reducción de la humedad del suelo limita la difusión del potasio en la solución y dificulta la absorción por las raíces (Fernández-Escobar, 2017).

El intervalo de suficiencia para el potasio en las hojas de olivo varía según los autores. En una publicación de la especialidad que incluye más de 2000 plantas cultivadas, Bryson et al. (2014) establecen como intervalo de suficiencia 0,9 a 1,2 % de potasio en hojas jóvenes maduras cosechadas en verano. Diversos otros investigadores aceptan como límite de deficiencia 4 % de potasio y una gama de concentraciones adecuadas para valores > 8 % de potasio (Freeman et al., 2005; Connell y Vossen, 2007; Gregoriou y El-Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Therios (2009) presentan una propuesta más audaz que define los intervalos críticos de deficiencia ($< 0,5$ %), deficiencia moderada (0,5-0,7 %), adecuado (0,7-0,9 %), elevado (0,9 a 1,1) y exceso ($> 1,1$ %). Este autor defiende también como fechas más adecuadas para el muestreo de hojas el reposo vegetativo, justificado por ser el período del año en que las concentraciones de los macronutrientes nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio en las hojas son más estables. LQARS (2006) presenta normas de interpretación de resultados para el verano y para el reposo vegetativo.

La aplicación de potasio al suelo debe ser localizada debido a la reducida movilidad del elemento en el suelo, sobre todo en secano, ya la elevada capacidad del suelo en fijar potasio, sobre todo los suelos arcillosos.

Therios (2009) propone que las recomendaciones de potasio tengan en cuenta el estado nutricional de los árboles, el tipo de suelo y el régimen hídrico (secano o regadío). Gregoriou y El-Kholy (2010) hicieron el levantamiento de los programas de fertilización oficiales para el olivar en países de Asia Occidental y Norte de África, en

particular Siria, Marruecos, Chipre, Jordania, Egipto, Libia, Yemen, Palestina, Túnez, en función de la edad del olivar y del régimen hídrico. Para Siria, por ejemplo, se recomiendan en olivar adulto (> 12 años) 100 kg ha^{-1} de sulfato de potasio (50 % K_2O) en secano y 200 kg ha^{-1} en regadío, junto con el nitrógeno y el fósforo, y $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ de estiércol. En Portugal, el laboratorio de estado (LQARS, 2006) recomienda 300, 225 y $150 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ en las plantaciones de olivar cuando los niveles de potasio en el suelo se clasifican como muy bajos, medios y bajos, respectivamente. En olivos adultos en producción se recomiendan hasta $120 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ para los niveles de las hojas en la gama adecuada. Como se ve, parecen grandes las discrepancias entre la información disponible a partir de trabajos de respuesta del olivo a la aplicación de potasio y aquello que es la práctica generalizada de recomendación en diversos países.

ii.iv. Boro

El papel del boro en las plantas es de los menos conocidos entre los nutrientes esenciales.

El olivo es considerado una planta de elevada sensibilidad a la falta de boro (Freeman et al., 2005; Havlin et al., 2014; Fernández-Escobar, 2017). Por otro lado, el olivo es visto como una planta con cierta tolerancia a niveles elevados de boro en el suelo (Freeman et al., 2005; Therios, 2009; Fernández-Escobar, 2017). A partir de observaciones en California, Freeman y Carlson (2005) consideran que, junto al nitrógeno, el boro es el elemento cuya probabilidad de aparecer en deficiencia en el olivo es más elevada. También en Trás-os-Montes, NE Portugal, la probabilidad de que exista deficiencia de boro sólo puede ser comparable con el nitrógeno siendo visto en la región como un elemento de gran importancia en el programa de fertilización anual (Rodrigues y Arrobas, 2008; Arrobas y Moutinho-Pereira, 2009; Arrobas et al., 2010). El boro es todavía junto con el nitrógeno de los elementos que los árboles más rápidamente se recuperan de una situación de deficiencia después de la aplicación del elemento al suelo (Gregoriou y El Kholy, 2010).

Para la interpretación de los resultados del análisis de plantas, el intervalo de concentración adecuado comúnmente aceptado varía de $19\text{-}150 \text{ mg B kg}^{-1}$ (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007; Gregoriou y El Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017), aunque LQARB (2006) y Bryson et al. (2014) consideren intervalos más ajustados, de

19 a 50 y de 20 a 75 mg B kg⁻¹, respectivamente. En la mayoría de los casos, las situaciones de carencia, eventualmente con síntomas visibles, se esperan que se produzcan para valores de boro en las hojas inferiores a 14 mg kg⁻¹ (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007; Gregoriou y El Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Algunos autores proponen además como situación de exceso en el olivo valores superiores a 185 mg B kg⁻¹ (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007). La concentración de boro en las hojas varía, sin embargo, en función de la carga de frutos y de la época del año. Sibbett y Ferguson (2002) comprobaron que en año de baja cosecha los niveles de boro en los tejidos suelen aumentar y que en el verano son más elevados que en el reposo vegetativo. Fernández-Escobar et al. (1999) observaron que durante la floración se registran valores más bajos de boro en las hojas, sobre todo en las hojas jóvenes, y que en el reposo vegetativo los valores son más bajos que en verano. Esta tendencia a registrar concentraciones de boro en las hojas más bajas en el reposo vegetativo que en el verano ha sido frecuentemente verificada (Chatzissavvidis et al., 2005; Rodrigues et al., 2011a).

La carencia de boro es frecuente en olivar. Los síntomas de carencia de boro surgen como clorosis en el ápice y márgenes de las hojas (Gregoriou y El Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). En deficiencia más severa los ápices vegetativos mueren y la planta responde con un brote basal. Fernández-Escobar (2017) designó este síntoma de cepillos de bruja. En algunas de las principales variedades transmontanas, la deficiencia se manifiesta por clorosis que evoluciona a necrosis en las extremidades de las hojas. La clorosis comienza por ser visible en la parte apical de la hoja permaneciendo la parte basal verde, lo que le confiere un aspecto distinto y peculiar. Los ápices vegetativos mueren y las hojas caen en situaciones de deficiencia extrema. Pueden surgir pequeños frutos partenocárpicos, sin hueso, debido a problemas en la fecundación, que maduran temprano y caen al inicio del otoño. Los frutos de algunos cultivares presentan necrosis en la zona apical, adquiriendo una apariencia conocida como cara de mono (Arrobas y Moutinho-Pereira, 2009).

La toxicidad de boro es menos común en la oleicultura y cuando ocurre normalmente se asocian a la aplicación excesiva de boro como fertilizante. Chatzissavvidis y Therios (2010) sometieron plantas jóvenes a cantidades excesivas de boro en la solución. En la situación de boro en exceso se observó una reducción en el número de flores, acortamiento de las ramas laterales y reducción de la altura en una de

las variedades ensayadas. Sin embargo, la materia seca total de las plantas no fue significativamente afectada. En el campo, árboles con síntoma de toxicidad de boro han sido observados en olivares jóvenes, que presentan iniciación de clorosis en los bordes y ápices de hojas maduras y que se generaliza por las zonas apicales y en algunos casos origina la muerte de la planta.

A pesar de la importancia reconocida al boro y de la observación frecuente de síntomas de deficiencia en olivar, no son muchos los estudios que muestran respuesta de la producción de aceituna por la aplicación de boro. Sin embargo, Soyergin (2010) registró que la aplicación de boro al suelo y por vía foliar originó un aumento de la concentración de boro en los tejidos y de la producción de aceitunas. Rodrigues et al. (2011b), en un estudio en el que un olivar estuvo cuatro años sin recibir boro como fertilizante, registraron reducción de la disponibilidad de boro en el suelo, quiebra en la concentración de boro en las hojas y reducción de la producción de aceituna. Por otro lado, Toker y Yavuz (2015) comprobaron que la aplicación de boro aumentó el contenido de grasa y la calidad del aceite, mejorando el equilibrio de los ácidos grasos y reduciendo fenoles totales y compuestos volátiles en la cultivar turca ‘Ayvalik’.

A pesar de que el boro es un elemento importante en la oleicultura, la exportación se reduce teniendo en cuenta que se trata de un micronutriente. Rodrigues et al. (2012) estimaron exportaciones de boro de 20 a 25 g por tonelada de aceituna fresca en un olivar con contenido de boro en las hojas bajo aunque dentro del intervalo de concentraciones adecuadas. En la cosecha los frutos representan cerca del 51 % del boro contenido en la parte aérea de la planta. Sin embargo, la eficiencia de uso del boro tiende a ser baja, con valores exportados de 5 a 15 % del boro aplicado como fertilizante durante una estación de crecimiento (Shorrocks, 1997). En la práctica el boro es recomendado en dosis a variar entre 0,5 a 3 kg ha⁻¹ (Bryson et al., 2014), debiendo este aspecto merecer especial atención porque los límites de deficiencia y toxicidad son muy estrechos para este elemento. Las aplicaciones excesivas pueden causar daños severos en las plantas. También debido a la movilidad del boro en el suelo este debe ser aplicado en cantidades reducidas y de forma regular para reducir los riesgos de pérdidas por lixiviación, sobre todo en suelos arenosos (Hu y Brown, 1997).

Los fertilizantes más frecuentemente utilizados para aportar el boro son bórax y ácido bórico que se disuelven rápidamente en el suelo, aunque exista una gama diversificada de productos con diferentes niveles de solubilidad (Shorrocks, 1997). El

boro no debe aplicarse de forma localizada. La reducida movilidad en las plantas puede originar una mala distribución en los tejidos con riesgos de daños causados por la toxicidad (Shorrocks, 1997). La aplicación foliar será poco efectiva, puesto que no hay retranslocación del boro de las hojas para flores, frutos y otras partes en crecimiento. Suponiendo la movilidad en la planta, tales como algunos estudios han sugerido (Delgado et al., 1994; Perica et al., 2002; Liakopoulos y Karabourniotis, 2005), es ejecutable que la aplicación foliar puede ser un medio eficaz para proporcionar boro a las plantas, como está bien demostrado en otras frutales como el manzano, peral y almendro (Broadley et al., 2012). En el olivo, la movilidad del boro puede estar asociada a la translocación en el floema de cantidades considerables de manitol (Liakopoulos y Karabourniotis, 2005).

iii. Capítulo 3 - Material y Métodos

iii.i. Ensayos de campo

Esta investigación involucró dos experiencias de campo, que incluyó cuatro nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio y boro) y siete experiencias en macetas donde se estudió individualmente los nutrientes referidos.

Los estudios se realizaron en Bragança, en noreste de Portugal (41° 48' N; 6° 44' W). La región disfruta de un clima mediterráneo con alguna influencia del régimen Atlántico.

iii.i.i. Primer ensayo de campo

El primer ensayo de campo (**Campo 1**) fue instalado en marzo de 2013 en un olivar de secano de la cultivar 'Cobrançosa' con tres años de edad y árboles plantados en un marco de 7 x 6 m.

El ensayo fue organizado de forma casualizada, con cinco niveles de fertilización, en particular un plan de fertilización con nitrógeno, fósforo, potasio y boro, que en esta experiencia se consideró la modalidad testigo (T). Los restantes cuatro tratamientos consistieron en la remoción de un nutriente, originando tratamientos: con aplicación de fósforo, potasio y boro (-N); nitrógeno, potasio y boro (-P); nitrógeno, fósforo y boro (-K); y nitrógeno, fósforo y potasio (-B). El delineamiento incluyó además tres

repeticiones de cada tratamiento, cada una compuesta de cuatro árboles, lo que totaliza 12 árboles por tratamiento.

Los fertilizantes fueron aplicados manualmente a principios de abril, de forma localizada en áreas definidas junto al tronco de los árboles. El nitrógeno, el fósforo, el potasio y el boro se aplicaron, según la razón, a 48, 70, 133 y 1,2 g de árbol año⁻¹. Se utilizaron los abonos superfosfato simples (18 % P₂O₅), cloruro de potasio (60 % K₂O), nitrato de amonio (34,5 % N) y borax (11% B).

El suelo fue mantenido con aplicación de herbicida no selectivo total a base de glifosato, aplicado una vez al año a principios del mes de abril.

En esta experiencia se midió periódicamente el diámetro del tronco a 30 cm de altura y se estimó el volumen de la canopia.

La leña de poda fue también usada como un índice de exuberancia vegetativa de las plantas, y los árboles fueron podados anualmente en el reposo vegetativo. La leña de poda fue pesada en fresco, separada una submuestra que fue también pesada en fresco y llevada a laboratorio donde fue seca a 65 °C y separada en hojas y tallos para análisis de la composición elemental.

A finales del otoño, a partir del segundo año de ensayo, se cosechó la aceituna de forma manual y fue pesada por árbol. También se cosechó una submuestra de 100 frutos que fueron pesados para evaluar el tamaño de los frutos. Otra submuestra representativa de 20 frutos fue separada en pulpa y hueso, pesada en fresco, seca a 65 °C y pesada en seco y usada para análisis químico elemental.

Dos veces al año, en el reposo vegetativo invernal y en el verano al endurecimiento del endocarpio (finales de julio) se tomaron muestras de hojas en el tercio medio de las ramas del año y en todos los cuadrantes, para evaluar el estado nutricional de las plantas.

En el final del estudio se tomaron muestras del suelo en tres profundidades (0-5 cm, 5-10 cm, y 10-20 cm) para evaluar el efecto de los tratamientos en las propiedades del suelo.

En septiembre de 2016, en las parcelas de nitrógeno, boro y testigo, se sembró nabiza (*Brassica rapa* var. *rapa*) en la zona de aplicación de fertilizantes. La parte aérea

de la nabiza fue cortada en el invierno siguiente y la exportación de nutrientes usada como indicador biológico de la disponibilidad de nitrógeno y boro para las plantas.

iii.i.ii. Segundo ensayo de campo

Un segundo ensayo de campo (**Campo 2**) fue instalado específicamente para el desarrollo de este estudio.

La experiencia fue organizada de forma similar a la del Campo 1, y los factores en estudio fueron las aplicaciones de nitrógeno, fósforo, potasio y boro como testigo y otros cuatro tratamientos correspondientes a la remoción de cada uno de los nutrientes. La plantación fue instalada en líneas con distancias de 1 m entre plantas y las líneas espaciadas de 6 m. Cada tratamiento incluyó tres repeticiones de diez árboles (10 m). La experiencia se inició en mayo de 2014, habiendo sido plantados árboles de la cultivar ‘Cobrançosa’ con 20 a 30 cm de altura.

Los nutrientes nitrógeno, fósforo, potasio y boro se aplicaron anualmente, en las dosis de 200, 175, 332 y 6 g por unidad experimental (10 árboles). Se utilizaron los mismos fertilizantes referidos a la experiencia anterior. En el primer año el suelo fue movilizado después de la plantación y los fertilizantes incorporados. En los años siguientes se utilizó un herbicida no selectivo total (tal como en la experiencia anterior) en la zona de aplicación de los fertilizantes y el espacio entre líneas fue movilizado con escarificador. En el primer año las plantas fueron regadas tres veces durante el verano para reducir el riesgo de muertes. En los años siguientes las plantas se mantuvieron en seco.

Dos veces al año, en el reposo vegetativo y en el verano, se tomaron hojas para evaluar el estado nutricional de las plantas. Al final de este ensayo, en octubre de 2016, la parte aérea de cuatro plantas internas de las parcelas fue cortada por la base y pesada en fresco. Una submuestra fue también pesada, conducida a laboratorio, seca a 65 °C y pesada de nuevo después separada en hojas y tallos. Cada una de las partes de las plantas fue analizada para la composición elemental y la estimación de la exportación de nutrientes.

iii.ii. Ensayos en macetas

El estudio incluyó siete experiencias en macetas, una dedicada al nitrógeno y dos dedicadas a cada uno de los nutrientes fósforo, potasio y boro.

iii.ii.i. Nitrógeno

La respuesta del olivo a la aplicación de nitrógeno también se estudió con una experiencia en macetas (**Vasos N**) como se ha mencionado. La experiencia fue instalada en marzo de 2014, con la cultivar ‘Cobranços’. La experiencia fue organizada de forma completamente casualizada con cuatro dosis de nitrógeno y seis repeticiones (6 macetas) por tratamiento. Se utilizaron las dosis de nitrógeno de 0, 0,4, 0,8 y 1,6 g maceta⁻¹ año⁻¹. Con fertilizante nitrogenado se utilizó nitrato de amonio (34,5 % N). Todas las macetas recibieron un suplemento fertilizante con fósforo, potasio y micronutrientes. De fósforo y potasio se utilizaron, respectivamente, 0,35 y 0,66 g maceta⁻¹ año⁻¹. Fósforo y potasio se aplicaron en forma de un fertilizante líquido compuesto PK (0:30:20), suplementado con un fertilizante potásico líquido (45 % K₂O). Los micronutrientes se aplicaron usando una mezcla comercial que contenía 10 % MgO, 0,3 % B, 18,5 % SO₃, 0,3 % Cu, 2 % Fe, 1 % Mn, 0,02 % Mo, 1,6 % Zn aplicado a la razón de 0,08 g maceta⁻¹ año⁻¹. Con excepción del calcáreo, que se utilizó íntegramente en el momento de la instalación del ensayo, los demás fertilizantes se aplicaron cada año repartidos por cinco aplicaciones durante la estación de crecimiento para reducir el efecto salino de los fertilizantes. Las macetas se mantuvieron en invernadero durante el período de prueba y se regaron regularmente. Las malas hierbas también fueron removidas manualmente a la aparición.

Las plantas fueron cortadas al final de cada estación de crecimiento en febrero de 2015, febrero de 2016 y febrero de 2017 aproximadamente a 12 cm de altura, para facilitar la regeneración de la planta en la siguiente estación de crecimiento. Después de cortadas fueron separadas en hojas y tallos y encaminadas para el laboratorio. En el febrero de 2017 las plantas fueron retiradas de las macetas siendo primero recuperada una muestra homogénea de tierra por maceta. Las raíces fueron posteriormente lavadas con agua bajo ligera presión y la planta dividida en raíces, hojas y tallos que fueron etiquetadas y encaminadas por separado para el laboratorio.

Durante la estación de crecimiento se evaluó la fluorescencia de la clorofila *a* y la fluorescencia transiente basada en la prueba OJIP usando el fluorómetro OS-30p+.

iii.ii.ii. Fósforo

El estudio del fósforo incluyó dos experimentos en macetas. En la primera (**Vasos P1**), iniciada en marzo de 2013, se estudió la respuesta de la planta a la aplicación de cuatro dosis de fósforo en un ensayo completamente casualizado con diez repeticiones (10 macetas). Se utilizaron las dosis de fósforo de 0, 0,35, 0,70 y 1,05 g maceta⁻¹ año⁻¹. En este ensayo se aplicó un plan de fertilización basal, con 5 g maceta⁻¹ de calcáreo al inicio de la instalación de la experiencia, 0,80 g N maceta⁻¹ año⁻¹ y 0,66 g K maceta⁻¹ año⁻¹ y la solución de micronutrientes mencionada en la experiencia de los Vasos N. Se utilizaron los mismos fertilizantes mencionados en la experiencia del nitrógeno. Con excepción del calcáreo, los otros nutrientes se aplicaron anualmente y las dosis mencionadas divididas en cinco aplicaciones anuales para reducir el efecto salino. Las plantas fueron cortadas al final de tres estaciones de crecimiento en febrero de 2014, febrero de 2015 y febrero de 2016. En los dos primeros años fue cortada sólo la parte aérea y en el tercero se recuperó una muestra de tierra, las raíces lavadas y la planta por separado entre raíces, hojas y tallos. Las muestras de suelos y plantas fueron encaminadas para laboratorio para secado, cribado/muenda y análisis.

Una segunda experiencia de fósforo (**Vasos P2**) fue instalada en marzo de 2014. En esta segunda experiencia se utilizaron cuatro suelos diferentes y dos dosis de fósforo (0 y 1,05 g P maceta⁻¹ año⁻¹), en un ensayo en bloques casualizados en que los diferentes suelos fueron incluidos en el delineamiento como bloques. Las plantas fueron cortadas anualmente en febrero de 2015, febrero de 2016 y febrero de 2017. En el último corte se recuperó una muestra de tierras y de raíz, así como de la parte aérea. Todos los demás procedimientos fueron análogos al referido para la experiencia Vasos P1 descrita en el párrafo anterior.

Como se ha descrito anteriormente, en las Vasos P2 se ha evaluado la fluorescencia de la clorofila *a* y la fluorescencia transiente basada en la prueba OJIP usando el fluorómetro OS-30p+.

iii.ii.iii. Potasio

El estudio del potasio incluyó dos experimentos en macetas. La primera (**Vasos K1**) es una experiencia de respuesta a tres dosis de potasio organizada en bloques casualizados en que los bloques son tres tipos de suelos diferentes. La experiencia incluyó seis macetas por unidad experimental. Las dosis de potasio fueron de 0, 0,66 y 1,33 g maceta⁻¹ año⁻¹. Se aplicó un plan de fertilización basal con calcáreo (5 g maceta⁻¹) aplicado a la instalación y nitrógeno (0,8 g maceta⁻¹), fósforo (0,35 g maceta⁻¹) y micronutrientes (0,08 g maceta⁻¹) aplicados anualmente divididos en cinco aplicaciones. Los fertilizantes utilizados fueron un fertilizante potásico líquido (45 % de K₂O), un fertilizante líquido compuesto NP (2:8:0) y nitrato de amonio (34,5 % N).

La experiencia comenzó en abril de 2015 e involucró dos cortes de biomasa al final de las estaciones de crecimiento en febrero de 2016 y octubre de 2016. En el primer ciclo se cortó sólo la biomasa aérea y en el segundo ciclo se recuperó una muestra de los suelos y las plantas se separaron en raíces, tallos y hojas. Toda la tecnología restante fue similar a las experiencias anteriormente descritas.

La segunda experiencia en macetas (**Vasos K2**) fue organizada en bloques casualizados con tres tratamientos, en particular régimen de riego (normal, estrés), fertilización con potasio (con y sin aplicación) y dos cultivares ('Arbequina' y 'Cobrançosa'). El régimen hídrico normal consistió en regar regularmente durante toda la estación de crecimiento mientras que en el régimen de estrés las plantas se dejaron de regar durante dos largos períodos seguidos de rehidratación. La fertilización con potasio consistió en una modalidad testigo sin potasio y en la aplicación de 0,66 kg K maceta⁻¹ año⁻¹.

Esta experiencia fue instalada en febrero de 2016 y las plantas sólo cumplieron un ciclo de crecimiento habiendo sido removidas de las macetas en febrero de 2017, siendo recuperada una muestra de suelos y la planta separada en raíz, tallo y hojas para análisis de laboratorio. Todos los demás procedimientos fueron idénticos al referido para la experiencia Vasos K1.

En esta experiencia se determinó un índice de esclerofilia, la densidad de tejido foliar (D), y dos índices de estado hídrico de la planta (contenido relativo en agua, CRA, y contenido de agua a la saturación, CAS).

Como se describe anteriormente, en los Vasos K2 se evaluó la fluorescencia de la clorofila a y la fluorescencia transiente y también la prueba OJIP usando el fluorómetro OS-30p+.

iii.ii.iv. Boro

El estudio del boro implicó dos experimentos en macetas, tal como los estudios del fósforo y del potasio. La primera experiencia (**Vasos B1**) fue un estudio de respuesta a la aplicación de boro al suelo y foliar. Se establecieron tres tratamientos, en particular aplicación de boro al suelo, aplicación de boro foliar y testigo sin aplicación de boro en un delineamiento en bloques casualizados en que los bloques fueron constituidos por tres suelos diferentes. Se utilizaron seis macetas para cada combinación de suelos y tratamientos fertilizantes. La fertilización foliar consistió en la aplicación anual de 0,04 mL de Tradebor (11 % B) dividido en dos aplicaciones repartidas por la estación de crecimiento con la aplicación del preparado a envolver toda la parte aérea. La fertilización de boro al suelo consistió en la aplicación anual de 0,29 g de bórax (11 % B) también dividida en dos aplicaciones anuales. Se aplicó un plan de fertilización basal con nitrógeno, fósforo y potasio idéntico al que se ha indicado para las demás experiencias en macetas. La experiencia fue instalada en marzo de 2015 e involucró dos ciclos culturales con corte de la parte aérea al final del primer ciclo (febrero de 2016) y recuperación de una muestra de suelo y de la totalidad de la planta dividida en raíz, tallo y hojas al final del primer ciclo segundo ciclo de crecimiento (febrero de 2017).

La segunda experiencia en macetas de boro (**Vasos B2**) involucró la aplicación foliar de boro de forma parcial y en la totalidad de la parte aérea. Se realizaron tres tratamientos, con aplicación de boro sobre la totalidad de la parte aérea, aplicación de boro foliar a plantas con algunas ramas protegidas con cubiertas de plástico para no recibir boro y testigo sin aplicación de boro. La fertilización foliar consistió en la aplicación anual de 0,04 mL de Tradebor (11 % B) dividido en dos aplicaciones con intervalo de una semana para reforzar la absorción de boro. En las plantas tratadas parcialmente se marcaron las ramas protegidas. En todas las plantas de la experiencia se colocó una marca en el límite del tallo para separar los tejidos presentes en el momento de la aplicación de los tejidos que se desarrollaron después de la aplicación. La experiencia fue instalada en marzo de 2016. Al final de la experiencia, en febrero de 2017, las plantas fueron removidas del suelo y separadas en diferentes partes, en

particular raíz, fracción de tallos existentes hasta la segunda aplicación foliar de boro, fracción de hojas presentes hasta la segunda fracción de boro, fracción de tallos que se desarrollaron después de la segunda aplicación de boro, fracción de hojas que se desarrollaron después de la segunda aplicación de boro. En el caso de las plantas tratadas parcialmente se separaron las partes (tallos y hojas) mojadas y no mojadas, así como las prolongaciones de las ramas (de las partes mojadas y no mojadas) que se desarrollaron después de la aplicación del preparado. Todos los tejidos fueron conducidos a laboratorio para el análisis de la concentración en boro.

De todas las experiencias, en las muestras de suelos se determinaron diversas propiedades físicas, químicas y biológicas, algunas de interés general y determinadas en todas las muestras, mientras que otras con objetivos muy específicos se determinaron sólo en muestras particulares.

Todo el material vegetal enviado para laboratorio fue seco y molido en malla de 1 mm en un molino Cyclotec. Se determinó la composición elemental de los tejidos vegetales, en particular, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, boro, hierro, zinc, cobre y manganeso.

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza en función del delineamiento experimental asociado a cada experiencia. En las experiencias factoriales se evaluó la interacción entre los factores en estudio. Cuando no se registró interacción significativa ($\alpha > 0,05$) y en todos los modelos cuando ocurrieron diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) las medias, en experimentos con más de dos tratamientos, fueron separadas por el test Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

iv. Capítulo 4 (Resultados) y Capítulo 5 (Discusión)

iv.i. Nitrógeno

En el ensayo Campo N1 la aplicación de nitrógeno no aumentó los parámetros de rendimiento de los árboles, es decir, el diámetro del tronco, volumen de la canopia y leña de poda. Fernández-Escobar et al. (2009a) en estudios con cv. ‘Picual’ en el sur de España, tampoco encontraron respuesta en el crecimiento de los árboles por la aplicación de nitrógeno. En otro estudio con duración de cinco años y cuatro olivares en contextos agroecológicos distintos, Fernández-Escobar et al. (2009b) tampoco observaron beneficios de la aplicación de nitrógeno en el crecimiento vegetativo. Sin

embargo, aunque el tamaño de los frutos no fue influenciado significativamente por la modalidad de nitrógeno [resultados obtenidos por Fernández-Escobar et al. (2009a)], la aplicación de nitrógeno aumentó la producción de aceitunas en el segundo año en que comenzaron a producir los árboles. También Rodrigues et al. (2011 b) verificaron una disminución significativa y progresiva de la producción de aceitunas cuando el nitrógeno se eliminó del plan de fertilización durante cuatro años, en comparación con los tratamientos en los que se aplicaba anualmente el nutriente. Jasrotia et al. (1999) también verificaron un aumento significativo en la productividad de la aceituna con un aumento de las dosis de nitrógeno.

En el ensayo Vasos N la producción de materia seca de tallos y total, así como el nitrógeno recuperado (función de la producción de materia seca y de la concentración de nitrógeno en los tejidos) en los tallos y total, variaron de forma significativa con la modalidad azotada. En este ensayo ocurrieron diferencias significativas en la producción de materia seca en 2016 y 2017, no sólo para la biomasa total, sino también para todas las partes de la planta, y los tratamientos con nitrógeno registraron valores significativamente superiores en comparación con el testigo. Los valores medios mostraron una disminución leve, pero no significativa, de la mayor dosis de nitrógeno, siendo que las plantas fertilizadas con 0,8 g de nitrógeno por maceta y por año (N2) presentaron mayor crecimiento de los tallos y también de raíces que las que recibieron 1,6 g de nitrógeno (N3). Resultados similares fueron obtenidos por Fernández-Escobar et al. (2004), también en un ensayo en macetas, con la cv. 'Picual', en el que los olivos fertilizados con 0,75 g de nitrógeno presentaron un mayor crecimiento de la parte aérea que los que recibieron 2 g de nitrógeno.

La concentración de nitrógeno en las hojas varió de forma significativa en los dos ensayos de campo con la fertilización de nitrógeno en varias fechas de muestreo. Con excepción de la segunda fecha de muestreo de la experiencia Campo N2, todas las muestras foliares de los tratamientos +N y -N de los dos ensayos de campo presentaron valores de nitrógeno dentro de la zona de concentraciones adecuadas para el olivo [entre 15 y 25 g kg⁻¹, según Bryson et al. (2014)]. La mayor concentración de nitrógeno en las hojas verificadas en las muestras de diciembre en comparación a las de julio se debe al hecho de que coincide con la fase de mayor actividad vegetativa y crecimiento de los frutos, ocurriendo un efecto de dilución de los nutrientes en la planta. Por su parte, el

mes de diciembre coincide con el reposo vegetativo, lo que hace que las hojas adultas tiendan a estar más concentradas en nitrógeno.

En los ensayos de campo no se observó un aumento significativo en los niveles de nitrógeno en el suelo en la modalidad fertilizada. Los indicadores químicos de disponibilidad potencial de nitrógeno mostraron valores significativamente más elevados en las muestras de suelo procedentes de la capa 0-5 cm, pudiendo significar que existe mayor sustrato orgánico con significado biológico, es decir, más fácilmente mineralizable. En cierta forma, refuerza la información relativa al aumento de la fertilidad del suelo en la capa más superficial en concordancia con el aumento de la materia orgánica y del nitrógeno total que se ha comprobado. El resultado se debe naturalmente al hecho de que la superficie del suelo tiene mayor actividad biológica, según Varennes (2003) debido a la acción de raíces ya la fauna del suelo. En el ensayo en macetas, la concentración de nitratos en los extractos de las membranas de intercambio aniónico obtenidos en N3 se distinguió de los restantes tratamientos por ser la más elevada, con valor de $365,8 \text{ mg L}^{-1}$. Los valores más bajos fueron de $18,2 \text{ mg L}^{-1}$ y se registraron en la modalidad testigo. Los indicadores químicos de disponibilidad potencial de nitrógeno mostraron valores significativamente más altos en N3. El pH (H_2O) inicial del suelo utilizado en el ensayo de los Vasos N era 5,5. En este ensayo el aumento de la dosis de nitrógeno aumentó la acidez del suelo, siendo que N0 presentó valores de pH de 7,3 y N3 de 4,7. Esta situación puede estar justificada por el hecho de que la nitrificación del ión amonio (NH_4^+) proveniente de la mineralización de la materia orgánica o del abono, ha contribuido al enriquecimiento de la solución del suelo con iones H^+ (Porta et al., 2003; Osman, 2013).

Las diferencias significativas observadas en los indicadores biológicos para la producción de materia seca, la concentración de nitrógeno y la cantidad de nitrógeno recuperado en la nabiza, refuerzan la constatación de que la disponibilidad de nitrógeno en el suelo fue mayor en el tratamiento +N en comparación con el tratamiento -N.

iv.ii. Fósforo

En los ensayos de campo la aplicación de fósforo no aumentó la producción de aceituna ni los parámetros de desempeño de los árboles. En el ensayo Vasos P1, la aplicación de fósforo tampoco aumentó la producción de materia seca. Estos resultados están de acuerdo con Hartmann et al. (1966), que afirmaron no se conocen ensayos en

que haya habido respuesta a aplicaciones de fósforo en olivos cultivados en campo. Los autores de libros más recientes son también de opinión de que no es frecuente observar respuesta a la fertilización de fósforo en olivo (Freeman y Carlson, 2005; Connell y Vossen, 2007, Gregoriou y El-Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Sin embargo, un aumento en la producción de materia seca debido a la aplicación de fósforo se obtuvo en la experiencia Vasos P2 en cualquiera de los tres años de ensayo. El ensayo Vasos P2 difería del ensayo de los Vasos P1 en la medida en que se utilizaron algunos suelos pobres en fósforo y de pH muy bajo, lo que habría llevado a una mayor diferencia en la disponibilidad de fósforo entre los tratamientos con y sin aplicación del nutriente. En estudios un poco más recientes, Erel et al. (2013b), trabajando con olivos jóvenes cultivados en macetas con perlita como sustrato, verificaron que la aplicación de fósforo aumentó la intensidad de la floración y el número de frutos por árbol. Se observa que la perlite es básicamente un sustrato inerte, quedando las plantas enteramente dependientes del suministro externo de nutrientes. En un estudio de dos años, con los cvs. ‘Picual’ y ‘Arbequina’, Centeno y Campo (2011) también refieren un aumento de la producción con aplicación foliar de fósforo en uno de los años para la cv. ‘Arbequina’.

La aplicación de fósforo aumentó la concentración de fósforo en los tejidos en el ensayo Campo P2 y en ambas experiencias en macetas. El aumento de la concentración de fósforo en las hojas, como respuesta a la aplicación de fósforo, fue también observado en estudios anteriores (Morales-Sillero et al., 2009; Erel et al., 2008, 2013b). En el ensayo Campo P1, como la concentración de fósforo en las hojas puede ser comparada con los intervalos de suficiencia del cultivo, una vez que las hojas fueron recolectadas de acuerdo con el procedimiento estándar (Bryson et al., 2014), ayuda a justificar la dificultad en obtener respuesta positiva del olivo a la aplicación de fósforo, dado que la concentración de fósforo en las hojas nunca descendió por debajo del límite inferior de la gama de suficiencia en el tratamiento testigo.

Los ensayos en macetas revelaron que las raíces pueden acumular importantes cantidades de fósforo. Las raíces presentaron concentraciones de fósforo más altas que hojas y tallos. Loupassaki et al. (2002) ya habían registrado niveles más altos de fósforo en las raíces en comparación con las hojas y los tallos, en un estudio con seis cultivares de olivo. En el ensayo Vasos P2, la aplicación de fósforo aumentó no sólo la concentración de fósforo en las raíces, sino también la relación raíz/parte aérea. Así,

parece que cuando el fósforo disponible en el suelo es elevado, el nutriente aumenta no sólo su concentración en las raíces, sino también el tamaño del sistema radicular. Estos resultados parecen indicar que las raíces pueden almacenar fósforo, que puede tamponar el fósforo en la parte aérea, ayudando a superar los períodos de menor disponibilidad de fósforo en el suelo. El resultado puede también ayudar a entender la dificultad en obtener respuesta positiva de los olivos adultos a la aplicación de fósforo.

En el ensayo Campo P1, la aplicación de fósforo aumentó el fósforo extraíble en el suelo, según lo determinado por los cuatro métodos utilizados, mientras que la actividad de la fosfatasa ácida no varió significativamente. Con la profundidad del suelo, el fósforo extraíble fue menor, así como el carbono orgánico y la actividad de la fosfatasa ácida. Así, en esta experiencia, el sustrato orgánico (es decir, el fósforo orgánico en el suelo) parece haber sido más decisivo para la actividad de la fosfatasa ácida que el nivel del fósforo inorgánico en el suelo. En los estudios anteriores ya se había demostrado la importancia del sustrato orgánico en la regulación de la actividad de la fosfatasa ácida (Turner, 2008; Kitayama, 2013; Zhang et al., 2014). En el ensayo Vasos P1, la aplicación de fósforo aumentó el fósforo extraíble en el suelo, mientras que la actividad de la fosfatasa ácida no varió significativamente. En esta experiencia, el suelo fue corregido con calcárea, lo que habrá reducido la actividad de la fosfatasa ácida. Se ha documentado que la actividad de la fosfatasa ácida generalmente prevalece en suelos ácidos, mientras que la actividad de la fosfatasa alcalina prevalece en suelos alcalinos (Eivazi y Tabatabai, 1977; Nannipieri et al., 2011). En el ensayo Vasos P2, el fósforo extraíble en el suelo aumentó con aplicación de fósforo, siendo la actividad de la fosfatasa ácida reducida. Este es un resultado esperado, ya que también está bien establecido que el fósforo inorgánico soluble inhibe la actividad de la fosfatasa ácida (Olander y Vitousek, 2000; Zheng et al., 2015).

iv.iii. Potasio

En el ensayo Campo K1, no se obtuvo una respuesta positiva a la aplicación de potasio en el desarrollo de los árboles y en la producción de aceitunas. También no se observaron diferencias significativas en la concentración de potasio en las hojas, aunque se observó un aumento significativo en los niveles de potasio del suelo.

En la experiencia Campo K2 no hubo aumento en la producción de materia seca, pero las concentraciones de potasio en las hojas aumentaron, lo que también originó un

aumento de potasio recuperado de la biomasa aérea. Estos resultados parecen apoyar la tesis de Khan et al. (2013), que afirmaron que es difícil obtener, en condiciones de campo, una respuesta a la aplicación de potasio, y también los resultados de Erel et al. (2013b), que verificaron una disminución de la intensidad de floración y de la productividad de las aceitunas sólo cuando se impuso una deficiencia severa y prolongada a las plantas en macetas con perlita como sustrato y sin aplicación de potasio. Estudios con hierba luisa (*Aloysia citrodora* Paláu) realizados en suelos de la región de Trás-os-Montes, en campo y en macetas, también revelaron dificultades en obtener respuesta positiva en la producción de materia seca con la aplicación de potasio (Afonso et al., 2018). En el trabajo ahora presentado, probablemente los niveles de potasio en el suelo y las concentraciones de potasio en las hojas nunca fueron suficientemente bajos, incluso en el tratamiento testigo, para influenciar significativamente el desempeño de los árboles. Los ensayos de campo y en macetas no revelaron variación significativa en la concentración de otros nutrientes en los tejidos después de la aplicación de potasio.

La aplicación de potasio aumentó la concentración de potasio en las hojas, tallos y raíces, con excepción del ensayo Campo K1. En ninguno de los ensayos fue posible observar un aumento en la producción de materia seca debido a la aplicación de potasio, incluyendo las experiencias en macetas. Sin embargo, la aplicación de potasio aumentó la relación parte aérea/raíz. Las experiencias en las macetas también mostraron que la concentración de potasio en las raíces fue menor que en la parte aérea a niveles bajos de potasio en el suelo, pero con el aumento de la disponibilidad de potasio en el suelo, la concentración de potasio en las raíces aumentó más en la raíz que en la parte aérea, alcanzando valores próximos a los de las hojas. Estos resultados parecen indicar que la parte aérea es un destino prioritario para potasio y que las raíces pueden acumular potasio cuando la disponibilidad en el suelo es elevada. El papel de potasio en la fotosíntesis, la regulación estomática, la síntesis proteica y el transporte de fotoasimilados (Scherer y Mengel, 2007; Hawkesford et al., 2012; Zörb et al., 2014) pueden justificar la mayor concentración de potasio en la parte aérea de la planta y, en particular en las hojas.

El ensayo Vasos K2 reveló que el estrés hídrico redujo la producción de la materia seca de la planta. En condiciones de sequía, la reducción de la disponibilidad de agua limita la apertura de los estomas, lo que afecta el crecimiento de la planta y la

acumulación de biomasa, tal como verificado por Bacelar et al. (2007) en tres cultivares de olivo. En el estrés hídrico, la concentración de potasio aumentó en la parte aérea (tallos y hojas), pero fue significativamente reducida en las raíces. Las plantas sujetas a estrés hídrico canalizaron más potasio para la parte aérea, dado su papel en la regulación de la función estomática y en las relaciones hídricas en las células (Shabala y Pottosin, 2014, Zörb et al., 2014) reduciendo así la concentración de potasio en las raíces. Por otro lado, la reducción de la humedad en el suelo restringe el movimiento del potasio por difusión y la reducción de la transpiración de la planta disminuye el movimiento del ion por flujo de masa hasta las raíces (Havlin et al., 2014), de forma que la absorción no puede compensar el potasio que se está enviando a la parte aérea, reduciendo así la concentración de potasio en las raíces. Por otro lado, el estrés hídrico aumentó la densidad de tejido foliar como respuesta a un estado inadecuado de hidratación, según lo indicado por un contenido relativo en agua más bajo. Otros estudios también mostraron una disminución en el contenido relativo en agua con el aumento del estrés hídrico (Boughalleb y Hajlaoui, 2011; Ghahfarokhi et al., 2015; Zegaoui et al., 2017). El estrés hídrico puede aumentar la densidad de tejido foliar, ya que la reducción en la presión de turgencia y la expansión celular resultan en la misma masa seca para un área foliar menor (Peña-Rojas et al., 2005). El aumento de la densidad de tejido foliar fue una respuesta de aclimatación a la menor disponibilidad de agua, ya que las hojas con elevada densidad de tejido logran adaptarse mejor a la sequía severa, debido a una mayor resistencia al daño físico inducido por la desecación (Mediavilla et al., 2001). Además, el estrés hídrico redujo severamente F_V/F_M e F_V/F_0 y todos los puntos de la curva OJIP, con excepción del valor de fluorescencia de origen (O) a 20 μ s, mientras que aumentó significativamente la fluorescencia mínima (F0). El estrés hídrico tiene un efecto negativo acentuado sobre las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis, de acuerdo con los resultados obtenidos en otros estudios (Boughalleb y Hajlaoui, 2011; Gomes et al., 2012; Jedmowski et al., 2013), lo que contribuye a explicar la reducción de la producción de materia seca observada en las plantas sometidas a estrés hídrico.

La cultivar ‘Arbequina’ produjo más biomasa que la cultivar ‘Cobrançosa’. Las plantas de ‘Arbequina’ eran ligeramente más vigorosas en la plantación y esto puede haberles dado alguna ventaja, aunque se han cortado en la poda para ajustar los tamaños. Por otro lado, ‘Arbequina’ es una cultivar precoz (Barranco, 2017) en comparación con ‘Cobrançosa’, lo que puede ayudar a justificar la mayor producción de

materia seca. ‘Arbequina’ mostró concentraciones de potasio en la parte aérea significativamente más elevadas que ‘Cobrançosa’ y tendencialmente más bajas en la raíz. Siendo ‘Arbequina’ una cultivar precoz, con un mayor ritmo de crecimiento, pudiendo necesitar más potasio en la parte aérea, lo que puede llevar a la reducción del nutriente en la raíz, ya que la disponibilidad de potasio en el suelo es similar. Las cultivares no mostraron diferencia en la densidad de tejido foliar, pero ‘Arbequina’ presentó menor contenido relativo en agua y mayores valores de contenido de agua a la saturación. El resultado es, en cierto modo, esperado en la medida en que ‘Arbequina’ es una cultivar menos adaptada al estrés hídrico. Estudios anteriores de Bacelar et al. (2004) mostraron que ‘Arbequina’ presentó menor contenido relativo en agua y mayor contenido de agua a la saturación que ‘Cobrançosa’, indicando mayor pérdida de agua por la primera. En otros estudios con diferentes genotipos de olivos, Bacelar et al. (2006; 2007) consideraron ‘Cobrançosa’ una cultivar muy prometedora para cultivo en regiones semiáridas. ‘Arbequina’ presentó valores más bajos de F_v/F_M e F_v/F_0 que ‘Cobrançosa’, indicando una mayor desventaja bajo estrés hídrico, tal como habían verificado Bacelar et al. (2004).

iv.iv. Boro

En el ensayo Campo B1 la aplicación de boro no aumentó la producción de aceituna ni los parámetros de rendimiento de los árboles. Sin embargo, se observó un aumento en las concentraciones de boro en las hojas y los tallos y en la pulpa y el hueso. Los niveles de boro en el suelo también aumentaron en la modalidad fertilizada con boro, teniendo los niveles del elemento en el suelo reducido con la profundidad. El tratamiento con aplicación de boro al suelo presentó valores significativamente más elevados de producción de materia seca por la nabiza, de boro en los tejidos de la planta y de boro recuperado en relación al testigo. En ambas modalidades de fertilización, el contenido de boro en las hojas cosechadas en el invierno por el procedimiento estándar fue menor que en las hojas cosechadas en el verano, resultado también observado por otros autores (Chatzissavvidis et al., 2005; Arrobas et al. 2010; Rodrigues et al., 2011a; 2012). En el ensayo Campo B2, se verificó un aumento en la producción de materia seca y en las concentraciones de boro en las hojas, lo que, a su vez, originó un aumento de boro recuperado en la biomasa aérea. Pocos estudios hasta el momento mostraron respuesta en la producción de aceituna por la aplicación de boro. Sin embargo, Soyergin

(2010) verificó que la aplicación de boro al suelo y por vía foliar originó un aumento en la concentración de boro en los tejidos y en la producción de aceitunas. Rodrigues et al. (2011b), en un estudio en el que un olivar estuvo cuatro años sin recibir boro como fertilizante, registraron reducción de la disponibilidad de boro en el suelo, quiebra en la concentración de boro en las hojas y reducción de la producción de aceituna.

En el ensayo Vasos B1 el tratamiento boro aplicado al suelo (B1) presentó concentraciones de boro en los tejidos (hojas, tallos y raíz) y niveles de boro en el suelo significativamente más elevados que la modalidad de aplicación de boro foliar (Bf) y testigo. Los resultados de 2017 mostraron que las muestras del tratamiento B1 son aproximadamente el cuádruple de las muestras del tratamiento Bf. El ensayo Vasos B1 reveló que las raíces son tejidos importantes en la acumulación de boro. Las raíces presentaron concentraciones de B más elevadas que hojas y tallos en los tratamientos B1 y Bf. Aunque el boro se considera genéricamente poco móvil en el olivo (Gregoriou y El Kholi, 2010), Delgado et al. (1994) mostraron que al aplicar boro a las hojas cerca de la floración, la concentración de boro aumentó en diversos tejidos, incluyendo flores y frutos tres días después del tratamiento, lo que sugiere que el boro se habría movilizado de las hojas para las partes en crecimiento. También Perica et al. (2002) y Liakopoulos y Karabourniotis, (2005) encontraron evidencia de que el boro es movilizado de las hojas adultas para tejidos jóvenes en crecimiento. De acuerdo con Liakopoulos y Karabourniotis, (2005) la movilidad del boro en el olivo puede estar asociada a la translocación en el floema de cantidades considerables de manitol.

En el ensayo Vasos B2 a cultivar 'Arbequina' mostró alguna restricción a la movilidad por el hecho de que las hojas jóvenes presentaban contenidos de boro más bajos que las hojas viejas que recibieron boro aplicado por vía foliar. En la 'Cobrançosa' las hojas jóvenes no mostraron esta ruptura en la concentración de boro en las hojas jóvenes que se desarrollaron después de la aplicación del nutriente. Sin embargo, los tejidos jóvenes y las raíces de las dos cultivares que no recibieron directamente el nutriente a través de la aplicación foliar revelaron niveles de boro más elevados en la modalidad fertilizada que en la modalidad testigo, lo que muestra alguna movilidad del boro en los tejidos. Por lo tanto, la aplicación foliar parece ser un medio posible de suministrar boro a las plantas, como está bien demostrado en otras frutales como manzano, peral y almendro (Broadley et al., 2012), aunque en el olivo puede haber diferencias entre cultivares.

v. Capítulo 6 – Conclusiones

v.i. Nitrógeno

Los resultados del ensayo de campo con árboles en producción mostraron la dificultad para obtener respuesta en el crecimiento y la producción de aceitunas a la aplicación de nitrógeno, aunque en uno de los años se produjeron aumentos significativos en la producción de aceitunas por la aplicación de nitrógeno. En el ensayo Campo N2, la aplicación de nitrógeno aumentó significativamente la producción de materia seca, la concentración de nitrógeno en las hojas y el nitrógeno recuperado. El ensayo en macetas mostró una curva típica de respuesta al nitrógeno, en la que la producción de biomasa aumentó mientras la disponibilidad del elemento fue limitante, estabilizándose después en un nivel o incluso decreciendo cuando se usaron dosis de nitrógeno elevadas. El aumento de la disponibilidad de nitrógeno en el suelo aumentó la proporción de biomasa aérea con respecto a la biomasa radicular, así como la proporción de hojas en relación a los tallos. Los resultados también indicaron que las hojas son órganos prioritarios en la acumulación de nitrógeno debido a la presencia de la molécula de la clorofila, y que el nitrógeno es un elemento que puede ser utilizado por la planta en consumo de lujo.

v.ii. Fósforo

Los resultados experimentales subrayaron la dificultad para obtener respuesta en el crecimiento de los árboles y en la producción de aceitunas en los suelos de esta región con la aplicación de fósforo. Sin embargo, en el ensayo Vasos P2, la aplicación de fósforo aumentó significativamente la producción de materia seca total para los tres años de ensayo, en concordancia con la concentración de fósforo en los tejidos más elevados y la mayor actividad fotosintética. El sistema radicular del olivo parece tener capacidad de almacenar fósforo cuando éste se encuentra disponible en el suelo, pudiendo tamponar la disponibilidad de fósforo para la parte aérea de la planta. Los resultados también indican que la información proporcionada por la actividad de la fosfatasa ácida debe interpretarse con cautela, ya que parece depender de la disponibilidad de fósforo inorgánico en el suelo, pero también de su contenido en materia orgánica.

v.iii. Potasio

El potasio aplicado al suelo no tuvo un efecto significativo sobre el rendimiento de los árboles, evaluado por la producción de materia seca, por el estado de hidratación de las hojas o por parámetros asociados a la fluorescencia de la clorofila *a*, lo que aparentemente reduce la importancia de la fertilización potásica en estos suelos. La aplicación de potasio incrementó la relación parte aérea/raíz y aumentó proporcionalmente más la concentración de potasio en la raíz que en los demás tejidos, indicando que la parte aérea es un destino prioritario para potasio y que el potasio en la raíz puede funcionar como reserva cuando la absorción es reducida. El estrés hídrico redujo la producción de la materia seca y el nivel de potasio en la raíz, lo que puede deberse a la absorción reducida de potasio ya la prioridad de la parte aérea para el potasio disponible. La cultivar ‘Arbequina’ mostró mayor sensibilidad al estrés hídrico que ‘Cobrançosa’, pero presentó mayor producción de materia seca en condiciones bien irrigadas, posiblemente por ser una cultivar precoz.

v.iv. Boro

La aplicación de boro aumentó la concentración del nutriente en los tejidos pero no provocó alteraciones fisiológicas en las plantas suficientemente relevantes para afectar el desempeño agronómico incluyendo la productividad. Los resultados indican que se deben utilizar normas de interpretación de resultados diferentes para muestras tomadas en verano al endurecimiento del hueso o en el invierno en el reposo vegetativo. En el ensayo en Vasos B1 se registraron concentraciones de boro en los tejidos significativamente más elevados en la modalidad de aplicación de boro al suelo en comparación con aplicación foliar y de ésta significativamente más elevadas que en la modalidad testigo. Los resultados demuestran de forma inequívoca alguna movilidad del boro en la planta, ya que cuando se aplica a la parte aérea este puede alcanzar la raíz. Sin embargo, queda abierta la posibilidad de que la movilidad del boro en el olivo esté, de alguna forma, dependiente de la cultivar, ya que las hojas jóvenes de la cultivar ‘Arbequina’ presentaron niveles de boro más bajos que las hojas más viejas que recibieron boro por vía foliar.

vi. Capítulo 7 – Referencias Bibliográficas

- Afonso, S., Arrobas, M., Ferreira, I. Q., Rodrigues, M. A. 2018. Leaf nutrient concentration standards for lemon verbena (*Aloysia citrodora* Paláu) obtained from field and pot fertilization experiments. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 8:33-40.
- Arquero, O., Barranco, D., Benlloch, M. 2006. Potassium starvation increases stomatal conductance in olive trees. *HortScience* 41 (2): 433-436.
- Arrobas, M., Afonso, S., Rodrigues, M. A., 2018. Diagnosing the nutritional condition of chestnut groves by soil and leaf analyses. *Scientia Horticulturae* 228: 113–121.
- Arrobas, M., Lopes, J. I., Pavão, F., Cabanas, J. E., Rodrigues, M. A. 2010. Comparative boron nutritional diagnosis for olive based on July and January leaf samplings. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41: 709–720.
- Arrobas, M., Moutinho-Pereira, J. 2009. Fertilização do olival. In: Rodrigues, M. A., Correia, C. M. (Eds.). *Manual da safra e contra safra do Olival*. pp. 21-39.
- Bacelar, E. A., Correia, C. M., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Lopes, J. I., Torres-Pereira, J. M. 2004. Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions. *Tree Physiology* 24: 233–239.
- Bacelar, E. A., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F., Correia, C. M. 2007. Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany* 60: 183–192.
- Bacelar, E. A., Santos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F., Correia, C. M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science* 170: 596–605.
- Barranco, D. 2017. Variedades y patrones. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. (Eds.). *El cultivo del olivo*, 7th ed. Madrid, Spain: Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. pp. 63–95.

- Bouat, A. 1987. Olives: Introduction and general. In: Martin-Prével, P., Gagnard, J., Gautier, P. (Eds). Plant analysis as a guide to the nutritional requirements of temperate and tropical crops. New York: Lavoisier Publishing. pp. 299–309.
- Boughalleb, F., Hajlaoui, H. 2011. Physiological and anatomical changes induced by drought in two olive cultivars (cv Zalmati and Chemlali). *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 53–65.
- Bouhafa, K., Moughli, L., Bouchoufi, K., Douaik, A., Daoui, K. 2014. Nitrogen Fertilization of Olive Orchards under Rainfed Mediterranean Conditions. *American Journal of Experimental Agriculture* 4 (8): 890-901.
- Boussadia, O., Steppe, K., Zgallai, H., Ben El Hadj, S., Braham, M., Lemeur, R., Van Labeke, M. C. 2010. Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars ‘Meski’ and ‘Koroneiki’. *Scientia Horticulturae* 123: 336– 342.
- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F., 2012. Function of nutrients, micronutrients. In: Marschner, P. (Ed.), Marschner’s Mineral Nutrition of Higher Plants. Elsevier, London, UK. pp. 191–248.
- Bryson, G., Mills, H. A., Sasseville, D. N., Jones Jr., J. B., Barker, A. V. 2014. Plant Analysis Handbook III. A Guide to Sampling, Preparation, Analysis and Interpretation for Agronomic and Horticultural Crops. Micro-Macro Publishing, Inc., Athens, GA.
- Bustan, A., Avni, A., Yermiyahu, U., Ben-Gal, A., Riov, J., Erel, R., Zipori, I., Dag, A. 2013. Interactions between fruit load and macroelement concentrations in fertigated olive (*Olea europaea* L.) trees under arid saline conditions. *Scientia Horticulturae* 152: 44–55.
- Centeno, A., Campo, M. G. 2011. Response of mature olive trees with adequate leaf nutrient status to additional nitrogen, phosphorus and potassium fertilization. *Acta Horticulturae* 888: 277–280.
- Chatzissavvidis, C., Therios, I. 2010. Response of four olive (*Olea europaea* L.) cultivars to six B concentrations: Growth performance, nutrient status and gas exchange parameters. *Scientia Horticulturae* 127: 29–38.

- Chatzissavvidis, A. C, Therios, I. N., Molassiotis, A. N. 2005. Seasonal variation of nutritional status of olive plants as affected by boron concentration on nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition* 28: 309–321.
- Connell, J. H., Vossen, P. M. 2007. Organic olive orchard nutrition. In: Vossen, P. M. (Ed.) Organic olive production manual. Agriculture and Natural Resources, Publication 3505, University of California. pp. 37-43.
- Dag, A., Ben-David, E., Kerem, Z., Ben-Gal, A., Erel, R., Basheerb, L., Yermiyahu, U. 2009. Olive oil composition as a function of nitrogen, phosphorus and potassium plant nutrition. *Journal of Science of Food and Agriculture Society of Chemical Industry*. Published online in Wiley Interscience.
- Delgado, A., Benlloch, M., Fernández-Escobar, R. 1994. Mobilization of boron in olive trees during flowering and fruit development. *HortScience* 29(6): 616–618.
- Diário da República, 2.^a série, n.º 28. Despacho 34/94, de 3 de fevereiro de 1994. Pág. 1036.
- Duarte, F., Jones, N., Fleskens, L. 2008. Traditional olive orchards on sloping land: Sustainability or abandonment? *Journal of Environmental Management* 89:86-98.
- Eivazi, F., Tabatabai, M. A. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 9: 167–177.
- Erel, R., Dag, A., Ben-Gal, A., Schwartz, A., Yermiyahu, U. 2008. Flowering and fruit set of olive trees in response to nitrogen, phosphorus, and potassium. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133 (5):639-647.
- Erel, R., Kerem, Z., Ben-Gal, A., Dag, A., Schwartz, A., Zipori, I., Basheer, L., Yermiyahu, U. 2013a. Olive (*Olea europaea* L.) tree nitrogen status is a key factor for olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 11261–11272.
- Erel, R., Yermiyahu, U., Van Opstal, J., Ben-Gal, A., Schwartz, A., Dag, A. 2013b. The importance of olive (*Olea europaea* L.) tree nutritional status on its productivity. *Scientia Horticulturae* 159: 8–18.
- Fernández-Escobar, R., 2017. Fertilization. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. (Eds.). El Cultivo del Olivo., 7th ed. Mundi-Prensa., Madrid, Spain. pp. 419–460.

- Fernández-Escobar, R., Beltrán, G., Sánchez-Zamora, M. A., García-Novelo, J., Aguilera, M. P., Uceda, M. 2006. Olive Oil Quality Decreases with Nitrogen Over-fertilization. *HortScience* 41(1): 215-219.
- Fernández-Escobar, R., Benlloch, M., Herrera, E., García-Novelo, J. M. 2004. Effect of traditional and slow-release N fertilizers on growth of olive nursery plants and N losses by leaching. *Scientia Horticulturae* Volume 101, Issues 1–2: 39-49.
- Fernández-Escobar, R., Marin, L., Sánchez-Zamora, M. A., García-Novelo, J. M., Molina-Soria, C., Parra, M. A. 2009a. Long-term effects of N fertilization on cropping and growth of olive trees and on N accumulation in soil profile. *European Journal Agronomy* 31: 223-232.
- Fernández-Escobar, R., Moreno, R., Garcia-Creus, M., 1999. Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia Horticulturae* 82: 25–45.
- Fernández-Escobar, R., Parra, M. A., Navarro, C., Arquero, O. 2009b. Foliar diagnosis as a guide to olive fertilization. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7 (1): 212-223.
- Fernández-Escobar, R., García-Novelo, J. M., Molina-Soria, C., Parra, M. A. 2012. An approach to nitrogen balance in olive orchards. *Scientia Horticulturae* 135: 219-226.
- Ferreira, J., García Ortiz, A., Frias, L., Fernández, A. 1984. Los nutrientes N, P, K en la fertilización del olivar. X Aniversario Red Cooperativa Europea de Investigación en Oleicultura, Córdoba.
- Freeman, M., Carlson, R. M. 2005. Mineral nutrient availability. In: Sibbett, G.S., Ferguson, L. (Eds.) *Olive Production Manual*, 3353, 2nd ed. University of California Publication, Oakland, California. pp. 75–82.
- Freeman, M., Uriu, K., Hartmann, H. T. 2005. Diagnosing and correcting nutrient problems. In: Sibbett, G. S., Ferguson, L. (Eds.) *Olive Production Manual*, 3353, 2nd ed. University of California Publication, Oakland, California. pp. 83-98.
- Ghahfarokhi, M. G., Mansurifar, S., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Saeidi, M., Jamshidi, A. M., Ghasemi, E. 2015. Effects of drought stress and rewatering on antioxidant

- systems and relative water content in different growth stages of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Archives of Agronomy and Soil Science* 61 (4): 493–506.
- Gomes, M. T. G., Luz, A. C., Santos, M. R., Batitucci, M. C. P., Silva, D. M., Falqueto, A. R. 2012. Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll a fluorescence transient. *Scientia Horticulturae* 142: 49–56.
- Gregoriou, C., El-Kholy, M. 2010. Fertilization, in: Olive GAP Manual: Good Agricultural Practices for the Near East & North Africa Countries. FAO, Rome, Italy.
- Hartmann, H. T., Uriu, K., Lilleland, O. 1966. Olive nutrition. In: Childers, N. F (Ed.) Temperate to tropical fruit nutrition. Hort. Publ. Rutgers Univ., New Brunswick, N.J. pp. 252-261.
- Havlin, J. L., Tisdale, S. L., Nelson, W. L., Beaton, J. D. 2014. Soil fertility and fertilizers, an introduction to nutrient management, 8th edition. Pearson, Inc, New Jersey, USA.
- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Moller, I. S., White, P. 2012. Function of macronutrients. In: Marschner, P. (Ed.), Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Elsevier, London, UK, pp. 135–189.
- Hu, H., Brown, P. H. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil* 193: 49-58.
- INE. 2017. Estatísticas Agrícolas 2016. Instituto Nacional de Estatística. ISBN 978-989-25-0395-0. Lisboa. Portugal. pp. 13-30.
- Jasrotia, A., Singh, R. P., Singh, J. M., Bhutami, V. P. 1999. Response of olive trees to varying levels of N and K fertilizers. *Acta Horticulturae* 474: 337-340.
- Jedrowski, C., Ashoub, A., Brüggemann, W. 2013. Reactions of Egyptian landraces of *Hordeum vulgare* and *Sorghum bicolor* to drought stress, evaluated by the OJIP fluorescence transient analysis. *Acta Physiologiae Plantarum* 35: 345–354.
- Khan, S. A., Mulvaney, R. L., Ellsworth, T. R. 2013. The potassium paradox: Implications for soil fertility, crop production and human health. *Renewable Agriculture and Food Systems* 29(1): 3–27.

- Kitayama, K. 2013. The activities of soil and root acid phosphatase in the nine tropical rain forests that differ in phosphorus availability on Mount Kinabalu. Borneo. *Plant and Soil* 367: 215–224.
- Liakopoulos, G., Karabourniotis, G. 2005. Boron deficiency and concentrations and composition of phenolic compounds in *Olea europaea* leaves: A combined growth chamber and field study. *Tree Physiology* 25 (3): 307–315.
- Loupassaki, M. H., Chartzoulakis, K. S., Digalaki, N. B., Androulakis, I. I. 2002. Effects of salt stress on concentration of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, and sodium in leaves, shoots, and roots of six olive cultivars. *Journal of Plant Nutrition* 25 (11): 2457–2482.
- LQARS (Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva). 2006. Manual de fertilização das culturas. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas. Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas, Lisboa, Portugal.
- Marcelo, M. E., Jordão, P. V., Matias, H., Rogado, B. 2010. Influence of nitrogen and magnesium fertilization of olive tree ‘Picual’ on yield and olive oil quality. In: Pestana, M., Correia, P. J. (Eds.). *Acta Horticulturae* 868: VI International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops. pp. 445-450.
- Mediavilla, S., Escudero, A., Heilmeyer, H. 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. *Tree Physiology* 21: 251–259.
- Morales-Sillero, A., Fernández, J. E., Ordovás, J., Suárez, M. P., Pérez, J. A., Liñán, J., López, E. P., Girón, I., Troncoso, A. 2009. Plant-soil interactions in a fertigated ‘Manzanilla de Sevilla’ olive orchard. *Plant and Soil* 319: 147-162.
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., Renella, G. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. In: Bünemann E, Oberson A, Frossard E (Eds.). Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling. *Soil Biology* vol 26. Springer, Heidelberg.
- Olander, L. P., Vitousek, P. M. 2000. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry* 49: 175–190.
- Osman, K. T. 2013. Soils. Principles, Properties and Management. Springer.

- Peña-Rojas, K., Aranda, X., Joffre, R., Fleck, I. 2005. Leaf morphology, photochemistry and water status changes in resprouting *Quercus ilex* during drought. *Functional Plant Biology* 32: 117–130.
- Perica, S., Brown, P. H., Connell, J. H., Nyomora, A. M. S., Dordas, C., Hu, H. 2002. Olive response to foliar boron application. *Acta Horticulturae* 586: 381-383.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. 2003. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 3.^a edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. pp. 251-270.
- Restrepo-Díaz, H., Benlloch, M., Fernández-Escobar, R. 2009. Leaf potassium accumulation in olive plants related nutritional K status, leaf age and foliar application of potassium salts. *Journal of Plant Nutrition* 32: 1108-1121.
- Restrepo-Díaz, H., Benlloch, M., Navarro, C., Fernández-Escobar, R. 2008. Potassium fertilization of rainfed olive orchards. *Scientia Horticulturae* 116: 339-403.
- Rodrigues, M. A., Arrobas, M. 2008. Effect of soil boron application on flower bud and leaf boron concentrations of olives. *Acta Horticulturae* 791: 393-396.
- Rodrigues, M. A., Cabanas, J. E. 2009. Manutenção do solo. In: Rodrigues, M. A., Correia, C. M. (Eds.). Manual da safra e conta safra do olival. Instituto Politécnico de Bragança. Portugal. pp. 41-57.
- Rodrigues, M. A., Lopes, J. I., Pavão, F. M., Cabanas, J. E., Arrobas, M. 2011a. Effect of Soil Management on Olive Yield and Nutritional Status of Trees in Rainfed Orchards. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 42: 993–1007.
- Rodrigues, M. A., Pavão, F., Lopes, J. I., Gomes, V., Arrobas, M., Moutinho-Pereira, J., Ruivo, S., Cabanas, J. E., Correia, C. M. 2011b. Olive yields and tree nutritional status during a four year period without nitrogen and boron fertilization. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 42 (7): 803-814.
- Rodrigues, M. A., Ferreira, I. Q., Claro, A. M., Arrobas, M. 2012. Fertilizer recommendations for olive based upon nutrients removed in crop and pruning. *Scientia Horticulturae* 142: 205–211.
- Rodrigues, M. A., Dimande, P., Pereira, E. L., Ferreira, I. Q., Freitas, S., Correia, C. C., Moutinho-Pereira, J., Arrobas, M. 2015. Early-maturing annual legumes: an option for cover cropping in rainfed olive orchards. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* Vol. 102/3.

- Rosati, A., Caporali, S., Paoletti, A. 2015. Fertilization with N and K increases oil and water content in olive (*Olea europaea* L.) fruit via increased proportion of pulp. *Scientia Horticulturae* 192: 381–386.
- Saykhul, A., Chatzissavvidis, C., Therios, I., Dimassi, K., Chatzistathis, T. 2014. Growth and nutrient status of olive plants as influenced by foliar potassium applications. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14 (3): 602-615.
- Scherer, H. W., Mengel, K. 2007. Ullmann's Agrochemicals. Fertilizers, vol. 3. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Weinheim (Chapter 2).
- Shabala, S., Pottosin, I. 2014. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum* 151: 257–79.
- Shorrocks, V. M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and Soil* vol. 193: 121-148.
- Sibbett, G. S., Ferguson, L. 2002. Nitrogen, boron, and potassium dynamic in 'On' vs 'Off' cropped Manzanillo olive trees in California, USA. *Acta Horticulturae* 586: 369–373.
- Soyergin, S. 2010. Effects of soil and leaf treatments to eliminate boron deficiency in olives. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41: 2004–2010.
- Tekaya, M., Mechri, B., Bchir, A., Attia, F., Cheheb, H., Daassa, M., Hammami, M. 2013a. Effect of nutrient-based fertilisers of olive trees on olive oil quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93: 2045–205.
- Tekaya, M., Mechri, B., Bchir, A., Attia, F., Cheheb, H., Daassa, M., Hammami, M. 2013b. Enhancement of Antioxidants in Olive Oil by Foliar Fertilization of Olive Tree. *Journal of the American Oil Chemists Society* 90: 1377–1386.
- Therios, I. N. 2009. Olives. *Crop Production Science in Horticulture*, 18. Oxfordshire, UK: CABI International.
- Toker, C., Yavuz, N. 2015. The effect of boron application on chemical characterization and volatile compounds of virgin olive oil of ayvalik olive cultivar. *Journal of the American Oil Chemists Society* Volume 92. pp 1421–1428.

- Turner, B. L. 2008. Resource partitioning for soil phosphorus: a hypothesis. *J Ecol.* 96:698–702.
- Varenes, A. 2003. Produtividade dos solos e Ambiente. Escolar Editora.
- Vossen, P. M. 2007. Organic olive production manual. University of California. Agriculture and Natural Resources Communication Services. Publ. 3505. 112 pp.
- Zegaoui, Z., Planchais, S., Cabassa, C., Djebbar, R., Belbachir, O. A., Pierre Carol, P. 2017. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *Journal of Plant Physiology* 218: 26–34.
- Zhang, G., Chen, Z., Zhang, A., Chen, L., Wu, Z., Ma, X. 2014. Phosphorus composition and phosphatase activities in soils affected by long-term application of pig manure and inorganic fertilizers. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45:1866–1876.
- Zheng, M., Huang, J., Chen, H., Wang, H., Mo, J. 2015. Responses of soil acid phosphatase and beta-glucosidase to nitrogen and phosphorus addition in two subtropical forests in southern China. *European Journal of Soil Biology* 68: 77-84.
- Zörb, C., Senbayram, M., S., Peiter, E. 2014. Potassium in agriculture-Status and perspectives. *Journal of Plant Physiology* 171: 656–669.

Índice de Figuras

- Figura 1:** Precipitação e temperatura médias mensais durante o período experimental na estação meteorológica da quinta de Santa Apolónia em Bragança..... 74
- Figura 2:** Produção anual e acumulada de azeitona em 2014, 2015 e 2016. As letras minúsculas dentro das colunas e as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$), respetivamente para os valores anuais e acumulados até esse momento. Quando não foram colocadas letras não ocorreram diferenças significativas..... 92
- Figura 3:** a) Variação (Δ) no aumento do diâmetro do tronco em quatro intervalos consecutivos (I1, junho 2013 - outubro de 2014; I2, - julho 2015; I3, - dezembro de 2015; I4, - novembro 2016), b) volume da canóia estimado em duas datas, e c) lenha de poda nos períodos de repouso vegetativo de 2014 a 2017, em função do tratamento fertilizante. As letras maiúsculas acima das colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre os tratamentos, $\alpha < 0,05$) para os valores acumulados de todos os registos de cada parâmetro..... 93
- Figura 4:** Concentrações de azoto nas folhas em junho (J) e dezembro (D). As linhas a tracejado são os limites inferior e superior do intervalo de suficiência estabelecido para a oliveira. As barras de erro são os desvios padrão da média. 95
- Figura 5:** a) Concentração de azoto nas folhas desde dezembro (D) de 2014 a julho (J) de 2016, b) produção de matéria seca e c) azoto recuperado na biomassa aérea em função dos tratamentos (-N, +N), no ensaio de Campo N2. Em a) as barras de erro são os desvios padrão da média. Em b) e c) as letras minúsculas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) para os parâmetros individuais (folhas ou caules) e as letras maiúsculas sobre as colunas para a soma de caules e folhas. 97
- Figura 6:** Produção de matéria seca separada em caules e folhas (2015-2016) e raízes (2017) para cada uma das três estações de crescimento em função dos tratamentos de fertilização (N0, N1, N2, N3). Dentro de cada ano, as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância e do teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$) para a soma das partes da planta. 97
- Figura 7:** Relação entre partes da planta no final do ensaio em 2017. 98
- Figura 8:** Concentração de azoto nos tecidos em função da dose de azoto em três datas de corte da vegetação. As barras de erro são os desvios padrão da média. 99
- Figura 9:** a) Variação (Δ) no aumento do diâmetro do tronco em quatro intervalos consecutivos (I1, junho 2013 - outubro de 2014; I2, - julho 2015; I3, - dezembro de 2015; I4, - novembro 2016), b) volume da canóia estimado em duas datas, e c) lenha de poda nos períodos de repouso de 2014-2017, em função dos tratamentos fertilizantes. As letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre os tratamentos fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma de todos os registos de cada parâmetro..... 101
- Figura 10:** Concentrações de fósforo nas folhas em julho (J) e dezembro (D) para o ensaio campo P1. As linhas a tracejado representam os limites inferior e superior do

intervalo de suficiência estabelecido para a oliveira. As barras de erro são os desvios padrão da média.	102
Figura 11: a) Concentração de fósforo nas folhas de dezembro (D) de 2014 a julho (J) de 2016, b) produção de matéria seca separada em caules e folhas e c) fósforo recuperado na biomassa aérea separada em caules e folhas em função dos tratamentos fertilizantes. As letras minúsculas a) são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) e as letras maiúsculas sobre as colunas b) e c) são também o resultado da análise de variância para a soma dos caules e folhas do respectivo parâmetro.	104
Figura 12: Produção de matéria seca separada nas partes da planta caules e folhas (2014-2015) e raízes (2016) para cada uma das três estações de crescimento em função dos tratamentos de fertilização. Dentro de cada ano, as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre os tratamentos de fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma das partes da planta.	105
Figura 13: Concentração de fósforo nas folhas, caules e raízes em função dos tratamentos de aplicação de fósforo do ensaio vasos P1. As barras de erro são o desvio padrão da média. As letras são o resultado da análise de variância e do teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$) para cada tecido vegetal comparando os diferentes tratamentos.	106
Figura 14: Concentração de fosfato em extratos de membranas de troca aniônica (MTA) inseridas no solo em função dos tratamentos de aplicação de fósforo do ensaio Vasos P1. As barras de erro são o desvio padrão da média. As letras são o resultado da análise de variância e do teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).	107
Figura 15: Produção de matéria seca no segundo ensaio em vasos em função dos tratamentos de aplicação de fósforo (painéis superiores) e dos solos (painéis inferiores). Para cada figura individual, as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) e do teste Tukey HSD ($\alpha < 0,05$) para a soma das partes da planta.	109
Figura 16: Relação entre os tecidos em função dos tratamentos fertilizantes P0 e P1 no ensaio Vasos P2. Para cada relação, médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).	109
Figura 17: Concentração de fósforo nos tecidos no ensaio Vasos P2 em função do tratamento fertilizante. As barras de erro são os desvios padrão da média. Para cada tecido, médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).	110
Figura 18: a) Variação (Δ) do aumento do diâmetro do tronco em quatro intervalos consecutivos (I1, junho 2013 - outubro 2014; I2, - julho 2015; I3, - dezembro de 2015; I4, - novembro 2016), b) volume da canóvia estimado em duas datas e c) lenha de poda nos períodos de repouso vegetativo dos anos 2014-2017, em função dos tratamentos de aplicação de potássio. As letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre tratamentos fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma de todos os registos de cada parâmetro.	112

- Figura 19:** Concentração de potássio nas folhas em julho (J) e dezembro (D) no ensaio campo K1. As linhas a tracejado identificam a zona de deficiência e o limite inferior da zona de concentrações adequadas estabelecidas para a concentração de potássio nas folhas de oliveira. As barras de erro são os desvios padrão da média..... 113
- Figura 20:** Potássio no solo determinado pelos métodos a) lactato de amónio (K_{LA}) e b) acetato de amónio (K_{AA}) em função do tratamento fertilizante (-K, + K) e profundidade do solo. Dentro da dose de potássio e da profundidade do solo, as letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância e do teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$). 114
- Figura 21:** a) Concentração de potássio nas folhas de dezembro (D) de 2014 a julho (J) de 2016, b) produção de matéria seca e c) potássio recuperado na biomassa aérea em função do tratamento fertilizante (-K, + K), no segundo ensaio de campo. As letras minúsculas a) são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) e as letras maiúsculas sobre as colunas b) e c) são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) para a soma de caules e folhas do respetivo parâmetro..... 114
- Figura 22:** a) Produção de matéria seca, b) relação entre os tecidos e c) potássio nos tecidos vegetais em função do tratamento fertilizante. As letras maiúsculas a) são o resultado da análise de variância dentro de cada ano para a soma das partes da planta (sem diferenças significativas entre os tratamentos) e as barras de erro b) e c) são os desvios padrão da média. 115
- Figura 23:** Produção de matéria seca nas diferentes partes da planta em função do a) regime hídrico (Stresse, Str, Normal, Nor), b) tratamento fertilizante (-K, + K) e c) cultivar ('Arbequina', Arb, 'Cobrançosa', Cob). As letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) para a soma das partes da planta..... 117
- Figura 24:** Densidade do tecido foliar (D), conteúdo relativo de água (CRA) e conteúdo de água à saturação (CAS), em função do regime de água, do tratamento fertilizante e da cultivar. As barras de erro são os desvios padrão da média. 119
- Figura 25:** Lenha de poda obtida durante o período de repouso vegetativo dos anos 2014-2017 e concentração de boro na lenha de poda. As letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre tratamentos fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma de todos os registos de cada parâmetro. As barras de erro são os desvios padrão da média..... 122
- Figura 26:** Concentração de boro nas folhas em julho (j) e dezembro (d) no ensaio Campo B1. As linhas a tracejado e ponteadas são os limites inferiores do intervalo de suficiência estabelecidos para a oliveira, para amostras de Verão e Inverno, respetivamente. As barras de erro são os desvios padrão da média. 123
- Figura 27:** Concentração de boro nas folhas, produção de matéria seca e boro recuperado. As barras de erro são os desvios padrão da média. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$). 124

Índice de Quadros

- Quadro 1:** Resultados das análises iniciais de amostras de solos de todos os ensaios de campo (C) e em vasos (V). C1: ensaio de campo 1; C2: ensaio de campo 2; VNS1: ensaio em vasos experiência do azoto, solo 1; VPS1: ensaio em vasos experiência do fósforo, solo 1, ... VPS4: ensaio em vasos experiência do fósforo, solo 4; VKS1: ensaio em vasos experiência do potássio, solo 1, ... VKS4: ensaio em vasos experiência do potássio, solo 4; VBS1: ensaio em vasos experiência do boro, solo 1, ... VBS4: ensaio em vasos experiência do boro, solo 4. 77
- Quadro 2:** Dados biométricos dos frutos e concentrações de azoto na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de azoto. Dentro de cada ano e nas linhas, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). 94
- Quadro 3:** Efeito da aplicação de azoto e da profundidade de amostragem em parâmetros da fertilidade do solo, como carbono orgânico determinado pelo método Walkley-black (CO), azoto total determinado pelo método kjeldahl (N Kjel), NH_4^+ determinado por KCl a frio (KCl_F), KCl a quente (KCl_Q) e NH_4^+ hidrolisável (KCl a quente - KCl a frio, KCl_{Q-F}) e indicadores biológicos (matéria seca produzida, concentração de azoto nos tecidos e azoto recuperado). Nos indicadores químicos e biológicos, nas colunas, dentro da dose de aplicação de N médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). Na profundidade do solo, nas colunas, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$). 96
- Quadro 4:** Efeito da aplicação de azoto em alguns parâmetros da fertilidade do solo, como pH, carbono orgânico determinado pelo método Walkley-black (CO), azoto Kjeldahl (N Kjel), NH_4^+ extraído com KCl a frio (KCl_F), KCl a quente (KCl_Q), e NH_4^+ hidrolisável (KCl a quente - KCl a frio, KCl_{Q-F}) e nitratos extraídos em membranas de troca aniônica ($\text{NO}_3^-_{\text{MTA}}$). Nas colunas, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$). 100
- Quadro 5:** Produção, dados biométricos dos frutos e concentrações de fósforo na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de fósforo. Dentro de cada ano e nas linhas, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). 102
- Quadro 6:** pH (H_2O), carbono orgânico oxidável (CO), fósforo extraído pelos métodos lactato de amônio (P_{LA}), Olsen (P_{Ols}), Mehlich 3 (P_{Meh}), resina de permuta iônica (P_{Res}) e atividade da fosfatase ácida (FA) em função do tratamento fertilizante e profundidade do solo. Nas colunas, dentro da dose de aplicação de P ou camada do solo, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$). 104
- Quadro 7:** pH (H_2O), carbono orgânico oxidável (CO), fósforo extraído pelos métodos lactato de amônio (P_{LA}), olsen (P_{Ols}), mehlich 3 (P_{Meh}), resina de permuta iônica (P_{Res}) e atividade da fosfatase ácida (FA) em função dos tratamentos fertilizantes.

Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).	107
Quadro 8: pH (H ₂ O), carbono orgânico facilmente oxidável (CO), fósforo extraído pelos métodos lactato de amônio (P _{LA}), Olsen (P _{Ols}), Mehlich 3 (P _{Meh}), resina de permuta iônica (P _{Res}) e atividade da fosfatase ácida (FA) em função do tratamento fertilizante e do solo. Nas colunas, dentro da dose de fósforo ou solo, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey hsd ($\alpha = 0,05$).	111
Quadro 9: Produção, dados biométricos dos frutos e concentrações de potássio na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de potássio. Dentro de cada ano e nas linhas, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).	112
Quadro 10: Efeito da aplicação de potássio em parâmetros da disponibilidade de potássio no solo, determinado pelos métodos lactato de amônio (K _{AL}), Mehlich 3 (K _{Meh}) e acetato de amônio (K _{AA}). Nas colunas, dentro da dose de potássio ou solo, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).	116
Quadro 11: Concentração de potássio nos tecidos e valores de potássio do solo em função do regime hídrico (Stresse, Normal), tratamento (-K, + K) e cultivar ('Arbequina', 'Cobrançosa'). Nas colunas, dentro de cada fator de variação, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$).	118
Quadro 12: Parâmetros medidos e estimados de fluorescência da clorofila <i>a</i> e da fluorescência transiente OJIP em 12 de julho de 2016, 14 dias após o início do ciclo sem rega. Nas colunas, dentro de cada fator de variação, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$).	120
Quadro 13: Produção de azeitona, dados biométricos dos frutos e concentrações de boro na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de boro. Dentro de cada ano e nas linhas médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha=0,05$).	121
Quadro 14: Concentração de boro no solo em função do tratamento fertilizante e profundidade, e matéria seca, concentração de boro nos tecidos e boro recuperado na nabiça. Para boro no solo, entre tratamentos ou profundidades, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha < 0,05$). Para matéria seca e boro nas nabiças a comparação de médias é feita entre tratamentos nas colunas..	123
Quadro 15: Teor de boro nos tecidos e no solo e matéria seca nas diferentes partes das plantas no ensaio vasos B1. Para a concentração de boro nos tecidos, boro no solo e produção de matéria seca, nas colunas, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).	125
Quadro 16: Concentração de boro em folhas posicionadas em várias partes da planta em função do modo de aplicação de boro foliar à parte aérea. Separadamente para cada cultivar, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha < 0,05$).	126

Quadro 17: Concentração de boro nos caules (C) e raízes na cultivar ‘Arbequina’ e ‘Cobrançosa’. Separadamente para cada cultivar, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha < 0,05$)...... 127

Capítulo 1
Introdução geral

1. Introdução Geral

1.1. Importância socioeconómica da oliveira

A oliveira, *Olea europea* L., é provavelmente das plantas cultivadas mais antigas, tendo sido domesticada há sensivelmente 3000-4000 anos a.C. no Mediterrâneo Oriental e tendo sido a partir daí amplamente difundida pelo Norte de África, Península Ibérica e pelo resto do Sul da Europa (Connor e Fereres, 2005).

Das 600 espécies que constituem a família Oleaceae, a oliveira é das poucas com interesse económico e a única explorada como frutícola (Rapoport, 2017). A oliveira está distribuída tanto pelo hemisfério norte como pelo hemisfério sul, entre as latitudes 30° e 45° (Civantos, 2017). As zonas de maior difusão da oliveira caracterizam-se por Invernos suaves e Verões secos e com temperaturas elevadas.

A oliveira é uma das árvores de fruto com grande importância socioeconómica a nível mundial, principalmente nos países da bacia mediterrânica, onde Portugal se insere. Atualmente, cerca de 95% da superfície olivícola mundial encontra-se aí concentrada, sendo que os países produtores da União Europeia (Espanha, Itália, França, Grécia, Portugal, Chipre, Croácia, Eslovénia e Malta) são responsáveis por 71% da produção a nível mundial. Os outros principais países produtores são Tunísia (4%), Turquia (7%), Síria (4%), Marrocos (4%) e Argélia (3%) (Casa do Azeite, 2018).

Em Portugal, o olival tem uma grande importância socioeconómica. Portugal é um dos países mais importantes na produção de azeite, ocupando o décimo lugar, com 476 003 t em 2016 (INE, 2017). A oliveira é considerada uma das principais culturas e está presente em todas as regiões agrárias do Continente. As principais regiões, em termos de área, são Alentejo (52%) e Trás-os-Montes (22%) (INE, 2017).

O olival constitui um sistema de produção que contribui fortemente para gerar rendimento e emprego no nordeste transmontano, não só diretamente através do seu cultivo, mas também devido às unidades de processamento de azeite e serviços associados à olivicultura e ao sector oleícola.

A região do Alentejo é a maior produtora de azeitona com 348 935 t e uma área ocupada de 180 607 ha. Trás-os-Montes, no Nordeste de Portugal, é a segunda região mais importante do país, com uma área de 77 650 ha e uma produção de 77 263 t de

azeitonas em 2016 (INE 2017). As regiões são completamente distintas em termos de cultivares e intensificação cultural. O grande crescimento da região do Alentejo surge principalmente nos últimos dez anos, com o aumento da disponibilidade de água para rega, tendo sido instaladas novas plantações irrigadas com elevado número de plantas por hectare, principalmente com variedades estrangeiras, onde se atingem elevadas produtividades unitárias. Contrariamente, em Trás-os-Montes, os olivais são conduzidos extensivamente, mantendo plantações antigas de uma variada gama de variedades tradicionais, cultivadas em baixas densidades, implantadas em terrenos de declives acentuados, com baixo grau de mecanização e em regime de sequeiro (Duarte et al., 2008; Rodrigues e Cabanas, 2009). Estas condições de cultivo levam a uma baixa rentabilidade dos olivais em comparação com os novos olivais irrigados (Duarte et al., 2008). No entanto, o azeite produzido nesta região é de boa qualidade, devido às condições ecológicas da região em associação com cultivares tradicionais conduzidas com práticas de baixa intensificação. São azeites particulares, com ótimas características químicas e sensoriais, o que possibilitou delimitar a área geográfica de produção de Azeite de Trás-os-Montes como uma Denominação de Origem Protegida (Diário da República, Despacho 34/94).

1.2. Conhecimento atual sobre nutrição da oliveira

O trabalho científico realizado até ao presente sobre nutrição mineral e fertilização do olival não é abundante se comparado com o que se verifica com outras culturas de elevada importância mundial. As dúvidas e incertezas sobre a resposta da oliveira à aplicação de fertilizantes são diversas e dificultam o trabalho dos laboratórios e técnicos de campo, no apoio aos olivicultores sobre a fertilização do olival.

O azoto é o elemento mais importante na fertilização das culturas a julgar pela regularidade em que é aplicado e pelas quantidades habitualmente utilizadas. No caso da oliveira, o azoto é também o nutriente mais vezes incluído em trabalhos experimentais de fertilização. A informação atualmente disponível indica que a oliveira exporta quantidades reduzidas de azoto (Rodrigues et al., 2012; Fernández-Escobar et al., 2015), o que pode significar que as doses a aplicar deverão ser baixas em comparação com culturas anuais de elevada exportação, em particular em olival de sequeiro em que as produtividades e, por consequência, as exportações são mais

modestas. Há também estudos em que a oliveira não respondeu à aplicação de azoto ao solo (Fernández Escobar et al., 2009b; 2012) e outros em que respondeu (Jasrotia et al., 1999; Rodrigues et al., 2011b), dando uma vez mais a indicação de que provavelmente as quantidades a aplicar deverão ser baixas. Contudo, estas indefinições não ajudam na tomada de decisão, nem os laboratórios nem os produtores informados. Acresce que o azoto é um nutriente que encarece a fertilização da cultura e que pode ter também fortes implicações ambientais quando mal utilizado. Por tudo isto, justificam-se mais estudos de fertilização azotada em olival.

O fósforo é também considerado um macronutriente principal, pelo facto de ser necessário às plantas em quantidades elevadas e por normalmente não existir no solo em quantidades necessárias para satisfazer as necessidades das plantas (Santos, 2015). A utilização do fósforo na agricultura é vista atualmente com alguma preocupação, na medida em que se estima que as rochas fosfatadas que se utilizam na manufatura dos fertilizantes fosfatados se esgotem durante o século XXI (Hawkesford et al., 2012). Parece urgente aprender a gerir o fósforo de forma racional na agricultura para preservar este importante recurso não renovável. No caso da oliveira, praticamente não existem estudos de fertilização com aplicação de fósforo e sobretudo que demonstrem a necessidade de aplicação do nutriente (Freeman et al., 2005). É importante gerar mais informação sobre a resposta da oliveira à aplicação de fósforo.

O potássio, tal como o fósforo, está classificado como macronutriente. O potássio tem papéis importantes na planta, incluindo a regulação da abertura estomática e a tolerância ao stress hídrico (Hawkesford et al., 2012), aspeto particularmente relevante quando se cultiva em sequeiro. Tendo em conta a importância socioeconómica da oliveira e o papel do potássio nos processos fisiológicos da planta associados à adaptação à secura seria de esperar que fosse um elemento prioritário em estudos de fertilização com esta cultura. Contudo, poucos estudos existem que mostrem o efeito na produtividade da oliveira pela aplicação de potássio. Sabe-se, contudo, que são necessárias quantidades elevadas de potássio durante o crescimento dos frutos, designadamente a partir de agosto no hemisfério norte (Fernández-Escobar, 2017). Parece também haver evidência de que em sequeiro a planta pode ter dificuldade em absorver potássio no período estival mesmo que esteja disponível em quantidades satisfatórias, devido à extrema secura do solo (Restrepo-Diaz et al., 2008). Assim, pareceu-nos também importante incluir este elemento nos nossos trabalhos.

O boro é considerado o micronutriente mais importante em olival. Há uma longa experiência na observação e descrição de sintomas de deficiência de boro na oliveira e frequentes registos do desaparecimento dos sintomas após aplicação do nutriente (Therios, 2009; Gregoriou e El Kholy, 2010). Há também estudos que registaram aumentos de concentração de boro nos tecidos pela aplicação de boro à cultura (Rodrigues e Arrobas, 2008; Chatzissavvidis e Therios, 2010). Contudo, estudos que registem o efeito do boro na produção de azeitona são raros na bibliografia internacional. Contudo, em Portugal, Rodrigues et al. (2011b) mostraram que a exclusão do boro do plano de fertilização reduziu a produção de azeitona ao fim de quatro anos. Um outro aspeto relevante da gestão do boro no olival é saber se o elemento é móvel nos tecidos. Os sintomas típicos de algumas cultivares, consistindo na morte dos ápices em crescimento, demonstram imobilidade do boro. Contudo, alguns estudos têm mostrado evidência de que o boro apresenta alguma mobilidade na planta (Delgado et al., 1994; Perica et al., 2002; Liakopoulos e Karabourniotis, 2005). Este aspeto é de toda a relevância porque ser ou não ser móvel nos tecidos determina se a aplicação do boro por via foliar pode, respetivamente, ser ou não ser eficaz.

1.3. Objetivos da tese

O olival apresenta uma importância económica e social extraordinária. Só o olival tradicional de Trás-os-Montes envolve cerca de 37 000 produtores, explorando 70 000 ha, em um volume de negócios em fertilizantes que podemos nós estimar em 7 000 000€ (100€ ha⁻¹). É importante gerir melhor os fertilizantes de forma a promover a produtividade e a sustentabilidade do sistema de produção, reduzindo os custos e os riscos de contaminação ambiental.

Presentemente não existe informação suficiente que valide os sistemas de recomendação de fertilização para olival. Persistem dúvidas sobre se a oliveira responde à fertilização azotada e se responde em que medida. A informação disponível sobre a resposta da oliveira à aplicação de fósforo e potássio é também diminuta. Em concreto, no contexto atual os agricultores aplicam anualmente azoto, fósforo e potássio suportados ou não por métodos de diagnósticos baseados em análises de terras e análises foliares com base em informação genérica de outras culturas mas com reduzida informação proveniente de investigação em olival. No caso do boro, parece evidente a

necessidade de aplicação do elemento pela observação frequente de sintomas de deficiência mas pouco se sabe, por exemplo, sobre a eficácia da aplicação foliar de boro, uma vez que não está claro se o boro apresenta mobilidade na oliveira e como se comportam as diferentes cultivares relativamente a este aspeto. Assim, em resumo, os estudos aqui apresentados visam recolher informação que auxilie os laboratórios e os produtores a melhorar os programas de fertilização para os macronutrientes azoto, fósforo e potássio e para o boro, sendo os quatro elementos considerados prioritários em olival de sequeiro da região transmontana.

Os estudos são baseados em ensaios de campo e em vasos, usando metodologias científicas adequadas à avaliação da performance das árvores, interação de nutrientes nas diferentes partes da planta (raízes, caules e folhas) e aos efeitos na fertilidade do solo.

1.4. Estrutura da tese

A tese encontra-se estruturada em seis capítulos principais destinados a uma introdução geral, ao levantamento do estado da arte ou revisão bibliográfica, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Esta é, por assim dizer, uma apresentação clássica dos documentos científicos. Optou-se por esta estrutura por ser familiar aos investigadores e fácil de consultar.

Na introdução geral é feita uma pequena introdução sobre a importância socioeconómica da oliveira, do conhecimento atual sobre nutrição da oliveira, os objetivos e a estrutura da tese.

A revisão bibliográfica está, por sua vez, dividida em quatro tópicos principais, dedicados a azoto, fósforo, potássio ou boro. Para cada um destes elementos apresenta-se uma breve revisão sobre o seu efeito sobre as plantas e sobre o seu comportamento no solo e, quando relevante, a sua ligação com a problemática ambiental. Finalizam-se estes tópicos apresentando a informação relativa a estudos com estes elementos em olival.

Em material e métodos descrevem-se o aparato experimental de campo e as experiências em vasos, bem como as metodologias de campo e laboratoriais que permitem recolher os efeitos dos tratamentos nos solos e nas plantas.

Os capítulos dos resultados e discussão voltam a ser apresentados por nutriente, uma vez mais com o intuito de facilitar a leitura e a interpretação dos resultados aos leitores.

Como conclusões selecionaram-se os aspetos mais relevantes que conferem novo conhecimento ou a consolidação de resultados ou tendência da bibliografia atual.

A lista de referências bibliográficas contém as obras que nos pareceram mais importantes em cada um dos assuntos e sendo feito um esforço para que trabalhos científicos relevantes ou publicações recentes não deixassem de ser mencionados na tese, embora a enorme diversidade de revistas científicas e o ritmo de publicação atual tendam a tornar esta tarefa difícil. Em suma, na organização do documento houve uma preocupação constante em facilitar a leitura e a interpretação dos resultados ao leitor.

Capítulo **2**

Revisão Bibliográfica

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Azoto

As plantas contêm nos seus tecidos quantidades elevadas de azoto, sendo o nutriente normalmente requerido em maior quantidade a seguir a carbono, oxigénio e hidrogénio. O azoto representa cerca de 1 a 5 % da matéria seca total das plantas (Hawkesford et al., 2012). As principais formas de azoto absorvidas pelas raízes das plantas são os iões amónio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-). A presença em quantidades reduzidas destas formas de azoto nos solos agrícolas limita a produtividade das culturas. Estima-se que sejam aplicados anualmente 100 milhões de toneladas de fertilizantes azotados no mundo (Hawkesford et al., 2012). Grande parte deste azoto (50 a 60%) não é utilizado pelas plantas, devido à sua grande dinâmica no sistema solo/planta, o que origina problemas diversos de contaminação ambiental (Scherer e Mengel, 2007; Havlin et al., 2014).

Aproximadamente 91,3 % do azoto do sistema terrestre encontra-se no núcleo e no manto. Contudo, a libertação deste N para processos biológicos é considerado negligenciável (Voroney e Derry, 2008). Dos restantes 8,7 %, a maior fração (73,94 %) corresponde a azoto elementar (N_2) presente na atmosfera e dissolvido na água do mar. O N_2 atmosférico tem um papel determinante no ciclo do azoto uma vez que alguns microrganismos podem fixá-lo e introduzi-lo nos ecossistemas naturais e agrícolas. É também esta a fonte de azoto usada no fabrico de fertilizantes comerciais azotados. A restante fração é azoto incorporado em rochas ígneas, de reduzido significado biológico e algum azoto reativo na água, solos e atmosfera (Voroney e Derry, 2008).

De uma maneira geral, a utilização de azoto na agricultura, com todas as implicações associadas, desde o efeito na produtividade, qualidade das produções, bem como aspetos de eficiência de uso do nutriente e problemática ambiental, tem sido investigada em maior extensão do que a utilização de qualquer outro elemento essencial. Assim, neste ponto faz-se uma breve revisão do papel do azoto nas plantas e das suas formas e dinâmica no solo. Faz-se também uma revisão um pouco mais exaustiva da informação disponível sobre a utilização do azoto em olival, em particular dos estudos de resposta da planta à aplicação do nutriente.

2.1.1. Azoto nas plantas

O azoto é um elemento determinante da produtividade agrícola. Adequada disponibilidade de azoto no solo causa um rápido estímulo de crescimento e produtividade. Em deficiência restringe fortemente o crescimento das plantas e em excesso pode causar perturbações diversas, como induzir deficiências de outros nutrientes. Em excesso, pode perturbar o crescimento das plantas e causar impactos ambientais importantes.

2.1.1.1. Função do azoto nas plantas

O azoto é um constituinte integral de aminoácidos e proteínas, clorofila, ácidos nucleicos, coenzimas, diversas fitohormonas e metabolitos secundários (Scherer e Mengel, 2007; Hawkesford et al., 2012). Diversos processos bioquímicos básicos associados ao crescimento, como a síntese de proteínas e ácidos nucleicos requerem azoto. A falta de azoto é caracterizada por redução do teor de clorofila nas folhas e redução acentuada do crescimento (Scherer e Mengel, 2007). Tendo em conta a limitação natural de azoto em formas utilizáveis pelas plantas, provavelmente nenhum outro nutriente tem uma influência tão marcada na produtividade dos ecossistemas naturais e agrícolas.

2.1.1.2 Absorção e assimilação de azoto nas plantas

As plantas absorvem azoto pelas raízes maioritariamente nas formas NH_4^+ e NO_3^- . A forma absorvida em maior proporção tende a ser NO_3^- , devido à sua maior abundância em solos arejados, embora as plantas pareçam ter evoluído para utilizar de forma eficiente as duas formas de azoto em função da sua presença no meio. Em ambiente redutor absorvem sobretudo NH_4^+ por esta ser a forma dominante. As plantas podem também absorver formas de azoto orgânico, como ureia e aminoácidos (Campbell, 1978; Havlin et al., 2014).

Na absorção de NO_3^- pelas raízes estão envolvidas duas famílias de transportadores (NRT1 e NRT2) que medeiam, respetivamente o transporte de baixa e elevada afinidade (Hawkesford et al., 2012). A passagem de NO_3^- através da membrana plasmática ocorre contra um gradiente eletroquímico, porque o anião tem de ultrapassar

o potencial negativo do citosol e um gradiente de concentração ao longo da subida, pelo que o influxo de NO_3^- requer energia metabólica (Scherer e Mengel, 2007; Hawkesford et al., 2012). Uma vez no simplasto, o NO_3^- pode mover-se radialmente até ao xilema e ser transportado a longas distâncias na corrente transpiratória, podendo ser armazenado nos vacúolos das raízes, parte aérea e órgãos de reserva. O azoto absorvido e armazenado na forma NO_3^- pode ser utilizado pelas plantas sempre que o fornecimento externo se reduz (Hawkesford et al., 2012).

As plantas dispõem de um sistema de transporte de elevada afinidade para NH_4^+ saturável, que opera para concentrações de NH_4^+ no solo menores que 0,5 mM, e um sistema de baixa afinidade não saturável, que opera para concentrações de NH_4^+ superiores a 0,5 mM. Este sistema de baixa afinidade permite a absorção de elevadas quantidades de NH_4^+ , em níveis que podem ser tóxicos para as plantas (Hawkesford et al., 2012). O NH_4^+ absorvido é assimilado nas raízes em elevada proporção, devido à sua toxicidade, ainda que possa aparecer em reduzidas quantidades nos vacúolos das raízes e no xilema (Hawkesford et al., 2012; Bryson et al., 2014).

As plantas podem também absorver azoto orgânico na forma de aminoácidos e ureia, sendo conhecidos vários sistemas de transporte passivo e ativo (Hawkesford et al., 2012). Contudo em solos agrícolas de elevada atividade biológica o contributo da absorção de azoto orgânico para as plantas será baixo, na medida em que os microrganismos são competidores mais eficientes que as plantas para este recurso (Campbell, 1978; Havlin e al., 2014).

O NO_3^- para ser incorporado em estruturas orgânicas tem de ser reduzido a NH_4^+ . A redução de azoto necessita de energia e esqueletos carbonados pelo que está intimamente ligada ao processo fotossintético. A redução de NO_3^- a NH_4^+ é mediada pela nitrato-redutase, que catalisa a redução de NO_3^- a nitrito (NO_2^-), e pela nitrito-redutase que transforma NO_2^- em NH_4^+ . A nitrato-redutase é uma enzima do citosol, sendo o nitrito gerado pela sua atividade e transportado para o cloroplasto (proplastídeos nas raízes) para redução a NH_4^+ pela nitrito-redutase. Devido à necessidade de energia, a redução é bastante mais intensa durante o dia, ocorrendo flutuação nos níveis de NO_3^- nas plantas entre o dia e a noite. Em períodos de elevada nebulosidade e reduzida atividade fotossintética, os níveis de NO_3^- nos tecidos da planta tendem a aumentar (Varenes, 2003; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014).

O NH_4^+ tem papel central no metabolismo das plantas. Para além de ser absorvido pelas raízes, está constantemente a ser gerado em processos fisiológicos como a redução de NO_3^- , fotorrespiração, biossíntese da lenhina, senescência dos tecidos e fixação biológica de N_2 , no caso das leguminosas (Hawkesford et al., 2012). As enzimas chave envolvidas são a glutamina-sintetase e a glutamato-sintetase, estando ambas presentes nas raízes, cloroplastos e microrganismos fixadores de azoto. Para minimizar o consumo de esqueletos carbonados nas raízes, o nutriente é translocado para a parte aérea na forma de compostos azotados de baixa razão C:N, como glutamina, asparagina, arginina entre outros. Estes compostos azotados podem posteriormente ser usados na síntese de outras amidas, aminoácidos e aminas e estas, por sua vez, em proteínas, ácidos nucleicos e outros compostos azotados de elevado peso molecular (Varenes, 2003).

2.1.1.3 Fornecimento de azoto, crescimento e composição das plantas

Em campos agrícolas as plantas absorvem sobretudo NH_4^+ e NO_3^- , ainda que possam absorver quantidades reduzidas de azoto orgânico. Algumas plantas evoluíram para utilizar preferencialmente NO_3^- por ser a forma dominante em solos arejados. O NO_3^- é móvel na planta, sendo armazenado nos vacúolos e utilizado quando necessário. Contudo, em solos ácidos ou de baixo potencial redox domina NH_4^+ , sendo que as plantas adaptadas a estes ambientes utilizam preferencialmente NH_4^+ (Varenes, 2003; Havlin et al., 2014).

A absorção de NO_3^- necessita posterior redução a NH_4^+ para poder ser assimilado. Assim, NH_4^+ será uma forma preferencial por ter menores custos energéticos de assimilação. Contudo, NH_4^+ é tóxico para as plantas, devendo ser imediatamente incorporado na raiz após absorção, pelo que necessita energia disponível e esqueletos carbonados para desintoxicar a planta, aparentando ser uma forma de azoto menos versátil para a maioria das plantas, já que o NO_3^- pode ser absorvido e acumulado em grandes quantidades nos tecidos (Hawkesford et al., 2012; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014). As plantas toleram níveis elevados de NH_4^+ no solo parecendo controlar o influxo de NH_4^+ libertando-o de novo para a rizosfera, numa ciclagem energeticamente dispendiosa e provavelmente pouco eficiente. A menos que este NH_4^+ seja nitrificado, ele continua disponível para voltar a ser absorvido (Hawkesford et al., 2012). De uma

maneira geral, a maioria das plantas desenvolve-se mais adequadamente quando as duas formas de N estão presentes no meio (Varenes, 2003).

A química da rizosfera também é afetada pela forma de azoto absorvida. O fornecimento de NH_4^+ pode baixar o pH da rizosfera devido à extrusão de prótons associados à absorção de NH_4^+ , enquanto com a absorção de NO_3^- ocorre o inverso (Varenes, 2003; Hawkesford et al., 2012; Havlin et al., 2014). A absorção de NH_4^+ reduz a absorção de outros cátions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+), enquanto com absorção de NO_3^- pode ocorrer o inverso (Havlin et al., 2014).

2.1.1.4 Deficiência e excesso de azoto nas plantas

Falta de azoto reduz a produtividade e a competitividade ecológica das plantas. Plantas deficientes em azoto tipicamente reduzem o crescimento, as folhas ficam mais pequenas e as plantas ganham aspeto clorótico que se inicia nas folhas mais velhas, na medida em que o azoto disponível é remobilizado para as partes em crescimento. Em deficiência de azoto o crescimento radicular é mantido ou estimulado, reduzindo-se a relação parte aérea/raiz (Varenes, 2003). Em deficiência os nitratos são metabolizados, reduzindo-se os seus níveis na planta, estimulando a capacidade de absorção. À medida que a deficiência progride a clorose acentua-se, ocorre destruição de ácidos nucleicos e proteínas, e as folhas velhas senescem e caem prematuramente (Hawkesford et al., 2012; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014).

As plantas podem absorver mais azoto que as suas necessidades metabólicas imediatas, habitualmente designado por consumo de luxo (Varenes, 2003). Fornecimento abundante de azoto aumenta o teor de proteína e em especial aminoácidos livres e também o conteúdo em NO_3^- nos tecidos. Excesso de azoto resulta em desenvolvimento luxuriante, o que pode tornar as plantas suscetíveis a ataques de fungos e à acama fisiológica (Varenes, 2003; Scherer e Mengel, 2007), e atração de uma grande variedade de insetos (Hawkesford et al., 2012).

As plantas toleram teores de NO_3^- muito mais elevados que de NH_4^+ . Níveis elevados de NH_4^+ são tóxicos para as plantas se não forem imediatamente incorporados. Quando o NH_4^+ é a forma dominante no solo, pode ocorrer sintoma de toxicidade. A toxicidade de NH_4^+ é caracterizada por crescimento radicular reduzido, podendo resultar rutura dos tecidos vasculares e dificuldade na absorção de água. Nas folhas pode ocorrer

clorose, necrose, epinastia (crescimento invertido de folhas e caules) e lesões nos caules. Associado ao excesso de NH_4^+ no solo podem ocorrer desequilíbrios nutricionais como deficiência de potássio, cálcio e magnésio (Bryson et al., 2014).

2.1.2. Azoto no solo

O azoto encontra-se no solo em formas orgânicas e minerais. A grande dificuldade associada à gestão do azoto nos ecossistemas agrícolas prende-se com a grande dinâmica do nutriente no solo, em que formas orgânicas se podem converter em minerais e vice-versa pela ação da microbiologia do solo, e também a processos biológicos e não biológicos que levam à entrada e saída de azoto do sistema solo/planta. Estas transformações estão sempre dependentes de variáveis ambientais sendo as taxas e ritmos bastante imprevisíveis, levando por vezes a grande ineficiência no uso do nutriente pelas plantas.

2.1.2.1. Formas de azoto no solo

A maior parte (> 95 %) do azoto do solo encontra-se na forma orgânica. No solo existe uma extraordinária variedade de compostos orgânicos (aminoácidos, açúcares aminados, ácidos nucleicos, clorofila e derivados, fosfolípidos, vitaminas, ...), associados a diferente labilidade e recalcitrância, níveis diferentes de decomposição e mais ou menos associados aos minerais de argila. Em potência todo o azoto orgânico pode ficar disponível para as plantas, embora a ritmos que podem ser muito distintos. Caracterizar a matéria orgânica e suas frações, bem como o significado biológico das diferentes frações para prever a quantidade e o ritmo de libertação para as plantas tem exigido um enorme esforço de investigação nas últimas décadas (Stevenson, 1986, Olk, 2008).

As formas inorgânicas de azoto no solo incluem NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , óxido nitroso (N_2O), óxido nítrico (NO), dióxido de N (NO_2) e N_2 . As formas de maior significado para as plantas são NH_4^+ e NO_3^- por serem as principais formas de azoto absorvidas. O NO_2^- normalmente não se acumula no solo mas se acontece pode ter elevado significado fisiológico por ser tóxico para as plantas (Bryson et al., 2014). N_2 é um gás inerte, mas que tem elevado significado para as plantas após ser convertido em NH_3 por microrganismos fixadores. Os óxidos de N têm pouco significado para a nutrição das

plantas, mas um significado ecológico elevado devido a estarem associados a problemas diversos de poluição ambiental (Bryson et al., 2014).

O NH_4^+ encontra-se no solo em posição de troca associado ao complexo coloidal do solo. Em solos arejados e de pH não muito ácido, a quantidade de NH_4^+ de troca não é muito elevada devido à rápida oxidação a NO_3^- . O NH_4^+ pode também estar fixado entre as camadas dos minerais de argila do tipo 2:1 onde equilibra as cargas negativas resultantes das substituições isomórficas. A origem de NH_4^+ no solo é a mineralização da matéria orgânica e a aplicação de ureia e fertilizantes amoniacais. Pequenas quantidades podem entrar nos solos através de deposições atmosféricas húmidas e secas (Bronson, 2008). Devido à ligação ao complexo coloidal do solo e a poder ser fixado nos minerais de argila, a forma NH_4^+ está protegida da lixiviação desde que o solo apresente teores elevados de argilas do tipo 2:1.

Na solução do solo o NH_4^+ está em equilíbrio com o amoníaco (NH_3). Em pH elevado (pKa 9,3) pode gerar-se NH_3 que pode ser volatilizado para a atmosfera. A injeção de NH_3 anidro é uma possível causa de emissão de NH_3 para a atmosfera se a profundidade de incorporação e a humidade do solo não são as mais adequadas. De qualquer forma, a proporção de NH_3 no solo é negligenciável para $\text{pH} < 7,5$, sendo um problema menor em solos ácidos e se houver alguns cuidados na aplicação (Bronson, 2008).

O NO_3^- é a forma extratável normalmente mais abundante em solos agrícolas. O NO_3^- surge no solo por oxidação de NH_4^+ , pela aplicação de fertilizantes nítricos e através de deposições atmosféricas (Bronson, 2008). Sendo muito solúvel em água e não havendo mecanismos químicos que o retenham nos solos, onde predominam cargas coloidais negativas, é muito suscetível a perder-se por lixiviação (Mulla e Strock, 2008, Havlin et al., 2014). Em condições de anaerobiose pode também perder-se para a atmosfera em formas voláteis (Coyne, 2008; Havlin et al., 2014).

O NO_2^- é um produto intermédio na oxidação de NH_4^+ a NO_3^- e normalmente não se acumula nos solos que mantenham boas condições ecológicas para a atividade dos microrganismos aeróbios. Contudo, em condições particulares de pH que originem presença elevada de NH_3 pode acumular-se, sendo tóxico para as raízes das plantas (Bronson, 2008).

A atmosfera do solo contém N_2 , N_2O e NO_x . O N_2 é o gás azotado mais abundante na atmosfera do solo, podendo ser introduzido no sistema por microrganismos fixadores e indiretamente ser utilizado pelas plantas. Os restantes compostos azotados são produzidos por reações químicas e biológicas e emitidos para a atmosfera onde estão associados a problemas ambientais diversos (Bronson, 2008).

2.1.2.2. Dinâmica do azoto no solo

A ciclagem de azoto nos sistemas solo/planta envolve numerosas transformações entre formas orgânicas e inorgânicas de azoto e processos físicos de transporte de e para o solo. Grande parte das etapas do ciclo do azoto são processos complexos, dependentes de inúmeras variáveis e difíceis de quantificar, o que pode originar imprecisão e erro no momento de gerir a fertilização azotada. Poucas áreas da agronomia têm sido objeto de tanta investigação como o ciclo do azoto no solo. Neste ponto serão referidos de forma muito sumária alguns dos processos quantitativamente mais relevantes do ciclo do azoto no solo e de maior significado para as plantas e/ou gestão da fertilização azotada.

2.1.2.2.1. Mineralização e imobilização

Mineralização de azoto é a produção de azoto inorgânico a partir de azoto orgânico. Por sua vez, imobilização de azoto é a incorporação de azoto inorgânico em formas de azoto orgânico. Mineralização ou imobilização líquida de azoto refere-se ao balanço dos dois processos, uma vez que estes ocorrem em simultâneo (Jansson e Persson, 1982; Myrold e Bottomley, 2008).

Mineralização é frequentemente entendida como o resultado de dois grupos de reações sequenciais: aminização, com produção de compostos azotados simples (como aminoácidos e ureia); e amonificação, com produção de NH_4^+ (Havlin et al., 2014). Imobilização tende a ser vista como um processo de assimilação de azoto pelos microrganismos, incluindo azoto na forma nítrica, embora a microbiologia do solo tenda a usar preferencialmente NH_4^+ (Myrold e Bottomley, 2008).

Como regra aceita-se que o balanço entre mineralização e imobilização está dependente da razão C:N do substrato a decompor e das necessidades metabólicas da biomassa microbiana, embora alguns constituintes do substrato como lenhina e

polifenóis tenham papel importante (Jansson e Persson, 1982). Para substratos orgânicos frescos, resultantes de resíduos das culturas ou corretivos orgânicos, consideram-se valores de razão C:N de equilíbrio entre mineralização e imobilização compreendidos entre 20 a 30 e, acima e abaixo, indicativos, respetivamente, de imobilização ou mineralização líquidas (Paul e Clark, 1996; Myrold e Bottomley, 2008; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014). Assim, substratos ricos em carbono tendem a imobilizar N no curto prazo enquanto substratos ricos em N tendem a libertar N pouco tempo após serem incorporados no solo.

2.1.2.2.2. Reações envolvendo NH_4^+ , NH_3 e ureia

A uma escala global estima-se que 75% do N usado como fertilizante na agricultura seja na forma NH_4^+ , NH_3 ou ureia (Kissel et al., 2008). O ião NH_4^+ resultante da mineralização da matéria orgânica ou aplicado naquelas formas como fertilizante pode ser fixado nos minerais de argila do tipo 2:1. Os minerais de argila podem reter catiões no seu interior para neutralizar as cargas resultantes das substituições isomórficas. O ião NH_4^+ , tal como K^+ , na sua forma desidratada encaixam perfeitamente nas cavidades hexagonais das folhas tetraédricas das superfícies externas entre duas unidades estruturais dos minerais de argila 2:1. Uma vez inseridos na malha, esta contrai e os catiões ficam aprisionados temporariamente conferindo estabilidade à estrutura (Nommik e Vahtras, 1982; Kissel et al., 2008). A vermiculite tem grande capacidade de fixação porque as substituições isomórficas estão na camada tetraédrica, enquanto na montemorilonite (com menor capacidade de fixação) estão na camada octaédrica. Os minerais 1:1 (caulinite) praticamente não têm capacidade de fixação (Varenes, 2003; Kissel et al., 2008).

O NH_4^+ fixado pode ser libertado lentamente dos minerais, desde que seja consumido por outras reações biológicas no solo. O contributo do NH_4^+ para as plantas é controverso, mas pensa-se ser significativo em solos com elevada capacidade de fixação. Se por um lado, a fixação pode temporariamente restringir a absorção de NH_4^+ pelas plantas, podendo reduzir a eficiência de uso do nutriente, por outro este mecanismo pode reduzir a taxa de nitrificação e os riscos de perdas de N por lixiviação e desnitrificação (Varenes, 2003; Kissel et al., 2008; Havlin et al., 2014).

A matéria orgânica também pode fixar NH_3 através de reações químicas não biológicas. Os complexos formados caracterizam-se por elevada estabilidade química e biológica, não estando estes compostos mais disponíveis para as plantas que a matéria orgânica nativa do solo (Paul e Clark, 1996; Kissel et al., 2008).

A ureia aplicada ao solo pode ser convertida em NH_4^+ e iões bicarbonato após reação com a urease. A urease está entre as enzimas do solo mais estudadas. A ureia move-se no solo por fluxo de massa e difusão e encontra urease associada aos colóides do solo. A taxa de hidrólise depende da quantidade de moléculas de urease ativas, (relacionado com a quantidade de carbono e azoto orgânicos no solo) e de fatores ambientais como temperatura, pH e humidade (Kissel et al., 2008).

2.1.2.2.3. Nitrificação

Nitrificação é a conversão biológica de azoto reduzido nas formas NH_3 ou NH_4^+ a formas oxidadas de azoto como NO_2^- ou NO_3^- (Schmidt, 1982; Norton, 2008). A nitrificação ocorre em duas etapas com a conversão de NH_4^+ a NO_2^- e NO_2^- a NO_3^- . Os principais organismos envolvidos são bactérias quimio-autotróficas respetivamente dos géneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, embora diversos outros géneros de bactérias autotróficas estejam envolvidas, e também bactérias heterotróficas (Varenes, 2003; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014). Na maior parte dos solos, sobretudo bem arejados, a segunda etapa é mais rápida que a primeira pelo que como NO_2^- é tóxico para as plantas não se acumula nos solos (Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014). A nitrificação é um processo aeróbio que depende do arejamento do solo. As temperaturas mais adequadas situam-se entre 25 a 30 °C, embora alguns microrganismos mantenham atividade até temperaturas próximas de 0 °C. A nitrificação tende a ser mais elevada em solos neutros a ligeiramente alcalinos. Contudo, pode ocorrer nitrificação até pH próximo de 3,0, dependendo das comunidades de bactérias presentes no solo (Paul e Clark, 1996; Norton, 2008).

2.1.2.2.4. Desnitrificação biológica

Desnitrificação biológica consiste na redução dos óxidos de N durante o metabolismo respiratório anaeróbio e microaerófilico. É um processo biológico restrito a bactérias procarionas, embora se pense que alguns fungos também possam desnitrificar

(Coyne, 2008). Em condições de anaerobiose, os microrganismos usam as formas oxidadas de N como aceitador de elétrons na cadeia respiratória com libertação de gases azotados (N_2 , N_2O , NO_x) (Firestone, 1982; Havlin et al., 2014). Para que a desnitrificação ocorra são necessários quatro requisitos fundamentais: presença de bactérias desnitrificantes; ambiente anaeróbico ou microaerofílico; dadores de elétrons (p. ex., substrato orgânico fresco); e óxidos de N como aceitadores de elétrons (Coyne, 2008).

A desnitrificação tem um papel muito importante no ciclo biogeoquímico do azoto, sendo a principal via pela qual os compostos inorgânicos oxidados de azoto se convertem em azoto elementar. Por outro lado, a desnitrificação biológica origina perdas de azoto significativas dos ecossistemas agrícolas contribuindo para a redução da eficiência de uso do azoto (Firestone, 1982). Alguns gases formados durante a desnitrificação têm forte implicação na química da atmosfera e elevado significado ambiental. O N_2O tem um tempo de residência na baixa atmosfera de 100 a 200 anos. É um gás de estufa natural da atmosfera, com um efeito de estufa aproximadamente 300 vezes mais efetivo que o CO_2 (Mosier et al., 1996). Progressivamente entra na estratosfera sendo fonte de NO que destrói a molécula de ozono (O_3), reduzindo a sua capacidade protetora das radiações ultravioletas (Werner, 2007). Estima-se que os níveis de N_2O na atmosfera tenham aumentado 18% desde o início da revolução industrial (Havlin et al., 2014). Para além disso, o NO é um catalisador do efeito *smog*. Com luz, NO e O_2 reagem com hidrocarbonetos das exaustões automóveis, com formação de O_3 troposférico, que tem efeitos adversos na saúde humana e nas plantas (Havlin et al., 2014). Alguns óxidos de azoto também se combinam com H_2O e O_2 para formar ácido nítrico (HNO_3), um componente importante das chuvas ácidas (Havlin et al., 2014). Também se deve ter presente que a desnitrificação com formação de N_2 permite descontaminar o planeta das formas oxidadas de azoto e fechar o ciclo do azoto (Rodrigues, 2000).

Em solos bem arejados podem ocorrer perdas de azoto na forma gasosa devido a processos não enzimáticos de reações que envolvem nitritos. Este fenómeno é conhecido por desnitrificação química ou quimiodesnitrificação (Varenes, 2003; Havlin et al., 2014). A importância agronómica das perdas de azoto por este processo é duvidosa porque as condições que promovem a acumulação de NO_2^- , designadamente valores de pH elevados, tendem a restringir a formação de gases azotados. Contudo, nas

proximidades de grânulos de ureia, em que a hidrólise origine subida de pH e inatividade temporária de *Nitrobacter*, podem acumular-se nitritos e coexistirem condições de arejamento favoráveis à quimiodesnitrificação (Nelson, 1982).

2.1.2.2.5. Volatilização de amoníaco

A volatilização de NH_3 é um processo complexo que pode envolver reações químicas no solo, processos físicos de transporte para fora do solo e interações biológicas. A agricultura contribui com 55 a 95 % do NH_3 antropogénico libertado para a atmosfera (Francis et al., 2008). A atividade pecuária e a aplicação de biossólidos são as maiores fontes de emissão de NH_3 , embora quantidades apreciáveis de NH_3 possam também ser devidas à aplicação de amoníaco anidro, adubos amoniacais e ureia. Em solução aquosa o ião NH_4^+ encontra-se em equilíbrio com NH_3 , sendo o predomínio de uma ou outra forma muito dependente do pH. As perdas não são significativas para $\text{pH} < 7,5$. Assim, as perdas de NH_3 estão muito dependentes dos fertilizantes utilizados e das condições de aplicação. A incorporação é fundamental para se reduzirem as perdas, bem como textura (devido à capacidade de troca catiónica e de fixação), pH e humidade do solo. As condições ambientais são também importantes, designadamente a velocidade do vento (Francis et al., 2008). Perdas importantes de NH_3 podem ocorrer também na cultura do arroz, devido ao facto de em condições de anaerobiose não ocorrer nitrificação, às oscilações diárias de pH e ao facto de se usar sobretudo ureia e formas amoniacais de azoto (Holding, 1982; Buresh et al., 2008).

O NH_3 é o gás alcalino mais abundante na atmosfera. Reage com ácidos para formar NH_4^+ . O tempo de residência na atmosfera é curto (< 9 dias), de onde é removido na forma de NH_3 por deposições atmosféricas secas e na forma de sais de NH_4^+ contido em aerossóis por deposições atmosféricas húmidas (Francis et al., 2008). Com exceção de situações de toxicidade de NH_3 próximo de fontes emissoras, a deposição de NH_3 pode ter efeitos benéficos nas plantas por fornecimento de azoto ou efeitos negativos no ambiente por acidificação do solo, eutrofização das águas e/ou desequilíbrios biológicos nos ecossistemas (Werner, 2007).

2.1.2.2.6. Lixiviação

Por lixiviação de azoto entende-se a perda do elemento na água de percolação pelo perfil do solo para fora do alcance das raízes e posteriormente para as águas superficiais e subterrâneas. O ião nitrato é muito suscetível a lixiviação por ser muito solúvel em água e estar carregado negativamente pelo que não é adsorvido pelo complexo coloidal do solo onde domina um balanço de cargas negativas. Em solos arejados, o azoto estabiliza no solo na forma NO_3^- , sendo também por isso muito vulnerável à lixiviação. A magnitude do fenómeno depende da dose e momento da aplicação do fertilizante azotado, textura do solo e gestão da rega e ocorrência de precipitação (Mulla e Stroock, 2008; Havlin et al., 2014).

A maior implicação ambiental da perda de nitratos por lixiviação é a eutrofização das águas superficiais, com riscos de grande desenvolvimento de vegetação aquática que pode reduzir os níveis de oxigénio na água durante o processo de decomposição (Werner, 2007). Em água para consumo humano o excesso de nitratos pode levantar problemas de saúde, como a síndrome dos bebés azuis ou metahemoglobinémia, cancro gástrico e diabetes. O limite permitido na União Europeia na água de consumo é de $50 \text{ mg NO}_3^- \text{ dm}^{-3}$ (Varenes, 2003; Werner, 2007).

2.1.2.3. Fixação biológica de azoto

A forma molecular N_2 pode ser considerada a origem e o destino no ciclo biogeoquímico do azoto (Rodrigues, 2000). O N_2 é o gás dominante na atmosfera, representando mais de 78% em volume (Barber, 1995). Os átomos que formam a molécula N_2 estão ligados por uma ligação covalente tripla, sendo um gás praticamente inerte e indisponível para plantas superiores e animais. A capacidade de fixar N_2 atmosférico é restrita a organismos procariotas (*Bacteria* e *Archae*) que dispõem de informação genética para sintetizar a enzima nitrogenase, que catalisa a redução de N_2 a NH_3 . Em relação com as plantas superiores, podem viver em simbiose, em associação ou serem fixadores livres sem relação de especificidade com um hospedeiro (Russelle, 2008; Cooper e Scherer, 2012). O papel de fixação biológica de azoto para a vida na terra é determinante, sendo colocado ao nível da fotossíntese e respiração (Stevenson 1986). Estima-se que os valores de azoto fixados em ecossistemas naturais e agrícolas possam superar os valores de fixação industrial e os valores de azoto fixado em campos

agrícolas mais de metade do azoto aplicado como fertilizante de síntese industrial (Cooper e Scherer, 2012). Em algumas culturas como a luzerna podem atingir-se quantidades de azoto fixado próximas de $800 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (Paul e Clark, 1996).

O homem tem procurado incrementar o contributo da fixação biológica nos campos agrícolas sobretudo através do uso de leguminosas noduladas que estabelecem simbiose com rizóbios fixadores (elevada diversidade microrganismos de diversos géneros, como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* entre outros). A gestão do feto *Azolla pinnata*, que estabelece simbiose com a cianobactéria *Anabaena azollae*, tem também sido fortemente implementada para aumentar a fixação biológica de azoto na cultura do arroz (Russelle, 2008; Cooper e Scherer, 2012; Havlin et al., 2014).

2.1.3. Resposta da oliveira à aplicação de azoto

As oliveiras quando cultivadas nos sistemas de agricultura tradicionais sem rega são das fruteiras menos fertilizadas. Por vezes são consideradas plantas rústicas que toleram condições de crescimento marginais, especialmente solos de baixa fertilidade (Connell e Vossen, 2007; Therios, 2009). De acordo com Therios (2009) esta reduzida aplicação de fertilizantes pode dever-se ao facto de se supor que a planta tem um sistema radicular muito desenvolvido, o que pode não estar correto porque a oliveira é cultivada frequentemente em terrenos pobres que limitam a profundidade do sistema radicular. Therios (2009) considera as necessidades da oliveira comparáveis a qualquer outra fruteira.

Assim, o azoto é o elemento ao qual as oliveiras respondem mais rapidamente e em maior extensão, incrementando a produtividade e reduzindo a alternância (Therios, 2009; Gregoriou e El-Kholy, 2010). A falta de azoto retarda o crescimento, reduz o tamanho dos ramos do ano e a floração e, de uma maneira geral, as plantas ficam descoradas com cor verde menos intensa (Therios, 2009; Gregoriou e El-Kholy, 2010).

Apesar de estudos de fertilização da oliveira não serem abundantes, em comparação com o que ocorre para as grandes culturas anuais, a fertilização azotada é, ainda assim, o tipo de estudos mais frequentes no âmbito da fertilização do olival. Os estudos de fertilização azotada do olival têm dado um conjunto de pistas, embora nem sempre no mesmo sentido, o que torna esta temática ainda interessante do ponto de vista científico.

Estudos iniciais conduzidos por Hartmann et al. (1966) mostraram que o azoto exerceu um efeito marcado na produtividade em solos pouco férteis e ausência de resposta em solos de maior fertilidade. Também Ferreira et al. (1984) registaram que só as árvores de maior potencial de produção, supostamente com maiores necessidades nutricionais, responderam à fertilização azotada. No mesmo sentido, Bouhafa et al. (2014) registaram aumento de produção pela aplicação de azoto em árvores adultas (> 35 anos) e não registaram efeito significativo em árvores jovens de 7 e 9 anos de idade, supostamente de menores necessidades.

Outros estudos têm mostrado efeito positivo inequívoco da fertilização azotada. Jasrotia et al. (1999) registaram aumento de crescimento e produção em resposta à adubação azotada em árvores 'Fontoio' com 15 anos de idade cultivadas num solo arenoso. Também Morales-Sillero et al. (2009) e Marcelo et al. (2010) registaram aumentos de produtividade até doses moderadas do nutriente. Fernández-Escobar et al. (2004) em estudos em vasos com aplicação de várias fontes de azoto, designadamente adubos de libertação lenta e utilizando turfa e areia como substrato, concluíram que a fertilização é necessária para assegurar o crescimento das plantas ainda que não em excesso. Num estudo em vasos e usando perlite como substrato, Erel et al. (2008; 2013b) verificaram aumento da intensidade da floração, vingamento dos frutos e produção na cv. 'Barnea' até doses moderadas de azoto. Rodrigues et al. (2011b) registaram perda de produção de azeitona na 'Verdeal Transmontana' em um tratamento em que retiraram a adubação azotada durante 4 anos por comparação com a testemunha fertilizada com azoto anualmente. Em outros trabalhos com 'Cobrançosa', Rodrigues et al. (2015) verificaram que cobertos vegetais de leguminosas anuais de ressementeira natural melhoraram o estado nutricional azotado das árvores e a produção de azeitona em comparação com um tratamento com aplicação anual de 60 kg N ha⁻¹, tendo a testemunha não fertilizada produzido resultados significativamente mais baixos que as restantes modalidades. Boussadia et al. (2010) em estudos com as cvs. 'Meski' e 'Koroneiki' verificaram que a ausência de aplicação de azoto originou plantas com menor teor de azoto nas folhas, menor teor em clorofila e, conseqüentemente, menor capacidade fotossintética das plantas. Em plantas deficientes acumularam-se carboidratos (amido, manitol, sacarose e glucose) que terão inibido a fotossíntese. Como resultado, a biomassa total foi fortemente reduzida nas duas cultivares. Este

estudo mostrou também tolerância diferente das duas cultivares à deficiência de azoto, sendo ‘Meski’ a mais tolerante.

Em outros estudos, contudo, não foi registado aumento de produção pela aplicação de azoto. Em estudos com duração de 13 anos com ‘Picual’ no Sul de Espanha, Fernández-Escobar et al. (2009a) não encontraram resposta no crescimento das árvores, nas características dos frutos e na produtividade pela aplicação de azoto. Em outro estudo com duração de cinco anos e quatro oliveais em contextos agroecológicos distintos, Fernández-Escobar et al. (2009b) também não registaram benefícios da aplicação de azoto no crescimento vegetativo, tamanho dos frutos, teor em óleo e produtividade. Fernández-Escobar et al. (2012) apresentam um estudo de balanço de azoto no sistema e estimam que o azoto recuperado pela planta e removido na lenha de poda é equivalente ao azoto introduzido pela mineralização da matéria orgânica. Estimaram ainda quantidades mínimas de azoto lixiviado e volatilizado, sendo estes componentes mais baixos que o azoto introduzido na água da chuva. Este estudo, em combinação com os anteriores, levou os autores a concluir que em solos férteis a aplicação anual de azoto não é necessária.

Se os estudos que avaliam a performance da planta em termos de desenvolvimento vegetativo e produtividade nem sempre têm produzido resultados no mesmo sentido, os que se dedicam a aspetos da qualidade do azeite mostram uma tendência para redução de alguns parâmetros da qualidade com doses excessivas do nutriente (Fernández-Escobar et al., 2006; Marcelo et al., 2010; Erel et al., 2013a; Tekaya et al. 2013a), embora outros nutrientes possam exercer um efeito negativo mais marcado que o azoto na qualidade do azeite (Tekaya et al., 2013b).

Se persistem incertezas sobre a resposta da oliveira à aplicação de azoto, os laboratórios e organismos oficiais parecem não recluir na hora de recomendar a aplicação do nutriente. Gregoriou e El-Kholy (2010) apresentam um sumário das recomendações oficiais para diversos países do Oeste da Ásia e Norte de África. Recomendações de azoto na ordem de $100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para sequeiro e $200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para regadio são frequentes, ou valores anuais próximos de 0,5 a 1,0 kg de azoto por árvore. Estes valores não diferem muito do que se utiliza habitualmente nas culturas anuais, mesmo tendo em conta que a oliveira tende a exportar menos na colheita. Rodrigues et al. (2012) estimaram a exportação anual de azoto nos frutos em apenas 5,5

kg num olival de sequeiro de 10 anos com produção média de 2500 kg ha⁻¹ e 4 kg ha⁻¹ de azoto removidos na lenha de poda num regime de poda ligeira anual.

Alguns investigadores têm proposto como uma aproximação possível ao problema gerir a fertilização azotada em função do estado nutricional da oliveira. Neste caso, como intervalo de concentrações adequadas de azoto aceita-se normalmente 1,2 a 2% (Freeman e Carlson, 2005; Connell e Vossen, 2007; Gregoriou e El Kholly, 2010; Fernández-Escobar, 2017), embora Bryson et al. (2014) alarguem o intervalo a valores mais elevados, designadamente 1,5 a 2,5 % de azoto. Fernández-Escobar (2017) propõem como zona deficiente valores inferiores a 1,4 % e Therios (2009) como valores excessivos acima de 2,2 %. De qualquer forma, estes intervalos são estabelecidos em função da maior probabilidade de ocorrência e não baseados em relações entre teores de azoto nas folhas e níveis de produtividade, pelo que não estão inteiramente isentos de erro.

Na gestão do azoto, sendo um elemento muito móvel no solo, deve ter-se especial atenção não só às doses aplicadas mas também às datas e técnicas de aplicação. As formas amoniacais de azoto e ureia podem aplicar-se mais cedo no decurso da estação de crescimento enquanto as formas nítricas se devem aplicar mais tarde (Therios, 2009). Em sequeiro, deve evitar-se aplicar no Inverno, devido aos riscos de lixiviação e desnitrificação, mas como a estação de crescimento é curta, não se deve aplicar muito tarde, devido ao risco de stresse hídrico a partir do fim da Primavera. Para as condições do NE Portugal (500 a 550 mm de precipitação anual), Arrobas e Moutinho-Pereira (2009) recomendam o fim de março como data de compromisso. Também Fernández-Escobar (2017) recomendam o fim do Inverno e início da Primavera para a aplicação de azoto ao solo. Em sequeiro as aplicações foliares podem também ser uma boa opção de fazer chegar azoto as plantas uma vez que são igualmente eficientes e podem ultrapassar a extrema secura do solo (Gregoriou e El-Kholly, 2010). Se o pomar tiver fertirrega instalada, a aplicação de azoto e outros nutrientes deve ser fracionada ao longo de toda a estação de crescimento de forma a satisfazer as necessidades das plantas e reduzir o risco de perdas para o meio ambiente.

2.2. Fósforo

O fósforo integra a lista de 16 elementos reconhecidos como sendo essenciais às plantas superiores. O fósforo, tal como azoto, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, integram o grupo dos macronutrientes, por serem utilizados pelas plantas em quantidades relativamente elevadas. Conjuntamente com azoto e potássio são designados macronutrientes principais, por ser habitual incluí-los nos programas de fertilização uma vez que os solos frequentemente não os fornecem às plantas em quantidades suficientes.

O fósforo limita a produtividade das culturas em diversas partes do globo (Li et al., 2016). Estima-se que a disponibilidade do fósforo para as raízes das plantas é limitada em aproximadamente 2/3 nos solos cultivados no mundo o que causa um constrangimento importante à produção agrícola (Sepehr et al., 2012). Sem aplicação de fósforo, o crescimento vegetal pode ser limitado e dificultar a produção de alimento para uma população mundial de que se espera venha a atingir os 9 mil milhões de habitantes em 2050 (Bai et al., 2016).

A rocha fosfatada é virtualmente a única matéria-prima para o fabrico de fertilizantes com fósforo. A fonte principal de fósforo são rochas sedimentares fosfatadas (fosfato precipitado a partir do fundo do mar e dos ossos) mas também rochas magmáticas (ígneas) fosfatadas. As rochas fosfatadas como a apatite, sobretudo a variante fluorapatite, contêm teores elevados de fosfato de cálcio que permitem a sua exploração comercial. As rochas fosfatadas são minadas em aproximadamente 30 países e os adubos fosfatados fabricados em 26 países um pouco por todo o globo (Kongshaug, 2007).

O uso de fósforo na agricultura nos modelos atuais não é sustentável. Ao ritmo de consumo atual espera-se que este recurso se encontre esgotado nos próximos 50 a 100 anos, numa era em que cada vez mais bens alimentares são necessários para sustentar uma população global em crescimento (Hawkesford et al., 2012). A China tornou-se recentemente no maior consumidor mundial de fertilizantes fosfatados. A sociedade chinesa tem assistido a uma revolução na dieta da população, associada à melhoria das condições económicas e ao aumento da população urbana face à população rural, com aumento do consumo de carne e de frutas e legumes, o que aumenta consideravelmente

a demanda por fertilizantes (Bai et al., 2016). Há hoje um reconhecimento geral de que os fertilizantes minerais fosfatados têm de ser usados de forma mais eficiente, também para reduzir o impacto ambiental do fósforo na eutrofização dos cursos de água. A depleção a ritmo acelerado dos recursos mundiais em rochas fosfatadas coloca um desafio prioritário na gestão sustentável do fósforo no século XXI.

2.2.1. Fósforo nas plantas

O fósforo é o segundo elemento que mais frequentemente limita o crescimento das plantas. É um elemento essencial sobretudo pelo seu papel no metabolismo energético da planta e na biossíntese de ácidos nucleicos e biomembranas (Varenes, 2003; Li et al., 2010).

Uma adequada disponibilidade de fósforo favorece a expansão do sistema radicular. Se for adicionado fósforo em bandas, as raízes das plantas proliferam extensivamente na zona tratada. Por essa via, o seu papel é importante no arranque das culturas (Chaney, 2007). Adequada disponibilidade de fósforo favorece também a maturação e reduz o tempo necessário para a maturação de frutos e sementes (Havlin et al., 2014).

2.2.1.2. Funções do fósforo nas plantas

O fósforo é um elemento estrutural dos ácidos nucleicos, que são transportadores da informação genética (ácido desoxirribonucleico, DNA) e estruturas responsáveis pela tradução da informação genética (ácido ribonucleico, RNA). O fósforo é responsável pela natureza altamente acídica dos ácidos nucleicos (Hawkesford et al., 2012). O fósforo integra ainda fosfolípidos e fosfoproteínas com papel relevante no funcionamento das biomembranas, bem como várias coenzimas, sendo as mais relevantes a adenosina difosfato (ADP) e a adenosina trifosfato (ATP), com papéis no armazenamento e transporte de energia em diversos processos bioquímicos. Os ésteres fosfato (C-(P)) e os fosfatos ricos em energia ((P)~(P)) representam a energia metabólica das células (Scherer e Mengel, 2007; Hawkesford et al., 2012).

O fósforo inorgânico (Pi) controla diversas reações enzimáticas, sendo frequentemente substrato e produto da reação. A compartimentação do Pi é essencial na

regulação de vias metabólicas no citosol e cloroplastos. Nas folhas, a concentração de fósforo pode variar 20 vezes sem que a fotossíntese seja significativamente afetada, na medida em que a concentração de Pi no citosol é regulada numa gama estreita por uma efetiva homeostase de fosfato em que o Pi nos vacúolos atua como tampão (Hawkesford et al., 2012).

O fósforo acumula-se nas sementes como reserva na forma de sais de magnésio (cálcio) de hexafosfato de inositol, designado de ácido fítico (Scherer e Mengel, 2007).

2.2.1.2. Absorção, assimilação e transporte

O fósforo é absorvido pelas plantas a partir da solução do solo nas formas iónicas dihidrogenofosfato (H_2PO_4^-) e hidrogenofosfato (HPO_4^{2-}) (Chaney, 2007). A proporção relativa entre estas duas formas depende do pH do solo (Varenes, 2003; Havlin et al., 2014). Tem também sido sugerido que as plantas possam absorver moléculas orgânicas de baixo peso molecular contendo fósforo. Contudo, em solos agrícolas o seu contributo para a nutrição em fósforo será de reduzido significado, porque são provavelmente convertidas em formas minerais pelos microrganismos (Havlin et al., 2014).

A absorção de H_2PO_4^- deverá ocorrer devido à ação de ATPases localizadas no plasmalema, uma vez que o citosol tem carga negativa. Os aniões associam-se a protões sendo depois os complexos carregados positivamente transportados em simporte seletivamente através da membrana, sendo que a diferença eletroquímica entre os dois lados da membrana plasmática representa a força motriz da absorção dos aniões (Varenes, 2003; Scherer e Mengel, 2007).

Os iões absorvidos pelas células do córtex da raiz são transportados no simplasma em direção ao cilindro central onde são secretados nos vasos xilémicos. O fósforo não é transportado na raiz na forma iónica, é incorporado em formas orgânicas, como ATP ou açúcares fosfatados e transportado no simplasma até ao xilema sendo as moléculas hidrolisadas e carregado o ião fosfato. No xilema os iões são transportados até à parte aérea das plantas na corrente transpiratória, seguindo até às folhas a partir das quais se difundem pelos espaços intercelulares da parede celular (apoplasto). O transporte a partir do apoplasto através da plasmalema até ao citosol das células das folhas é um processo análogo à absorção do nutriente nas células da raiz (Scherer e Mengel, 2007). O fósforo, tal como alguns outros nutrientes como azoto e potássio, pode também ser

transportado nos tecidos floémicos contra a corrente transpiratória. Assim, pode ser transportado das folhas para as raízes e das folhas velhas para as partes em crescimento (Scherer e Mengel, 2007).

Ao contrário de nitrato e sulfato, o fosfato absorvido pelas raízes não é reduzido nas plantas, permanecendo na forma de fosfato inorgânico (Pi) ou sendo esterificado com um grupo hidroxilo a uma cadeia de carbono (C-O-P) como um simples éster fosfato ou ligado a outro fosfato através de uma ligação pirofosfato (P)~(P) rica em energia, como no ATP. A troca entre Pi e (P) no éster e a ligação pirofosfato ocorrem de forma muito rápida (Varenes, 2003). Por exemplo, Pi absorvido pelas raízes é incorporado em escassos minutos em (P) orgânico e libertado outra vez como Pi no xilema (Hawkesford et al., 2012). As reservas de fósforo nas plantas correspondem a fósforo inorgânico acumulado nos vacúolos e aos fitatos nos frutos e sementes (Varenes, 2003).

O fósforo representa 0,15 a 1,0 % da massa seca da maioria das plantas, com valores de suficiência nas folhas jovens maduras habitualmente a variar entre 0,2 a 0,4 %. Ao longo da estação de crescimento e com o aumento da idade das plantas a concentração do fósforo nas folhas tende a decrescer (Jones, 2012). A concentração de fósforo nos tecidos deve estar em equilíbrio com a concentração de outros nutrientes. Valores da relação N:P superiores a 3:1 e P:Zn inferiores a 200:1 são considerados críticos (Jones, 2012).

2.2.1.3. Deficiência e excesso de fósforo nas plantas

As plantas deficientes em fósforo mostram sintomatologia geral de redução de crescimento (Chaney, 2007; Scherer e Mengel, 2007; Havlin et al., 2014). Os caules tendem a ser mais curtos e finos, a ramificação lateral menos intensa, os gomos laterais tendem a morrer ou a ficar dormentes e a floração é reduzida, do que resulta baixa produção de sementes e frutos (Chaney, 2007). As folhas adquirem uma coloração verde-escura, que pode evoluir para acinzentada ou verde-azulada à medida que a deficiência se agrava. Por vezes as folhas desenvolvem uma tonalidade arroxeada devido à acumulação de açúcares e ao aumento da síntese de antocianinas nas folhas (Chaney, 2007; Scherer e Mengel, 2007; Havlin et al., 2014).

Como já foi referido, o fósforo é um elemento relativamente móvel nas plantas, sendo translocado das folhas velhas para os novos tecidos em crescimento. Nas fases reprodutivas o fósforo é translocado para frutos e sementes. Assim, os sintomas de deficiência tendem a iniciar-se pelas folhas mais velhas a partir das quais o nutriente é remobilizado para as partes em crescimento (Varenes, 2003; Jones, 2012).

O excesso de fósforo tende a manifestar-se como deficiência de um micronutriente, sendo que o ferro tende a ser o primeiro a ser afetado (Jones, 2012). Também é afetado o Cu (Sanchez, 2007) e o Zn (Sanchez, 2007; Broadley et al., 2012). Valores excessivamente altos de fósforo podem interferir no metabolismo da planta. Em concentrações superiores a 10% pode ser considerado tóxico (Jones, 2012).

2.2.2. Fósforo no solo

O fósforo é absorvido pelas plantas sobretudo nas formas iónicas H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} a partir da solução do solo. O fósforo inorgânico no solo está sobretudo ligado ao cálcio nos solos calcários e de pH elevado e ao ferro e alumínio nos solos ácidos, o que reduz a sua disponibilidade para as plantas. O fósforo da fração orgânica também não está disponível para as plantas sem antes sofrer mineralização pelos microrganismos heterotróficos do solo. A aplicação de fósforo solúvel é frequentemente necessária para assegurar o crescimento das plantas. Contudo, uma vez aplicado o fósforo pode ser rapidamente fixado por cálcio, ferro e alumínio, sobretudo com precipitados de baixa solubilidade e reduzida disponibilidade para as plantas e imobilizado pelos microrganismos. Assim, grande parte do fósforo no solo é quimicamente estável e está de uma maneira geral indisponível para as plantas.

Em algumas regiões do globo a deficiência de fósforo está associada a reservas reduzidas do nutriente no solo mas em outras resulta de uma elevada capacidade dos solos em o fixar (Nziguheba et al., 2016).

2.2.2.1. Formas de fósforo no solo

O fósforo total nas camadas superficiais do solo varia de 0,005 a 0,15%, e decresce com a intensidade de meteorização. A quantidade de fósforo total nos solos é muito mais baixa em regiões húmidas e tropicais em comparação com regiões áridas e

semiáridas (Havlin et al., 2014). Infelizmente a quantidade total de fósforo no solo tem nenhuma ou reduzida relação com o fósforo disponível para as plantas.

A maior parte do fósforo no solo encontra-se na fase sólida, estando apenas uma reduzida fração dissolvida na solução do solo. O fósforo existe nos solos na fração mineral e orgânica em quantidades significantes, podendo variar naquelas frações, respetivamente, entre 50 a 70 % e 30 a 50 % (Chaney, 2007; Jones, 2012).

Os fosfatos inorgânicos no solo podem dividir-se em três frações com significado diferente na nutrição das plantas (Chaney, 2007): 1) fosfatos na solução do solo, disponíveis para serem absorvidos pelas plantas; 2) fosfatos na fração lábil, por vezes adsorvidos nas partículas minerais do solo e que podem rapidamente entrar na solução; e 3) fosfatos na fração não lábil, apenas libertados para a solução do solo de forma muito lenta. Os fosfatos dissolvidos na solução podem ser absorvidos pelas plantas. Os fosfatos removidos pelas plantas são repostos pelo fósforo da fração lábil. O fósforo não lábil (insolúvel) é libertado de forma tão lenta que tem reduzido significado para as plantas no decurso de uma estação de crescimento (Chaney, 2007).

Os iões H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} são as principais formas iónicas de fósforo no solo (Jones, 2012). A quantidade de H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} na solução depende do pH do solo. A pH 7,2 H_2PO_4^- é aproximadamente igual a HPO_4^{2-} . Abaixo daquele valor de pH, H_2PO_4^- é mais abundante que HPO_4^{2-} , enquanto acima de pH 7,2 HPO_4^{2-} é mais abundante que H_2PO_4^- (Havlin et al., 2014). A absorção de HPO_4^{2-} ocorre de forma mais lenta que H_2PO_4^- devido às cargas negativas do citosol (Varenes, 2003; Havlin et al., 2014).

O fósforo inorgânico no solo (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) não absorvido pelas raízes ou imobilizado pelos microrganismos pode ser adsorvido às superfícies dos minerais ou precipitar como compostos secundários de fósforo. A adsorção às superfícies e as reações de precipitação são coletivamente chamadas de fixação ou retenção de fósforo e dependem do pH do solo e de inúmeros outros fatores (Havlin et al., 2014).

A combinação de fosfatos de ferro, alumínio e cálcio representa a maior fonte de fósforo inorgânico no solo (Jones, 2012). Os compostos de fósforo inorgânico podem dividir-se em dois grupos principais: os que contêm cálcio; e os que contêm ferro e alumínio (Chaney, 2007). Os compostos de cálcio de maior importância são as apatites, de formula geral $\text{Ca}_5(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH}, \frac{1}{2} \text{CO}_3)(\text{PO}_4)_3$, sobretudo a fluor-apatite, o hidrogeno-fosfato de cálcio, CaHPO_3 , e o di-hidrogeno-fosfato de cálcio, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$. A fluor-

apatite é o mais insolúvel destes compostos, não estando por isso disponível para as plantas, sendo que os restantes apresentam boa solubilidade (Chaney, 2007). Exceto em solos recentemente fertilizados, estes compostos de maior solubilidade estão presentes no solo em quantidades muito reduzidas, porque reagem para formar compostos mais insolúveis (Chaney, 2007). Em solos ácidos o fósforo inorgânico precipita como minerais secundários Fe/Al-P e/ou é adsorvido às superfícies dos óxidos de ferro e alumínio (Fe/Al) e minerais de argila (Havlin et al., 2014).

Os principais componentes da fase orgânica são ácidos nucleicos, fosfolípidos, fitatos e seus derivados. O fósforo orgânico está continuamente a ser libertado na forma HPO_4^{2-} através da degradação microbiológica dos compostos orgânicos (Chaney, 2007).

2.2.2.2. Ciclo do fósforo no solo

A redução da concentração de fósforo na solução do solo devido à absorção pelas plantas é tamponizada pelas frações inorgânica e orgânica de fósforo no solo (Havlin et al., 2014). Os minerais primários e secundários de fósforo dissolvem-se para restituir H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} à solução do solo. Fósforo inorgânico (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}) adsorvido nas superfícies dos minerais de argila podem também sofrer dessorção para tamponizar o fósforo em solução (Havlin et al., 2014). Os microrganismos do solo degradam os substratos orgânicos restabelecendo a solução com fósforo. Por outro lado, as frações minerais e orgânicas tamponizam o aumento de fósforo na solução através da adsorção nas superfícies minerais, precipitação como minerais secundários com fósforo e imobilização na forma de fósforo microbiano (Havlin et al., 2014).

Em solos ácidos, ferro, alumínio e manganês solúvel reagem com os iões H_2PO_4^- para formar fosfatos insolúveis que o tornam indisponível para as plantas (Chaney, 2007). Em solos ácidos, a concentração de iões ferro e alumínio excede a de iões H_2PO_4^- e apenas uma quantidade diminuta de fósforo pode permanecer imediatamente disponível para as plantas (Chaney, 2007).

A manutenção da concentração de fósforo em solução (fator intensidade) para a nutrição adequada das plantas depende da capacidade de fósforo adsorvido, mineral e orgânico (fator quantidade) em repor o fósforo na solução do solo absorvido pelas plantas (Havlin et al., 2014). A razão entre os fatores intensidade e quantidade define o poder tampão do solo ou a capacidade relativa do solo em tamponizar alterações no

fósforo em solução. Quanto maior o poder tampão, maior a capacidade do solo em repor níveis adequados de fósforo na solução para as plantas.

O solo pode perder fósforo não só através da absorção pelas plantas mas também por lixiviação e erosão. Por lixiviação são perdidas quantidades modestas devido à baixa solubilidade do elemento no solo, exceto em situações em que se apliquem de forma regular quantidades elevadas de fósforo na forma orgânica ou mineral em que a capacidade de adsorção do solo esteja saturada. Por erosão é removido fósforo das frações orgânica e inorgânica podendo ser removidas quantidades significativas dependendo da quantidade total de fósforo no solo e da intensidade do fenómeno de erosão. As entradas de fósforo no sistema são normalmente devidas à ação do homem através da aplicação de fertilizantes fosfatados e corretivos orgânicos.

2.2.2.3. Fatores que afetam a disponibilidade de fósforo no solo

Diversas propriedades físicas e químicas do solo influenciam a solubilidade do fósforo e por conseguinte a sua disponibilidade para as plantas. Como algumas das mais importantes podem referir-se o tipo de minerais presentes, a reação do solo e o teor de matéria orgânica.

2.2.2.3.1. Minerais

Os óxidos de ferro e alumínio são abundantes em solos ácidos e têm a capacidade de adsorver grandes quantidades de fósforo em solução. Em solos de elevada quantidade de óxidos de ferro e alumínio, quanto mais amorfos e menos cristalinos os óxidos, maior a capacidade de fixar fósforo devido à maior área de superfície (Havlin et al., 2014). O fósforo é adsorvido em maior extensão pelos minerais de argila do tipo 1:1 (caulinite) que pelos minerais 2:1 (montmorilonite) devido ao maior conteúdo de óxidos de ferro e alumínio associados aos primeiros, que predominam em solos muito meteorizados (Havlin et al., 2014). Solos com maior conteúdo em argila fixam mais fósforo comparativamente com solos pobres em argila devido à maior área de superfície (Havlin et al., 2014).

Nos solos calcários pode ocorrer adsorção de fósforo nas superfícies de CaCO_3 , embora uma parte significativa da adsorção seja devida a impurezas de óxidos de ferro.

Carbonato de cálcio (CaCO_3) impuro, com grande área de superfície, exibe grande adsorção de fósforo e rápida precipitação do fósforo em minerais Ca-P. Solos calcários, com elevado CaCO_3 reativo e elevado conteúdo em argila saturada com cálcio exibem baixos níveis de fósforo em solução, na medida em que o fósforo pode precipitar ou ficar adsorvido (Havlin et al., 2014). Em termos relativos, os solos ácidos podem fixar mais do dobro do fósforo por unidade de superfície que solos neutros ou calcários (Havlin et al., 2014). Acresce que o fósforo adsorvido fica ligado com cinco vezes mais energia em solos ácidos que em solos calcários (Havlin et al., 2014).

A adsorção de fósforo é maior em solos com quantidades iniciais de fósforo adsorvido baixas. À medida que se adiciona fertilizante fosfatado e a quantidade de fósforo adsorvido aumenta, o potencial para adsorção adicional diminui. Quando todos os locais de adsorção ficam saturados com fosfato inorgânico, não ocorre mais adsorção (Havlin et al., 2014). Este aspeto é de grande importância prática no âmbito da fertilização das culturas e do risco de contaminação ambiental.

2.2.2.3.2. Reação do solo

O pH determina a forma de fósforo na solução do solo. Em solos muito ácidos está presente apenas o ião H_2PO_4^- . À medida que o pH aumenta, domina o ião HPO_4^{2-} e depois o ião PO_4^{3-} . A pH 7,0 a proporção de H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} é mais ou menos equivalente (Chaney, 2007).

Em solos ácidos, os óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio estão envolvidos na adsorção de fósforo. Devido à acidez da solução, os bordos das superfícies exibem um balanço de carga positiva (+) embora também possam estar presentes cargas negativas (-) em alguns locais. O predomínio de carga positiva atrai aniões como H_2PO_4^- (Havlin et al., 2014). Em solos calcários, pequenas quantidades de fósforo podem ser adsorvidas através da substituição de CO_3^{2-} nas superfícies CaCO_3 . Em concentrações de fósforo baixas predomina adsorção, enquanto para concentrações de fósforo mais elevadas minerais Ca-P precipitam nas superfícies CaCO_3 . Outros minerais, sobretudo $\text{Al}(\text{OH})_3$ e $\text{Fe}(\text{OH})_3$ também contribuem para a adsorção de fósforo da solução em solos calcários (Havlin et al., 2014).

A adsorção de fósforo pelos óxidos de ferro e alumínio decresce com o aumento de pH. A Gibsite ($\text{Al}(\text{OH})_3$) adsorve a maior quantidade de fósforo a pH entre 4 e 5,

enquanto o fósforo adsorvido pela Goetite (FeOOH) decresce continuamente entre pH 3 e 12 (Havlin et al., 2014). A disponibilidade de fósforo é máxima a pH 6,5 na maioria dos solos (Havlin et al., 2014). A pH baixo a fixação de fósforo deve-se sobretudo à reação com óxidos de ferro e alumínio e precipitação como AlPO_4 e FePO_4 . À medida que o pH aumenta, reduz-se o ferro e o alumínio na solução, o que diminui a adsorção/precipitação de fósforo e aumenta a sua concentração na solução (Havlin et al., 2014). Acima de pH 7,0, o cálcio precipita com o fósforo como minerais Ca-P, diminuindo a solubilidade do fósforo (Havlin et al., 2014). Aplicando calcário aos solos normalmente aumenta o fósforo em solução. Contudo, se for aplicado calcário em excesso pode reduzir-se a solubilidade do fósforo devido à formação de minerais Ca-P insolúveis (Havlin et al., 2014).

2.2.2.3.3. Matéria orgânica

O fósforo orgânico varia tipicamente entre 15 a 80 % do fósforo total no solo, e tal como a matéria orgânica a quantidade de fósforo orgânico reduz-se normalmente com a profundidade. A concentração de fósforo na matéria orgânica varia entre 1 a 3 % (Havlin et al., 2014).

De acordo com Havlin et al. (2014) os compostos orgânicos no solo aumentam a solubilidade do fósforo através de: 1) formação de complexos organofosfatos que são mais solúveis; 2) adsorção de aniões orgânicos nos locais de adsorção em vez de H_2PO_4^- ; 3) revestimento de óxidos de ferro e alumínio com húmus formando uma estrutura protetora que reduz a adsorção de fósforo; e 4) mineralização do substrato orgânico.

A mineralização e imobilização de fósforo no solo são processos similares à mineralização e imobilização de azoto, na medida em que ambos os processos ocorrem em simultâneo. A razão C:P do resíduo determina se ocorre mineralização ou imobilização líquida (Havlin et al., 2014). Para razão C:P < 200 (ou concentração de fósforo no substrato orgânico > 0,3%) ocorre mineralização líquida do fósforo orgânico. Para valores entre 200 e 300 (ou concentração de fósforo no substrato orgânico entre 0,2 e 0,3 %) não haverá ganhos ou perdas de fósforo orgânico e para valores de razão C:P > 300 (ou concentração de fósforo no substrato orgânico < 0,2%) ocorre imobilização líquida de fósforo no solo.

2.2.2.4. Deslocação do fósforo no solo

Os iões fosfato (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}) entram em contacto com as raízes das plantas principalmente por difusão na solução do solo. Contudo, a interceção radicular, favorecida pela abundância de pelos radiculares, vai aumentar significativamente a oportunidade de absorção de fósforo (Jones, 2012). O fósforo pode também deslocar-se no solo por fluxo de massa. Contudo, em solos pobres em fósforo o fluxo de massa fornece pouco do fósforo necessário às plantas (Havlin et al., 2014). Assim, com temperaturas baixas e para teores de humidade no solo reduzidos pode haver restrição severa à absorção de fósforo por limitação do processo de difusão e desenvolvimento do sistema radicular (Jones, 2012).

2.2.3. Fósforo no meio ambiente

De uma maneira global 80 a 90 % do fósforo minado é usado no fabrico de fertilizantes para a atividade agrícola. Contudo, apenas 20% do fósforo usado como fertilizante é absorvido pelas plantas e exportado nas colheitas. O restante acumula-se nos solos agrícolas, ou perde-se para o meio ambiente no circuito produção-consumo. As perdas de fósforo para as águas superficiais originam eutrofização e perda de biodiversidade em cursos de água, lagos e zonas costeiras (Bai et al., 2016). Nesta perspetiva, revela-se urgente melhorar a eficiência de uso do nutriente e proteger o meio ambiente.

Os problemas ambientais associados ao uso do fósforo na agricultura devem-se ao seu contributo para a eutrofização das águas e ao aumento potencial de metais pesados nos solos agrícolas.

2.2.3.1. Perdas de fósforo pelos solos e eutrofização das águas

As perdas difusas de fósforo dos solos cultivados, ainda que de reduzido significado em termos agrícolas, podem ter impacte ambiental elevado por estarem ligadas à eutrofização dos cursos de água, lagoas e albufeiras (Dodd e Sharpley, 2016).

A eutrofização corresponde ao enriquecimento das águas com fósforo (e outros nutrientes) ao qual se associa um crescimento excessivo de algas e plantas aquáticas. Nas fases avançadas dos seus ciclos biológicos, os tecidos destes organismos

decompõem-se com consumo excessivo de oxigénio. No limite a privação de oxigénio pode levar à morte de peixes e outros organismos aquáticos. O nutriente que mais limita o desenvolvimento da vegetação aquática é o fósforo, embora seja o efeito conjugado de eutrofização com azoto e fósforo que origina os resultados mais espetaculares do desenvolvimento da vegetação (Werner, 2007).

As perdas de fósforo por erosão e escoamento superficial a partir dos campos agrícolas são as principais fontes de fósforo para as águas. Ao contrário do azoto, a poluição com fósforo percolado ou lixiviado para os aquíferos não é ainda um problema importante, embora o transporte vertical deste nutriente possa vir a criar um problema de poluição onde a capacidade de adsorção das camadas profundas do solo esteja já altamente saturada. Este fenómeno tem vindo a ser reportado em regiões de elevada atividade pecuária e uso excessivo de fertilizantes orgânicos, como acontece em vários países europeus (Werner, 2007).

2.2.3.2. Metais pesados

O enriquecimento dos solos com cádmio é uma preocupação importante pelo facto dos fertilizantes fosfatados serem produzidos com rochas fosfatadas que contêm cádmio. O cádmio é muito tóxico para humanos, embora menos para as plantas. Existe a preocupação de que o uso de fertilizantes fosfatados vá lentamente aumentando os níveis de cádmio nos solos aráveis e que dentro de aproximadamente um século possa resultar em níveis de cádmio inaceitáveis nas produções agrícolas (Kongshaug, 2007).

A quantidade de cádmio nos fertilizantes depende da quantidade de cádmio original na rocha fosfatada e do processo de digestão utilizado no seu fabrico. Na Alemanha estima-se que a quantidade total de cádmio que tem vindo a ser introduzida nos solos se tenha reduzido devido à preferência por fertilizantes com baixos níveis de cádmio e pela própria redução do uso de fertilizantes fosfatados na agricultura (Werner, 2007). Assim, os fertilizantes só por si não são um problema de contaminação com cádmio a curto prazo se outras fontes não forem importantes. Os solos agrícolas podem ser contaminados com cádmio sobretudo próximo de autoestradas devido a ser usado na indústria dos pneus e poder sair nas exaustões dos automóveis (Säumel et al., 2012).

2.2.4. Resposta das plantas à disponibilidade de fósforo no solo

A resposta das plantas à aplicação de fósforo está documentada numa grande diversidade de culturas, tais como trigo (*Triticum aestivum* L.) (Jackson et al., 1997; Brennan e Bolland, 2001; Wang et al., 2010), colza (*Brassica napus*) (Brennan e Bolland, 2001), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (Wang et al., 2010), ervilhaca (*Vicia narbonensis* L.) (Türk et al., 2007), soja (*Glycine max* L. Merrill) (Watt e Evans, 2003) e tremoço (*Lupinus* sp.) (Brennan e Bolland, 2001; Muslins et al., 2001; Ma et al., 2002; Wang et al., 2010). Contudo, a globalidade destes estudos ocorreram em solos inerentemente pobres em fósforo, frequentemente arenosos ou muito ácidos, onde a limitação de fósforo no solo facilita a obtenção do resultado.

Outros estudos têm demonstrado que as espécies diferem na sua capacidade em utilizar fósforo a partir das diferentes formas de fósforo no solo. Utilizando areia lavada e com adição de AlPO_4 e FePO_4 ou hidróxi-apatite, Wang et al (2010; 2011) mostraram que o algodão foi pouco eficiente a utilizar fósforo a partir de formas pouco solúveis. O trigo mostrou-se muito eficiente em mobilizar fósforo a partir de AlPO_4 e o tremoço-branco mostrou-se mais eficiente a mobilizar fósforo a partir de hidróxi-apatite. A maior eficiência do trigo em mobilizar fósforo a partir de AlPO_4 foi atribuída à maior extensão do seu sistema radicular.

Diversa investigação tem também estado focada em perceber os mecanismos de adaptação das plantas a ambientes com limitação severa em fósforo. O crescimento das plantas e a produtividade são fortemente penalizadas quando as plantas crescem em solos ácidos, em que a deficiência de fósforo e/ou a toxicidade de alumínio limitam o crescimento das plantas. As plantas desenvolveram numerosas estratégias adaptativas em resposta à deficiência em fósforo e à toxicidade de alumínio em solos ácidos. A exsudação de aniões orgânicos (citrato, malato, ...) que mobilizam formas de fósforo pouco solúveis e que quelatizam Al^{3+} tóxico na rizosfera foram identificados como mecanismos efetivos através dos quais as plantas lidam com deficiência de fósforo e toxicidade de alumínio (Uhde-Stone et al., 2003; Veneklaas et al., 2003; Chaney, 2007; Wang et al., 2007; Li et al., 2010). Em condições em que o fósforo é limitante, as raízes do tremoço-branco libertam também grandes quantidades de flavonoides, tendo também vindo a ser levantada a hipótese que os flavonoides ajudem a planta a lidar com a deficiência de fósforo, quer diretamente solubilizando o nutriente ou indiretamente

inibindo a mineralização do citrato pelos microrganismos da rizosfera (Tomasi et al., 2008).

O tremoço-branco desenvolveu outras adaptações elegantes para crescer em condições de solos deficientes em fósforo, designadamente uma grande proliferação radicular (raízes proteóides), resultando num grande aumento na superfície das raízes o que, por sua vez, aumenta as zonas de absorção de fósforo (Uhde-Stone et al., 2003; Schulze et al., 2006; Chaney, 2007).

O fornecimento de fósforo às raízes é muito aumentado por relações simbióticas entre as raízes das plantas e fungos micorrizicos. Os fungos micorrizicos infetam as raízes da maioria das plantas e tem uma função importante no favorecimento da absorção de nutrientes. Os fungos ectomicorrizicos infetam predominantemente espécies arbóreas enquanto os endomicorrizicos (vesicular-arbuscular micorrizas) infetam muitos outros grupos de plantas (Havlin et al., 2014). Por esta razão, frequentemente as espécies arbóreas não respondem aos fertilizantes fosfatados mesmo quando cultivados em solos que necessitariam de fósforo para as culturas anuais (Freeman e Carlson, 2005).

A gestão do fósforo é essencial para manter ou aumentar a produtividade das culturas, reduzindo o consumo de um recurso não renovável (as rochas fosfatadas) e reduzindo as perdas de fósforo para o meio ambiente. Muitos solos agrícolas têm vindo a ser enriquecidos com fósforo porque a aplicação via fertilizantes e estrumes é muito superior ao fósforo removido nas colheitas. Esta estratégia ameaça a disponibilidade de fósforo no futuro a partir das rochas fosfatadas e põe em causa a qualidade das águas superficiais devido às perdas por lixiviação e escoamento superficial (Middelkoop et al., 2016). Por outro lado, o retorno dos fertilizantes fosfatados é por vezes baixo em termos de ganhos de produtividade e lucro na medida em que o fósforo aplicado pode ser rapidamente imobilizado no solo, o que exige maiores aplicações para satisfazer as necessidades em fósforo (Shepherd et al., 2016).

Urge trabalhar a eficiência de uso do fósforo. Mesmo utilizando técnicas de melhoria da eficiência de uso em fósforo, durante uma única estação de crescimento, as plantas normalmente recuperam menos de 20% do fósforo aplicado (Havlin et al., 2014). O método de aplicação (a lanço ou localizado em linhas ou bandas) pode influenciar a eficiência de uso do fósforo, na medida em que o fósforo aplicado pode ser

fixado no solo em formas não disponíveis (Jones, 2012). Como é relativamente imóvel no solo, colocar fósforo próximo das raízes favorece a absorção radicular. Aplicar fósforo à superfície após uma cultura anual estar instalada, por exemplo, não coloca o fósforo próximo das raízes sendo de reduzido valor no ano da aplicação (Havlin et al., 2014). Localizar resulta em menor contacto do fertilizante com o solo ocorrendo menor fixação em comparação com aplicação a lanço (Havlin et al., 2014). Um momento crítico para aplicação de fósforo é na sementeira, logo que as reservas da semente se esgotam, o sistema radicular não tem ainda um sistema radicular suficientemente desenvolvido para absorver o fósforo necessário à planta (Chaney, 2007).

As medidas de controlo da erosão e escorrimento superficial concorrem para reduzir perdas e aumentar a eficiência de uso do fósforo. As estratégias de não mobilização e utilização de coberturas vegetais podem ser bastante eficazes (Werner, 2007). Reduzir a aplicação de fertilizantes minerais e gerir os resíduos das culturas e reciclar os recursos orgânicos da exploração sem que estes sejam usados em excesso, bem como evitar aplicações superficiais em períodos de elevada precipitação são medidas importantes (McDowell, et al., 2016). Outras medidas mais substantivas deveriam implicar a alteração da dieta das populações. De acordo com estimativas apresentadas por Li et al. (2010), uma dieta baseada em carne pode requerer 11,8 kg de rocha fosfatada por pessoa e ano, enquanto uma dieta vegetariana necessitaria apenas de 4,2 kg.

2.2.5. Resposta da oliveira à aplicação de fósforo

O fósforo parece ser um elemento importante na fertilização das culturas anuais. Contudo, a grande diversidade de estudos que demonstram resposta das culturas anuais à aplicação de fósforo contrasta com a reduzida informação disponível para espécies perenes arbóreas. Parece que nas culturas perenes e lenhosas a importância do fósforo se reduz.

No caso da oliveira, não há estudos que evidenciem de forma clara uma resposta da árvore à aplicação de fósforo. Os livros de texto mais recentes acentuam de uma maneira geral a falta de resposta da oliveira ao fósforo (Freeman e Carlson 2005; Connell e Vossen, 2007; Gregoriou e El-Khoby, 2010; Fernández-Escobar, 2017). A falta de resposta ao fósforo por parte da oliveira pode dever-se à reduzida exportação de

fósforo no fruto, que pode representar apenas 0,7 kg kg⁻¹ de azeitona (Fernández-Escobar, 2017), ou por se tratar de plantas que provavelmente beneficiam de associações micorrízicas que favorecem a absorção de fósforo mesmo em solos pobres em fósforo (Freeman e Carlson, 2005; Gregoriou e El-Kholy, 2010). As árvores de uma maneira geral poderão defender-se melhor da falta de fósforo devido à maior extensão do sistema radicular (Freeman et al., 2005). Contudo, apesar da falta de resposta provável é possível admitir que as árvores cultivadas em solos muito pobres possam atingir níveis de nutrientes nas folhas suficientemente baixos que possam responder à aplicação de fósforo (Fernández-Escobar, 2017).

O intervalo de suficiência para a concentração de fósforo nas folhas é normalmente considerado entre 1 a 3 % (Freeman e Carlson, 2005; LQARS, 2006; Connell e Vossen, 2007; Gregoriou e El-Kholy, 2010; Bryson et al., 2014; Fernández-Escobar, 2017), sendo que se considera o valor 0,05 % como o nível deficiente (Gregoriou e El-Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Therios (2009) admite um intervalo mais apertado para a concentração ótima de fósforo nas folhas, designadamente de 0,09 a 0,11 %.

Na oliveira têm sido considerados dois períodos distintos para amostragem de folhas para análise elementar. O período de Inverno, coincidindo com o repouso vegetativo, caracterizado por concentrações mais estáveis dos macronutrientes nas folhas, incluindo o fósforo, tem sido adotado como o mais adequado para amostragem por alguns investigadores (Bouat, 1987; Therios, 2009). Outros, contudo, elegem o Verão, ao endurecimento do caroço (julho por referência), numa época de elevada atividade biológica da árvore, como o momento adequado para amostragem (Freeman e Carlson, 2005; Connell e Vossen, 2007; Gregoriou e El-Kholy, 2010; Bryson et al., 2014; Fernández-Escobar, 2017). Outros admitem como aceitável amostrar nas duas épocas referidas (LQARS, 2006).

A unanimidade de opiniões e observações dos autores sobre a falta de resposta da oliveira à aplicação de fósforo, ficando normalmente apenas reservas para situações em que os níveis de fósforo nas folhas desçam abaixo do limite inferior do intervalo de suficiência, transmite a ideia de que deve ser aplicado pouco fósforo em olival. Contudo, Gregoriou e El-Kholy (2010) reviram os programas oficiais de recomendação de fósforo para vários países do Oeste da Ásia e Norte de África mostrando-se estes, de uma maneira geral, generosos nas recomendações de fósforo. Exemplificando com o

caso da Síria, para árvores adultas (> 12 anos) em sequeiro recomendam-se 110 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de superfosfato 46% (P₂O₅) e em regadio 220 kg ha⁻¹ ano⁻¹ do mesmo fertilizante. As recomendações para os outros países apresentam valores da mesma ordem de grandeza. No caso de Portugal, as normas do laboratório oficial (LQARS, 2006) recomendam aplicar fósforo à instalação em solos classificados pela análise de terras (método Egner-Riehm) como muito pobres, pobres e médios em fósforo, respetivamente nas quantidades de 200, 150 e 100 kg (P₂O₅) ha⁻¹. Em olivais em plena produção, para produções superiores a 8 t ha⁻¹ e estados nutricionais adequados determinados por análise foliar, recomenda-se a aplicação de 40 ao 60 kg (P₂O₅) ha⁻¹ ano⁻¹.

Nesta perspetiva, parece haver alguma irracionalidade no uso dos fertilizantes fosfatados em olival. Fernández-Escobar (2017) atribui o uso eventualmente excessivo de fertilizantes em olival ao facto de os custos com a adubação representarem apenas 5 a 10 % dos custos produção. No caso do fósforo, parece haver evidência para outras culturas de que os métodos de análise de terras subestimam a disponibilidade do nutriente no solo levando a aplicações desnecessariamente elevadas do nutriente (Arrobas et al., 2018).

2.3. Potássio

O potássio é um dos 10 elementos mais abundantes na crosta terrestre. Quantidades elevadas de potássio ocorrem em depósitos salinos, sobretudo formados pela evaporação da água do mar. A composição destes sais é diversa, sobretudo devida a transformações secundárias nos depósitos de minerais originais. São atualmente conhecidos mais de 40 minerais salinos, os quais contêm em concentrações variadas cátions como Na^+ , K^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+} e aniões como Cl^- , SO_4^{2-} e BO_3^{3-} (Schultz, 2007). Os depósitos de sais de potássio normalmente consistem numa combinação de diversos minerais. O potencial de matéria-prima extraível em depósitos de potássio é tão grande que o fornecimento de potássio como fertilizante está assegurado por centenas de anos (Schultz, 2007).

O potássio é o cátion mais importante para as plantas do ponto de vista quantitativo, sendo normalmente absorvido em quantidades superiores a qualquer outro nutriente exceto o azoto. O potássio não integra estruturas orgânicas. Sendo o cátion mais abundante na planta determina em grande medida o potencial osmótico dos tecidos e neutraliza os aniões (Varenes, 2003).

A quantidade total de potássio no solo varia entre 0,05 e 3%, sendo mas baixo em solos arenosos formados a partir de arenitos ou quartzo e mais elevado em solos de texturas finas formados por material originário rico em potássio, como feldspatos e micas. Apesar dos conteúdos totais em potássio no solo poder exceder as necessidades das plantas durante uma estação de crescimento, apenas uma pequena fração está disponível para absorção. Solos muito meteorizados são muito lixiviados e frequentemente apresentam teores baixos de potássio. Em solos tropicais, o potássio total nos solos é normalmente baixo devido a precipitação e temperatura elevadas pelo que deficiências em potássio rapidamente ocorrem após um processo de cultivo de alguns anos. Pelo contrário, solos moderadamente meteorizados têm elevadas quantidades de potássio (Havlin et al., 2014).

Assim, neste ponto faz-se uma revisão sumária do potássio nas plantas e nos solos e uma referência mais detalhada a estudos de potássio em olival.

2.3.1. Potássio nas plantas

O potássio é o quinto elemento mais abundante na matéria seca das partes verdes das plantas, depois de carbono, oxigênio, hidrogênio e azoto e o mais abundante entre cátions metálicos. Apesar de não integrar estruturas orgânicas, o potássio exerce inúmeros papéis relevantes em aspectos diversos do metabolismo das plantas.

2.3.1.1. Absorção e transporte

O potássio é absorvido pelas raízes das plantas como cátion livre (K^+) e em quantidades maiores que qualquer outro nutriente com exceção do azoto. Em picos de crescimento ativo, as plantas podem necessitar de potássio em quantidades da ordem dos 3,4 a 4,5 kg ha⁻¹ dia⁻¹ (Bryson et al., 2014). A absorção consiste no transporte de nutrientes através da plasmalema, que é a grande barreira à difusão dos íons. O potássio pode entrar nas células por um processo passivo ou de reduzida afinidade para o potássio através de um gradiente eletroquímico ou por um processo ativo de elevada afinidade para o potássio, que envolve transportadores de potássio contra um gradiente eletroquímico (com saída de H^+ ou Na^+) e com consumo de energia (Pettigrew, 2008; Wakeel, 2013; Nieves-Cordones et al., 2014). Para elevada disponibilidade de potássio no solo domina o transporte passivo, para disponibilidade moderada provavelmente atuam os dois mecanismos, enquanto para situações de reduzida disponibilidade de potássio o único sistema de absorção de potássio é o transporte ativo de elevada afinidade (Wakeel, 2013; Nieves-Cordones et al., 2014). Assim, a absorção de potássio pode ser altamente seletiva e com estreita relação com a atividade metabólica uma vez que necessita da atividade de uma enzima (ATPase) localizada na membrana plasmática que separa a molécula da água em OH^- e H^+ , sendo que o anião permanece no citosol e o cátion é extrusado para o exterior, criando o potencial eletroquímico necessário à absorção de potássio (Scherer e Mengel, 2007; Hawkesford et al., 2012).

Os íons absorvidos pelas células do córtex da raiz são translocados no simplasto em direção ao cilindro central onde são secretados nos vasos xilémicos. No xilema os íons são transportados para a parte aérea das plantas na corrente transpiratória (Scherer e Mengel, 2007). O potássio, tal como azoto, fósforo e magnésio, pode também ser transportado contra a corrente transpiratória através do floema, podendo deslocar-se da

parte aérea à raiz ou das folhas maduras para os tecidos em crescimento (Scherer e Mengel, 2007). O potássio é caracterizado por elevada mobilidade nas plantas a todos os níveis, dentro da célula individual, entre tecidos e também a longa distância via xilema e floema (Hawkesford et al., 2012; Oosterhuis et al., 2014).

2.3.1.2. Funções do potássio nas plantas

Ao contrário de muitos outros nutrientes essenciais, o potássio não integra estruturas orgânicas nas plantas. O potássio existe em solução ou ligado de forma facilmente reversível a cargas negativas na superfície dos tecidos, sendo este aspecto que determina grandemente as suas funções na planta (Hawkesford et al., 2012). No citosol e cloroplastos a concentração de potássio é normalmente mantida entre 100 a 200 mM, sendo que nestes compartimentos o potássio exerce funções metabólicas que não podem ser substituídas por outros elementos como o Na^+ . Pelo contrário, a concentração de potássio nos vacúolos pode variar de 10 a 200 mM, ou mesmo atingir mais de 500 mM como nas células guarda dos estomas (Hawkesford et al., 2012). Enquanto no citosol e cloroplastos, onde o potássio exerce funções específicas, a sua concentração não varia significativamente, nos vacúolos, onde exerce funções que podem ser substituídas por outros cátions, a concentração em potássio está muito dependente do fornecimento do nutriente (Zörb et al., 2014). A concentração de potássio nos vacúolos está relacionada com a extensão celular e outros processos associados à turgescência ou turgor das células (Wakeel, 2013; Shabala e Pottosin, 2014; Zörb et al., 2014). No apoplasto a concentração de potássio tende a ser baixa ao contrário de outros cátions como o cálcio (Hawkesford et al., 2012).

A fotossíntese é fortemente inibida em plantas deficientes em potássio. O potássio afeta a fotossíntese de formas diversas, desde o seu papel na síntese de ATP em que o potássio é o counter-íon dominante na indução do fluxo de H^+ pela luz ao longo das membranas dos tilacoides e no estabelecimento de gradientes de pH necessário à síntese de ATP nas mitocôndrias (Pettigrew, 2008; Hawkesford et al., 2012). O potássio é também importante na ativação de enzimas específicas como RuBP carboxilase (Hawkesford et al., 2012; Havlin et al., 2014) e na regulação estomática e entrada de CO_2 nas células (Pettigrew, 2008; Hawkesford et al., 2012; Havlin et al., 2014). A elevada respiração é também um efeito típico de deficiência de potássio, que pode

aumentar o consumo de açúcares e reduzir o crescimento das plantas (Hawkesford et al., 2012; Havlin et al., 2014).

A ativação de enzimas é também um dos papéis relevantes do potássio nas células. A concentração de potássio no citoplasma é muito mais elevada que qualquer outra espécie iônica. É provavelmente esta elevada concentração de potássio no citoplasma que influencia a conformação de várias proteínas enzimáticas, sendo esta modificação conformacional que aumenta a taxa de reação catalítica ou a afinidade para o substrato (Scherer e Mengel, 2007; Hawkesford et al., 2012). A atividade de diversas enzimas importantes é completamente dependente ou estimulada pelo potássio e podem estar ligadas à fotossíntese, síntese de amido, síntese proteica e respiração (Pettigrew, 2008; Hawkesford et al., 2012; Havlin et al., 2014). Quando o potássio é deficiente, aumenta a atividade de certas hidrólases ou oxidases que podem levar ao aumento de hidratos de carbono solúveis, em particular açúcares redutores e compostos azotados, normalmente por dificuldades da exportação desses produtos, e redução da atividade em pontos *sink* importantes das plantas, como ápices vegetativos e órgãos reprodutivos, levando à redução do crescimento das plantas e produtividade (Pettigrew, 2008; Hawkesford et al., 2012; Bryson et al., 2014).

O potássio é importante na regulação da pressão osmótica dos fluidos. A extensão celular envolve a formação de um grande vacúolo central onde a acumulação de potássio leva ao aumento do potencial osmótico do vacúolo sendo este um pré-requisito para a extensão celular. A deficiência em potássio reduz o turgor, o tamanho da célula e a área foliar em folhas em crescimento (Hawkesford et al., 2012). Na maioria das plantas, potássio associado a um anião tem o maior papel na mudança de turgor nas células guarda durante os movimentos estomáticos. O aumento de potássio nas células guarda aumenta a sua pressão osmótica resultando na absorção de água das células adjacentes o que origina a abertura dos estomas (Scherer e Mengel, 2007; Hawkesford et al., 2012; Havlin et al., 2014; Oosterhuis et al., 2014; Shabala e Pottosin, 2014). Também os movimentos fotonásticos, como a abertura e fecho de flores nos períodos diurnos e noturnos, e desmonásticos, nas plantas carnívoras, são devidos à redistribuição de potássio e alguns aniões (cloro, malato) que originam a alteração do volume das células dos tecidos motores (Hawkesford et al., 2012).

Os produtos da fotossíntese são translocados pelo floema para folhas, frutos, sementes, raízes e tubérculos onde são armazenados e/ou usados para o crescimento. O

K^+ pode ser translocado da parte aérea para a raiz pelo floema e regressar pelo xilema quando há, na parte aérea, potássio em quantidades excessivas ou quando há deficiência na absorção (Zörb et al., 2014). O potássio está relacionado com a criação de potencial osmótico que garante o transporte dos fotoassimilados e a síntese de ATP na fotossíntese e respiração, cuja energia é necessária ao processo, e para contrabalançar os aniões no floema (Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014; Zörb et al., 2014). O potássio está também ligado ao transporte dos nitratos no xilema até aos vacúolos. Posteriormente, à medida que os nitratos são utilizados pela planta ocorre a síntese de ácidos orgânicos para o equilíbrio de carga. Estes são por sua vez transportados com o potássio para a raiz no processo de recirculação do potássio na planta (Hawkesford et al., 2012; Zörb et al., 2014).

O potássio parece exercer efeito positivo na produção em condições adversas, induzindo maior resistência das plantas a stresse abióticos e bióticos, devido a inúmeros papéis do potássio nas plantas. Plantas adequadamente providas de potássio parecem ser capazes de manter melhor a atividade fotossintética em ambiente de stresse hídrico, provavelmente devido à melhor regulação da função estomática e relações hídricas das células com melhores taxas de assimilação de CO_2 , bem como a manutenção de valores de pH no estroma dos cloroplastos (Oosterhuis et al., 2014; Shabala e Pottosin, 2014; Zörb et al., 2014). Plantas bem providas em potássio parecem lidar melhor com muitos outros stresses, designadamente térmicos, salinos e de encharcamento (Oosterhuis et al., 2014; Shabala e Pottosin, 2014; Zörb et al., 2014). Níveis elevados de potássio nas plantas promovem a síntese de compostos orgânicos de elevado peso molecular, como proteínas, amido e celulose, enquanto se reduz a produção de açúcares solúveis, ácidos orgânicos e amidas, compostos importantes na alimentação de patogénicos e insetos (Oosterhuis et al., 2014). A formação destes compostos orgânicos de elevado peso molecular confere também rigidez à estrutura das plantas, incluindo folhas, caules e frutos. Em situação de deficiência de potássio as paredes celulares enfraquecem e as plantas acamam, encurvam e/ou partem e os frutos ficam menos consistentes e de menor qualidade e poder de conservação (Hawkesford et al., 2012; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014).

2.3.1.3. Deficiência e excesso de potássio nas plantas

A deficiência de potássio afeta negativamente a produção e a qualidade dos frutos antes de se manifestarem sintomas visíveis de deficiência. Esta carência dissimulada é particularmente crítica em estados fenológicos avançados, como o enchimento do grão e o engrossamento de frutos, tubérculos e raízes (Bryson et al., 2014). O potássio encontra-se nos tecidos vegetais em concentrações entre 1 a 5% expressos na matéria seca. O intervalo de concentrações críticas das folhas maduras de diversas espécies encontra-se entre 1,5 a 4% (Jones, 2012; Bryson et al., 2014). Os níveis mais elevados de potássio são encontrados em folhas jovens, pecíolos e caules, podendo atingir 80 g kg⁻¹ (Jones, 2012; Bryson et al., 2014). Em espécies natrófilas as concentrações de potássio podem ser menores devido à elevada presença de sódio e à substituição de potássio por sódio em algumas funções nas plantas (Hwkesford et al., 2012).

Quando o potássio é deficiente o crescimento é retardado. As plantas que sofrem de deficiência mostram uma redução da turgidez e as paredes celulares ficam mais finas. As plantas acamam com facilidade, ficam mais sensíveis a doenças e a produção perde qualidade (Jones, 2012). Em batata, por exemplo, quando submetida a elevada disponibilidade de azoto e baixa de potássio, podem, após fritura, acumular-se quantidades substanciais de acrilamida com poder carcinogénico, devido ao elevado conteúdo em açúcares reduzidos e aminoácidos livres (Gerendás et al., 2007; Zörb et al., 2014). Em tecidos deficientes em potássio podem também acumulam-se aniões tóxicos como putrescina e agmatina. As folhas desenvolvem clorose que evolui para necrose nos bordos e aspeto queimado, um sintoma típico da deficiência em potássio (Scherer e Mengel, 2007). Dada a mobilidade de potássio nos tecidos os sintomas tendem a começar pelas folhas mais velhas (Scherer e Mengel, 2007; Bryson et al., 2014).

Quando o fornecimento de potássio é abundante ocorre consumo de luxo, i.e., o potássio é absorvido acima das necessidades metabólicas imediatas das plantas (Jones, 2012; Bryson et al., 2014). Esta acumulação de potássio normalmente não implica redução da produção, apenas representa um aumento de custo de produção porque deve-se invariavelmente a um excesso de fertilizante (Bryson et al., 2014). Consumo de luxo é considerada uma estratégia de segurança da planta para períodos de escassez devido a um stresse ambiental súbito (Zörb et al., 2014). Contudo, em algumas situações, excesso de potássio nas plantas pode ter papel negativo na qualidade. Os cachos de uva, por

exemplo, acumulam quantidades elevadas de potássio (Arrobas et al., 2014). Estes níveis excessivos de potássio podem ter um impacto negativo na qualidade do vinho, sobretudo porque decresce o ácido tartárico resultando num aumento do pH do mosto e dos vinhos (Mpelasoka et al., 2003; Zörb et al., 2014). Por outro lado, quantidades elevadas de potássio nos tecidos podem induzir deficiência de magnésio e eventualmente cálcio em situações de grande desequilíbrio nutricional (Varenes, 2003; Jones, 2012; Havlin et al., 2014).

2.3.2. Potássio no solo

O potássio é um elemento abundante na crosta terrestre. Muitos silicatos de ampla distribuição geográfica contêm potássio, em particular feldspatos e micas. A meteorização destes minerais produz potássio que pode ficar retido a ligar as camadas dos minerais de argila, adsorvido no complexo coloidal do solo ou passar à solução do solo de onde pode ser utilizado pelas plantas. De uma maneira geral a quantidade total de potássio de um solo não é um indicador seguro da disponibilidade de potássio para as plantas. Esta depende em grande medida da dinâmica do potássio no solo. Neste ponto faz-se um breve resumo das formas de potássio no solo e dos fatores que determinam a sua disponibilidade para as plantas.

2.3.2.1. Formas de potássio no solo

O potássio encontra-se no solo como soluto em solução, adsorvido às superfícies dos coloides, retido na malha dos minerais de argila e como elemento estrutural de minerais primários. O potássio total no solo pode variar de 1 a 5,6 t ha⁻¹. Contudo, apenas 0,1 a 0,2% se encontra solúvel e está disponível para as plantas em dado momento (Jones, 2012; Bryson et al., 2014; Zörb et al., 2014).

As plantas absorvem potássio a partir da solução do solo. A concentração de potássio na solução do solo para um crescimento adequado das plantas varia de 1 a 10 ppm dependendo da cultura e do nível de produtividade. Os valores mais elevados são encontrados nas regiões áridas e em solos salinos (Havlin et al., 2014).

Algum potássio está também adsorvido às cargas negativas das superfícies dos coloides por atração electrostática, normalmente designado de potássio de troca.

Durante a estação de crescimento o potássio da solução é tamponado por potássio de troca. A relação entre potássio de troca (fator quantidade, Q) e potássio da solução (fator intensidade, I) é usado para quantificar o poder tampão do solo. A relação Q:I mede a capacidade do solo em manter a concentração de potássio na solução e será proporcional à capacidade de troca catiónica (CTC) do solo (Havlin et al., 2014). Em geral, a relação potássio de troca e potássio em solução é uma boa medida da disponibilidade de potássio para as plantas. Uma elevada razão Q:I significa bom poder tampão enquanto uma baixa relação Q:I sugere necessidade de fertilização. De uma maneira geral, solos arenosos e solos dominados por minerais de argila 1:1 (caulinite) têm baixo poder tampão, enquanto solos dominados por argilas do tipo 2:1 (montmorilonites, vermiculites) têm maior poder tampão (Havlin et al., 2014; Zörb et al., 2014).

O potássio também pode ser fixado entre as camadas dos minerais de argila 2:1 onde compensa as cargas negativas resultantes das substituições isomórficas entre Si^{4+} e Al^{3+} . O termo fixado sugere que o potássio não está em posição de troca e logo menos disponível para as plantas (Bryson et al., 2014). Pelo geral, quanto maior o teor de argilas 2:1 maior é a capacidade de fixação do solo. Os minerais de argila 1:1 (caulinite) não fixam ou fixam pouco potássio (Varenes, 2003; Bryson et al., 2014). A importância destes mecanismos para a nutrição das plantas é complexa. Se por um lado, muito K aplicado como fertilizante pode ser fixado e ficar temporariamente indisponível para as plantas, por outro este mecanismo pode proteger o potássio da lixiviação (Bryson et al., 2014). Devido à fixação de potássio, em solos argilosos a lixiviação é praticamente nula. Sabe-se também que a fixação após a aplicação de potássio como fertilizante é bastante rápida enquanto a libertação posterior é bastante lenta (Zörb et al., 2014). Ainda assim, estima-se que em solos argilosos mais de 75% do potássio que uma planta obtém durante a estação de crescimento provenha de potássio fixado que vai sendo gradualmente libertado (Bryson et al., 2014). Um problema adicional é o facto dos métodos de rotina usados nos laboratórios de análises de terra não fornecerem informação sobre a disponibilidade do potássio fixado para as plantas (Zörb et al., 2014).

A maior quantidade de potássio de um solo encontra-se na estrutura cristalina de minerais naturalmente ricos em potássio, só sendo libertado pela dissolução do mineral. Os feldspatos alcalinos e as micas são a maior reserva de potássio da maioria dos solos

em que estes minerais se encontram moderadamente meteorizados (Wakeel, 2013). Nas regiões húmidas tropicais, os solos estão fortemente meteorizados e desprovidos destes minerais sendo reduzidas as reservas de potássio (Havlin et al., 2014).

A quantidade de potássio no solo por ordem decrescente de disponibilidade para as plantas varia de 5000 a 25000 ppm nos minerais, 50 a 750 ppm fixado nos minerais de argila, 40 a 600 ppm adsorvido no complexo de troca e 1 a 10 ppm em solução (Havlin et al., 2014). Os minerais primários libertam potássio para os minerais secundários (argilas 2:1), que libertam e recebem potássio para e das posições de troca, que fornecem e recebem potássio para e da solução. A partir da solução, o potássio pode ser absorvido pelas plantas ou lixiviado (Wakeel, 2013; Havlin et al., 2014).

O potássio move-se no solo sobretudo por difusão, desde a superfície dos coloides através da solução até às raízes das plantas. A contribuição relativa do fluxo de massa, devido à transpiração pelas plantas, depende do fator intensidade e pode representar ~10 % das necessidades das plantas. A difusão é, contudo, um processo lento pelo que a localização do fertilizante pode ser um aspeto importante na aplicação de potássio às plantas (Havlin et al., 2014).

Na maioria dos solos a perda de potássio por lixiviação é reduzida, exceto em solos arenosos ou orgânicos de regiões húmidas. Nos trópicos húmidos, a lixiviação é um fator que limita a produtividade. Sob vegetação natural a lixiviação é também baixa. Em condições de elevada pressão de lixiviação, o potássio deve ser aplicado de forma fracionada e próximo dos períodos de elevada absorção (Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014).

2.3.2.2. Fatores que afetam a disponibilidade de potássio

Quanto maior a proporção de minerais de argila do tipo 2:1 maior o potencial do solo em fornecer potássio às plantas. Os solos de textura argilosa com maior CTC podem conter mais potássio fixado e de troca. O potássio de troca está altamente relacionado com a disponibilidade de potássio para as plantas. O potássio fixado está menos disponível, sendo a libertação mais lenta podendo dificultar a absorção pelas plantas. Pelo contrário, solos muito meteorizados, que contenham argilas cauliníticas, ou solos arenosos de reduzido conteúdo em argila, têm normalmente menor disponibilidade de potássio para as plantas (Havlin et al., 2014).

Quando a humidade do solo se reduz as lâminas de água em volta das partículas de solo são finas e descontínuas, resultando em trajetos mais tortuosos para a difusão dos iões para as raízes dificultando a absorção pelas plantas. Por outro lado, as plantas que sofrem de stresse hídrico podem ter maior necessidade em potássio, relacionado com o papel de potássio na fotossíntese e na abertura estomática. Sob stresse hídrico, formam-se espécies reativas de oxigénio (O_2), peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e radicais hidroxilo (OH^\cdot), que danificam os cloroplastos (Havlin et al., 2014).

A temperatura também tem um papel relevante na difusão do potássio e no crescimento das raízes. Sob temperaturas baixas a absorção de potássio é dificultada, podendo haver benefício em aumentar o fornecimento de potássio ao solo via fertilizantes, ou localizá-lo em bandas. Estes aspetos são frequentemente relevantes em sementeiras precoces (Bryson et al., 2014).

O funcionamento normal das raízes depende de um fornecimento regular de O_2 já que o potássio também é absorvido por um sistema ATPase ativo que requer energia da respiração (Bryson et al., 2014). Em humidade elevada ou solos compactados, o crescimento das raízes é restringido. O fornecimento de O_2 é reduzido e a absorção de potássio diminuído. A ação inibitória na absorção de nutrientes em solos mal arejados é particularmente pronunciada no caso do potássio (Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014).

A atividade radicular das plantas e os microrganismos do solo podem influenciar a presença de potássio na solução do solo. As plantas diferem na sua capacidade em utilizar potássio das frações menos disponíveis. Sabe-se, por exemplo, que beterraba-sacarina (*Beta vulgaris*) e azevém (*Lolium* sp.) são mais eficientes que trigo (*Triticum aestivum*) e cevada (*Hordeum vulgare*) a mobilizar potássio. Estes aspetos poderão ter particular importância em solos com elevada capacidade de fixar potássio. As diferenças entre espécies são devidas a aspetos morfológicos do sistema radicular (densidade, comprimento dos pelos, ...) mas também à libertação de exsudados radiculares que mobilizam potássio (Zörb et al., 2014). Alguns microrganismos do solo parecem ter a capacidade de mobilizar potássio a partir de minerais primários através da libertação de ácidos orgânicos. Estes ácidos orgânicos podem diretamente dissolver o mineral ou quelatar iões silício promovendo a saída de potássio para a solução. Sabe-se, contudo, ainda muito pouco sobre a importância que estes mecanismos podem ter em campo (Zörb et al., 2014).

2.3.2.3. Interação entre nutrientes

O potássio é absorvido como catião potássio (K^+). Tendo carga positiva interage com outros catiões (NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) em relação à sua absorção e acumulação nos tecidos das plantas. Assim, devido a estas interações é necessário considerar a concentração destes catiões nos tecidos das plantas e as quantidades disponíveis no meio (Bryson et al., 2014).

A concentração de potássio, cálcio e magnésio nos tecidos das plantas é influenciada pelos níveis dos iões antagonistas. O potássio parece ser o mais reativo dos três, exercendo um efeito depressivo no cálcio e magnésio maior que estes exercem sobre o potássio. Em algumas plantas o magnésio tem um efeito depressivo maior no conteúdo em potássio que o cálcio. Há, contudo, também um forte antagonismo entre potássio e cálcio uma vez que concentrações elevadas destes nutrientes raramente existem nas plantas. A razão $K:(Ca+Mg)$ e a soma $K+Ca+Mg$ expressa em equivalentes tende a ser mais ou menos constante em situações nutricionais normais. A disponibilidade diferenciada em elevada extensão destes nutrientes pode alterar os equilíbrios a ponto de afetar o crescimento (Bryson et al., 2014).

A concentração de potássio, cálcio e magnésio nos tecidos das plantas está dependente em alguma medida da saturação relativa destes catiões no complexo de troca. Admitem-se valores ideais a variar entre 65-75% para cálcio, 10-15% para magnésio e 2,5-7,0% para o potássio, sendo que quando se tenta colocar o complexo de troca dentro deste equilíbrio se conseguem obter ganhos de produtividade (Bryson et al., 2014).

Os níveis de potássio e azoto tendem também a estar relacionados na maioria das plantas. Pelo geral, azoto abundante aumenta a suscetibilidade a doenças, enquanto o aumento de potássio a reduz. O azoto promove o crescimento rápido e reduz a firmeza dos tecidos enquanto o potássio a promove. Azoto e potássio não só estão presentes em quantidades similares como a resposta a um dos nutrientes depende do nível do outro nos tecidos. A forma de azoto disponível também determina a acumulação de potássio. O aumento dos níveis de NO_3^- no solo tende a aumentar a absorção de potássio, acontecendo o inverso quando os níveis de NH_4^+ no solo aumentam (Bryson et al., 2014). O potássio, por sua vez, também interfere com a absorção de azoto. A absorção de NO_3^- é estimulada pelo potássio. Por outro lado, existe também evidência sólida de

que um fornecimento adequado de potássio aumenta a tolerância das plantas a concentrações elevadas de NH_4^+ (Bryson et al., 2014; Zörb et al., 2014). O efeito deve-se supostamente a competição na absorção e ao facto do potássio estimular a atividade das enzimas envolvidas na assimilação de NH_4^+ (glutamina-sintetase e fosfoenolpiruvato carboxilase) (Zörb et al., 2014).

O sódio pode substituir o potássio em diversas funções na planta. Contudo, o sódio não é um elemento essencial. O sódio pode substituir parcialmente o potássio mas não induz aumentos de qualidade e plantas saudáveis como o potássio. Em algumas plantas como a beterraba-sacarina, espinafre e nabiça a substituição pode ser substancial e em outras reduzida ou inexistente, como na cevada, milho ou algodão (Bryson et al., 2014). Por outro lado, devido a propriedades físico-químicas similares, o sódio compete com o potássio na absorção não só pelos canais catiónicos não seletivos mas também pelos transportadores de elevada afinidade para o potássio (Wakeel, 2013). Por sua vez, o potássio pode também ser aplicado como fertilizante para reduzir a absorção de sódio (Wakeel, 2013).

2.3.3. Resposta das plantas à aplicação de potássio

Em diversas regiões do globo a disponibilidade de potássio no solo é naturalmente baixa, sendo necessário suplementar com potássio para aumentar a produtividade das culturas. Estudos de resposta ao potássio com efeito positivo na produtividade e/ou na qualidade das produções são relativamente abundantes e distribuem-se um pouco por todo o mundo (Nielsen et al., 2004; Pettigrew, 2008; Tan et al., 2012; Oosterhuis et al., 2014; Qiu et al., 2014; Zhao et al., 2014). A utilidade do uso de potássio na agricultura raramente tem sido questionada. Contudo, Khan et al. (2013) supostamente baseados em 2100 experiências de resposta ao potássio procuraram demonstrar que as plantas raramente respondem ao potássio. Por outro lado, referem a existência de 1400 estudos que demonstram perda de qualidade das produções agrícolas pela aplicação de potássio, em alguns casos com riscos para a saúde humana. Contudo, à luz da informação disponível o uso de potássio na agricultura não poderá ser questionado, embora se possa questionar a utilidade de uso do potássio em condicionalismos particulares. De seguida vai fazer-se uma revisão um pouco mais exhaustiva da utilização do potássio em olival.

2.3.4. Resposta da oliveira à aplicação de potássio

O potássio é o elemento mais exportado em olival, representando valores da ordem de cerca de 4,5 (Fernández-Escobar, 2017) a 5,5 (Rodrigues et al., 2012) kg por tonelada de azeitona. Na colheita podem encontrar-se nos frutos valores da ordem de 40 % (Rodrigues et al., 2012) a 60 % (Gregoriou e El-Kholy, 2010) do potássio total da biomassa aérea. Estes valores são completamente distintos do que acontece em outras culturas, como os cereais, em que a palha pode conter mais de 70% do potássio na planta (Zörb et al., 2014) ficando este potássio no solo com possibilidades de ser utilizado na estação de crescimento seguinte.

Os estudos de resposta ao potássio em oliveira não são abundantes. Alguns estudos confirmam uma resposta ténue na produção mas são experiências pouco consolidadas e de curta duração. Jasrotia et al. (1999) reportam um aumento marginal de produção pela aplicação de potássio num ensaio que decorreu na Índia durante um ano em árvores de 15 anos de idade e num solo franco-arenoso. Centeno e Campo (2011) reportam resultados de um estudo de aplicação de potássio por via foliar que decorreu em Espanha e envolveu duas cultivares (‘Picual’ e ‘Arbequina’) num ensaio de dois anos (2007 e 2008), o primeiro em sequeiro e o segundo em regadio. Os autores registaram um aumento de produção em 2008 apenas em ‘Arbequina’. Erel et al. (2013b), a partir de um ensaio que decorreu em Israel em vasos com perlite como substrato (a perlite é um substrato praticamente inerte), verificaram que só uma deficiência severa e prolongada de potássio reduziu a intensidade da floração e a produtividade.

A literatura que mostra aumento da concentração de potássio nos tecidos vegetais (folhas, frutos) pela aplicação de potássio como fertilizante ao solo ou por via foliar é mais abundante (Restrepo-Diaz et al., 2008; 2009; Morales-Sillero et al., 2009; Saykhul et al., 2014). Estudos de efeito da aplicação de potássio no conteúdo e qualidade do azeite são raros e com resultados de fraca relação entre as variáveis (Jasrotia et al., 1999; Dag et al., 2009). Rosati et al. (2015), por exemplo, registaram um efeito positivo no peso dos frutos e teor de gordura pela aplicação conjugada de azoto e potássio o que torna impossível isolar o efeito do potássio.

O conteúdo de potássio nas folhas parece variar significativamente ao longo da estação de crescimento e em função do ciclo bienal da oliveira. A partir do Verão a

concentração nas folhas decresce provavelmente associada à translocação do elemento para os frutos (Sibbett e Ferguson, 2002; Bustan et al., 2013). Em anos de elevada safra a concentração de potássio nas folhas tende também a ser mais baixa (Sibbett e Ferguson, 2002; Bustan et al., 2013). Bustan et al. (2013), com base no balanço dos macronutrientes na totalidade da planta, calculado após a colheita, concluem que as reservas funcionais na planta em azoto e fósforo podem assegurar a produção do ano seguinte enquanto as de potássio não, estando a planta mais dependente da futura absorção deste elemento.

Bourbia et al. (2013) apresentam um estudo conduzido em solos considerados pouco férteis na Argélia em que relacionam potássio no solo, potássio na rizosfera e potássio foliar. A determinação de potássio no solo pelos métodos habituais de extração de potássio identificou sete campos em situação de deficiência num total de dezasseis. Aplicando os mesmos métodos de extração ao solo da rizosfera, só dois campos apresentaram uma situação de deficiência de potássio. A determinação do potássio foliar também só identificou dois campos com níveis abaixo da gama de concentrações adequadas. Os autores alertaram para o papel eventualmente importante da árvore no enriquecimento do solo da rizosfera em potássio e para a capacidade da oliveira em se desenvolver em solos pobres em potássio.

Contudo, o papel do potássio na fotossíntese via regulação da condutância estomática e abertura e fecho dos estomas está bem demonstrado em oliveira (Arquero et al., 2006). Assim, o problema da falta de potássio pode ser particularmente importante em condições de stresse hídrico. Nestas condições, as plantas podem ter dificuldades em absorver potássio, sobretudo devido às restrições à difusão do elemento no solo (Havlin et al., 2014), estando também demonstrado que o stresse hídrico dificulta a absorção do elemento por via foliar (Restrepo-Diaz et al., 2008).

Apesar da inexistência de estudos em quantidade suficiente que demonstrem de forma inequívoca resposta da oliveira à aplicação de potássio, os sintomas de deficiência estão bem estabelecidos. Os primeiros sintomas de carência de potássio começam por clorose nos ápices das folhas e progressiva descoloração até às partes basais. Quando a deficiência é severa a clorose evolui para necrose em particular nas folhas mais velhas que se estende posteriormente para as folhas mais jovens (Gregoriou e El-Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Freeman et al. (2005) descrevem que em ‘Manzanillo’ as árvores ficam retumbadas, com os ramos enfraquecidos, entrenós

curtos, folhas mais pequenas que as normais e cloróticas, sendo a clorose mais intensa nas folhas mais velhas. A deficiência é mais provável em olival de sequeiro em que a redução da humidade do solo limita a difusão do potássio na solução e dificulta a absorção pelas raízes (Fernández-Escobar, 2017). Outras situações que podem potenciar o surgimento de deficiência em potássio são solos arenosos com menos potássio naturalmente disponível, temperaturas baixas e a interação com outros cátions em particular cálcio e magnésio (Fernández-Escobar, 2017).

O intervalo de suficiência para o potássio nas folhas de oliveira varia segundo os autores. Em uma publicação da especialidade que inclui mais de 2000 plantas cultivadas, Bryson et al. (2014) estabelecem como intervalo de suficiência 0,9 a 1,2 % de potássio em folhas jovens maduras colhidas no Verão. Diversos outros investigadores aceitam como limite de deficiência 4 % de potássio e uma gama de concentrações adequadas para valores > 8 % de potássio (Freeman et al., 2005; Connell e Vossen, 2007; Gregoriou e El-Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Therios (2009) apresentam uma proposta mais arrojada definindo os intervalos críticos de deficiente (< 0,5 %), deficiência moderada (0,5-0,7 %), adequado (0,7-0,9 %), elevado (0,9 a 1,1) e excesso (> 1,1 %). Este autor defende ainda como datas mais adequadas para amostragem de folhas o repouso vegetativo, justificado por ser o período do ano em que as concentrações dos macronutrientes azoto, fósforo, potássio, cálcio e magnésio nas folhas são mais estáveis. LQARS (2006) apresenta normas de interpretação de resultados para o Verão e para o repouso vegetativo.

A aplicação de potássio ao solo deve ser localizada devido à reduzida mobilidade do elemento no solo, sobretudo em sequeiro, e à elevada capacidade do solo em fixar potássio, sobretudo os solos argilosos. Fernández-Escobar (2017) refere a possibilidade de o potássio ser injetado em solos argilosos. Connell e Vossen (2007) parecem levar a localização ao extremo propondo a colocação de um anel de fertilizante em redor da árvore ou enterrando-o de forma a reduzir a capacidade do solo em o fixar. Fernández-Escobar (2017) sugerem também a aplicação de potássio por via foliar com 2 a 4 aplicações entre abril e julho (no hemisfério norte) quando há folhas verdes ativas, como sendo especialmente vantajosa em sequeiro. Gregoriou e El-Kholy (2010) atribuem também elevada importância à adubação foliar e sugerem que se use nitrato de potássio, por ser o sal mais eficiente. Com fertirrega, Gregoriou e El-Kholy (2010)

sugerem uma distribuição do potássio ao longo do ciclo com a aplicação de 15% na Primavera, 35% no Verão e 50% no Outono próximo da maturação dos frutos.

Therios (2009) propõe que as recomendações de potássio tenham em conta o estado nutricional das árvores, o tipo de solo e o regime hídrico (sequeiro ou regadio). Gregoriou e El-Kholy (2010) fizeram o levantamento dos programas de fertilização oficiais para o olival em países da Ásia Ocidental e Norte de África, designadamente Síria, Marrocos, Chipre, Jordânia, Egito, Líbia, Iémen, Palestina, Tunísia, em função da idade do pomar e do regime hídrico. Para a Síria, por exemplo, são recomendadas em olival adulto (> 12 anos) 100 kg ha⁻¹ de sulfato de potássio (50% K₂O) em sequeiro e 200 kg ha⁻¹ em regadio, a par de azoto e fósforo, e 30 m³ ha⁻¹ de estrume. Em Portugal, o laboratório do estado (LQARS, 2006) recomenda 300, 225 e 150 kg K₂O ha⁻¹ à instalação do olival quando os níveis de potássio no solo sejam classificados como muito baixos, baixos e médios, respetivamente. Em olival adulto em produção são recomendadas até 120 kg K₂O ha⁻¹ para teores nas folhas na gama adequada. Como se vê, parecem grandes as discrepâncias entre a informação disponível a partir de trabalhos de resposta da oliveira à aplicação de potássio e aquilo que é a prática generalizada de recomendação em diversos países.

2.4. Boro

O boro é um elemento essencial às plantas, estando incluído no grupo dos micronutrientes por ser necessário em quantidades relativamente pequenas. A essencialidade do boro está demonstrada desde 1923 e pensa-se que terá tido um papel importante na evolução das plantas vasculares devido às suas funções ligadas às paredes das células (Power e Woods, 1997). O boro encontra-se no solo numa elevada diversidade de minerais primários, associado à fração orgânica, adsorvido a partículas minerais e orgânicas e na solução do solo. Normalmente apenas o boro solúvel é utilizado pelas plantas e este representa uma fração próxima de 3 % do boro total do solo (Xu et al., 2001). A deficiência de boro encontra-se mais dispersa no mundo que a de qualquer outro micronutriente (Shorrocks, 1997; Fageria et al., 2002; Gupta, 2007). Apesar de estar classificado como micronutriente a frequência com que a sua aplicação tem de ser considerada em Trás-os-Montes confere-lhe um estatuto na fertilização equivalente ao dos macronutrientes principais (Arrobas e Moutinho-Pereira, 2009)

2.4.1. Boro nas plantas

O papel do boro nas plantas é dos menos conhecidos entre os nutrientes essenciais. Este aspeto é, de certa forma, transcendente na medida em que o boro é de entre os micronutrientes o que surge em deficiência de forma mais generalizada e um dos que é requerido em maior quantidade pelas plantas. O boro parece ter um papel central associado à formação da parede celular. De acordo com Broadley et al. (2012), o boro não faz parte de enzimas nem estará diretamente ligado à sua ativação. O boro parece contudo estar ligado a diversas funções metabólicas, ou então as suas funções na parede celular e na interação com a plasmalema exercem um efeito em cascata com implicações em diversas vias metabólicas importantes.

2.4.1.1. Funções do boro nas plantas

Um dos sinais evidentes da deficiência de boro é a morte dos tecidos meristemáticos, o que poderá estar de acordo com o papel principal do boro como componente estrutural da parede celular (Wimmer e Eichert, 2013). Embora se reconheça o papel do boro na parede celular, as suas funções específicas continuam

pouco claras. A maior parte do boro solúvel em água parece estar localizada na região apoplástica como ácido bórico. Também a fração insolúvel em água parece estar ligada a ramnogalacturanona II, sendo este complexo ubíquo em plantas superiores (Matoh, 1997; Miwa e Fujiwara, 2010). A presença de boro no simplasto, ainda que possível, nunca foi detetada. O boro poderá entrar no citoplasma devido à sua baixa massa molar e por não estar ionizado. O ácido bórico é uma ácido muito fraco, com pKa de 9,24, e que a pH encontrado no citoplasma (pH 7,5) se encontra em mais de 98% na forma de $B(OH)_3$ livre e em menos de 2% como $B(OH)_4^-$. A valores de pH encontrados no apoplasto (pH 5,5) mais de 99,95% do boro está na forma $B(OH)_3$ e menos de 0,05% na forma $B(OH)_4^-$ (Broadley et al., 2012). A fração solúvel no apoplasto interage espontaneamente com grupos diol na posição *cis*, fornecendo ligações entre polissacáridos das paredes celulares o que confere estabilidade e flexibilidade às paredes, aspeto importante na expansão celular (Havlin et al., 2014). Assim, em plantas superiores, uma fração importante do boro total nas plantas está complexado como esterres *cis*-diol nas paredes celulares (Power e Woods, 1997; Blevins e Lukaszewski, 1998; Broadley et al., 2012; Havlin et al., 2014).

Os danos estruturais provocados pela deficiência de boro têm sido predominantemente observados em plantas dicotiledóneas. As monocotiledóneas têm necessidades em boro muito mais baixas e raramente desenvolvem sintomas visíveis de deficiência (Wimmer e Eichert, 2013). As diferentes necessidades em boro entre monocotiledóneas e dicotiledóneas serão devidas à composição da parede celular. Nas gramíneas, por exemplo, a parede celular contém pouco material péctico e necessita também de pouco cálcio. Pelo contrário, absorvem quantidades mais elevadas de silício (Si), tendo este elemento também papel relevante associado à parede celular (Broadley et al., 2012). De uma maneira geral, o conteúdo em boro nos tecidos vegetais difere bastante entre plantas. As monocotiledóneas têm concentrações normalmente a variar entre 1 a 10 mg kg⁻¹, as dicotiledóneas entre 20 a 70 mg kg⁻¹ e dicotiledóneas com sistema latex (p. ex. das famílias euforbiácea e papaverácea) entre 70 a 100 mg kg⁻¹ (Jones, 2012; Bryson et al., 2014).

Há também elevada evidência de que o boro tem papel relevante na integridade da membrana celular e no seu funcionamento. O boro acumula-se na parede celular e na interface entre a parede e a plasmalema, o que o coloca em boa posição para interferir com a plasmalema (Gupta, 1979; Cakmak e Römheld, 1997; Power e Woods, 1997;

Broadley et al., 2012). A conformação da membrana pode ser influenciada pelo boro através da complexação com glicoproteínas e glicolípidos. Desta forma, algumas enzimas podem direta ou indiretamente ser estimuladas, estabilizadas ou inibidas pelo ácido bórico (Power e Woods, 1997). Assim, o boro pode ter diversos outros papéis incluindo a complexação com substratos poli-hidróxi, enzimas, co-enzimas e estimular ou inibir certas vias metabólicas (Bryson et al., 2012). O boro parece estar ligado ao transporte de açúcares, ao metabolismo das proteínas, aminoácidos e nitrato, ao metabolismo de açúcares e amido e à regulação e fornecimento de auxinas e polifenóis (Power e Woods, 1997; Liakopoulos e Karabourhiotis, 2005; Gupta, 2007). Broadley et al. (2012) consideram como mais provável que o boro exerce um efeito primário na parede celular e na interface entre a parede e a plasmalema e que as reações ocorridas na parede e na interface com a plasmalema originem efeitos secundários diversos no metabolismo numa reação em cascata.

Algumas das consequências mais visíveis da falta de boro, e que resultam do seu efeito na estabilidade da parede celular, estão associados ao processo reprodutivo. A falta de boro causa problemas no desenvolvimento do tubo polínico e origina esterilidade masculina, devido a anteras mal formadas e grãos de pólen não viáveis (Gupta, 2007; Havlin et al., 2014). Estes aspetos sugerem que o processo reprodutivo requer mais boro que a parte vegetativa. A razão principal poderá ser o crescimento rápido destes tecidos e o facto das estruturas reprodutoras não serem suficientemente providas de feixes condutores e apresentarem baixa transpiração, fatores que reduzem o fornecimento de boro (Blevins e Lukaszewski, 1998; Broadley et al., 2012).

Um dos efeitos mais rápidos da falta de boro nas plantas é a inibição ou cessação do alongamento da raiz e de partes meristemáticas da parte aérea. As raízes podem ficar com aspeto ramificado e engrossado e ocorrer morte dos ápices meristemáticos. A razão pode ser a incapacidade da planta em sintetizar nova parede celular e a perda da integridade da membrana (Broadley et al., 2012). A absorção de água é também negativamente afetada pela falta de boro, com consequências em toda a atividade metabólica da planta. O dano estrutural nos tecidos pela falta de boro é a causa provável sendo o efeito mais grave nas dicotiledóneas (Wimmer e Eichert, 2013).

2.4.1.2. Absorção e transporte

A maior parte do boro deverá entrar na raiz através da dupla camada fosfolipídica da membrana plasmática de forma passiva não metabólica com a corrente transpiratória na forma de ácido bórico não dissociado (Brown e Shelp, 1997; Hu e Brown, 1997; Miwa e Fujiwara, 2010; Wimmer e Eichert, 2013; Bryson et al., 2014; Reid, 2014). Assim, a absorção será grandemente determinada pela concentração do boro em solução e pela taxa transpiratória da planta. Contudo, tem sido observado que espécies diferentes cultivadas em meios com equivalente disponibilidade de boro apresentam concentrações de boro nos tecidos diferenciadas, o que sugere outros mecanismos de absorção (Hu e Brown, 1997). Aceita-se presentemente que o boro possa entrar também por processo ativo. Em geral tem sido propostos mais dois mecanismos para além de transporte passivo por difusão através da membrana, designadamente através de um sistema de transporte passivo facilitado por canais seletivos e não seletivos que aumentam a permeabilidade da membrana e através de um sistema de elevada afinidade e energeticamente dependente que ocorre contra um gradiente de concentração e normalmente para baixos níveis de boro em solução (Miwa e Fujiwara, 2010; Wimmer e Eichert, 2013; Bryson et al., 2014; Reid, 2014).

Em solos neutros a ligeiramente ácidos o boro existe no solo como ácido bórico não dissociado, sendo por isso a principal forma de boro absorvida. Contudo, algumas formas iónicas de boro, designadamente H_2BO_3^- , HBO_3^{2-} , BO_3^{3-} , $\text{B}_2\text{O}_7^{2-}$, estão presentes no solo sobretudo a $\text{pH} > 7$. Assim, pensa-se que em solos alcalinos as plantas possam absorver também estas formas iónicas ainda que em quantidades reduzidas (Havlin et al., 2014).

O boro é transportado das raízes para a parte aérea pelo xilema na corrente transpiratória. Algum boro vai ficando ligado aos novos polissacáridos pécnicos sintetizadas nas paredes celulares, acumulando-se a maioria do restante nas paredes celulares como ácido bórico (Matoh, 1997). Para a maioria das espécies o boro é considerado pouco móvel na planta, devido a restrita mobilidade no floema (Brown e Shelp, 1997; Blevins e Lukaszewski, 1998; Jones, 2012; Bryson et al., 2014). Contudo, o boro está presente no floema e em algumas espécies pode ser transportado no floema em quantidades suficientes para satisfazer as necessidades da planta. Assim, o boro parece ser o único nutriente que apresenta mobilidade restrita em muitas espécies sendo

bastante móvel em outras (Brown e Shelp, 1997; Blevins e Lukaszewski, 1998). Em plantas cujos principais produtos da fotossíntese translocados são complexos borato-poliol, como sorbitol, manitol ou dulcitol, o boro parece apresentar mobilidade elevada. Algumas rosáceas dos gêneros *Malus*, *Pyrus* e *Prunus*, e certas brássicas como rabanete (*Raphanus sativus*), couve-flor (*Brassica oleracea*, Grupo Botrytis) e rutabaga (*Brassica napobrassica*) estão entre as plantas nas quais o boro apresenta maior mobilidade (Brown e Shelp, 1997; Blevins e Lukaszewski, 1998; Wimmer e Eichert, 2013; Havlin et al., 2014). A mobilidade do boro nas plantas tem um efeito determinante no desenvolvimento de sintomas de deficiência e toxicidade.

2.4.1.3. Deficiência e excesso de boro nas plantas

Os sintomas mais comuns de deficiência de boro ocorrem em partes meristemáticas em crescimento ativo, o que está relacionado com o papel do boro nas paredes celulares e com a reduzida mobilidade na planta (Hu Brown, 1997; Gupta, 2007; Wimmer e Eichert, 2013). Pode surgir crescimento retardado dos meristemas apicais na raiz e parte aérea, com morte eventual das partes terminais, e uma enorme diversidade de sintomas nas folhas, caules e raízes dependendo da espécie. Os sintomas podem incluir folhas disformes, espessas e/ou enrugadas, engrossamento e rachamento de caules, e descoloração, rachamento e podridão interna de frutos e raízes tuberosas (Goldbach et al., 2001; Gupta, 2007; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014). A carência de boro está também ligada ao processo reprodutivo, com redução de vingamento e queda prematura de flores e frutos (Dell e Huang, 1997; Jones, 2012).

A deficiência de boro é a mais comum e dispersa entre micronutrientes. Fatores ambientais que reduzem a transpiração da planta, como elevada humidade atmosférica e tempo seco podem induzir carência de boro (Bryson et al., 2014). A deficiência de boro é mais prevalente em solos arenosos, alcalinos e eventualmente após a aplicação de calcário (Broadley et al., 2012). O intervalo entre deficiência e toxicidade para o boro é mais estreito que para qualquer outro nutriente (Goldberg, 1997; Rashid e Ryan, 2004). Contudo, o excesso é raro em solos agrícolas, a menos que tenha sido adicionado acidentalmente em excesso (Shorrocks, 1997; Gupta, 2007). Contudo, em regiões áridas pode ocorrer excesso de boro naturalmente, ou o excesso dever-se ao uso de água de rega muito rica em boro (Nable et al., 1997; Eraslan et al., 2007; Gupta, 2007; Havlin et

al., 2014). Os solos de maior risco são os de origem marítima, que resultam da evaporação da água do mar ou de sedimentos marinhos argiláceos (Nable et al., 1997).

Para concentrações de boro elevadas várias atividades celulares aparecem parcialmente inibidas e a toxicidade em tecidos maduros é considerada não pela rutura de apenas um processo mas pelo retardamento acumulado de vários processos celulares, exacerbado por stresse foto oxidativo (Reid et al., 2004). Os sintomas de toxicidade são similares para a maioria das plantas. Consistem em clorose marginal e apical das folhas que rapidamente evolui para necrose, uma vez que o boro se acumula no fim da corrente transpiratória dada a mobilidade no xilema (Brown e Shelp, 1997; Nable et al., 1997; Gupta, 2007; Jones, 2012; Bryson et al., 2014). Nas plantas em que o boro é móvel no floema (p. ex. géneros *Malus*, *Pyrus* e *Punus*) e que se acumula nas partes em crescimento, os sintomas mais frequentes são perturbação nos frutos (gomose, necrose interna), necrose no ritidoma, devido à morte do tecido cambial, e morte de caules (Nable et al., 1997; Gupta, 2007). Quer a mobilidade quer a falta dela pode originar concentração de boro muito diferente entre tecidos de uma planta e mesmo no interior de uma folha. Este aspeto pode, por exemplo, dificultar a interpretação dos resultados da análise dos tecidos (Matoh, 1997; Gupta, 2007).

2.4.2. Boro no solo

A quantidade de boro nos solos agrícolas varia entre 1 a 467 mg kg⁻¹, com uma quantidade mais provável entre 9 a 85 mg kg⁻¹ (Gupta, 2007). Esta grande variação no conteúdo em boro dos solos deve-se sobretudo ao material originário e também ao seu enquadramento em diferentes regiões climáticas. O boro é normalmente elevado em solos derivados de sedimentos marinhos (Nable et al., 1997),

2.4.2.1. Formas de boro no solo

A maior parte do boro do solo está associada à fração orgânica. A matéria orgânica representa uma fonte significativa de boro para as plantas estando a disponibilidade de boro de um solo bastante dependente do teor de matéria orgânica (Havlin et al., 2014). A matéria orgânica pode armazenar boro devido à formação de complexos entre o ácido bórico e os ácidos carboxílicos dos coloides húmicos. A matéria orgânica liberta este boro para as plantas após mineralização. De uma maneira

geral, o risco de deficiência de boro aumenta quando o teor de matéria orgânica no solo é baixo (Shorrocks, 1997).

O boro pode encontrar-se no solo numa elevada diversidade de minerais primários. Nas rochas ígneas, metamórficas e sedimentares, o boro ocorre em borossilicatos que são resistentes à meteorização, sendo reduzida a disponibilidade de boro, a menos que sejam de origem marítima (Nable et al., 1997; Gupta, 2007; Havlin et al., 2014). Em solos bem drenados a turmalina é o mais comum mineral identificado que contém boro. Turmalina é um grupo de borossilicatos complexos que contém ~3 % de boro. A turmalina é muito resistente à meteorização e virtualmente insolúvel. A aplicação de turmalina moída ao solo não consegue fornecer boro às plantas (Nable et al., 1997; Gupta, 2007). Depósitos de boro com importância económica por apresentarem elevada solubilidade surgem por precipitação química em águas salgadas ou como evaporitos terrestres em regiões áridas (Gupta, 2007).

Parte do boro do solo encontra-se adsorvida nas partículas minerais e orgânicas. Nas partículas minerais os principais locais de adsorção são as ligações Si-O e Al-O nos bordos dos minerais de argila e as superfícies de óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio (Havlin et al., 2014). A capacidade de adsorver boro pelos minerais de argila segue a ordem micas > montmorilonite > caulinite (Goldberg, 1997; Varennes, 2003; Havlin et al., 2014). Nos minerais de argila a adsorção aumenta com o pH, sendo máxima a pH 8 a 10 (Goldberg, 1997). A adsorção de boro por óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio cristalinos e amorfos também aumenta com o pH até uma adsorção máxima a pH 6 a 8 para os óxidos de alumínio e 7 a 9 para os óxidos de ferro (Goldberg, 1997). A adsorção está também relacionada com o teor de carbono orgânico no solo. Pensa-se que a matéria orgânica possa adsorver mais boro que a fração mineral com base na massa (Goldberg, 1997). Contudo, tem sido verificado que os coloides orgânicos revestem os óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio anulando locais potenciais de adsorção pelo que o balanço do efeito da matéria orgânica na adsorção de boro é difícil de prever (Goldberg e Suarez, 2012; Sarkar et al., 2014). A aplicação de calcário pode também aumentar a fixação de boro pelo solo devido à subida de pH e por, adicionalmente, o carbonato de cálcio se constituir como uma superfície de adsorção (Goldberg, 1997).

O boro solúvel no solo encontra-se sobretudo na forma de ácido bórico (H_3BO_3), sendo esta a principal forma de boro para as plantas a pH entre 5 a 9 (Bryson et al., 2014). Acima de pH 9,2 $H_2BO_3^-$ pode tornar-se predominante (Gupta, 2007). É a

quantidade de boro em solução que em última análise representa a disponibilidade de boro para as plantas. Estima-se que cerca de $0,1 \text{ mg B kg}^{-1}$ na solução seja uma quantidade adequada para a nutrição da maioria das plantas (Havlin et al., 2014).

2.4.2.2. Fatores que afetam a disponibilidade de boro no solo

Nos solos o boro encontra-se nos minerais, adsorvido na superfície das argilas e óxidos de ferro e alumínio, combinado com a matéria orgânica e na solução do solo. A dinâmica do boro no solo entre a fase sólida e a fração solúvel é particularmente importante devido ao estreito intervalo entre situações que podem originar deficiência ou toxicidade (Havlin et al., 2014). Uma grande diversidade de fatores contribuem para tamponizar o boro na solução do solo, com efeitos na disponibilidade do nutriente para as plantas e, eventualmente, nas perdas de boro por lixiviação. Alguns dos fatores que determinam a disponibilidade de boro no solo são pH, matéria orgânica, textura, humidade, proximidade ao oceano e interação com outros nutrientes.

Um dos fatores que mais afeta a disponibilidade de boro é o pH do solo. À medida que o pH aumenta o boro torna-se menos disponível para as plantas (Goldberg, 1997; Gupta, 2007; Bryson et al., 2014; Havlin et al., 2014). A adsorção de boro no solo aumenta com o pH no intervalo de 3 a 9 e decresce de 10 a 11,5 (Goldberg, 1997). A pH baixo, a forma dominante é ácido bórico H_3BO_3 , sendo que apenas acima de pH 9,2 a forma $\text{B}(\text{OH})_4^-$ se torna significativa (Bryson et al., 2014). A calagem pode reduzir a disponibilidade de boro no solo devido à subida de pH e à adsorção de boro nos precipitados $\text{Al}(\text{OH})_3$ e nos carbonatos e ser mesmo usada para reduzir a toxicidade de boro em solos ricos em boro (Havlin et al., 2014). Contudo, a efetividade desta medida é questionável. Antoniadis et al. (2013) aplicaram calcário num pomar de macieiras cultivado num solo ácido rico em boro e verificaram que a calagem não reduziu a concentração de boro nas folhas antes a aumentou supostamente devido à melhoria das condições de crescimento das plantas.

A matéria orgânica é um reservatório de diversos nutrientes incluindo boro. A maior disponibilidade de boro encontra-se habitualmente na camada superficial do solo sobretudo devido a esta conter maior teor de matéria orgânica. A aplicação de matéria orgânica pode aumentar a disponibilidade de boro sobretudo em solos ácidos em que pouca adsorção ocorre nas frações minerais (Gupta, 2007) e, dependendo da matéria

orgânica, causar até toxicidade (Havlin et al., 2014). Contudo, isto nem sempre acontece. Yermiyahu et al. (2001) verificaram que a aplicação de um composto orgânico reduziu o boro na solução do solo e o boro absorvido pelas plantas.

A adsorção de boro nos solos está também dependente da textura. Os solos argilosos adsorvem e contêm comparativamente mais boro que os solos arenosos. Os solos ligeiros bem drenados podem ter teores de boro particularmente baixos. A aplicação de boro a solos arenosos pode originar perdas significativas por lixiviação devido à reduzida capacidade de adsorção de boro. Os solos argilosos, por seu lado, retêm boro durante mais tempo (Havlin et al., 2014). Contudo, para a mesma quantidade de boro solúvel em água a absorção é maior em solos arenosos (Goldberg, 1997). Os solos argilosos necessitam que se aplique mais boro que nos solos arenosos para o mesmo efeito nas plantas (Gupta, 2007).

A deficiência de boro está também frequentemente relacionada com o tempo seco. Humidade baixa no solo reduz a mineralização da matéria orgânica e o transporte de boro no solo para as raízes que ocorre por fluxo de massa e difusão (Havlin et al., 2014). Solo seco aumenta a tortuosidade do percurso dificultando o movimento dos nutrientes por difusão e a menor transpiração das plantas reduz a deslocação por fluxo de massa (Broadley et al., 2012; Havlin et al., 2014). Por outro lado, à medida que o solo seca, a planta fica mais dependente da água em profundidade que corresponde a zonas do perfil onde haverá menos boro disponível (Goldberg, 1997).

Muito boro pode chegar ao solo através da água da chuva como ácido bórico não dissociado, designadamente em regiões mais próximas do mar (Shorrocks, 1997). Os boratos são libertados naturalmente na atmosfera a partir dos oceanos (65 a 85 % do boro na atmosfera) e em menor extensão por geotermismo, meteorização das rochas ricas em boro e atividade humana (p. ex., indústria do vidro) (Howe, 1998).

Interações diversas com outros nutrientes influenciam a disponibilidade e a ação do boro nas plantas. Quando a disponibilidade de cálcio é elevada as plantas podem tolerar maior quantidade de boro no solo. A elevada presença de cálcio restringe a absorção de boro e protege as plantas de boro em excesso. Elevados níveis de cálcio estão normalmente associados a pH elevado, havendo um efeito conjugado do pH que contribui para reduzir a disponibilidade de boro. Em culturas sensíveis à falta de boro a aplicação de potássio pode agravar a absorção de boro já que o catião potássio vai

libertar cálcio para a solução que interfere com a absorção de boro (Havlin et al., 2014). Em solos com elevados níveis de cálcio, as necessidades de aplicar boro aumentam. Por outro lado, na presença de elevada quantidade de cálcio, é maior a quantidade de boro que as plantas podem tolerar sem causar fitotoxicidade (Bryson et al., 2014). Assim, a razão Ca:B tem algum significado fisiológico, surgindo deficiência provável de boro quando a razão é inferior a 1200:1 (Havlin et al., 2014). Günes e Alpaslan (2000) mostraram a existência de interação entre boro e fósforo na cultura do milho. A aplicação de fósforo reduziu a absorção de boro. O boro mostrou-se mais tóxico na ausência que na presença de fósforo e a toxicidade de boro pareceu ser aliviada pela aplicação de fósforo.

2.4.3. Resposta da oliveira à aplicação de boro

A oliveira é considerada uma planta de elevada sensibilidade à falta de boro (Freeman et al., 2005; Havlin et al., 2014; Fernández-Escobar, 2017). Por outro lado, a oliveira é vista como uma planta com alguma tolerância a níveis elevados de boro no solo (Freeman et al., 2005; Therios, 2009; Fernández-Escobar, 2017). A partir de observações na Califórnia, Freeman e Carlson (2005) consideram que, a par do azoto, o boro é o elemento cuja probabilidade de aparecer em deficiência na oliveira é mais elevada. Também em Trás-os-Montes, NE Portugal, a probabilidade de surgir deficiência de boro só pode ser comparável ao azoto, sendo visto na região como um elemento de elevada importância no programa anual de fertilização (Rodrigues e Arrobas, 2008; Arrobas e Moutinho-Pereira, 2009; Arrobas et al., 2010). O boro é ainda juntamente com o azoto dos elementos que as árvores mais rapidamente recuperam de uma situação de deficiência após a aplicação do elemento ao solo (Gregoriou e El Kholy, 2010).

Para efeitos de interpretação dos resultados da análise de plantas, o intervalo de concentração adequadas comumente aceite varia de 19-150 mg B kg⁻¹ (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007; Gregoriou e El Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017), embora LQARB (2006) e Bryson et al. (2014) considerem intervalos mais apertadas, 19 a 50 e 20 a 75 mg B kg⁻¹, respetivamente. Situações de deficiência, eventualmente com sintomas visíveis, espera-se que ocorram para valores de boro nas folhas inferiores a 14 mg kg⁻¹ (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007; Gregoriou e El Kholy, 2010; Fernández-

Escobar, 2017). Alguns autores propõem ainda como situação de excesso na oliveira valores superiores a 185 mg B kg^{-1} (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007). A concentração de boro nas folhas varia, contudo, em função da carga de frutos e da época do ano. Sibbett e Ferguson (2002) verificaram que em ano de contrassafra os teores de boro nos tecidos tendem a aumentar e que no Verão tendem a ser mais elevados que no repouso vegetativo. Fernández-Escobar et al. (1999) verificaram que durante a floração tendem a registrar-se valores mais baixos de boro nas folhas, sobretudo nas folhas jovens, e que no repouso vegetativo os valores são mais baixos que no Verão. Esta tendência para se registarem concentrações de boro nas folhas mais baixas no repouso vegetativo que no Verão tem sido frequentemente verificada (Chatzissavvidis et al., 2005; Rodrigues et al., 2011a).

De uma maneira geral o boro é um elemento de reduzida mobilidade nas plantas. Contudo, em alguns géneros da família das rosáceas, sobretudo prunóideas e pomóideas, e algumas brássicas, o boro apresenta elevada mobilidade (Brown e Shelp, 1997; Blevins e Lukaszewski, 1998; Wimmer e Eicher, 2013). Na oliveira o boro é considerado pouco móvel (Gregoriou e El Kholy, 2010). Contudo, Delgado et al. (1994) mostraram que aplicando boro às folhas próximo da floração, a concentração de boro aumentou em diversos tecidos incluindo flores e frutos três dias após o tratamento, o que sugere que o boro foi mobilizado das folhas para as partes em crescimento. Perica et al. (2002) e Liakopoulos e Karabourhiotis (2005) encontraram também evidência de que o boro é mobilizado das folhas adultas para tecidos jovens em crescimento. Na oliveira, a mobilidade do boro poderá estar associada à translocação no floema de quantidades consideráveis de manitol (Liakopoulos e Karabourhiotis, 2005).

A carência de boro é frequente em olival. Os sintomas de carência de boro surgem como cloroses no ápice e margens das folhas (Gregoriou e El Kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Em deficiência mais severa os ápices vegetativos morrem e a planta responde com rebentação basal. Fernández-Escobar (2017) designou este sintoma de escovas de bruxa. Em algumas das principais variedades transmontanas, a deficiência manifesta-se por clorose que evolui para necrose nas extremidades das folhas. A clorose começa por ser visível na parte apical da folha permanecendo a parte basal verde, o que lhe confere um aspeto distinto e peculiar. Os ápices vegetativos morrem e as folhas caem em situações de deficiência extrema. Podem surgir pequenos frutos partenocárpicos, sem caroço, devido a problemas na fecundação, que amadurecem cedo

e caem ao início do Outono. Os frutos de algumas cultivares apresentam necroses na zona apical, adquirindo um aspeto conhecido como face de macaco (Arrobas e Moutinho-Pereira, 2009).

A toxicidade de boro é menos comum em olivicultura e quando ocorre está normalmente associada a aplicação excessiva de boro como fertilizante. Chatzissavidis e Therios (2010) submetem plantas jovens a quantidades excessivas de boro na solução. Em situação de boro em excesso registaram redução no número de flores, encurtamento dos ramos laterais e redução da altura em uma das variedades ensaiadas. Contudo, a matéria seca total das plantas não foi significativamente afetada. Em campo, árvores com sintoma de toxicidade de boro têm sido observadas em olivais jovens, que mostram clorose a iniciar nos bordos e ápices de folhas maduras e que se generaliza pelas zonas apicais e em alguns casos origina a morte da planta.

Apesar da importância reconhecida ao boro e da observação frequente de sintomas de deficiência em olival, não são muitos os estudos que mostrem resposta da produção de azeitona pela aplicação de boro. Ainda assim, Soyergin (2010) registou que a aplicação de boro ao solo e por via foliar originou aumento da concentração de boro nos tecidos e da produção de azeitona. Rodrigues et al. (2011b), num estudo em que um olival esteve quatro anos sem receber boro como fertilizante, registaram redução da disponibilidade de boro no solo, quebra na concentração de boro nas folhas e redução da produção de azeitona. Por outro lado, Toker e Yavuz (2015) verificaram que a aplicação de boro aumentou o teor de gordura e a qualidade do azeite, melhorando o equilíbrio dos ácidos gordos e reduzindo fenóis totais e compostos voláteis na cultivar turca ‘Ayvalik’.

Apesar do boro ser um elemento importante em olivicultura, a exportação é reduzida tendo em conta que se trata de um micronutriente. Rodrigues et al. (2012) estimaram exportações de boro de 20 a 25 g por tonelada de azeitona fresca num olival com teores de boro nas folhas baixos ainda que dentro do intervalo de concentrações adequadas. Verificaram ainda que na colheita os frutos representam cerca de 51 % do boro contido na parte aérea da planta. Contudo, a eficiência de uso do boro tende a ser baixa, com valores exportados de 5 a 15 % do boro aplicado como fertilizante durante uma estação de crescimento (Shorrocks, 1997). Na prática o boro é recomendado em doses a variar entre 0,5 a 3 kg ha⁻¹ (Bryson et al., 2014), devendo este aspeto merecer especial atenção porque os limites de deficiência e toxicidade são muito estreitos para

este elemento. Aplicações excessivas podem causar danos severos nas plantas. Também devido à mobilidade do boro no solo este deve ser aplicado em quantidades reduzidas e de forma regular para reduzir os riscos de perdas por lixiviação, sobretudo em solos arenosos (Hu e Brown, 1997).

Os fertilizantes mais frequentemente utilizados para veicular boro são bórax e ácido bórico que se dissolvem rapidamente no solo, embora exista uma gama diversificada de produtos com diferentes níveis de solubilidade (Shorrocks, 1997). O boro não deve ser aplicado de forma localizada. A reduzida mobilidade nas plantas pode originar uma má distribuição nos tecidos com riscos de danos provocados por toxicidade (Shorrocks, 1997). Admitindo que o boro é pouco móvel na planta, a aplicação foliar será pouco efetiva, uma vez que o boro não será retranslocado das folhas para flores, frutos e outras partes em crescimento. Admitindo mobilidade na planta, tal como alguns estudos têm sugerido (Delgado et al., 1994; Perica et al., 2002; Liakopoulos e Karabourhiotis, 2005), é expectável que a aplicação foliar possa ser um meio eficiente de fornecer boro às plantas, como está bem demonstrado em outras fruteiras como macieira, pereira e amendoeira (Broadley et al., 2012).

Capítulo 3
Material e Métodos

3. Material e métodos

Esta investigação envolveu duas experiências de campo, que incluiu quatro nutrientes (azoto, fósforo, potássio e boro) e sete experiências em vasos onde se estudaram individualmente os nutrientes referidos, designadamente uma experiência para azoto e duas experiências para cada um dos outros nutrientes, fósforo, potássio e boro.

A primeira experiência de campo (Campo 1) foi estabelecida num olival jovem de três anos de idade no qual foi aplicado um programa de fertilização com azoto, fósforo, potássio e boro, entendida como a modalidade testemunha, e tendo as restantes modalidades consistido na exclusão de cada um dos elementos. A segunda experiência de campo (Campo 2) consistiu na plantação de oliveiras jovens especificamente para este trabalho, tendo o programa de fertilização sido idêntico ao anterior. Em vasos foi instalado um ensaio para o azoto (Vasos N) com quatro níveis de fertilização. O estudo do fósforo incluiu uma primeira experiência (Vasos P1) em que se aplicaram quatro doses de fósforo e uma segunda experiência (Vasos P2) em que se aplicaram duas doses de fósforo, numa experiência organizada em blocos casualizados com quatro solos diferentes como blocos. Em vasos, o potássio foi estudado em aplicação de várias doses numa primeira experiência (Vasos K1) e numa segunda experiência (Vasos K2) num fatorial de doses de potássio, regimes de rega e cultivares. O boro foi estudado também em duas experiências, uma (Vasos B1) com aplicação de boro ao solo e boro foliar e uma segunda (Vasos B2) em que se aplicou boro foliar em apenas alguns ramos da planta. Esta segunda experiência envolveu duas cultivares.

Ao longo do período experimental foram efetuadas diversas determinações de campo, dependendo da especificidade de cada ensaio, e efetuados inúmeros procedimentos analíticos, designadamente sobre amostras de solos e de plantas, incluindo folhas, caules, raízes e frutos.

3.1. Caracterização geral das condições experimentais

Os estudos decorreram em Bragança no Nordeste de Portugal (41° 48' N; 6° 44' W). A região beneficia de um clima mediterrânico com alguma influência do regime Atlântico. De acordo com a classificação de Köppen-Geiger, a região está sob influência

de um clima Temperado ou Mesotérmico do tipo C, pertencendo ao subtipo Csb, clima temperado húmido com Verão seco e temperado. Uma temperatura média anual superior a 10 °C e inferior ou igual a 12,5 °C e uma precipitação acumulada entre 600 a 800 mm determinam a sua inclusão na designação local de “Terra Fria de Planalto” (Agroconsultores e Coba, 1991). A estação quente é curta, estendendo-se o período frio ao Inverno e grande parte do Outono e Primavera. Durante o período em que decorreram os ensaios de campo verificou-se que julho e agosto foram os meses de menor disponibilidade de água, altura em que as temperaturas foram mais elevadas e a precipitação mais reduzida.

Os dados meteorológicos registados durante o período experimental são apresentados na figura 1.

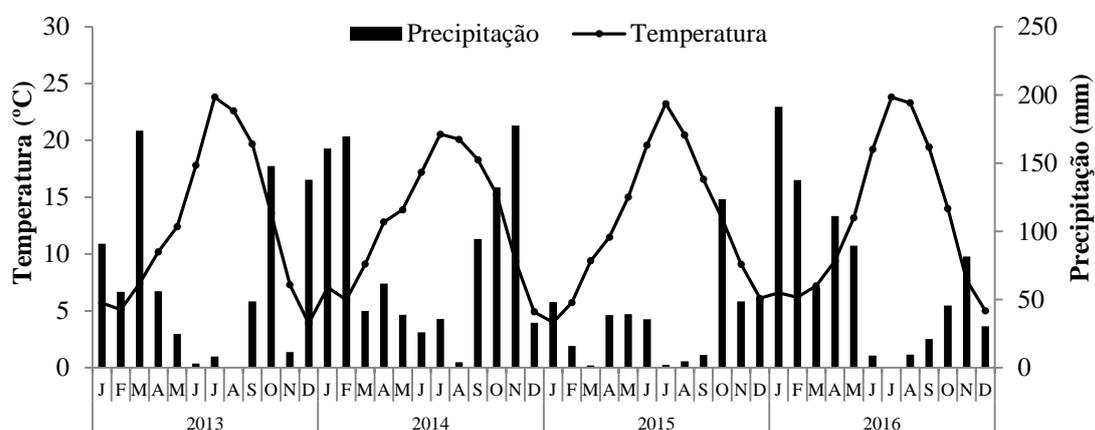


Figura 1: Precipitação e temperatura médias mensais durante o período experimental na estação meteorológica da quinta de Santa Apolónia em Bragança.

As experiências em vasos decorreram em estufa. A estufa apresenta cobertura em policarbonato de parede dupla, aberturas laterais e zenital e ecrã térmico como método suplementar de dissipação de calor. As estufas estão ainda equipadas com sistema de nebulização, embora no âmbito destas experiências se tenha preferido regar manualmente.

No total das experiências de campo e em vasos foram usados 12 solos diferentes, 2 correspondentes aos ensaios de campo (Campo 1 e Campo 2) e 10 correspondentes aos ensaios em vasos, designadamente: um na experiência do azoto (VNS1); um na primeira experiência do fósforo (VPS1), quatro na segunda experiência do fósforo, um dos quais da experiência anterior (VPS1, VPS2, VPS3 e VPS4); três para a primeira

experiência do potássio (VKS1, VKS2 e VKS3); um para a segunda experiência de potássio (VKS4); três para a primeira experiência do boro (VBS1, VBS2 e VBS3); e um para a segunda experiência do boro (VBS4). De notar que alguns solos foram usados em mais que uma experiência em vasos, tal como identificado no quadro 1. Algumas das principais características físicas e químicas de amostras colhidas na camada 0-20 cm destes solos são apresentadas no quadro 1. As determinações analíticas não coincidem exatamente em todas as amostras devido à natureza e objetivos específicos dos diferentes ensaios e à necessidade de economizar tempo e recursos.

3.2. Ensaios de campo

O estudo compreende dois ensaios de campo, como anteriormente referido, um primeiro instalado num olival com três anos de idade e um segundo instalado expressamente para o desenvolvimento desta dissertação.

3.2.1. Primeiro ensaio de campo

Este ensaio de campo (Campo 1) foi instalado em março de 2013 num olival de sequeiro da cultivar ‘Cobrançosa’ com três anos de idade e árvores plantadas num compasso 7 x 6 m. O solo classifica-se como Regossolo Êutrício e as suas principais características físico-químicas foram apresentadas no quadro 1.

O ensaio foi organizado de forma completamente casualizada, com cinco níveis de fertilização, designadamente um plano de fertilização com azoto, fósforo, potássio e boro, que nesta experiência foi considerada a modalidade testemunha (T). Os restantes quatro tratamentos consistiram na remoção de um nutriente, originando tratamentos: com aplicação de fósforo, potássio e boro (-N); azoto, potássio e boro (-P); azoto, fósforo e boro (-K); e azoto, fósforo e potássio (-B). O delineamento incluiu ainda três repetições de cada tratamento, cada uma composta de quatro árvores, o que totaliza 12 árvores por tratamento.

Os fertilizantes foram aplicados manualmente no fim de março/início de abril, de forma localizada em áreas definidas junto ao tronco das árvores. O fósforo e o potássio foram aplicados em áreas de 16 (4 x 4) m² (2 m do tronco para cada quadrante). O azoto e o boro foram aplicados em 4 (2 x 2) m² (1 m do tronco para cada quadrante). Azoto,

fósforo, potássio e boro foram aplicados, respectivamente, à razão de 48, 70, 133 e 1,2 g $\text{arvore}^{-1} \text{ano}^{-1}$. Foram utilizados os adubos superfosfato simples (18 % P_2O_5), cloreto de potássio (60 % K_2O), nitrato de amônio (34,5 % N) e borax (11 % B).

O solo foi mantido com aplicação de herbicida não seletivo total à base de glifosato (360 g L^{-1} ingrediente ativo; 4 L de herbicida por hectare) aplicado uma vez ao ano no início do mês de abril.

Na experiência Campo 1 foi medido periodicamente o diâmetro do tronco a 30 cm de altura e estimado o volume da canópia medindo a sua altura máxima e a largura em dois sentidos (Norte/Sul e Este/Oeste) e assumindo que a canópia nesta fase tem uma forma ovoide. O volume da canópia (VC) foi estimado usando a equação $VC = \frac{2}{3} \pi R^2 (L + S)$, em que R é o raio médio das duas medições da largura das plantas, L é a distância entre o ponto de maior largura da canópia e o topo ($\frac{2}{3}$ da altura da canópia) e S a distância entre o ponto de maior largura da canópia e a base da canópia ($\frac{1}{3}$ da altura total da canópia).

A lenha de poda foi também usada como um índice de expansão vegetativa das plantas, tendo as árvores sido podadas anualmente no repouso vegetativo. A lenha de poda foi pesada em fresco, separada uma subamostra que foi também pesada em fresco e levada para laboratório onde foi seca em estufa e separada em folhas e caules para análise da composição elementar.

No fim do Outono, a partir do segundo ano de ensaio, foi colhida a azeitona de forma manual e pesada por árvore. Foi também colhida uma subamostra de 100 frutos que foram pesados para avaliação do tamanho dos frutos. Uma outra subamostra representativa de 20 frutos foi separada em polpa e caroço, pesada em fresco, seca em estufa e pesada em seco e usada para análise química elementar.

Duas vezes por ano, no repouso vegetativo Invernal e no Verão ao endurecimento do endocarpo (fim de julho) foram colhidas amostras de folhas no terço médio dos ramos do ano e em todos os quadrantes, para avaliação do estado nutricional das plantas.

Quadro 1: Resultados das análises iniciais de amostras de solos de todos os ensaios de campo (C) e em vasos (V). C1: ensaio de campo 1; C2: ensaio de campo 2; VNS1: ensaio em vasos experiência do azoto, solo 1; VPS1: ensaio em vasos experiência do fósforo, solo 1, ... VPS4: ensaio em vasos experiência do fósforo, solo 4; VKS1: ensaio em vasos experiência do potássio, solo 1, ... VKS4: ensaio em vasos experiência do potássio, solo 4; VBS1: ensaio em vasos experiência do boro, solo 1, ... VBS4: ensaio em vasos experiência do boro, solo 4.

Propriedades do solo	C1	C2	VNS1	VPS1 VKS3	VPS2 VBS2	VPS3	VPS4	VKS1	VKS2	VKS4 VBS4	VBS1	VBS3
pH (H ₂ O)	5,8	5,5	5,5	5,8	4,9	5,1	6,9	6,2	6,1	4,9	4,7	4,8
pH (KCl)	4,6	4,6	4,7	4,3	3,8	4,5	6,1	5,3	4,6	3,4	4,0	3,9
pH (CaCl ₂)	5,5	5,5	5,0	5,4	4,6	4,7	6,6	6,1	5,7	3,7	4,2	4,4
P ₂ O ₅ (Lactato amónio) (mg kg ⁻¹)	87,9	93,4	21,4	41,2	14,5	56,3	353,6	17,8	20,1	18,3	17,2	15,8
P Olsen (mg kg ⁻¹)	4,8	4,8	2,2	9,9	0,0	35,5	57,8	0,0	0,0		0,0	0,0
P Mehlich 3 (mg kg ⁻¹)	40,6	45,2	31,7	28,7	14,4	173,4	103,8	5,1	13,8		16,7	15,5
P Resinas (mg kg ⁻¹)	12,7	11,9	9,1	12,4	3,4	12,7	55,2	5,8	5,4	9,5	5,2	4,3
Fosfatase ácida [µg/l]	206,4	63,5		162,3	128,1	88,5	450,4					
K ₂ O (Lactato amónio) (mg kg ⁻¹)	102,0	114,0	134,0	118,0	59,0	53,0	234,0	50,0	58,0	53,0	92,0	75,5
B (mg kg ⁻¹)	0,5	0,6	0,5	0,4	0,6	0,4	1,3	0,2	0,6	0,1	0,7	0,7
C org. Walkley-Black (g kg ⁻¹)	14,7	15,4	13,5	12,7	7,5	26,0	25,1	6,4	7,4	9,5	27,5	17,5
C orgânico total (g kg ⁻¹)	44,0	46,7	36,4	36,5	27,3	46,3	49,2	29,9	23,8		54,6	41,0
K (Acetato amónio) (Cmol _c kg ⁻¹)	0,2	0,3	0,3	0,3	0,1	0,2	0,7	0,4	0,2	0,1	0,2	0,1
Na (Acetato amónio) (Cmol _c kg ⁻¹)	0,4	0,4	0,3	0,7	0,3	0,3	0,6	0,4	0,7	0,7	0,3	0,3
Ca (Acetato amónio) (Cmol _c kg ⁻¹)	7,2	8,5	3,3	5,5	2,8	0,9	7,4	6,5	6,2	4,7	1,7	2,2
Mg (Acetato amónio) (Cmol _c kg ⁻¹)	2,2	2,6	1,0	3,3	1,0	0,4	4,2	3,7	3,6	1,4	0,8	0,9
Acidez de troca (Cmol _c kg ⁻¹)	10,7	11,9	5,1	11,2	4,6	2,1	13,8	11,3	12,3	9,1	4,4	4,5
Fe (mg kg ⁻¹)	62,3	73,3	35,7		49,7	31,7	153,7				56,0	52,9
Mn (mg kg ⁻¹)	82,2	112,2	24,0		31,7	1,6	210,5				112,9	72,3
Zn (mg kg ⁻¹)	2,9	2,7	1,8		0,9	0,6	12,2				1,2	1,0
Cu (mg kg ⁻¹)	12,1	9,2	1,2		1,1	0,8	30,5				1,8	1,5
Argila (%)	14,5	14,6	12,2	14,9	7,8	9,1	17,1	14,5	11,0	11,5	13,2	10,5
Limo (%)	27,7	29,2	21,2	26,7	9,4	10,2	18,6	13,4	14,5	19,4	26,4	17,9
Areia (%)	57,8	56,2	66,6	58,4	82,8	80,7	64,4	72,1	74,5	69,1	60,4	71,6

No fim do estudo foram colhidas amostras de solo em três profundidades (0-5 cm, 5-10 cm, e 10-20 cm) para avaliação do efeito dos tratamentos nas propriedades do solo.

Em setembro de 2016, nos talhões de azoto, boro e testemunha, foi semeada nabiça (*Brassica rapa* var. *rapa*) na zona de aplicação de fertilizantes. A parte aérea da nabiça foi cortada no Inverno seguinte e a exportação de nutrientes usada como indicador biológico da disponibilidade de azoto e boro para as plantas.

3.2.2. Segundo ensaio de campo

Um segundo ensaio de campo (Campo 2) foi instalado especificamente para o desenvolvimento deste estudo. O solo classifica-se como Regossolo Êútrico e as suas principais características físico-químicas foram apresentadas no quadro 1.

A experiência foi organizada de forma semelhante a Campo 1, tendo os fatores em estudo sido a aplicação de azoto, fósforo, potássio e boro como testemunha e mais quatro tratamentos correspondentes à remoção de cada um dos nutrientes. A plantação foi instalada em linhas com espaçamento de 1 m entre plantas e as linhas afastadas de 6 m. Cada tratamento incluiu três repetições de dez árvores (10 m). A experiência iniciou-se em maio de 2014, tendo sido plantadas árvores da cultivar ‘Cobrançosa’ com 20 a 30 cm de altura enraizadas em sacos de polietileno com ~1,5 kg de terra.

A adubação foi feita em retângulos de 40 m² para fósforo e potássio (10 m na linha e 2 m para ambos os lados da linha) e 20 m² para azoto e boro (10 m na linha e 1 m para cada lado da linha). Os nutrientes azoto, fósforo, potássio e boro foram aplicados anualmente, respetivamente, nas doses de 200, 175, 332 e 6 g por unidade experimental (40 m² para fósforo e potássio e 20 m² para azoto e boro). Foram usados os mesmos fertilizantes referidos para a experiência anterior. No primeiro ano o solo foi mobilizado após a plantação e os fertilizantes incorporados. Nos anos seguintes foi usado um herbicida não seletivo total (tal como na experiência anterior) na zona de aplicação dos fertilizantes e o espaço nas entrelinhas foi mobilizado com escarificador. No primeiro ano as plantas foram regadas três vezes durante o Verão para reduzir o risco de mortes. Nos anos seguintes as plantas foram mantidas em sequeiro.

Duas vezes por ano, no repouso vegetativo e no Verão, foram colhidas folhas para avaliação do estado nutricional das plantas. No fim deste ensaio, em Outubro de 2016, a parte aérea de quatro plantas internas dos talhões foi cortada pela base e pesada em

fresco. Uma subamostra foi também pesada, conduzida a laboratório, seca em estufa e pesada de novo após separada em folhas e caules. Cada uma das partes das plantas foi depois analisada para a composição elementar e estimativa da exportação de nutrientes.

3.3. Ensaio em vasos

O estudo incluiu sete experiências em vasos, uma dedicada ao azoto e duas dedicadas a cada um dos nutrientes fósforo, potássio e boro.

3.3.1. Azoto

A resposta da oliveira à aplicação de azoto foi também estudada com uma experiência em vasos (Vasos N) como tem sido referido. A experiência foi instalada em março de 2014. A experiência foi organizada de forma completamente casualizada com quatro doses de azoto e seis repetições (6 vasos) por tratamento. Oliveiras enraizadas da cultivar ‘Cobrançosa’ com ~20 cm de altura foram plantadas em vasos com 3 kg de terra seca, crivada em malha de 2 mm, misturada com 200 mL de perlite. Algumas das principais propriedades de uma amostra deste solo (VNS1) foram apresentadas no quadro 1. Foram utilizadas as doses de azoto de 0 (N0), 0,4 (N1), 0,8 (N2) e 1,6 (N3) g vaso⁻¹ ano⁻¹. Com fertilizante azotado foi utilizado nitrato de amónio (34,5 % N). Todos os vasos receberam um suplemento fertilizante com 5 g vaso⁻¹ de calcário (88 % CaCO₃, 5 % MgCO₃), fósforo, potássio e micronutrientes. De fósforo e potássio foram, respetivamente, utilizadas 0,35 e 0,66 g vaso⁻¹ ano⁻¹. Fósforo e potássio foram aplicados na forma de um fertilizante líquido composto PK (0:30:20), suplementado com um fertilizante potássico líquido doseando 45 % K₂O. Os micronutrientes foram aplicados usando uma mistura comercial contendo 10% MgO, 0,3% B, 18,5 % SO₃, 0,3 % Cu, 2 % Fe, 1 % Mn, 0,02 % Mo, 1,6 % Zn aplicado à razão de 0,08 g vaso⁻¹ ano⁻¹. Com exceção do calcário, que foi integralmente utilizado no momento da instalação do ensaio, os restantes fertilizantes foram aplicados anualmente repartidos por cinco aplicações durante a estação de crescimento para reduzir o efeito salino dos fertilizantes. Os vasos foram mantidos em estufa durante o período experimental e regados regularmente. As infestantes foram também removidas manualmente ao aparecimento.

As plantas foram cortadas ao fim de cada estação de crescimento em fevereiro de 2015, fevereiro de 2016 e fevereiro de 2017 a aproximadamente 12 cm de altura, de

forma a facilitar a regeneração da planta na estação de crescimento seguinte. Após serem cortadas foram separadas em folhas e caules e encaminhadas para laboratório. Em fevereiro de 2017 as plantas foram retiradas dos vasos sendo primeiramente recuperada uma amostra homogênea de terra por vaso. As raízes foram posteriormente lavadas com água sob ligeira pressão e a planta dividida em raízes, folhas e caules que foram etiquetadas e encaminhadas separadamente para laboratório.

Durante a estação de crescimento foi avaliada a fluorescência da clorofila *a* e fluorescência transiente com base no teste OJIP usando o fluorómetro OS-30p+.

Em vasos foi usado o fluorómetro portátil OS-30p+. Este equipamento permite determinar a fluorescência da clorofila *a* e a fluorescência transiente através dos protocolos adaptados ao escuro F_V/F_M , F_V/F_0 e do teste OJIP avançado. F_M , F_0 e F_V , são, respetivamente, fluorescência máxima, mínima e variável de folhas adaptadas ao escuro, e $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$ e $F_V/F_0 = (F_M - F_0)/F_0$. O teste OJIP fornece a fluorescência de base a 20 μ s (O), a fluorescência a 2 ms (J), a fluorescência a 30 ms (I) e a fluorescência máxima (FM). O fluorómetro permite uma variada gama de testes com elevada capacidade de detetar e medir stresses na planta capazes de afetar o fotossistema II. As medições foram efetuadas ao fim da manhã sobre folhas jovens com o limbo expandido após um período de adaptação ao escuro de pelo menos 35 minutos.

3.3.2. Fósforo

O estudo do fósforo incluiu duas experiências em vasos. Na primeira (Vasos P1), iniciada em março de 2013, estudou-se a resposta da planta à aplicação de quatro doses de fósforo num ensaio completamente casualizado com dez repetições (10 vasos). Foram usadas as doses de fósforo de 0, 0,35, 0,70 e 1,05 g vaso⁻¹ ano⁻¹. O solo utilizado foi identificado no quadro 1 como VPS1. Neste ensaio foi também aplicado um plano de fertilização basal, com 5 g vaso⁻¹ de calcário no início da instalação da experiência, 0,80 g N vaso⁻¹ ano⁻¹ e 0,66 g K vaso⁻¹ ano⁻¹ e ainda a solução de micronutrientes referida na experiência Vasos N. Foram usados os mesmos fertilizantes referidos na experiência do azoto. Com exceção do calcário, os outros nutrientes foram aplicados anualmente e as doses referidas divididas em cinco aplicações anuais para reduzir o efeito salino. Foram usados vasos com 3 kg de terra seca crivada, misturada com 200 mL de perlite. Foram usadas plantas enraizadas de ~20 cm de altura e os vasos colocados em estufa e sujeitas aos restantes procedimentos referidos para a experiência

Vasos N. As plantas foram cortadas no fim de três estações de crescimento em fevereiro de 2014, fevereiro de 2015 e fevereiro de 2016. Nos dois primeiros anos foi cortada apenas a parte aérea e no terceiro foi recuperada uma amostra de terra, as raízes lavadas e a planta separada entre raízes, folhas e caules. As amostras de solos e plantas foram encaminhadas para laboratório para secagem, crivagem (no caso das amostras de solo) ou moenda (nas amostras de plantas), e análise.

Uma segunda experiência de fósforo (Vasos P2) foi instalada em março de 2014. Nesta segunda experiência foram usados quatro solos diferentes, cujas propriedades foram apresentadas no quadro 1 (VPS1, VPS2, VPS3 e VPS4) e duas doses de fósforo (0 e 1,05 g P vaso⁻¹ ano⁻¹), num ensaio em blocos casualizados em que os diferentes solos foram incluídos no delineamento como blocos. As plantas foram cortadas anualmente em fevereiro de 2015, fevereiro de 2016 e fevereiro de 2017. No último corte foi recuperada uma amostra de terras e de raiz, bem como da parte aérea. Todos os restantes procedimentos foram análogos ao referido para a experiência Vasos P1 descrita no parágrafo anterior.

Tal como descrito anteriormente, nos Vasos P2 foi avaliada a fluorescência da clorofila *a* e fluorescência transiente com base no teste OJIP usando o fluorómetro OS-30p+.

3.3.3. Potássio

O estudo do potássio incluiu duas experiências em vasos. A primeira (Vasos K1) é uma experiência de resposta a três doses de potássio organizada em blocos casualizados em que os blocos são três tipos de solos diferentes e cujas propriedades foram já apresentadas no quadro 1 (VKS1, VKS2, VKS3). A experiência incluiu seis vasos por unidade experimental. As doses de potássio foram de 0, 0,66 e 1,33 g vaso⁻¹ ano⁻¹. Foi também aplicado um plano de fertilização basal com calcário (5 g vaso⁻¹) aplicado à instalação e azoto (0,8 g vaso⁻¹), fósforo (0,35 g vaso⁻¹) e micronutrientes (0,08 g vaso⁻¹) aplicados anualmente divididos em cinco aplicações. Os fertilizantes utilizados foram um fertilizante potássico líquido que doseia 45% de K₂O, um fertilizante líquido composto NP (2:8:0) e nitrato de amónio (34,5 % N).

A experiência teve início em abril de 2015 e envolveu dois cortes de biomassa, no fim das estações de crescimento, em dezembro de 2015 e outubro de 2016. No primeiro ciclo cortou-se apenas a biomassa aérea e no segundo ciclo recuperou-se uma amostra

de solos e as plantas foram separadas em raízes, caules e folhas. Toda a restante tecnologia foi similar às experiências anteriormente descritas.

A segunda experiência em vasos (Vasos K2) foi organizada em blocos casualizados com três tratamentos, designadamente regime de rega (normal, stresse), fertilização com potássio (com e sem aplicação) e duas cultivares ('Arbequina' e 'Cobrançosa'). O solo utilizado foi identificado no quadro 1 como VKS4. Foram também incluídas seis repetições (6 vasos) por tratamento. O regime hídrico normal consistiu em regar regularmente durante toda a estação de crescimento enquanto no regime stresse as plantas foram deixadas de regar durante dois longos períodos seguidos de reidratação. Os períodos de stresse iniciaram a 29 de junho e 19 de agosto e mantiveram-se por duas semanas. A fertilização com potássio consistiu numa modalidade testemunha sem potássio e na aplicação de $0,66 \text{ kg K vaso}^{-1} \text{ ano}^{-1}$.

Foram escolhidas as cultivares 'Cobrançosa' e 'Arbequina' por a primeira ser habitualmente cultivada em sequeiro e tolerante ao stresse hídrico enquanto 'Arbequina' é uma cultivar típica de regadio e menos tolerante ao stresse hídrico.

Esta experiência foi instalada em fevereiro de 2016 e as plantas cumpriram um ciclo de crescimento tendo sido removidas dos vasos em fevereiro de 2017, sendo recuperada uma amostra de solos e a planta separada em raiz, caule e folhas para análise laboratorial. Todos os restantes procedimentos foram idênticos ao referido para a experiência Vasos K1.

Nesta experiência foi determinado um índice de esclerofilia, a densidade de tecido foliar (D), e dois índices de estado hídrico da planta (conteúdo relativo em água, CRA, e conteúdo de água à saturação, CAS). Foram pesadas duas folhas por planta para determinar a massa em fresco (MF) e depois pesadas de novo após terem sido completamente hidratadas com água desionizada durante 48 horas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ no escuro para determinar a massa túrgida (MT). Depois as folhas foram secas em estufa de ventilação forçada a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ para obter a massa seca (MS). Os três índices foram estimados como: $D (\text{g kg}^{-1}) = \text{MS}/\text{MF} \times 1000$; $\text{CRA} (\%) = 100 \times (\text{MF} - \text{MS}) / (\text{MT} - \text{MS})$; e $\text{CAS} (\text{g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ MS}) = (\text{MT} - \text{MS}) / \text{MS}$.

Tal como descrito anteriormente, nos Vasos K2 foi avaliada a fluorescência da clorofila *a* e fluorescência transiente com base no teste OJIP usando o fluorómetro OS-30p+.

3.3.4. Boro

O estudo do boro envolveu duas experiências em vasos, tal como os estudos do fósforo e do potássio. A primeira experiência (Vasos B1) foi um estudo de resposta à aplicação de boro ao solo e foliar. Foram estabelecidos três tratamentos, designadamente aplicação de boro ao solo, aplicação de boro foliar e testemunha sem aplicação de boro num delineamento em blocos casualizados em que os blocos foram constituídos por três solos diferentes (VBS1, VBS2, VBS3), cujas propriedades foram apresentadas no quadro 1. Foram usados seis vasos para cada combinação de solos e tratamentos fertilizantes. A adubação foliar consistiu na aplicação anual de 0,04 mL de Tradebor (11 % B) dividido em duas aplicações repartidas pela estação de crescimento com a aplicação da calda a envolver toda a parte aérea. A adubação de boro ao solo consistiu na aplicação anual de 0,29 g de borax (11 % B) também dividido em duas aplicações anuais. Foi ainda aplicado um plano de fertilização basal com azoto, fósforo e potássio idêntico ao que tem sido referido para as restantes experiências em vasos. Nos vasos de aplicação foliar, a boca do vaso foi protegida com rodela de cartão para evitar que a calda atingisse diretamente o solo. A experiência foi instalada em março de 2015 e envolveu dois ciclos culturais com corte da parte aérea ao fim do primeiro ciclo (fevereiro de 2016) e recuperação de uma amostra de solo e da totalidade da planta dividida em raiz, caule e folhas no fim do segundo ciclo de crescimento (fevereiro de 2017). As condições e tecnologias de cultivo foram similares ao referido para os restantes vasos.

A segunda experiência em vasos de boro (Vasos B2) envolveu a aplicação foliar de boro de forma parcial e na totalidade da parte aérea. O solo utilizado foi identificado no quadro 1 como VBS4. Foram constituídos três tratamentos, com aplicação de boro sobre a totalidade da parte aérea, aplicação de boro foliar a plantas com alguns ramos protegidos com coberturas de plástico para não receberem boro e testemunha sem aplicação de boro. A adubação foliar consistiu na aplicação de 0,04 mL de Tradebor (11 % B) dividido em duas aplicações com intervalo de uma semana para reforçar a absorção de boro. Também nesta experiência as bocas dos vasos sujeitos a aplicação foliar de boro foram protegidas com rodela de cartão para o solo não receber boro da aplicação foliar. A aplicação foi feita na terceira e quarta semanas de junho. Nas plantas tratadas parcialmente foram marcados os ramos protegidos. Em todas as plantas da experiência foi colocada uma marca no limite do caule para separar os tecidos presentes no momento da aplicação dos tecidos que se desenvolveram após a aplicação. A

experiência foi instalada em março de 2016. No fim da experiência, em fevereiro de 2017, as plantas foram removidas do solo e separadas em diferentes partes, designadamente raiz, fração de caules existentes até à segunda aplicação foliar de boro, fração de folhas presentes até à segunda fração de boro, fração de caules que se desenvolveram depois da segunda aplicação de boro, fração de folhas que se desenvolveram depois da segunda aplicação de boro. No caso das plantas tratadas parcialmente ainda foram separadas as partes (caules e folhas) molhadas e não molhadas, bem como os prolongamentos dos ramos (das partes molhadas e não molhadas) que se desenvolveram após a aplicação da calda. Todos os tecidos foram conduzidos a laboratório para análise da concentração em boro.

3.4. Análises laboratoriais

Amostras iniciais de todos os solos usadas nas experiências de campo e em vasos, colhidas na profundidade 0-20 cm foram analisadas e os resultados apresentados no quadro 1. No fim dos ensaios de campo e dos vasos, diversas amostras de solos foram também recuperadas e analisadas sendo os resultados das análises tratados como dados experimentais e apresentados na secção de resultados.

Amostras de tecidos vegetais diversas, designadamente folhas, caules, raízes e frutos (separados em polpa e caroço) foram recebidas em laboratório, secas em estufa regulada a 70 °C moídas em malha de 1 mm e analisadas para a composição elementar.

3.4.1. Solos

Nas amostras de solos foram determinadas diversas propriedades físicas, químicas e biológicas, algumas de interesse geral e determinadas em todas as amostras, enquanto outras com objetivos muito específicos foram determinadas apenas em amostras particulares. Os pré-tratamentos das amostras consistiram em secagem em estufa a 40 °C e crivagem em malha de 2 mm.

3.4.1.1. Textura

Após agitação de uma porção de solo (fração inferior a 2 mm) com um agente dispersante, a areia foi separada de limo e argila com um crivo de 50 µm de malha.

Limo e argila foram determinados pelo método da pipeta. A suspensão foi colocada numa proveta de 1000 mL. As partículas sedimentaram ao longo do tempo de acordo com o seu tamanho e posicionam-se em diferentes profundidades da proveta. A pipeta serve para recolher uma amostra de solo e argila nos primeiros centímetros a contar da superfície e depois para recolher limo + argila. As suspensões foram depois secas a 105 °C e avaliada a proporção de cada fração na amostra de solo (van Reeuwijk, 2002).

3.4.1.2. pH

O pH do solo foi avaliado numa suspensão de solo:solução de água e de KCl 1 M, de 1:2,5, após duas horas de contacto com agitação ocasional (van Reeuwijk, 2002). Para determinação do pH CaCl₂ 0,01 M, pesaram-se 5 g de solo com 25 mL da solução e agitou-se a 120 rotações por minuto (rpm) durante 2 horas, procedendo-se depois à leitura. O equipamento usado foi um potenciómetro Inolab Level 1 WTW.

3.4.1.3. Carbono orgânico facilmente oxidável

Foi seguido o procedimento de Walkley-Black para determinação do carbono orgânico facilmente oxidável. Este método consiste numa digestão húmida da matéria orgânica do solo com uma mistura de dicromato de potássio e ácido sulfúrico durante 30 minutos. O dicromato residual é titulado com sulfato de ferro e o teor de matéria orgânica é estimado multiplicando a percentagem de carbono pelo fator 1,724, associado à suposição de que a matéria orgânica do solo contém cerca de 58% de carbono (van Reeuwijk, 2002).

3.4.1.4. Carbono orgânico total

Para a determinação do carbono orgânico total incinerou-se a amostra a 450 °C durante 6 horas. O teor de matéria orgânica foi determinado a partir da diferença de peso da amostra seca a 105 °C e o peso das cinzas obtidas após incineração (Combs e Nathan, 1998).

3.4.1.5. Azoto Kjeldahl

O procedimento Kjeldahl para determinação do azoto total envolve dois passos: digestão da amostra para converter o azoto orgânico em azoto amoniacal e determinação

do azoto amoniacal no digerido. A digestão é feita pelo aquecimento da amostra a 400 °C com ácido sulfúrico para promover a oxidação, sendo adicionado um catalisador que aumenta a taxa de oxidação da matéria orgânica pelo ácido sulfúrico. O azoto amoniacal no digerido é determinado pela coleta de NH_3 libertado por destilação do digerido com uma base (NaOH) e análise do destilado por titulação (Bremner, 1996).

3.4.1.6. Fósforo no solo

Foram utilizados diferentes métodos para avaliação do fósforo no solo. Esta diversidade de métodos usados deveu-se ao facto de cada método poder fornecer informação diferenciada sobre a biodisponibilidade do elemento no solo.

i) Método Egner-Riehm, consiste na adição de uma solução de lactato de amónio e ácido acético tamponizada a pH 3,5 aplicada a uma porção de solo na proporção solo:solução de 1:20, durante duas horas (MAP, 1977).

ii) Método de Olsen, consiste em agitar 2,5 g solo em 50 mL de bicarbonato de sódio 0,5 M, aferido a pH 8,5 com hidróxido de sódio 5 N, por 30 minutos a 120 rpm (Olsen et al., 1954).

iii) Método Mehlich 3, que usa uma solução diluída de fluoreto de amónio e EDTA a pH 2,5, desenvolvida numa base de razão solo:solução de 1:10, com agitação durante 5 minutos a 200 rpm (Jones, 2001).

iv) Extração com membranas de troca aniónica, em que se utilizam secções (40 mm x 20 mm) de membranas de troca aniónica cortadas a partir de folhas de 125 x 125 mm (Produto 551642S, VWR, BDH, PROLABO). As cargas positivas das resinas são previamente saturadas durante 24 horas com uma solução de NaHCO_3^- 0,5 M. Na extração pesou-se 1 g de solo por 20 mL de água desionizada e colocou-se uma resina, seguida de agitação durante 8 horas a 180 rpm. Retirou-se a resina para frascos de 20 mL com H_2SO_4 0,5 M. Deixou-se de um dia para o outro indo depois a agitar durante 3 horas a 180 rpm (Arrobas, 2000).

Após filtração o fósforo foi determinado por espectrofotometria no comprimento de onda 882 nm, após desenvolvimento de cor pelo método do ácido ascórbico. Este método consiste na formação de um complexo azul de molibdénio (van Reeuwijk, 2002). O equipamento utilizado foi um espectrofotómetro UV/Vis T80 PG Instrument Lda.

3.4.1.7. Potássio

O potássio foi determinado por três métodos diferentes, procurando também obter-se informação adicional sobre a disponibilidade do elemento no solo.

i) Método Egner-Riehm, tal como referido para o fósforo, tendo sido quantificado por fotometria de chama (MAP, 1977) num equipamento Jenway.

ii) Método Mehlich 3, tal como referido para o fósforo, tendo o extrato filtrado sido lido por espectrofotometria de absorção atómica (Jones, 2001).

O potássio foi ainda determinado após extração com uma solução de acetato de amónio juntamente com as restantes bases de troca como se descreve a seguir.

3.4.1.8. Capacidade de troca catiónica

Consiste na determinação do somatório dos catiões designados de bases de troca (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ e Na^+) e da acidez de troca (Al^{3+} e H^+). Para a determinação das bases de troca, uma amostra de 2,5 g de solo foi percolada com uma solução de acetato de amónio tamponizada a pH 7 (50 mL) e os catiões Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ e Na^+ determinados no extrato filtrado por espectrofotometria de absorção atómica (Jones, 2001) num equipamento PYE Unicam PU 9100X. Para a determinação da acidez de troca uma amostra de 10 g de solo foi colocada em contacto com uma solução de KCl 1 M (100 mL) e agitada durante 30 minutos. Depois de filtrada a suspensão, fez-se uma titulação com NaOH 0,1 M usando a fenoftaleína como indicador. Depois desta titulação, titulou-se com HCl 0,1 M, sendo o fluoreto de potássio o indicador (Sims, 1996).

3.4.1.9. Micronutrientes

A extração dos micronutrientes nas amostras de solo foi efetuada de acordo com a metodologia de Lakanen e Erviö (1971). Uma amostra de solo foi agitada com uma solução constituída por acetato de amónio, ácido acético e EDTA, tamponizada a pH 4,65 numa relação solo:solução de 1:5. Após meia hora de contacto com agitação, a suspensão foi filtrada e os micronutrientes cobre, ferro, zinco e manganês determinados por espectrofotometria de absorção atómica.

O boro foi determinado numa extração com água fervente. Numa alíquota de extrato foi adicionada uma solução de desenvolvimento de cor à base de azometina-H e

ácido ascórbico. A cor desenvolvida em função da concentração em boro foi depois determinada num espectrofotómetro UV/Vis a 420 nm (Jones, 2001).

3.4.1.10. Atividade da fosfatase ácida

Pesou-se 1,0 g de solo para frascos erlenmeyer e adicionaram-se 0,2 mL de tolueno, 4 mL de solução MUB (Modified Universal Buffer) ajustada a pH 6,5 e 1 mL da solução de p-nitrofenil-fosfato. Os frascos erlenmeyer foram tapados com parafilme e agitados cuidadosamente, indo a incubar a 37 °C durante 1 h. De seguida adicionaram-se 1 mL de CaCl₂ 0,5 M e 4 mL de NaOH 0,5 M. Agitou-se e filtrou-se com papel de filtro Watman #42. Para cada amostra foi realizado um controlo (metodologia igual à referida para as amostras exceto a colocação de p-nitrofenil-fosfato, que foi adicionada apenas após o CaCl₂ 0,5 M e o NaOH 0,5 M). Após filtração, a fosfatase ácida foi determinada por espectrofotometria num comprimento de onda 400 nm após desenvolvimento de cor pelo método do ácido ascórbico (Tabatabai e Bremner, 1969). Este método baseia-se na formação de um complexo azul de molibdénio (van Reeuwijk, 2002). Na leitura foi utilizado um espectrofotómetro UV/Vis. T80 PG Instrument Lda.

3.4.1.11. Azoto facilmente mineralizável

Como indicadores de azoto facilmente mineralizável foi efetuada a extração de azoto mineral com KCl a quente e a frio.

A uma toma de 10 g de solo foram adicionados 40 mL de KCl 2 M. Os recipientes com a mistura solo/KCl foram colocados numa estufa a 100 °C durante 4 horas. Após arrefecer filtrou-se a suspensão, na qual se determinou a concentração dos iões NH₄⁺. Em paralelo procedeu-se da mesma forma sem introduzir as amostras em estufa e após filtração procedeu-se à determinação da concentração de iões NH₄⁺ no extrato frio. O potencial de NH₄⁺ libertado por mineralização, ou a quantidade de azoto amoniacal hidrolisável, encontrou-se pela diferença entre NH₄⁺ extraído a quente e extraído a frio (Rodrigues, 2000). A concentração de iões H-NH₄⁺ determinou-se pelo método do fenato que tem como princípio a formação de um composto de cor azul, indofenol, pela reação da amónia, hipoclorito e fenol, catalisado pelo nitroprussido de sódio (Clescerl et al., 1998).

3.4.1.12. Extração de aniões com membranas de troca aniônica inseridas diretamente no solo

Nas experiências Vasos P1 e Vasos N1 foram inseridas diretamente no solo membranas de troca aniônica (40 mm x 20 mm), cortadas a partir de folhas de 125 x 125 mm (Produto 551642S, BDH). As membranas foram previamente saturadas durante 24 horas com uma solução de NaHCO_3^- 0,5M. Estas membranas foram colocadas no solo a 15 de fevereiro no Vasos P1 e a 14 de outubro no Vasos N1, e retiradas ao fim de 7 dias. Depois de lavadas em água destilada, foram colocadas em 20 ml de HCl 0,5 M a agitar durante 4 horas a 180 rpm (Arrobas, 2000). Nos extratos obtidos do Vasos P1 determinaram-se as concentrações de fosfatos e nos extratos de Vasos N1 foram determinados os teores de nitratos.

3.4.2. Plantas

O material enviado para laboratório foi seco em estufa de ventilação forçada (Memmert) regulada a 70 °C e moído em malha de 1 mm num moinho Cyclotec. Foi depois determinada a composição elementar dos tecidos vegetais designadamente azoto, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, boro, ferro, zinco, cobre e manganês.

Na determinação da concentração de azoto nos tecidos foi usado o método Kjeldahl, já descrito para a determinação do azoto no solo.

Na determinação de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco e manganês nos tecidos foi digerida uma amostra de 0,25 g de matéria seca num digestor por micro-ondas MARS, CEM corporation, na presença de ácido nítrico. Na solução obtida foi feita a determinação de fósforo por espectrofotometria a 882 nm. Potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco e manganês foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica.

O boro foi determinado após incineração da amostra com óxido de cálcio e após a diluição das cinzas com ácido sulfúrico diluído. O desenvolvimento de cor foi feito pelo método da azometina-H e a concentração determinada num espectrofotómetro a 420 nm (Jones, 2001).

3.5. Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos a análise de variância em função do delineamento experimental associado a cada experiência. Nas experiências fatoriais foi avaliada a interação entre os fatores em estudo. Quando não se registou interação significativa ($\alpha > 0,05$) e em todos os modelos quando ocorreram diferenças significativas ($\alpha < 0,05$) e o modelo contemplava mais de dois tratamentos, as médias foram separadas pelo teste de comparação múltipla de médias Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Em algumas situações, para melhorar a capacidade de interpretação dos resultados e para fins de representação gráfica foram adicionados os intervalos de confiança das médias ($\alpha = 0,05$).

Capítulo **4**

Resultados

4. Resultados

4.1. Azoto

No ensaio Campo N1 a produção de azeitona foi significativamente mais elevada na modalidade fertilizada logo no segundo ano em que as árvores começaram a produzir, em 2015 (0,96 e 0,35 kg árvore⁻¹ nos tratamentos +N e -N, respetivamente) (Figura 2). No primeiro (2014) e no terceiro (2016) anos de ensaio as diferenças entre tratamentos não tiveram significado estatístico. Desta forma, os resultados acumulados dos três anos também não se mostraram estatisticamente diferentes ainda que a produção média acumulada variasse entre 2,26 (+N) e 1,70 (-N) kg árvore⁻¹.

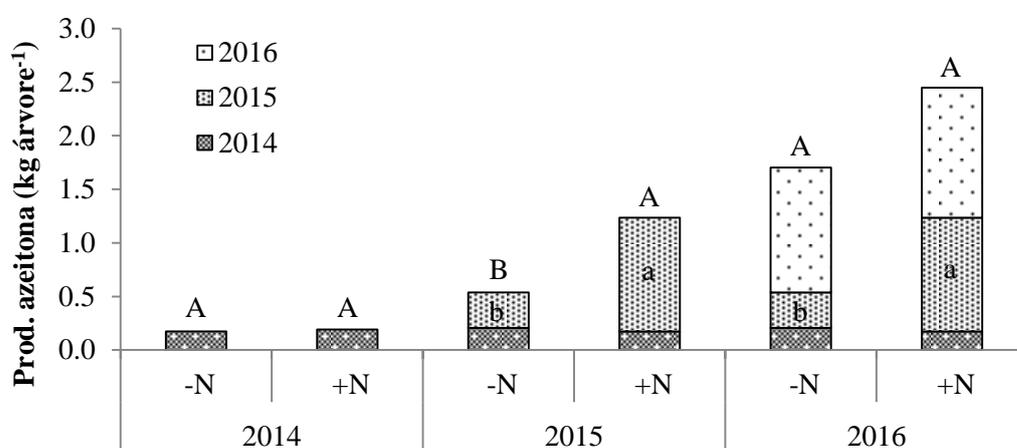


Figura 2: Produção anual e acumulada de azeitona em 2014, 2015 e 2016. As letras minúsculas dentro das colunas e as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$), respetivamente para os valores anuais e acumulados até esse momento. Quando não foram colocadas letras não ocorreram diferenças significativas.

O crescimento das árvores foi avaliado periodicamente medindo o aumento do diâmetro do tronco, o volume da canóia, e a massa da lenha de poda. Os resultados sofreram pequenas oscilações entre medições, mas nunca foram registadas diferenças significativas entre tratamentos (Figura 3). Todos os parâmetros avaliados refletem um elevado desenvolvimento das plantas nesta fase juvenil com o tronco a engrossar mais de 3 cm de junho de 2013 a novembro de 2016 e o volume da canóia a passar de 1,5 m³ para 2,5 m³ entre janeiro de 2016 e novembro de 2016. A massa da lenha de poda

removida anualmente também aumentou sempre desde a primeira poda em 2014 e a última em 2017.

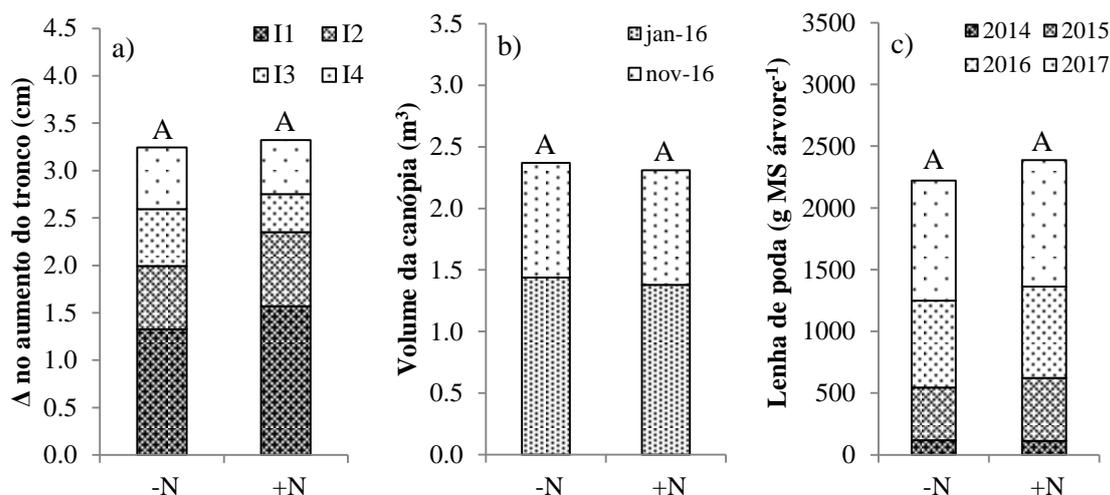


Figura 3: a) Variação (Δ) no aumento do diâmetro do tronco em quatro intervalos consecutivos (I1, junho 2013 - outubro de 2014; I2, - julho 2015; I3, - dezembro de 2015; I4, - novembro 2016), b) volume da canópia estimado em duas datas, e c) lenha de poda nos períodos de repouso vegetativo de 2014 a 2017, em função do tratamento fertilizante. As letras maiúsculas acima das colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre os tratamentos, $\alpha < 0,05$) para os valores acumulados de todos os registros de cada parâmetro.

A massa fresca dos frutos e a relação polpa/caroço, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos +N e -N, em nenhum dos anos (Quadro 2). A massa unitária dos frutos variou consideravelmente entre anos, com valores mais elevados em 2014 (4,66 g no tratamento +N) e os mais baixos em 2016 (1,97 g no tratamento +N). A concentração média de azoto na polpa foi mais elevada na modalidade fertilizada nos três anos de produção, tendo as diferenças significado estatístico em 2014 e 2016. A concentração de azoto no caroço também foi mais elevada na modalidade fertilizada, tendo-se registado diferenças significativas em 2015. A concentração de azoto na polpa variou entre anos com algum significado, registando-se 5,09 g kg⁻¹ em 2014 (-N) e 8,02 g kg⁻¹ em 2016 (+N). Também no caroço se registaram diferenças acentuadas entre anos, com valores médios a variar de 2,63 g kg⁻¹ em 2014 (-N) a 5,41 g kg⁻¹ em 2016 (+N).

A concentração de outros macro (fósforo, potássio, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, cobre, ferro, zinco e manganês) na polpa e no caroço não revelou diferenças significativas entre modalidades de fertilização, com exceção do teor de

manganês no caroço em 2016, com valores médios de 14,87 e 11,99 mg kg⁻¹ respectivamente nos tratamentos +N e -N, pelo que os dados não são apresentados.

Quadro 2: Dados biométricos dos frutos e concentrações de azoto na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de azoto. Dentro de cada ano e nas linhas, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

	2014		2015		2016	
	-N	+N	-N	+N	-N	+N
Massa de um fruto (g)	4,18 a	4,66 a	4,10 a	3,67 a	2,22 a	1,97 a
Relação polpa/caroço	1,27 a	1,27 a	1,88 a	1,86 a	1,49 a	1,49 a
N na polpa (g kg ⁻¹)	5,09 b	6,09 a	6,05 a	6,35 a	7,02 b	8,02 a
N no caroço (g kg ⁻¹)	2,63 a	2,75 a	3,27 b	4,62 a	4,81 a	5,41 a

As amostras de folhas para avaliação do estado nutricional das plantas revelaram que o tratamento +N apresentou valores mais elevados de azoto nas folhas comparativamente à testemunha, em todas as datas de amostragem (Figura 4). As concentrações de azoto mais elevadas registaram-se em dezembro de 2014 (24,5 g kg⁻¹ em +N) e as mais baixas em janeiro de 2013 (16,1 g kg⁻¹ em -N) Todos os valores médios se situaram dentro da zona de concentrações adequadas para esta cultura, definida entre 15 e 25 g kg⁻¹.

Os resultados da análise das folhas para outros macro (fósforo, potássio, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, cobre, ferro, zinco e manganês) não revelaram diferenças significativas entre modalidades de aplicação de fertilização, pelo que não foram apresentados.

Para caracterizar o efeito dos tratamentos no solo foram determinados um conjunto de indicadores químicos e biológicos relacionados com a biodisponibilidade de azoto no solo (Quadro 3). A aplicação de azoto não influenciou de forma significativa indicadores como o teor de matéria orgânica total (não apresentada) e facilmente oxidável, nem a extração de azoto mineral com procedimentos de KCl a frio e a quente, nem diversas outras propriedades do solo, como o teor de outros nutrientes, pH, etc., também determinados e não apresentados no quadro 3. Contudo, o cultivo de uma planta bioindicadora da disponibilidade de azoto no solo (a nabiça) revelou valores de produção de matéria seca, concentração de azoto nos tecidos e azoto recuperado significativamente mais elevados na modalidade fertilizada (22,0 g talhão⁻¹, 43,6 g kg⁻¹

e 0,96 g talhão⁻¹, respectivamente) relativamente à testemunha (5,2 g talhão⁻¹, 39,0 g kg⁻¹ e 0,20 g talhão⁻¹, respectivamente).

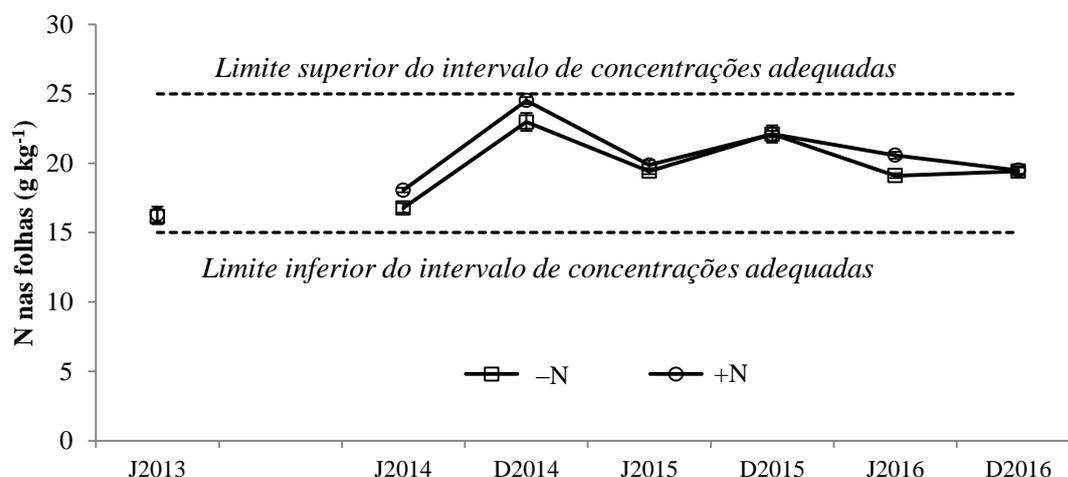


Figura 4: Concentrações de azoto nas folhas em junho (J) e dezembro (D). As linhas a tracejado são os limites inferior e superior do intervalo de suficiência estabelecido para a oliveira. As barras de erro são os desvios padrão da média.

O teor de matéria orgânica total (não apresentada) e carbono facilmente oxidável, bem como os resultados dos métodos de extração química, diminuíram progressivamente de forma significativa da camada superficial para as mais profundas. O teor de carbono orgânico facilmente oxidável variou de 24,2 a 13,2 g kg⁻¹ entre as camadas 0-5 cm e 10-20 cm e o azoto Kjeldahl entre 1637,7 e 493,5 mg kg⁻¹.

Do segundo ensaio de campo (Campo N2) são apresentados resultados da concentração de azoto nas folhas, produção de biomassa e azoto recuperado na biomassa aérea (Figura 5). As concentrações médias de azoto nas folhas foram mais elevadas nas parcelas fertilizadas em comparação com a testemunha, tendo-se verificado diferenças significativas na segunda data de amostragem (16,61 e 13,67 g kg⁻¹ nas modalidades +N e -N, respectivamente).

A produção de matéria seca, após três anos de crescimento, foi significativamente mais elevada no tratamento com aplicação de azoto, sobretudo devido ao aumento da fração caules e menos à fração folhas. A produção de matéria seca total variou de 300 a 500 g árvore⁻¹, respectivamente nas modalidades testemunha e fertilizada.

Quadro 3: Efeito da aplicação de azoto e da profundidade de amostragem em parâmetros da fertilidade do solo, como carbono orgânico determinado pelo método Walkley-black (CO), azoto total determinado pelo método kjeldahl (N Kjel), NH_4^+ determinado por KCl a frio (KCl_F), KCl a quente (KCl_Q) e NH_4^+ hidrolisável (KCl a quente - KCl a frio, KCl_{Q-F}) e indicadores biológicos (matéria seca produzida, concentração de azoto nos tecidos e azoto recuperado). Nos indicadores químicos e biológicos, nas colunas, dentro da dose de aplicação de N médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). Na profundidade do solo, nas colunas, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Tratamento	Indicadores químicos					Indicadores biológicos		
	CO (g kg ⁻¹)	N Kjel (mg kg ⁻¹)	KCl_F ----- (mg NH ₄ ⁺ kg ⁻¹)	KCl_Q -----	KCl_{Q-F} -----	Mat. seca (g vaso ⁻¹)	N tecidos (g kg ⁻¹)	N rec (g vaso ⁻¹)
N0	19,7 a	1012,7 a	13,4 a	24,9 a	11,5 a	5,2 b	39,0 b	0,20 b
N1	16,9 a	965,8 a	12,9 a	25,4 a	12,5 a	22,0 a	43,6 a	0,96 a
Prof.								
0-5 cm	24,2 a	1637,7 a	17,3 a	35,9 a	18,6 a			
5-10 cm	17,6 b	836,5 b	11,8 b	21,2 b	9,3 b			
10-20 cm	13,2 b	493,5 c	10,2 b	18,2 b	8,0 b			

A quantidade de N recuperado na biomassa aérea também foi significativamente superior no tratamento +N relativamente à testemunha, sobretudo devido ao contributo dos caules. O azoto total recuperado variou de 2,51 a 5,12 g árvore⁻¹, respetivamente na testemunha e modalidade fertilizada.

A análise de tecidos (folhas e caules) para outros macro (fósforo, potássio, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, cobre, ferro, zinco e manganês) não revelou diferenças significativas entre tratamentos, com exceção de Mg para duas datas, e Ca e B para uma das datas de amostragem, em que a modalidade fertilizada apresentou valores significativamente mais elevados em comparação com a testemunha. Os resultados não foram apresentados porque as diferenças não se revelaram consistentes em todas as datas.

Na figura 6 são apresentados os resultados da produção de matéria seca repartida por raízes, caules e folhas nos três anos de estudo do ensaio Vasos N. Em 2016 a produção de folhas variou de forma significativa entre 6,64 g vaso⁻¹ no tratamento N0 e 14,95 g vaso⁻¹ no tratamento N2. Por sua vez, a produção de caules variou entre 5,44 e 14,48 g vaso⁻¹ também entre as modalidades N0 e N2. A modalidade N3 registou valores de produção de biomassa inferior às modalidades N1 e N2. Em 2017 a produção de folhas variou significativamente entre 5,20 g vaso⁻¹ no tratamento N0 e 15,23 g vaso⁻¹

¹ no tratamento N3, sendo que a produção de caules variou entre 11,73 e 27,87 g vaso⁻¹ entre as modalidades N0 e N2 e a produção de raízes entre 11,14 e 22,89 g vaso⁻¹, também entre os tratamentos N0 e N2. A produção de matéria seca total (caule + folhas + raiz) variou significativamente de 28,07 a 65,27 g vaso⁻¹ entre as modalidades N0 e N2, respectivamente. Os valores médios de produção de matéria seca total mostraram uma diminuição ligeira entre N2 e N3 mas não significativa.

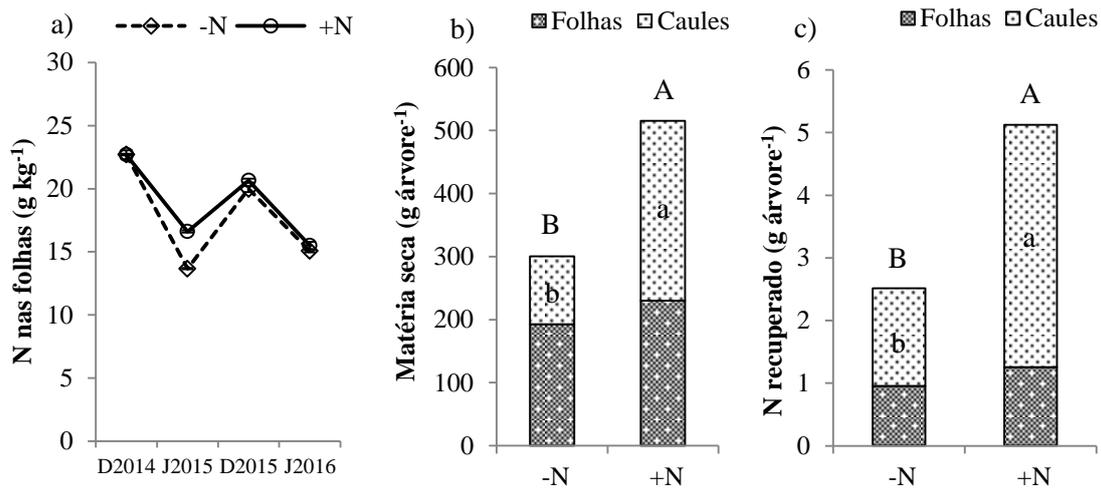


Figura 5: a) Concentração de azoto nas folhas desde dezembro (D) de 2014 a julho (J) de 2016, b) produção de matéria seca e c) azoto recuperado na biomassa aérea em função dos tratamentos (-N, +N), no ensaio de Campo N2. Em a) as barras de erro são os desvios padrão da média. Em b) e c) as letras minúsculas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) para os parâmetros individuais (folhas ou caules) e as letras maiúsculas sobre as colunas para a soma de caules e folhas.

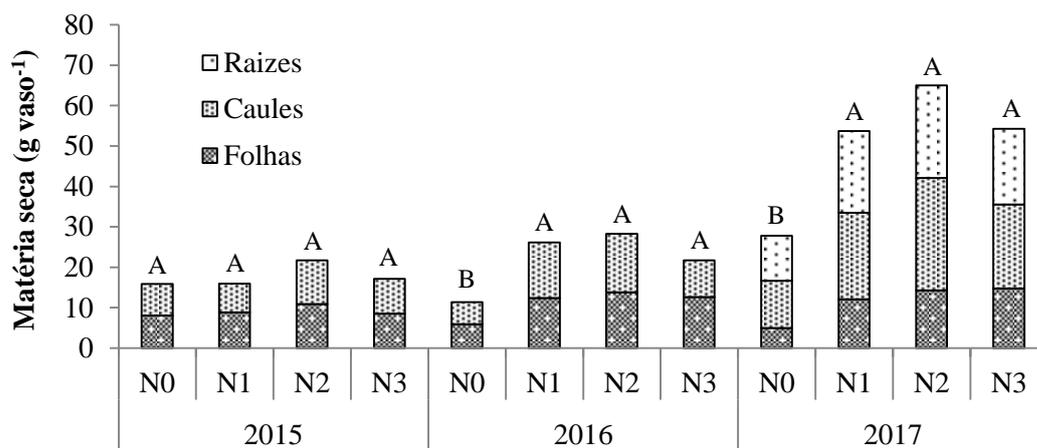


Figura 6: Produção de matéria seca separada em caules e folhas (2015-2016) e raízes (2017) para cada uma das três estações de crescimento em função dos tratamentos de fertilização (N0, N1, N2, N3). Dentro de cada ano, as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância e do teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$) para a soma das partes da planta.

A adubação azotada influenciou a proporção relativa de folhas, caules e raízes que compõem as plantas cultivadas em vasos (Figura 7). Na relação parte aérea/raiz foi ajustado um modelo quadrático ($R^2 = 0,9999$), significando que o parâmetro aumentou, ainda que de forma decrescente para as doses mais elevadas de azoto aplicado. Na relação folhas/caules e folhas/raízes foram ajustados modelos lineares, com aumento dos parâmetros com a dose de azoto, sendo os coeficientes de determinação de 0,8996 e 0,6418, respetivamente.

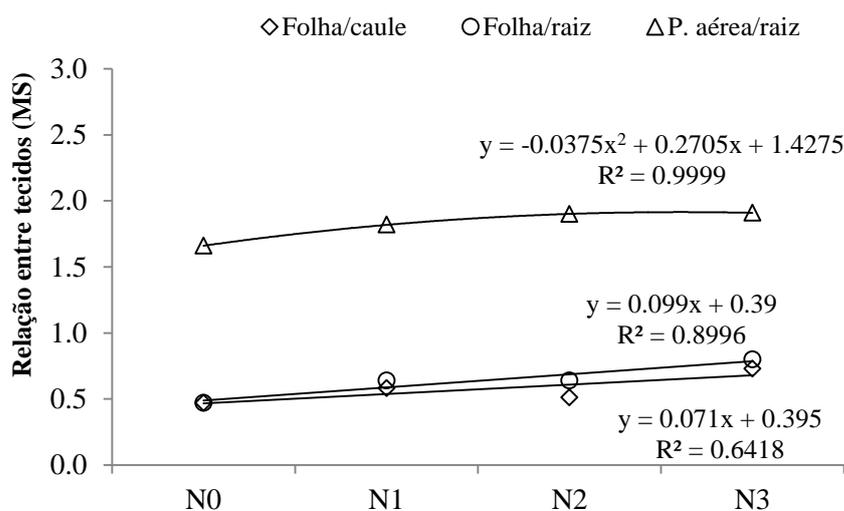


Figura 7: Relação entre partes da planta no final do ensaio em 2017.

A concentração de azoto nas folhas variou de forma significativa com a dose de azoto aplicada em qualquer um dos três anos de ensaio (Figura 8). Os teores médios de azoto nas folhas variaram entre 10,3 e 18,5 g kg^{-1} em 2015, 9,0 e 24,1 g kg^{-1} em 2016 e entre 12,4 e 29,8 g kg^{-1} em 2017.

A concentração de azoto nos caules também variou de forma significativa com a dose de azoto aplicada em qualquer um dos três anos (Figura 8). Em 2015 os teores médios de azoto nos caules variaram entre 3,47 e 6,81 g kg^{-1} , em 2016 variaram entre 3,47 e 10,86 g kg^{-1} , e em 2017 variaram entre 5,32 e 14,33 g kg^{-1} .

A concentração de azoto nas raízes registou diferenças significativas em função da dose de azoto aplicada, tendo os valores médios variado entre 9,45 na modalidade N0 e 21,97 g kg^{-1} na modalidade N3 (Figura 8).

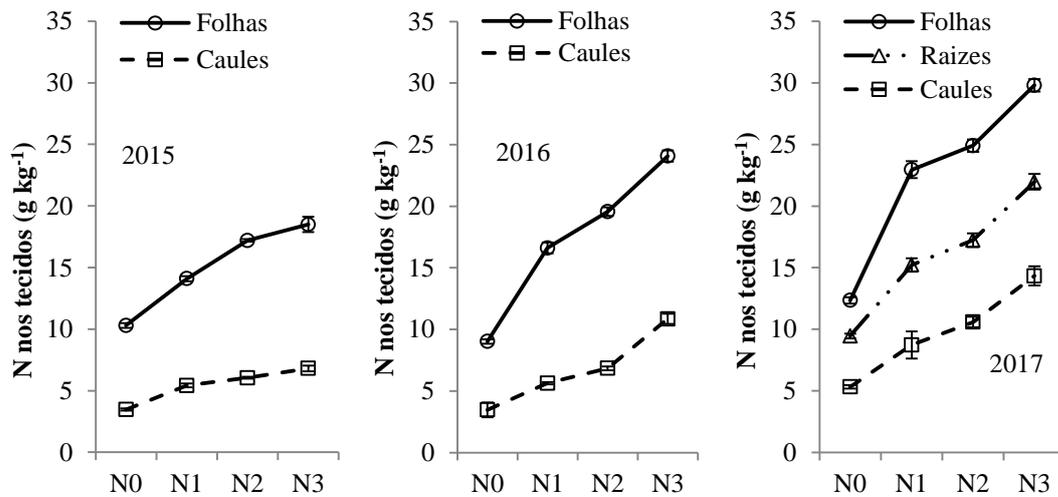


Figura 8: Concentração de azoto nos tecidos em função da dose de azoto em três datas de corte da vegetação. As barras de erro são os desvios padrão da média.

No quadro 4 são apresentados os resultados de algumas determinações analíticas nos solos recuperados nos vasos ao fim do terceiro ano de ensaio. A aplicação de azoto originou uma forte acidificação do solo tendo os valores de pH (H₂O) variado entre 7,3 em N0 e 4,7 em N3.

O tratamento N3 apresentou valores de carbono orgânico facilmente oxidável (determinado pelo método Walkley-Black) significativamente mais elevados que a modalidade testemunha tendo os valores variado entre 30,2 e 11,8 g kg⁻¹). O azoto total (N Kjeldahl) no solo registou um aumento significativo com a dose de azoto, tendo os valores variado entre 80,0 e 329,3 mg kg⁻¹. Também as frações de azoto facilmente mineralizável (KCl_F, KCl_Q e KCl_{F-Q}) aumentaram significativamente com a dose de azoto, tendo-se registado valores particularmente elevados associados à dose de azoto mas elevada (N3). Tendência semelhante foi registada na quantidade de nitratos extraídos com membranas de troca aniónica inseridas diretamente no solo. Em N0 registaram-se 18,2 mg L⁻¹ e em N3 365,8 mg L⁻¹.

Quadro 4: Efeito da aplicação de azoto em alguns parâmetros da fertilidade do solo, como pH, carbono orgânico determinado pelo método Walkley-black (CO), azoto Kjeldahl (N Kjel), NH_4^+ extraído com KCl a frio (KCl_F), KCl a quente (KCl_Q), e NH_4^+ hidrolisável (KCl a quente - KCl a frio, KCl_{Q-F}) e nitratos extraídos em membranas de troca aniônica ($\text{NO}_3^-_{\text{MTA}}$). Nas colunas, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Tratamento	pH (H_2O)	CO (g kg^{-1})	N Kjel (mg kg^{-1})	KCl_F ----- ($\text{mg NH}_4^+ \text{kg}^{-1}$)	KCl_Q ($\text{mg NH}_4^+ \text{kg}^{-1}$)	KCl_{Q-F} -----	$\text{NO}_3^-_{\text{MTA}}$ (mg L^{-1})
N0	7,3 a	11,8 b	80,0 c	7,0 b	22,8 b	15,8 b	18,2 b
N1	6,3 b	11,8 b	141,1 bc	7,4 b	14,1 b	6,8 b	59,7 b
N2	5,6 c	26,7 a	234,4 ab	8,4 b	14,3 b	5,8 b	59,2 b
N3	4,7 d	30,2 a	329,3 a	48,3 a	108,5 a	60,2 a	365,8 a

4.2. Fósforo

A avaliação do desempenho das árvores submetidas à aplicação de fósforo no ensaio Campo P1, através da medição do diâmetro das árvores do tronco, volume da canóia e lenha das podas anuais, originou resultados sem diferenças significativas para a modalidade testemunha (Figura 9). A variação no diâmetro do tronco entre junho de 2013 e novembro de 2016 foi de 3,6 e 3,2 cm nos tratamentos -P e +P, respectivamente (Figura 9a)). O volume da canóia atingiu os valores médios de 2,5 e 2,3 m³, respectivamente nos tratamentos -P e +P. As lenhas de poda anuais revelaram valores crescentes ao longo dos anos, tendo as médias acumuladas de matéria seca dos quatro anos atingido os valores de 2448,4 e 2388,1 g árvore⁻¹.

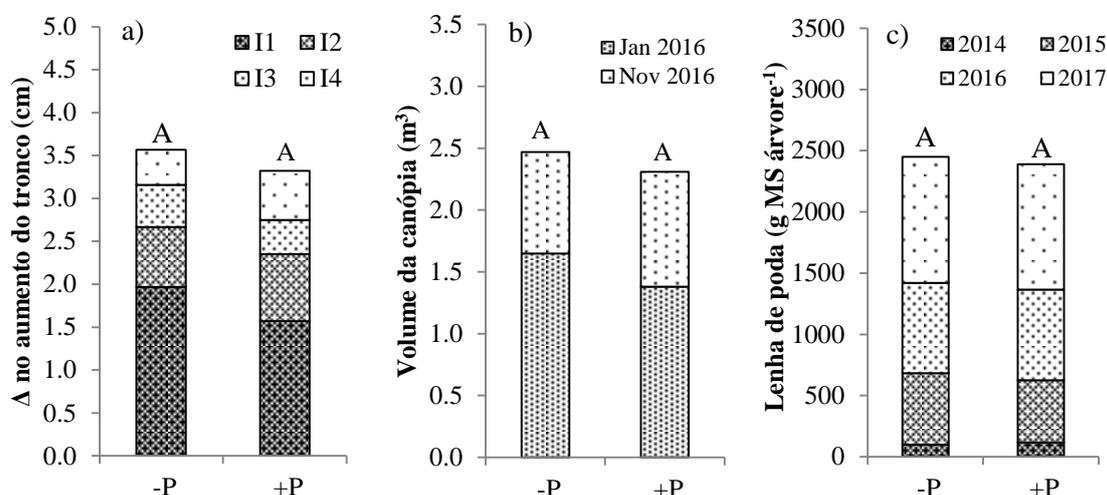


Figura 9: a) Variação (Δ) no aumento do diâmetro do tronco em quatro intervalos consecutivos (I1, junho 2013 - outubro de 2014; I2, - julho 2015; I3, - dezembro de 2015; I4, - novembro 2016), b) volume da canóia estimado em duas datas, e c) lenha de poda nos períodos de repouso de 2014-2017, em função dos tratamentos fertilizantes. As letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre os tratamentos fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma de todos os registos de cada parâmetro.

Os tratamentos fertilizantes +P e -P também não originaram diferenças significativas na produção de azeitona em nenhum dos anos individualmente nem no total acumulado (Quadro 5). A produção acumulada nos três anos de ensaio atingiu 2,21 e 2,12 kg árvore⁻¹, respectivamente nos tratamentos +P e -P. Outros componentes do produção, tais como o peso seco de frutos e a relação polpa/caroço e também as

concentrações de fósforo na polpa e no caroço, não variaram significativamente com os tratamentos (Quadro 5).

Quadro 5: Produção, dados biométricos dos frutos e concentrações de fósforo na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de fósforo. Dentro de cada ano e nas linhas, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

	2014		2015		2016	
	-P	+P	-P	+P	-P	+P
Produção (kg árvore ⁻¹)	0,25 a	0,19 a	0,66 a	1,06 a	1,28 a	1,21 a
Massa de um fruto (g)	4,45 a	4,66 a	3,65 a	3,67 a	1,72 a	1,97 a
Relação polpa/caroço	1,36 a	1,27 a	1,94 a	1,86 a	1,45 a	1,49 a
P na polpa (g kg ⁻¹)	1,38 a	1,22 a	1,19 a	1,16 a	1,18 a	1,16 a
P no caroço (g kg ⁻¹)	0,32 a	0,32 a	0,33 a	0,48 a	0,50 a	0,53 a

A concentração de fósforo nas folhas não variou significativamente entre os tratamentos -P e +P. Todos os valores médios se situaram dentro do intervalo das concentrações adequadas estabelecidas para a cultura (1 a 3 g kg⁻¹) (Figura 10). Tal como os parâmetros já anteriormente apresentados, neste ensaio, a concentração de fósforo nas folhas mostrou pouca sensibilidade à aplicação de fósforo ao solo.

Os resultados da análise foliar para outros macro (azoto, potássio, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, cobre, ferro, zinco e manganês) também não revelou diferenças significativas entre as modalidades de aplicação de P pelo que os dados não foram apresentados.

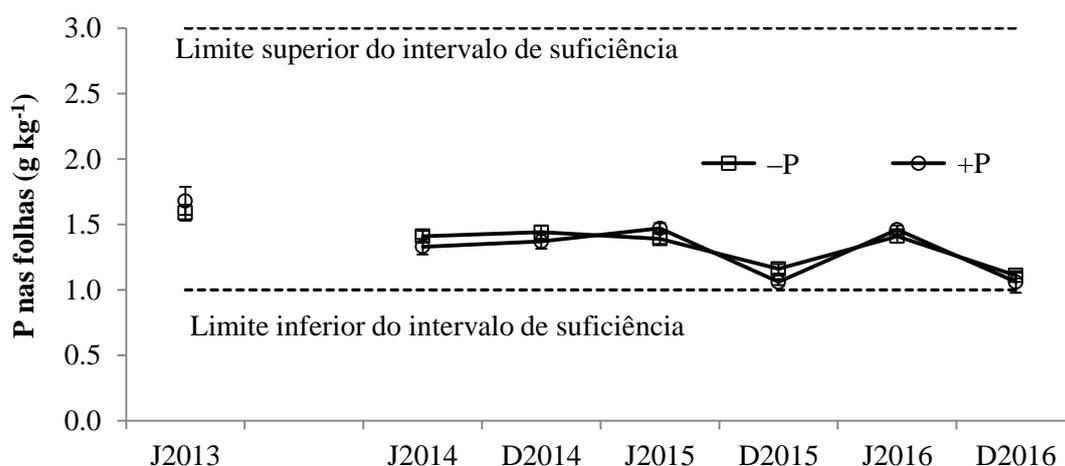


Figura 10: Concentrações de fósforo nas folhas em julho (J) e dezembro (D) para o ensaio campo P1. As linhas a tracejado representam os limites inferior e superior do intervalo de suficiência estabelecido para a oliveira. As barras de erro são os desvios padrão da média.

No fim do ensaio foram determinados diversos parâmetros da fertilidade do solo a partir de amostras de terras colhidas em três profundidades, 0-5 cm, 5-10 cm e 10-20 cm (Quadro 6). A aplicação de fósforo não influenciou significativamente o pH em água nem o carbono orgânico facilmente oxidável, tal como apresentado no quadro 6. Também não influenciou significativamente o pH determinado em KCl e CaCl₂, o carbono orgânico total determinado por incineração e diversos outros parâmetros do solo não apresentados. Contudo, a aplicação de fósforo influenciou de forma significativa o teor de fósforo no solo determinado por quatro métodos de extração diferentes, designadamente pelos métodos do lactato de amónio, Olsen, Mehlich 3 e resinas de troca aniónica. A atividade da fosfatase ácida, por seu lado, não foi afetada pela aplicação de fósforo ao solo.

Por outro lado, todos os parâmetros avaliados apresentaram variação significativa ao longo do perfil do solo com diferenças significativas entre profundidades (Quadro 6). A camada superficial do solo (0-5 cm) apareceu mais ácida (pH 5,65) em comparação com as camadas mais profundas (6,12 na camada 5-10 cm e 6,13 na profundidade 10-20 cm). O carbono orgânico facilmente oxidável diminuiu significativamente ao longo do perfil do solo, de um valor médio de 11,7 para 6,1 g kg⁻¹, respetivamente nas camadas de solo 0-5 cm e 10-20 cm. Todos os métodos de extração revelaram valores de fósforo extraídos particularmente elevados na camada superficial. Usando como exemplo o método de extração do lactato de amónio, por ser aquele que é utilizado em rotina em Portugal nos sistemas de recomendação de fertilização, os valores decresceram de 192,3 para 60,3 mg P₂O₅ kg⁻¹, respetivamente nas camadas 0-5 cm e 10-20 cm.

Também a atividade da fosfatase ácida diminuiu significativamente ao longo do perfil do solo (123,5, 104,9 e 13,8 µg dm⁻³ nas camadas 0-5, 5-10 e 10-20 cm, respetivamente), tal como ocorreu com o fósforo extraível pelos quatro métodos, e com o carbono orgânico.

No segundo ensaio de campo (Campo P2) registaram-se concentrações de fósforo nas folhas significativamente mais elevadas nas parcelas fertilizadas com fósforo em comparação com a testemunha em duas das quatro datas de amostragem (Figura 11 a). Contudo, a produção de matéria seca após três anos de crescimento não foi significativamente diferente entre os dois tratamentos, tendo os valores estado ligeiramente acima de 500 g árvore⁻¹ (Figura 11 b). O fósforo recuperado na biomassa aérea, que é função da produção de matéria seca e da concentração de fósforo nos de

tecidos, também não variou significativamente com os tratamentos fertilizantes, atingindo-se valores próximos de 0,35 g árvore⁻¹ (Figura 11 c).

Quadro 6: pH (H₂O), carbono orgânico oxidável (CO), fósforo extraído pelos métodos lactato de amônio (P_{LA}), Olsen (P_{Ols}), Mehlich 3 (P_{Meh}), resina de permuta iônica (P_{Res}) e atividade da fosfatase ácida (FA) em função do tratamento fertilizante e profundidade do solo. Nas colunas, dentro da dose de aplicação de P ou camada do solo, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Dose P	pH	CO	P _{LA} (P ₂ O ₅)	P _{Ols} (P)	P _{Meh} (P)	P _{Res} (P)	FA
	(H ₂ O)	(g kg ⁻¹)	mg kg ⁻¹				($\mu\text{g dm}^{-3}$)
P0	5,95 a	9,0 a	48,5 b	8,0 b	34,1 b	16,1 b	76,8 a
P1	5,98 a	8,7 a	184,0 a	30,2 a	101,9 a	46,3 a	84,7 a
Prof.							
0-5 cm	5,65 b	11,7 a	192,3 a	30,5 a	102,8 a	47,3 a	123,5 a
5-10 cm	6,12 a	8,7 b	96,1 b	18,8 ab	62,5 b	28,2 b	104,9 b
10-20 cm	6,13 a	6,1 c	60,3 b	8,0 b	38,7 b	18,0 b	13,8 c

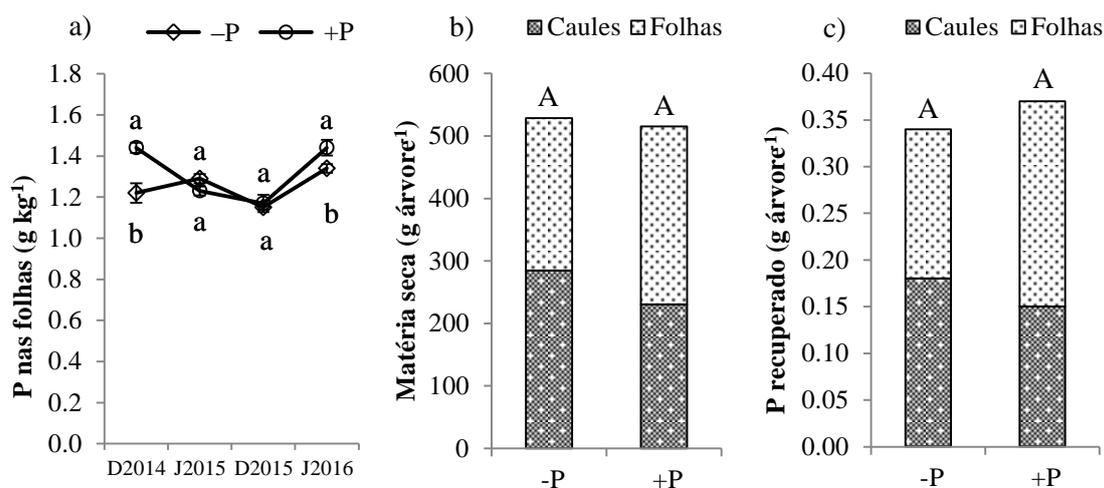


Figura 11: a) Concentração de fósforo nas folhas de dezembro (D) de 2014 a julho (J) de 2016, b) produção de matéria seca separada em caules e folhas e c) fósforo recuperado na biomassa aérea separada em caules e folhas em função dos tratamentos fertilizantes. As letras minúsculas a) são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) e as letras maiúsculas sobre as colunas b) e c) são também o resultado da análise de variância para a soma dos caules e folhas do respectivo parâmetro.

No ensaio em vasos em que se ensaiaram quatro doses de fósforo (Vasos P1), não se registraram diferenças significativas na produção de matéria seca entre os quatro tratamentos de aplicação de fósforo para qualquer um dos três anos da experiência e

partes da planta (caules, folhas e raízes) ou biomassa total (Figura 12). Em 2016, quando se arrancaram as plantas e se incluiu a matéria seca da raiz, a produção de biomassa seca total variou entre 37,4 g vaso⁻¹ (P0) e 35,1 g vaso⁻¹ (P3).

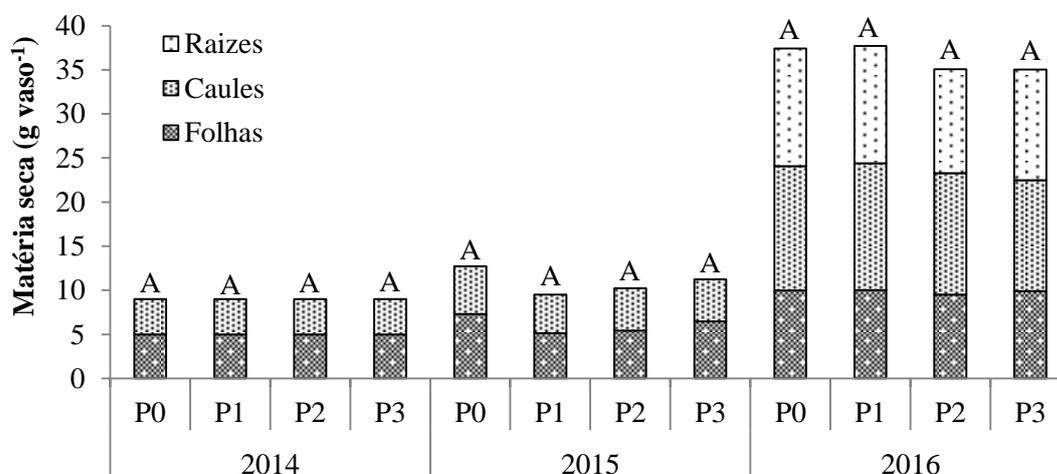


Figura 12: Produção de matéria seca separada nas partes da planta caules e folhas (2014-2015) e raízes (2016) para cada uma das três estações de crescimento em função dos tratamentos de fertilização. Dentro de cada ano, as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre os tratamentos de fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma das partes da planta.

No ensaio Vasos P1, apesar de não terem sido registradas diferenças significativas na produção de biomassa entre os diferentes tratamentos, registaram-se diferenças significativas na concentração de fósforo nos tecidos (Figura 13). A concentração de fósforo nos tecidos aumentou significativamente em todas as partes da planta (folhas, caules e raízes) com a dose de aplicação de fósforo. A testemunha (P0) mostrou concentrações de fósforo nos tecidos significativamente mais baixas nas folhas, caules e raízes do que as modalidades fertilizadas. As concentrações de fósforo nas folhas e nos caules apresentaram uma curva de saturação, enquanto as concentrações de fósforo na raiz aumentaram de forma consistente até às doses mais elevadas de fósforo. A concentração de fósforo nas raízes variou de 0,72 a 1,52 g kg⁻¹, respectivamente nas modalidades P0 e P3.

As concentrações de fósforo nas folhas foram mais elevadas do que as concentrações de fósforo nos caules para todas as doses de aplicação de fósforo, enquanto as concentrações de fósforo nas raízes se mantiveram mais elevadas que nas folhas com exceção da modalidade testemunha.

A análise de outros macro (azoto, potássio, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, cobre, ferro, zinco e manganês) analisados revelaram reduzida sensibilidade à aplicação de fósforo, sem diferenças significativas ou tendência consistente para qualquer dos nutrientes e tecidos, pelo que os dados não foram apresentados.

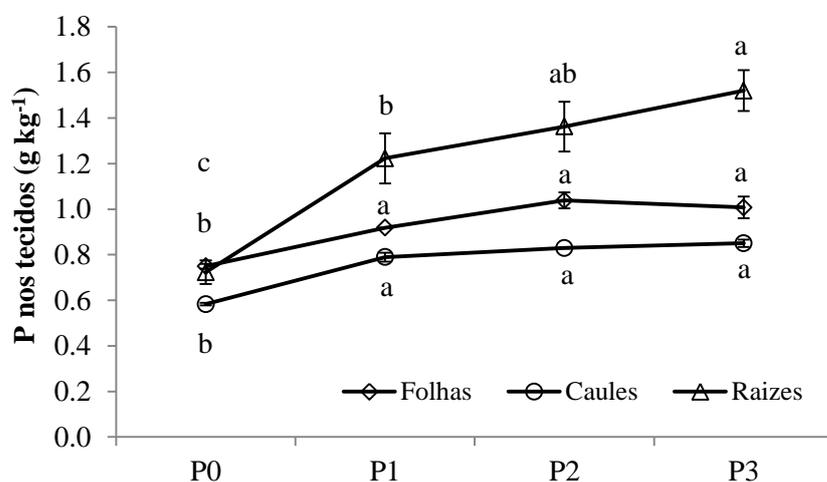


Figura 13: Concentração de fósforo nas folhas, caules e raízes em função dos tratamentos de aplicação de fósforo do ensaio vasos P1. As barras de erro são o desvio padrão da média. As letras são o resultado da análise de variância e do teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$) para cada tecido vegetal comparando os diferentes tratamentos.

No fim do ensaio Vasos P1 foram determinados parâmetros diversos da fertilidade do solo, tendo alguns dos mais importantes sido apresentados no quadro 7. A aplicação de fósforo aumentou de forma significativa o pH do solo, tendo os valores da testemunha (6,41) sido significativamente mais baixos que os valores das três modalidades fertilizadas (6,93, 6,93 e 6,88, respetivamente em P1, P2 e P3). A aplicação de fósforo exerceu também um efeito positivo significativo no aumento do carbono facilmente oxidável, tendo as modalidades fertilizadas registado valores significativamente mais elevados que a testemunha.

O fósforo extraído pelos quatro métodos de extração utilizados aumentou significativamente com a dose de fósforo aplicada. As diferenças foram marcadas com qualquer dos métodos. Tomando como exemplo o método do lactato de amónio, aquele que é usado em rotina em Portugal, os valores médios registados foram de 22,8, 442,9, 497,1 e 556,6 mg P_2O_5 kg^{-1} , respetivamente para P0, P1, P2 e P3. Estes resultados originariam uma classificação de muito baixos para P0 e muito altos para todas as modalidades fertilizadas.

A atividade da fosfatase ácida, por seu lado, não revelou sensibilidade à aplicação de fósforo, não tendo ocorrido diferenças significativas entre tratamentos. O potássio e o boro extraíveis, outras análises efetuadas nestas amostras, não mostraram diferenças significativas entre tratamentos.

Quadro 7: pH (H₂O), carbono orgânico oxidável (CO), fósforo extraído pelos métodos lactato de amónio (P_{LA}), olsen (P_{Ols}), mehlich 3 (P_{Meh}), resina de permuta iónica (P_{Res}) e atividade da fosfatase ácida (FA) em função dos tratamentos fertilizantes. Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Dose P	pH	CO	P _{LA}	P _{Ols}	P _{Meh}	P _{Res}	FA
	(H ₂ O)	(g kg ⁻¹)	(P ₂ O ₅)	(P)	(P)	(P)	(µg dm ⁻³)
P0	6,41 b	3,2 b	22,8 d	0,0 c	10,2 d	2,56 c	33,1 a
P1	6,93 a	3,7 ab	442,9 c	17,3 b	328,0 c	26,11 b	32,0 a
P2	6,93 a	3,8 a	497,1 b	27,4 a	522,2 b	27,95 b	27,7 a
P3	6,88 a	3,8 a	556,6 a	30,0 a	717,0 a	37,03 a	30,8 a

A utilização de resinas de troca aniónica no ensaio em Vasos P1 permitiu extrair fósforo inorgânico com elevado significado biológico. Os resultados mostraram um aumento significativo de PO₄⁻³ extraído com resinas de troca aniónica com o aumento da dose de fósforo aplicado (Figura 14). Os valores médios variaram de 0,13 a 2,32 mg L⁻¹, respetivamente nos tratamentos P0 e P3.

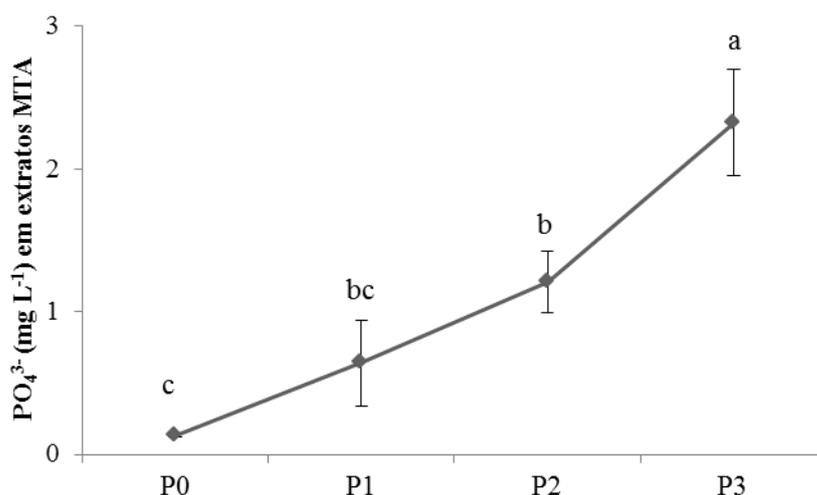


Figura 14: Concentração de fosfato em extratos de membranas de troca aniónica (MTA) inseridas no solo em função dos tratamentos de aplicação de fósforo do ensaio Vasos P1. As barras de erro são o desvio padrão da média. As letras são o resultado da análise de variância e do teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A segunda experiência em vasos (Vasos P2) foi instalada em blocos casualizados com dois tratamentos fertilizantes (P0 e P1) e quatro solos diferentes como blocos. No ensaio Vasos P2, a aplicação de fósforo aumentou significativamente a produção total de matéria seca nos três anos do ensaio (Figura 15). A produção de matéria seca total (folhas + caules) em 2015 foi de 15,78 e 20,55 g vaso⁻¹ e em 2016 de 18,36 e 21,72 g vaso⁻¹, respectivamente nos tratamentos P0 e P1. Em 2017 a produção de matéria seca total (folhas + caules + raízes) foi de 44,26 g vaso⁻¹ na testemunha e 59,45 g vaso⁻¹ na modalidade P1.

Quando a produção de matéria seca foi analisada separadamente nas diferentes partes da planta também ocorreram diferenças significativas. Em 2015 ocorreram diferenças significativas nas folhas (7,60 g vaso⁻¹ em P0 e 10,86 g vaso⁻¹ em P1), em 2016 nos caules (8,68 g vaso⁻¹ em P0 e 10,80 g vaso⁻¹ em P1) e em 2017 nas folhas (12,20 e 14,32 g vaso⁻¹ em P0 e P1, respectivamente).

As diferenças entre solos (blocos) começaram a ocorrer apenas em 2016 (Figura 15). Em 2016 e 2017, foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes solos na produção de matéria seca de folhas, caules e total, com os solos S1 e S3 a apresentarem valores mais elevados e S2 e S4 os mais baixos.

A aplicação de fósforo alterou significativamente a relação entre as diferentes partes da planta (Figura 16). A aplicação de fósforo parece ter estimulado o desenvolvimento do sistema radicular na medida que as relações raiz/folha e raiz/parte aérea aumentaram significativamente com a aplicação de fósforo. Por sua vez, a relação entre folhas e caules não se alterou significativamente com a fertilização de fósforo.

A concentração de fósforo nos tecidos aumentou significativamente com a aplicação de fósforo em todas as partes da planta (Figura 17). Na modalidade testemunha, as concentrações de fósforo nas folhas, caules e raízes foram bastante semelhantes (1,28, 1,20 e 1,28 g kg⁻¹, respectivamente). No entanto, com a aplicação de fósforo, a concentração de fósforo na raiz (2,66 g kg⁻¹) aumentou muito mais do que a concentração de fósforo nas folhas (1,60 g kg⁻¹) e caules (1,67 g kg⁻¹). A análise destes tecidos para outros macro (azoto, potássio, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, cobre, ferro, zinco e manganês) não revelou diferenças significativas entre os tratamentos de fertilização de fósforo e não foram apresentados.

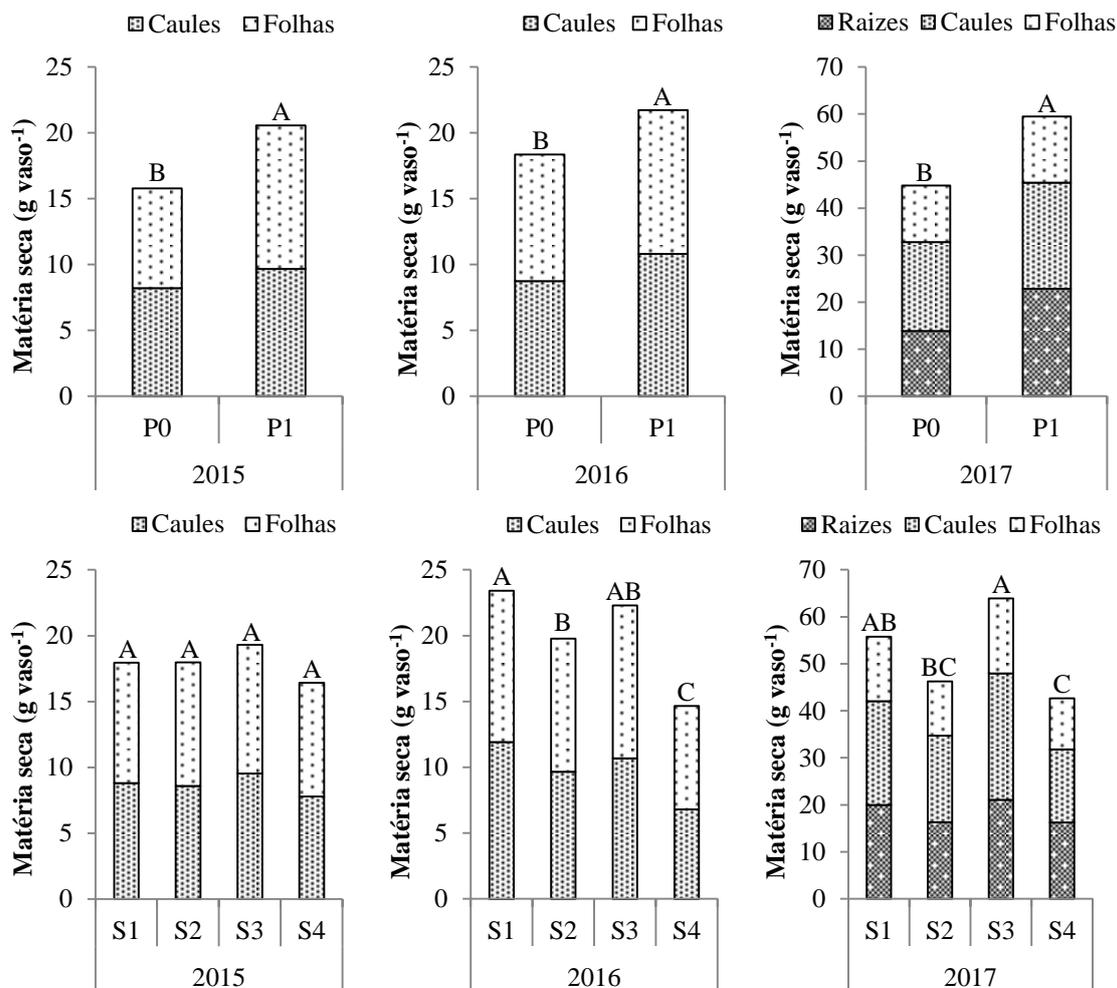


Figura 15: Produção de matéria seca no segundo ensaio em vasos em função dos tratamentos de aplicação de fósforo (painéis superiores) e dos solos (painéis inferiores). Para cada figura individual, as letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) e do teste Tukey HSD ($\alpha < 0,05$) para a soma das partes da planta.

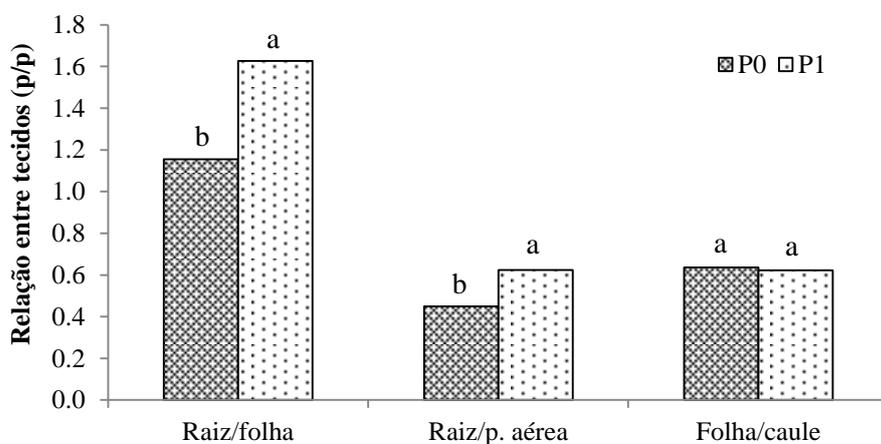


Figura 16: Relação entre os tecidos em função dos tratamentos fertilizantes P0 e P1 no ensaio Vasos P2. Para cada relação, médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

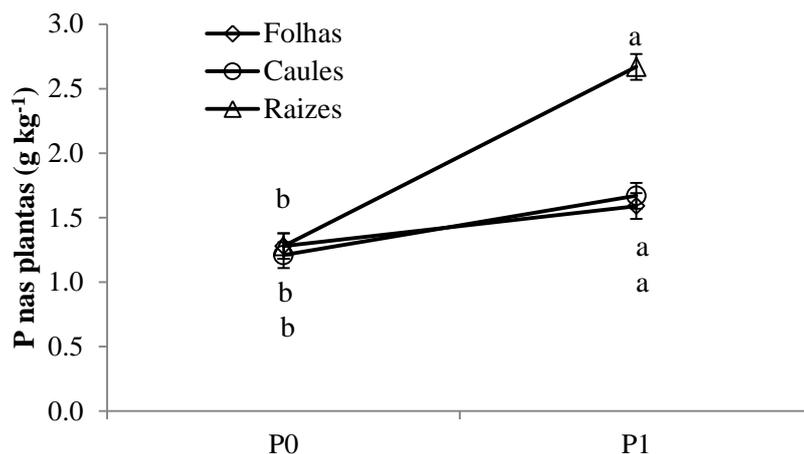


Figura 17: Concentração de fósforo nos tecidos no ensaio Vasos P2 em função do tratamento fertilizante. As barras de erro são os desvios padrão da média. Para cada tecido, médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

No fim do ensaio Vasos P2 foram determinados parâmetros diversos da fertilidade do solo. Alguns dos resultados mais relevantes foram apresentados no quadro 8. A aplicação de fósforo como fertilizante aumentou significativamente o pH do solo (em P0 registou um pH de 5,89 e em P1 de 6,14) e reduziu significativamente o carbono orgânico facilmente oxidável (em P0 1,96 g kg⁻¹ e em P1 1,82 g kg⁻¹). Também foram encontradas diferenças significativas no pH (H₂O) nos diferentes solos, com os valores a variar entre 5,61 (S3) e 6,55 (S4) e no carbono facilmente oxidável com valores a variar entre 1,05 e 2,60 g kg⁻¹, respetivamente nos solos S2 e S3.

A aplicação de fósforo aumentou de forma significativa o fósforo extraído por qualquer um dos quatro métodos usados. Uma vez mais usando como exemplo o método do lactato de amónio, os valores variaram de 109,7 e 448,6 mg kg⁻¹, respetivamente nos tratamentos P0 e P1 (Quadro 8).

Nesta experiência, a atividade da fosfatase ácida reduziu-se de forma significativa com a aplicação de fósforo ao solo, tendo os valores variado entre 108,3 e 256,3 µg dm⁻³, respetivamente em P1 e P0.

Os solos usados nesta experiência também diferiram significativamente no fósforo extraível determinado por qualquer um dos quatro métodos utilizados. Foi também registada atividade da fosfatase ácida significativamente diferente nos solos utilizados nesta experiência (Quadro 8).

Quadro 8: pH (H₂O), carbono orgânico facilmente oxidável (CO), fósforo extraído pelos métodos lactato de amônio (P_{LA}), Olsen (P_{Ols}), Mehlich 3 (P_{Meh}), resina de permuta iônica (P_{Res}) e atividade da fosfatase ácida (FA) em função do tratamento fertilizante e do solo. Nas colunas, dentro da dose de fósforo ou solo, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey hsd ($\alpha = 0,05$).

Dose P	pH (H ₂ O)	CO (g kg ⁻¹)	P _{LA} (P ₂ O ₅)	P _{Ols} (P)	P _{Meh} (P)	P _{Res} (P)	FA ($\mu\text{g dm}^{-3}$)
			----- (mg kg ⁻¹) -----				
P0	5,89 b	1,96 a	109,7 b	20,4 b	57,8 b	12,3 b	256,3 a
P1	6,14 a	1,82 b	448,6 a	63,4 a	174,5 a	42,0 a	108,3 b
Solo							
S1	5,96 b	1,49 b	269,5 b	51,6 b	97,5 b	22,9 a	159,2 b
S2	5,91 bc	1,05 c	164,9 c	17,2 d	75,0 b	25,4 a	63,7 c
S3	5,61 c	2,60 a	273,0 b	32,0 c	193,7 a	24,7 a	75,2 c
S4	6,55 a	2,42 a	409,2 a	66,9 a	98,3 b	35,6 a	431,1 a

4.3. Potássio

A primeira experiência de campo (Campo K1) revelou ausência de efeito significativo da aplicação de potássio nos três parâmetros de crescimento das árvores analisados, designadamente variação no diâmetro do tronco, volume da canóia e lenha de poda (Figura 18). O acréscimo no diâmetro do tronco durante o período de ensaio registou os valores médios de 3,3 e 3,2 cm nos tratamentos -K e +K, respetivamente. O volume da canóia atingiu os valores médios de 2,4 e 2,3 m³, respetivamente em -K e +K. A lenha de poda, por sua vez, atingiu valores médios de matéria seca acumulada de 2,2 e 2,3 kg, respetivamente nos tratamentos -K e +K.

A produção de azeitona no ensaio Campo K1 não variou significativamente com a aplicação de potássio em nenhum dos anos (Quadro 9) ou com a soma dos três anos. Outros componentes de produção, tais como a massa dos frutos, a concentração de potássio nos frutos separados entre a polpa e o caroço também não variaram significativamente com a aplicação de potássio ao solo, bem como a concentração de outros nutrientes determinados nos frutos.

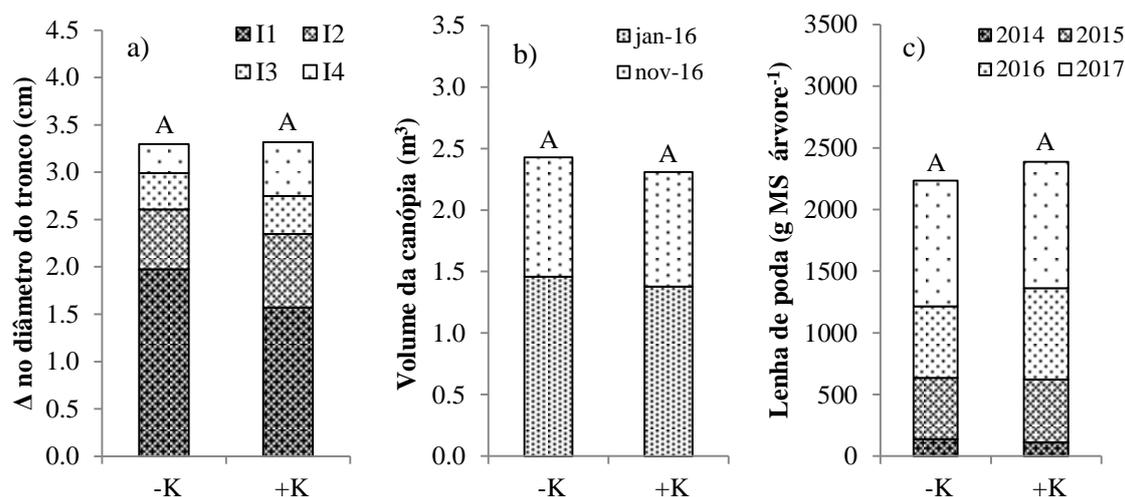


Figura 18: a) Variação (Δ) do aumento do diâmetro do tronco em quatro intervalos consecutivos (I1, junho 2013 - outubro 2014; I2, - julho 2015; I3, - dezembro de 2015; I4, - novembro 2016), b) volume da canópiã estimado em duas datas e c) lenha de poda nos períodos de repouso vegetativo dos anos 2014-2017, em função dos tratamentos de aplicação de potássio. As letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre tratamentos fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma de todos os registos de cada parâmetro.

Quadro 9: Produção, dados biométricos dos frutos e concentrações de potássio na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de potássio. Dentro de cada ano e nas linhas, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

	2014		2015		2016	
	-K	+K	-K	+K	-K	+K
Produção (kg árvore ⁻¹)	0,34 a	0,19 a	0,88 a	1,06 a	1,64 a	1,22 a
Massa de um fruto (g)	4,55 a	4,66 a	3,91 a	3,67 a	1,65 a	1,97 a
Relação polpa/caroço	1,35 a	1,27 a	2,12 a	1,86 a	1,41 a	1,49 a
K na polpa (g kg ⁻¹)	14,20 a	12,31 a	14,41 a	12,81 a	12,47 a	12,30 a
K no caroço (g kg ⁻¹)	2,20 a	2,01 a	3,60 a	3,44 a	3,30 a	3,45 a

De uma maneira geral, a concentração de potássio nas folhas não variou significativamente entre os tratamentos -K e +K (Figura 19). Os níveis de potássio nas folhas situaram-se sempre acima da zona de deficiência (4 g kg⁻¹) e muitas vezes acima do limite inferior de concentrações adequadas (8 g kg⁻¹). A concentração de outros macro e micronutrientes nas folhas e também diversas relações testadas entre potássio e outros nutrientes, particularmente cálcio e magnésio, não revelaram diferenças significativas entre os tratamentos pelo que os dados não foram apresentados.

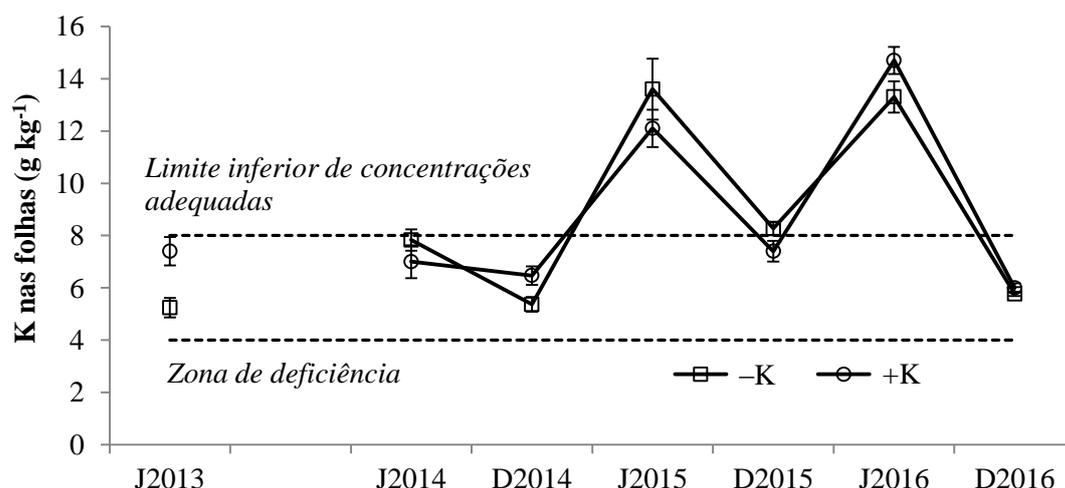


Figura 19: Concentração de potássio nas folhas em julho (J) e dezembro (D) no ensaio campo K1. As linhas a tracejado identificam a zona de deficiência e o limite inferior da zona de concentrações adequadas estabelecidas para a concentração de potássio nas folhas de oliveira. As barras de erro são os desvios padrão da média.

Em contraste com todos os parâmetros determinados nas plantas, a aplicação de potássio ao solo aumentou de forma significativa o potássio disponível no solo determinado pelos métodos do lactato de amónio (134,9 e 193,2 mg kg⁻¹ em -K e +K, respetivamente) e do acetato de amónio (0,34 e 0,44 Cmol_c kg⁻¹ em -K e +K, respetivamente) (Figura 20).

O teor de potássio no solo diminuiu significativamente das camadas mais superficiais (0-5 cm) para as mais profundas (10-20 cm), quer determinado pelo método do lactato de amónio (227,5, 152,2 e 112,5 mg kg⁻¹ nas camadas 0-5, 5-10 e 10-20 cm, respetivamente) quer do acetato de amónio (0,53, 0,35 e 0,28 Cmol_c kg⁻¹ na camada 0-5, 5-10 e 10-20 cm, respetivamente) (Figura 20).

Os principais resultados registados no ensaio Campo K2 estão resumidos na Figura 21. Os resultados mostram algumas diferenças relativamente ao ensaio Campo K1. Neste caso, a aplicação de potássio às jovens plantas resultou em concentrações significativamente mais elevadas de potássio nos tecidos em comparação com a testemunha nas quatro datas de amostragem durante o período experimental. Na última data, por exemplo, nos tratamentos +K e -K as folhas apresentaram uma concentração de potássio de 13,0 e 10,9 g kg⁻¹, respetivamente.

A aplicação de potássio não aumentou significativamente a quantidade de matéria seca na parte aérea, embora o valor médio tenha sido mais elevado na modalidade

fertilizada. Por sua vez, o potássio recuperado na biomassa aumentou de forma significativa relativamente à testemunha devido ao efeito sobre a concentração do nutriente nos tecidos. Nesta experiência foram recuperados respetivamente 1,75 e 3,05 g árvore^{-1} nas modalidades $-K$ e $+K$.

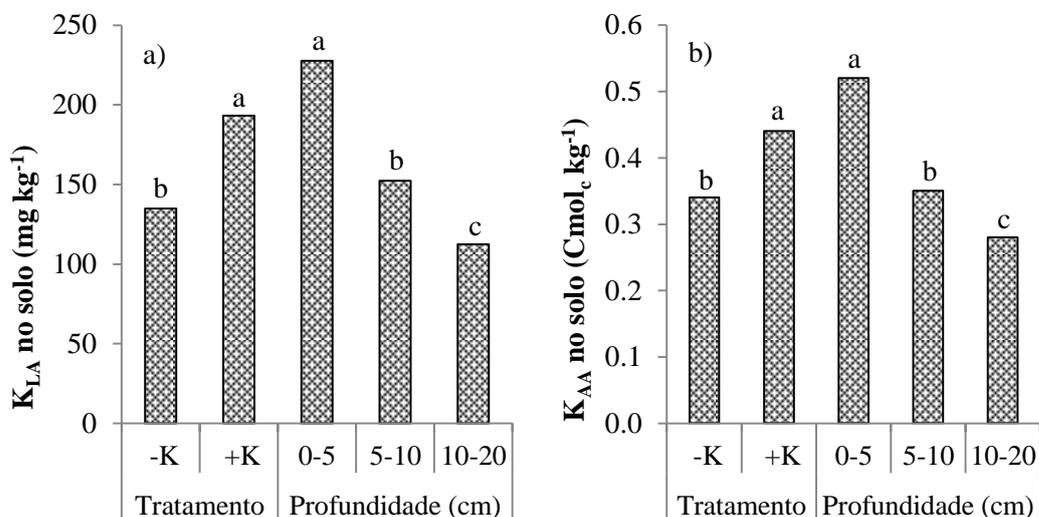


Figura 20: Potássio no solo determinado pelos métodos a) lactato de amónio (K_{LA}) e b) acetato de amónio (K_{AA}) em função do tratamento fertilizante ($-K$, $+K$) e profundidade do solo. Dentro da dose de potássio e da profundidade do solo, as letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância e do teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

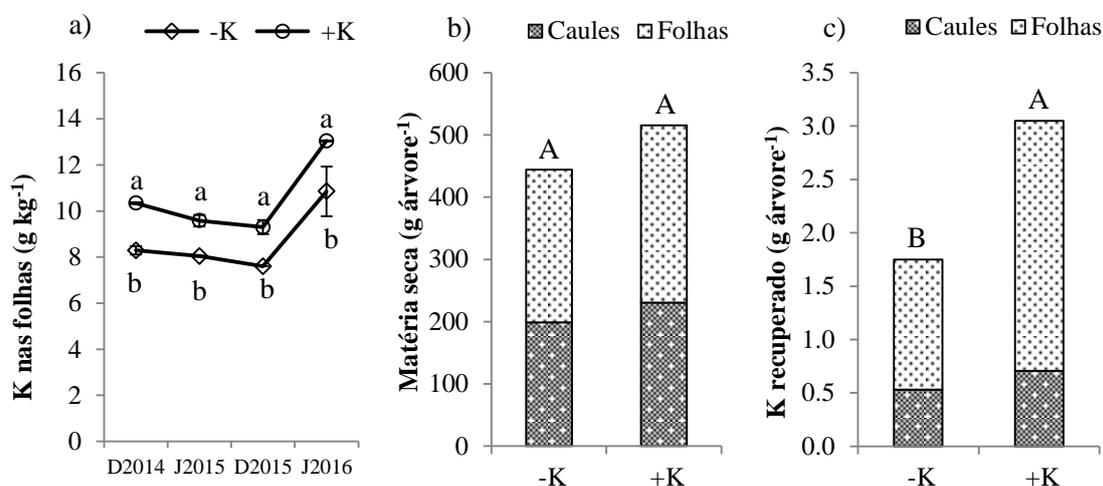


Figura 21: a) Concentração de potássio nas folhas de dezembro (D) de 2014 a julho (J) de 2016, b) produção de matéria seca e c) potássio recuperado na biomassa aérea em função do tratamento fertilizante ($-K$, $+K$), no segundo ensaio de campo. As letras minúsculas a) são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) e as letras maiúsculas sobre as colunas b) e c) são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) para a soma de caules e folhas do respetivo parâmetro.

As análises aos restantes macro (azoto, fósforo, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, cobre, ferro zinco e manganês) não revelou efeito significativo

da aplicação de potássio nem qualquer tendência coerente, incluindo as outras bases de troca, pelo que os resultados não foram apresentados.

No primeiro ensaio em vasos, em que se utilizaram três doses de potássio (Vasos K1), a matéria seca produzida não variou significativamente com a dose de potássio em qualquer das partes da planta (folhas, caules ou raízes) nem na soma das partes (Figura 22 a). A matéria seca associada ao segundo corte, que incluiu a raiz, variou entre 50,6 e 54,5 g vaso⁻¹, respetivamente nos tratamentos K0 e K1. Apesar de não terem sido registadas diferenças significativas entre as diferentes partes das plantas em função do tratamento fertilizante, a relação entre a parte aérea e a raiz sofreu aumentos significativos com o aumento da dose de potássio, em particular a relação caule/raiz e a relação entre a totalidade da parte aérea (folhas + caules) e a raiz.

A concentração de potássio nos tecidos também aumentou significativamente com o aumento da dose de potássio. Nos tratamentos K0, K1 e K2 as folhas apresentaram teores de potássio de 6,96, 11,19 e 11,85 g kg⁻¹ respetivamente e os caules 6,22, 9,71 e 10,07 g kg⁻¹. No entanto, a concentração de potássio nas raízes aumentou proporcionalmente mais do que na parte aérea, sendo muito baixa no tratamento K0 (2,86 g kg⁻¹) e aproximando-se dos níveis nas folhas no tratamento K2 (11,16 g kg⁻¹) (Figura 22). Os diferentes solos utilizados nesta experiência tiveram um efeito limitado nos parâmetros determinados nas plantas pelo que os resultados não foram apresentados.

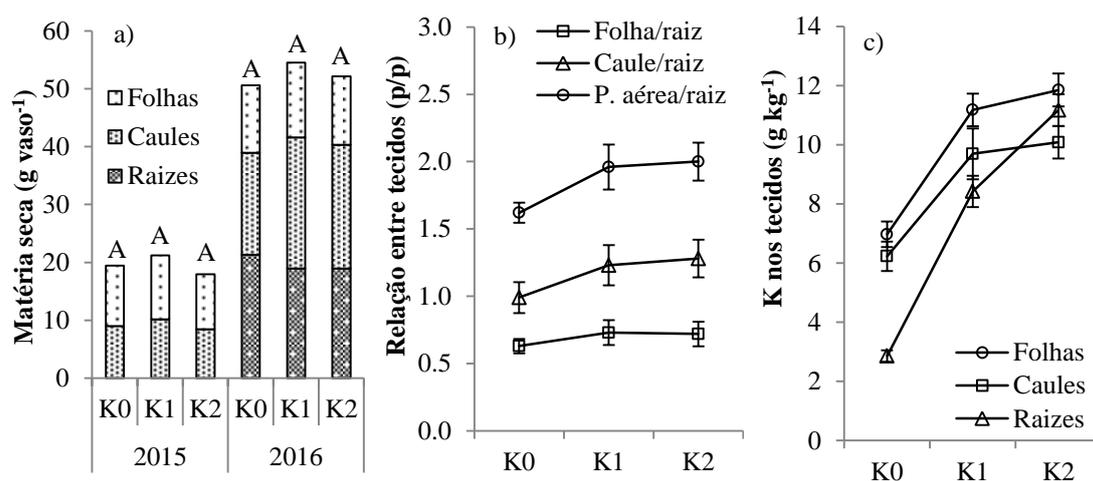


Figura 22: a) Produção de matéria seca, b) relação entre os tecidos e c) potássio nos tecidos vegetais em função do tratamento fertilizante. As letras maiúsculas a) são o resultado da análise de variância dentro de cada ano para a soma das partes da planta (sem diferenças significativas entre os tratamentos) e as barras de erro b) e c) são os desvios padrão da média.

A aplicação de potássio ao solo aumentou significativamente o nível de potássio no solo quando avaliado pelos métodos do lactato de amónio, Mehlich 3 e acetato de amónio (Quadro 10). Pelo método do lactato de amónio, que é utilizado em Portugal em rotina nos laboratórios, os valores médios registados foram 79,1, 150,9 e 236,1 mg K₂O kg⁻¹, respetivamente nos tratamentos K0, K1 e K2. Também foram encontradas diferenças significativas entre solos (blocos nesta experiência), refletindo as diferenças originais entre solos no início da experiência (Quadro 1), embora os resultados não se tenham refletido significativamente nas plantas. O solo VKS2 apresentou valores inferiores de potássio no solo pelos três métodos (82,8 mg kg⁻¹, 68,9 mg kg⁻¹ e 0,5 Cmol_c kg⁻¹, pelo método de lactato de amónio, Mehlich 3 e acetato de amónio respetivamente), refletindo as diferenças das amostras originais entre os solos.

Quadro 10: Efeito da aplicação de potássio em parâmetros da disponibilidade de potássio no solo, determinado pelos métodos lactato de amónio (K_{AL}), Mehlich 3 (K_{Meh}) e acetato de amónio (K_{AA}). Nas colunas, dentro da dose de potássio ou solo, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Dose K	K _{AL}	K _{Meh}	K _{AA}	Solo	K _{AL}	K _{Meh}	K _{AA}
	----mg kg ⁻¹ ----				----mg kg ⁻¹ ----		
K0	79,1 c	58,5 b	0,4 b	VKS1	157,0 b	138,5 b	0,6 b
K1	150,9 b	123,7 b	0,6 b	VKS2	82,8 c	68,9 b	0,5 b
K2	236,1 a	256,3 a	1,0 c	VKS3	226,3 a	231,3 a	0,9 a

No ensaio Vasos K2, o stresse hídrico imposto no delineamento experimental reduziu significativamente a produção da matéria seca acumulada na totalidade da planta (39,53 g planta⁻¹) em comparação com as plantas bem irrigadas (56,85 g planta⁻¹) (Figura 23 a). Pelo contrário, a aplicação de potássio não aumentou a produção da matéria seca em comparação com a testemunha tendo os valores médios acumulados na totalidade da planta variado de 47,2 a 49,4 g planta⁻¹, respetivamente nos tratamentos -K e +K. Entre cultivares foram encontradas diferenças significativas com ‘Arbequina’ a apresentar maior produção média de matéria seca do que ‘Cobrançosa’, sendo os valores 65,7 e 31,0 g planta⁻¹, respetivamente.

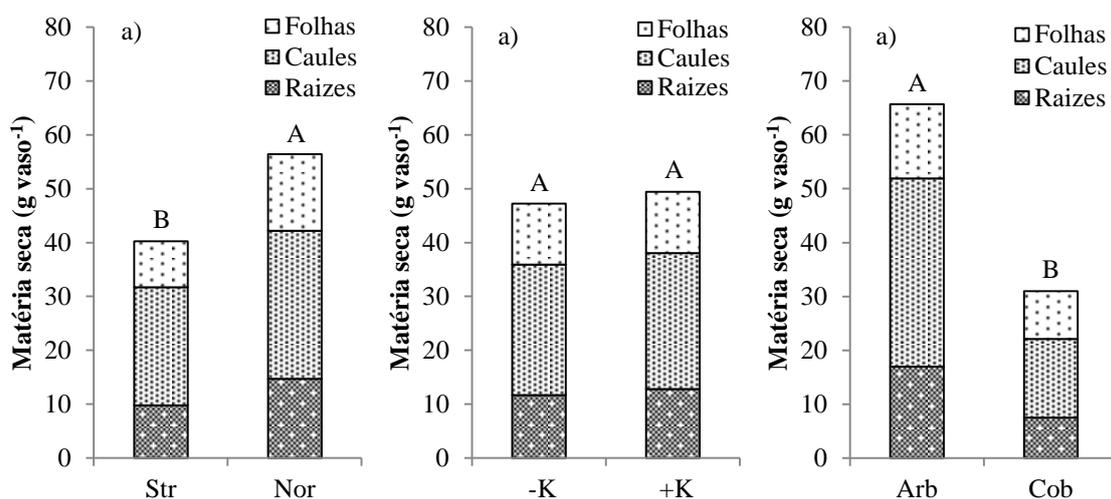


Figura 23: Produção de matéria seca nas diferentes partes da planta em função do regime hídrico (Stresse, Str, Normal, Nor), b) tratamento fertilizante (-K, + K) e c) cultivar ('Arbequina', Arb, 'Cobrançosa', Cob). As letras maiúsculas sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$) para a soma das partes da planta.

Na experiência Vasos K2, a concentração de potássio nos tecidos variou significativamente com todos os fatores em estudo (regime hídrico, aplicação de potássio e cultivares) e, em geral, em todas as partes da planta (folhas, caules e raízes) (Quadro 11). Nas folhas a concentração de potássio foi significativamente mais elevada nas plantas sujeitas a stresse ($14,2 \text{ g kg}^{-1}$) em comparação com o tratamento normal ($11,6 \text{ g kg}^{-1}$), nas plantas tratadas com K ($14,5 \text{ g kg}^{-1}$) relativamente à testemunha ($11,3 \text{ g kg}^{-1}$) e na cv. 'Arbequina' ($13,6 \text{ g kg}^{-1}$) em comparação com 'Cobrançosa' ($12,3 \text{ g kg}^{-1}$). Também nos caules a concentração de potássio foi significativamente mais elevada nas plantas sob stresse ($11,6 \text{ g kg}^{-1}$) em comparação com o tratamento normal ($8,3 \text{ g kg}^{-1}$), nas plantas tratadas com K ($11,0 \text{ g kg}^{-1}$) relativamente à testemunha ($8,9 \text{ g kg}^{-1}$), e na cv. 'Arbequina' ($10,7 \text{ g kg}^{-1}$) em comparação com 'Cobrançosa' ($9,2 \text{ g kg}^{-1}$). Nas raízes, essa tendência só foi mantida com a aplicação de potássio (+ K registou $7,6 \text{ g kg}^{-1}$ e -K $4,1 \text{ g kg}^{-1}$). Ao contrário da parte aérea, nas raízes as concentrações mais elevadas de K foram registadas nas plantas que não foram submetidas a stresse hídrico ($6,8 \text{ g kg}^{-1}$) em comparação com as plantas irrigadas ($4,9 \text{ g kg}^{-1}$). Entre as cultivares, não houve diferenças significativas nas concentrações de potássio nas raízes, embora os valores médios tenham sido mais elevados na cv. 'Cobrançosa' (6 g kg^{-1}), em contraste com o que ocorreu na parte aérea.

No solo, os valores de potássio extraível mais elevados foram registados no tratamento sujeito a stresse (valores de potássio de $86,9$ e $67,4 \text{ mg kg}^{-1}$ pelo método de

lactato de amônio, respetivamente nos tratamentos stresse e normal). Os vasos fertilizados apresentaram valores de potássio no solo mais elevados (90,1 mg kg⁻¹) em comparação com a testemunha (64,2 mg kg⁻¹). A cultivar não influenciou significativamente a disponibilidade de potássio no solo.

Quadro 11: Concentração de potássio nos tecidos e valores de potássio do solo em função do regime hídrico (Stresse, Normal), tratamento (-K, + K) e cultivar ('Arbequina', 'Cobrançosa'). Nas colunas, dentro de cada fator de variação, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$).

Tratamento	Concentração de K nos tecidos			Teor de K no solo		
	Folhas	Caules	Raízes	K _{LA}	K _{Meh}	K _{AA}
	----- g kg ⁻¹ -----			----- mg kg ⁻¹ -----		Cmol _c kg ⁻¹
Stresse	14,2 a	11,6 a	4,9 b	86,9 a	70,0 a	0,285 a
Normal	11,6 b	8,3 b	6,8 a	67,4 b	58,9 b	0,267 b
-K	11,3 b	8,9 b	4,1 b	64,2 b	50,5 b	0,245 b
+K	14,5 a	11,0 a	7,6 a	90,1 a	78,4 a	0,307 a
Arbequina	13,6 a	10,7 a	5,7 a	78,0 a	63,8 a	0,273 a
Cobrançosa	12,3 b	9,2 b	6,0 a	76,3 a	65,1 a	0,279 a

A densidade do tecido foliar (D), geralmente vista como o índice de esclerofilia, aumentou de forma marcada nas plantas sujeitas a stresse ao longo do período sem irrigação (Figura 24). Nas primeiras medições os valores variaram de 424,6 a 592,6 g kg⁻¹ e na segunda medição entre 507,1 e 667,7 g kg⁻¹. Nas plantas mantidas com irrigação a variação foi bastante menor oscilando entre 369,0 e 387,5 g kg⁻¹ e entre 415,2 e 455,6 g kg⁻¹, respetivamente na primeira e segunda medições. A densidade de tecido foliar não variou de forma significativa em função do tratamento fertilizante e da cultivar tendo aumentado nas duas situações à medida que o stresse hídrico se foi manifestando.

O conteúdo relativo em água (CRA) sofreu uma grande redução durante os períodos de stresse hídrico nas plantas sujeitas a stresse. Por outro lado, a adição de potássio não influenciou o CRA das folhas, sendo os valores bastante semelhantes entre os dois tratamentos fertilizantes. As cultivares, por seu turno, mostraram diferenças no CRA, tendo 'Arbequina' mostrado valores inferiores aos de 'Cobrançosa', embora as diferenças não tenham aumentado ao longo dos períodos de stresse hídrico.

O conteúdo de água à saturação (CAS) diminuiu nas folhas das plantas sujeitas a stresse durante os ciclos sem irrigação. O efeito do suprimento de potássio não foi

significativo, e ‘Arbequina’ apresentou valores mais elevados que ‘Cobrançosa’, embora as diferenças entre as duas cultivares também não tenham aumentado durante os períodos de stresse hídrico.

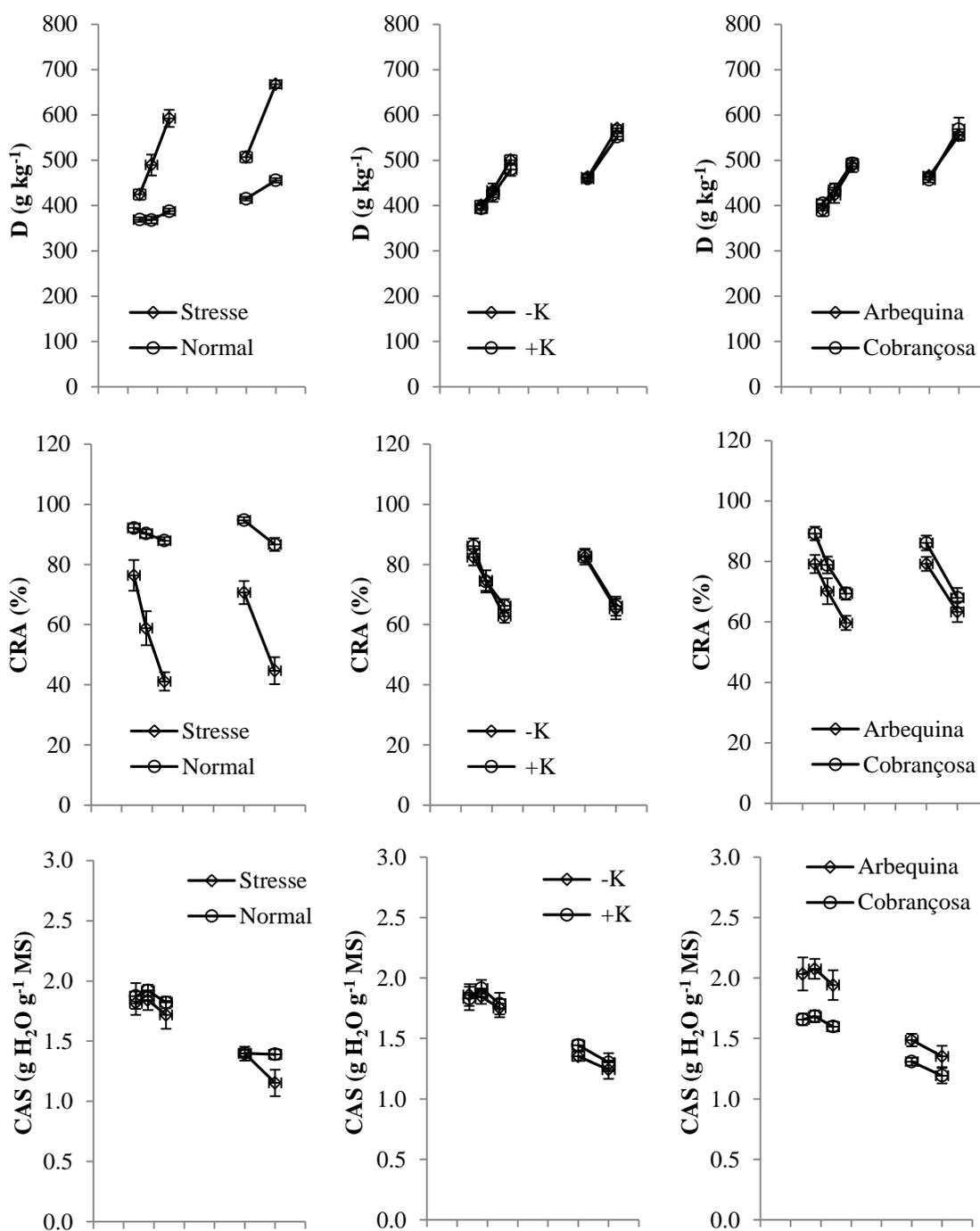


Figura 24: Densidade do tecido foliar (D), conteúdo relativo de água (CRA) e conteúdo de água à saturação (CAS), em função do regime de água, do tratamento fertilizante e da cultivar. As barras de erro são os desvios padrão da média.

Os parâmetros medidos e estimados de fluorescência da clorofila *a* em 12 de julho de 2016 são referentes à data mais afastada do início do período de stresse hídrico

correspondente. Os resultados são apresentados no Quadro 12. As outras datas de amostragem exibiram resultados com uma tendência similar pelo que não são apresentados. O stresse hídrico teve uma influência significativa em todos os parâmetros medidos e estimados. Os valores médios de F0 foram menores nas plantas não submetidas a stresse hídrico (213,9 e 263,7 respectivamente nos tratamentos normal e stresse), enquanto para todos os outros parâmetros foram encontrados valores mais elevados em plantas sujeitas a stresse hídrico. O fornecimento de potássio não teve influência significativa sobre nenhum dos parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila *a* e fluorescência transiente OJIP, embora +K apresente valores tendencialmente mais elevados que – K.

Os valores médios de F_V/F_M e F_V/F_0 foram significativamente mais elevados para a cultivar 'Cobraçosa' (0,791 e 3,85, respectivamente) em comparação com 'Arbequina' (0,676 e 2,79, respectivamente) enquanto os valores médios de O (374,2 e 323,7, respectivamente para 'Arbequina' e 'Cobraçosa') e F0 (253,0 e 215,5, respectivamente para 'Arbequina' e 'Cobraçosa') apresentaram tendência contrária.

Quadro 12: Parâmetros medidos e estimados de fluorescência da clorofila *a* e da fluorescência transiente OJIP em 12 de julho de 2016, 14 dias após o início do ciclo sem rega. Nas colunas, dentro de cada fator de variação, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$).

Tratamento	O	J	I	F _M	F ₀	F _V /F _M	F _V /F ₀
Stresse	359,6 a	497,8 b	705,9 b	792,3 b	263,7 a	0,650 b	2,11 b
Normal	338,4 a	581,4 a	1016,1 a	1178,8 a	213,9 b	0,818 a	4,53 a
-K	340,1 a	529,1 a	848,4 a	971,3 a	234,6 a	0,724 a	3,35 a
+K	357,9 a	549,8 a	873,6 a	999,7 a	242,9 a	0,744 a	3,29 a
Arbequina	374,2 a	545,4 a	823,9 a	938,4 a	253,0 a	0,676 b	2,79 b
Cobraçosa	323,7 b	533,8 a	898,1 a	1036,3 a	215,5 b	0,791 a	3,85 a

4.4. Boro

A aplicação de boro ao solo não originou resposta significativa na produção de azeitona no ensaio Campo B1, embora tenha havido tendência para a produção aumentar com a aplicação de boro nos últimos anos de ensaio (Quadro 13). Outros componentes de produção como o peso fresco dos frutos e a relação polpa/caroço também não variaram significativamente com as modalidades de aplicação de boro. Contudo, as concentrações de boro na polpa foram significativamente mais elevadas na modalidade adubada com boro (por exemplo, 18,01 e 5,84 g kg⁻¹, respetivamente em +B e -B em 2016). Os teores de boro no caroço também foram significativamente mais elevados no tratamento +B comparativamente com a testemunha (10,23 e 5,69 g kg⁻¹, respetivamente em +B e -B em 2016).

Quadro 13: Produção de azeitona, dados biométricos dos frutos e concentrações de boro na polpa e no caroço em três colheitas consecutivas (2014-2016) em função da aplicação de boro. Dentro de cada ano e nas linhas médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha=0,05$).

	2014		2015		2016	
	-B	+B	-B	+B	-B	+B
Produção (kg árv ⁻¹)	0,56 a	0,19 a	0,95 a	1,06 a	0,96 a	1,21 a
Massa de um fruto (g)	4,26 a	4,66 a	3,49 a	3,67 a	1,41 a	1,97 a
Relação polpa/caroço	1,27 a	1,27 a	1,99 a	1,86 a	1,39 a	1,49 a
B na polpa (g kg ⁻¹)	7,5 b	12,9 a	8,83 b	20,84 a	5,84 b	18,01 a
B no caroço (g kg ⁻¹)	7,97 b	11,1 a	6,52 b	9,85 a	5,69 b	10,23 a

A lenha de poda (Figura 25) e outros parâmetros como o diâmetro do tronco e o volume da canópia (não apresentados) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos -B e +B. Contudo, a concentração de boro nos tecidos obtidos na poda (folhas e caules) foi mais elevada na modalidade com boro. Em 2017 as concentrações de boro nas folhas foram de 14,32 e 13,18 mg kg⁻¹, e nos caules de 15,56 e 12,01 mg kg⁻¹, respetivamente em +B e -B. Na modalidade fertilizada, os teores de boro nos caules da lenha de poda de 2015, 2016 e 2017 foram mais elevados que nas folhas correspondentes ao mesmo evento de poda (Figura 25).

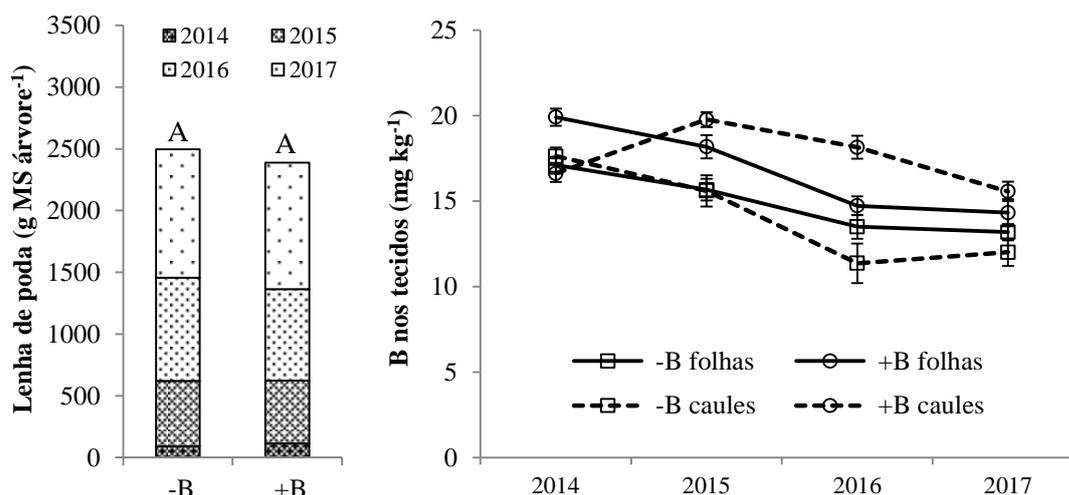


Figura 25: Lenha de poda obtida durante o período de repouso vegetativo dos anos 2014-2017 e concentração de boro na lenha de poda. As letras maiúsculas sobre das colunas são o resultado da análise de variância (sem diferenças significativas entre tratamentos fertilizantes, $\alpha < 0,05$) para a soma de todos os registos de cada parâmetro. As barras de erro são os desvios padrão da média.

De uma maneira geral a análise de folhas colhidas nas datas e pelos procedimentos padrão revelou concentrações mais elevadas de boro no tratamento com aplicação de boro relativamente à testemunha (Figura 26). Em ambas as modalidades de fertilização, a concentração de boro nas folhas foi mais baixa nas amostragens de Inverno. A modalidade não fertilizada apresentou frequentemente valores médios de boro nas folhas de Inverno abaixo do limite inferior do intervalo de suficiência (15 mg kg^{-1}) (Figura 26).

A análise foliar para macronutrientes (azoto, fósforo, potássio, cálcio e magnésio) e outros micronutrientes (cobre, ferro, zinco e manganês) não revelou diferenças significativas entre as modalidades de aplicação de boro, não sendo os dados apresentados.

A aplicação de boro ao solo no ensaio Campo B1 aumentou o boro extraível no solo ($2,56 \text{ mg kg}^{-1}$) em comparação com a testemunha ($0,53 \text{ mg kg}^{-1}$) (Quadro 14). O teor de boro no solo diminuiu significativamente da camada superficial ($2,17 \text{ mg kg}^{-1}$) para as mais profundas ($1,34$ e $1,13 \text{ mg kg}^{-1}$, respetivamente nas profundidades 5-10 e 10-20 cm).

O tratamento com aplicação de boro apresentou valores significativamente superiores de matéria seca de nabíça ($22,0 \text{ g vaso}^{-1}$), de boro nos tecidos ($29,7 \text{ mg kg}^{-1}$) e boro recuperado ($0,65 \text{ mg vaso}^{-1}$) em relação à testemunha ($8,3 \text{ g vaso}^{-1}$, $24,4 \text{ mg kg}^{-1}$

e $0,23 \text{ mg vaso}^{-1}$, respetivamente para matéria seca, boro nos tecidos e boro recuperado) (Quadro 14).

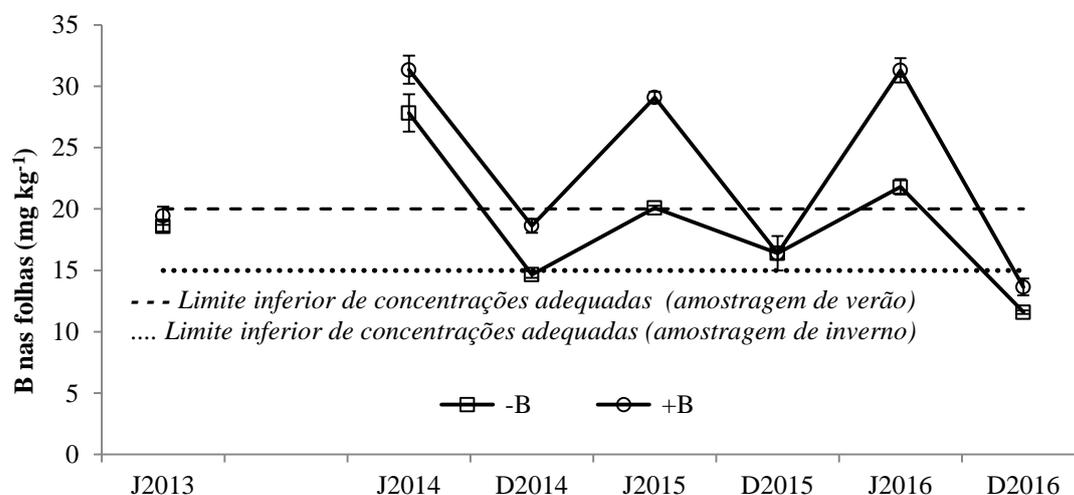


Figura 26: Concentração de boro nas folhas em julho (j) e dezembro (d) no ensaio Campo B1. As linhas a tracejado e ponteadas são os limites inferiores do intervalo de suficiência estabelecidos para a oliveira, para amostras de Verão e Inverno, respetivamente. As barras de erro são os desvios padrão da média.

Quadro 14: Concentração de boro no solo em função do tratamento fertilizante e profundidade, e matéria seca, concentração de boro nos tecidos e boro recuperado na nabiça. Para boro no solo, entre tratamentos ou profundidades, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha < 0,05$). Para matéria seca e boro nas nabiças a comparação de médias é feita entre tratamentos nas colunas.

Boro no solo (mg kg^{-1})					
Tratamento		Prof. solo			
B0	B1	0-5 cm	5-10 cm	10-20 cm	
0,53 b	2,56 a	2,17 a	1,34 b	1,13 b	

Matéria seca e B nas nabiças			
Tratamento	Matéria seca (g vaso^{-1})	B tecidos (mg kg^{-1})	B recuperado (mg vaso^{-1})
B0	8,3 b	24,4 b	0,23 b
B1	22,0 a	29,7 a	0,65 a

Do ensaio Campo B2 são apresentados resultados da concentração de boro nas folhas, matéria seca produzida e boro recuperado na parte aérea (Figura 27). A concentração de boro nas folhas foi significativamente mais elevada na modalidade

fertilizada logo na segunda amostragem (em julho de 2016 as folhas dos tratamentos +B e -B apresentaram concentrações médias de boro de 29,87 e 20,88 mg kg⁻¹).

A aplicação de boro ao solo levou a um incremento significativo na produção de matéria seca, tendo os valores totais (folhas + caules) variando de 365,5 a 515,5 g árvore⁻¹, respectivamente nas modalidades -B e +B.

O boro recuperado nos tecidos foi significativamente mais elevado na modalidade fertilizada devido ao efeito cumulativo de maior concentração de boro nos tecidos e maior produção de matéria seca. Os valores totais acumulados (folhas + caules) variaram de 3,97 a 7,46 mg árvore⁻¹, respectivamente nas modalidades -B e +B.

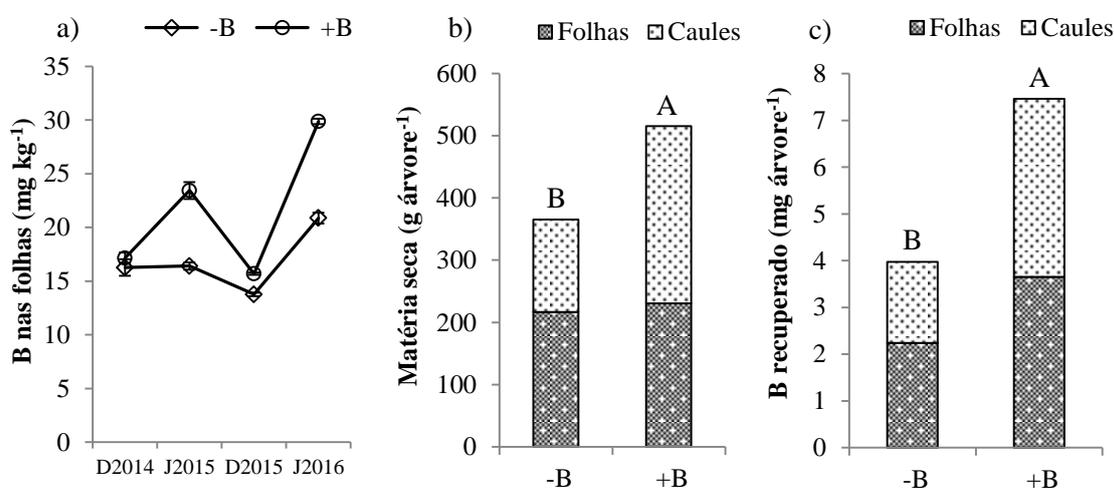


Figura 27: Concentração de boro nas folhas, produção de matéria seca e boro recuperado. As barras de erro são os desvios padrão da média. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância ($\alpha < 0,05$).

Na experiência vasos B1 ensaiaram-se três tratamentos, boro ao solo (B1), boro foliar (Bf) e testemunha (B0) e três solos diferentes, que foram incluídos no delineamento experimental como blocos. A análise de variância aos diferentes parâmetros analisados não identificou diferenças significativas entre blocos pelo que no quadro 15 se incluem apenas os resultados do efeito dos tratamentos.

A aplicação de boro ao solo originou concentrações de boro nos tecidos (folhas, caules e raiz) significativamente mais elevadas que Bf e este significativamente mais elevadas que B0. Em 2017 o tratamento B1 apresentou teores de boro em folhas, caules e raízes, respectivamente de 117,9, 124,3 e 124,5 mg kg⁻¹, Bf de 25,6, 26,8 e 32,6 mg kg⁻¹ e B0 de 14,5, 13,1 e 11,5 mg kg⁻¹.

O teor de boro no solo também diminuiu significativamente de B1 (6,26 mg kg⁻¹) para Bf (1,28 mg kg⁻¹) e deste para B0 (0,44 mg kg⁻¹) (Quadro 15).

Apesar das diferentes concentrações de boro nos tecidos e de teores de boro no solo, os tratamentos com boro não influenciaram significativamente a produção de matéria seca nas diferentes partes da planta.

Quadro 15: Teor de boro nos tecidos e no solo e matéria seca nas diferentes partes das plantas no ensaio vasos B1. Para a concentração de boro nos tecidos, boro no solo e produção de matéria seca, nas colunas, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Tratamento B	B nos tecidos (mg kg ⁻¹)				Raiz (mg kg ⁻¹)	B solo (mg kg ⁻¹)
	Folhas		Caules			
	2016	2017	2016	2017		
B0	14,6 c	14,5 c	16,2 c	13,1 c	11,5 c	0,44 b
B1	67,8 a	117,9 a	70,1 a	124,3 a	124,5 a	6,26 a
Bf	30,4 b	25,6 b	29,7 b	26,8 b	32,6 b	1,28 b
	Produção matéria seca (g vaso ⁻¹)					
B0	12,1 a	14,3 a	11,4 a	23,6 a	22,2 a	
B1	11,9 a	14,8 a	11,1 a	24,3 a	21,3 a	
Bf	13,2 a	14,4 a	11,7 a	26,6 a	25,2 a	

No ensaio Vasos B2 ensaiaram-se várias modalidades de adubação foliar com aplicação de boro à totalidade da parte aérea e apenas a partes bem definidas com determinação da concentração de boro nos tecidos molhados pela calda, não molhados e os que cresceram após a aplicação. O próprio sistema radicular foi analisado. No ensaio foram usadas duas cultivares, ‘Arbequina’ e ‘Cobrançosa’. A concentração de boro nas folhas foi apresentada no quadro 16, sendo as folhas velhas as que já estavam presentes no momento da aplicação da calda e as folhas jovens as que se desenvolveram posteriormente.

Nas plantas que receberam boro em toda a parte aérea, a cv. ‘Arbequina’ mostrou diferenças significativas no teor em boro nas folhas, sendo os valores mais elevados nas folhas velhas (29,8 mg kg⁻¹) que receberam calda. Na ‘Cobrançosa’ não se registaram diferenças significativas entre as folhas velhas e as folhas jovens. Quando a adubação foi parcial, nos ramos protegidos que não receberam calda, folhas velhas e folhas jovens não apresentam diferenças significativas na concentração de boro em qualquer das cultivares. Nos ramos molhados, na cv. ‘Cobrançosa’ também não se registaram

diferenças significativas entre folhas velhas e folhas jovens. Contudo, na cv. ‘Arbequina’ as folhas velhas que receberam calda apresentaram teores de boro (30,9 mg kg⁻¹) significativamente superiores aos registados nas folhas jovens (23,6 mg kg⁻¹).

Quadro 16: Concentração de boro em folhas posicionadas em várias partes da planta em função do modo de aplicação de boro foliar à parte aérea. Separadamente para cada cultivar, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha < 0,05$).

	Arbequina		Cobrançosa	
	Folhas velhas	Folhas jovens	Folhas velhas	Folhas jovens
	-----mg kg ⁻¹ -----			
Não adubadas	16,7 c	16,9 c	16,6 b	21,0 ab
Adubação foliar	29,8 a	23,0 b	25,0 a	27,8 a
Adubação foliar parcial				
Ramos protegidos	23,3 b	20,6 bc	21,0 ab	24,2 ab
Ramos molhados	30,9 a	23,6 b	26,2 a	27,9 a

No quadro 17 são apresentados os resultados da experiência Vasos B2 para a concentração de boro nos caules velhos (presentes no momento da aplicação da calda), jovens (de desenvolvimento posterior) e raízes e, de igual forma, para as duas cultivares ‘Arbequina’ e ‘Cobrançosa’.

Os caules jovens mostraram tendência para apresentar teores de boro mais elevados que os caules velhos, designadamente nas plantas com aplicação foliar total ou parcial de boro, surgindo diferenças significativas entre os dois tipos de tecidos na cv. ‘Cobrançosa’. Com adubação foliar à totalidade da parte aérea, caules velhos e caules jovens apresentaram concentrações de boro de 24,5 e 32,9 mg kg⁻¹, respetivamente. Com adubação foliar parcial, caules velhos e caules jovens dos ramos molhados, apresentaram concentrações médias de boro de 22,4 e 29,8 mg kg⁻¹, respetivamente.

Assim, surge uma diferença relevante entre as duas cultivares na concentração de boro em folhas e caules. Na ‘Arbequina’ as folhas velhas molhadas com a calda surgem mais concentradas que as folhas jovens de desenvolvimento posterior. Na ‘Cobrançosa’ os caules jovens surgem mais concentrados em boro nas plantas ou partes da planta que receberam diretamente boro foliar.

Nas raízes, as concentrações de boro aumentaram significativamente nas modalidades fertilizadas total ou parcialmente em comparação com a modalidade testemunha, quer na cv. ‘Arbequina’ quer na cv. ‘Cobrançosa’.

Quadro 17: Concentração de boro nos caules (C) e raízes na cultivar ‘Arbequina’ e ‘Cobraçosa’. Separadamente para cada cultivar, as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($\alpha < 0,05$).

	Arbequina			Cobraçosa		
	C velhos	C jovens	Raízes	C velhos	C jovens	Raízes
	-----mg kg ⁻¹ -----					
Não adubadas	18,1 b	20,6 b	12,0 b	18,2 cd	24,4 bc	11,7 b
Adubação foliar	29,3 a	31,5 a	21,4 a	24,5 bc	32,9 a	15,5 a
Adubação foliar parcial			19,2 a			15,9 a
Ramos protegidos	24,9 ab	29,1 a		17,8 b	29,3 ab	
Ramos molhados	25,1 ab	29,6 a		22,4 cd	29,8 ab	

Capítulo 5

Discussão

5. Discussão

5.1. Azoto

No ensaio Campo N1 as medições efetuadas nas árvores com vista a avaliar a expansão vegetativa em resposta à aplicação de azoto, designadamente o aumento do diâmetro do tronco, o volume da canóia e a lenha de poda, não permitiram detetar diferenças significativas entre tratamentos. Este resultado é um pouco inesperado na medida em que o azoto é visto como o elemento essencial que, de uma maneira geral, mais estímulo induz na expansão vegetativa das plantas (Varenes, 2003; Havlin et al., 2014; Santos, 2015). Contudo, o resultado pode entender-se melhor quando se observa o que ocorreu com a concentração de azoto nas folhas, em que apesar de pontualmente a modalidade mais fertilizada ter apresentado concentrações de azoto mais elevadas, os valores flutuaram nas duas modalidades sempre dentro da gama de concentrações adequadas para a oliveira, tal como estabelecidas na literatura internacional (Bryson et al., 2014; Fernández-Escobar et al., 2017). Tendo em conta que se trata de árvores jovens, parece que quantidades suficientes de azoto terão sido fornecidas pelo solo, com reduzido efeito da suplementação do fertilizante azotado.

Os dados biométricos dos frutos também não revelaram diferenças significativas entre tratamentos. Contudo, a concentração média de azoto nos frutos, quer na polpa quer no caroço (devido a este conter a semente) foram sempre mais elevadas nos tratamentos fertilizados, com diferenças significativas em dois anos e um ano, respetivamente. Assim, o aumento da disponibilidade de azoto na modalidade fertilizada terá contribuído para aumentar a concentração de azoto nos frutos mas sem que esse facto tenha alterado as suas características pomológicas. Em estudo anterior Fernández-Escobar et al. (2009b) também não encontraram efeito da aplicação de azoto no tamanho dos frutos.

A produção de azeitona registou diferenças significativas entre tratamentos em 2015, com valores médios mais elevados na modalidade fertilizada. Em 2014 e 2016 não ocorreram diferenças significativas entre tratamentos. Ao fim de três colheitas (2014-2016) a produção média acumulada não diferiu significativamente entre tratamentos ainda que a média tenha sido mais elevada na modalidade fertilizada. Nas últimas décadas quando se procurou registar o efeito da adubação azotada na produção

de azeitona nem sempre se têm encontrado resultados concordantes. Os estudos pioneiros de Hartmann et al. (1966) revelaram que o azoto exerceu efeito positivo na produtividade apenas em solos pouco férteis, não tendo registado diferenças de produtividade devido à aplicação de azoto em solos férteis. Ferreira et al. (1984) também registaram ganhos de produtividade pela aplicação de azoto apenas em áreas de elevado potencial produtivo, supostamente pelas plantas terem maiores necessidades em azoto. No mesmo sentido, Bouhafa et al. (2014) encontraram aumentos de produção em árvores adultas (> 35 anos) mas não em árvores jovens (7 a 9 anos) supostamente por estas árvores apresentarem menores necessidades em azoto. Outros investigadores registaram aumentos significativos de produção de azeitona quando compararam modalidades de fertilização azotada com modalidades sem aplicação de azoto em condições ecológicas e culturais variadas (Jasrotia et al., 1999; Morales-Sillero et al., 2009; Marcelo et al., 2010; Erel et al., 2008; 2013b; Rodrigues et al., 2011b; 2015).

Este conjunto de estudos parece mostrar de forma inequívoca a importância do azoto, embora em campo a resposta à aplicação do nutriente esteja dependente da disponibilidade de azoto no solo nas modalidades testemunha e eventualmente da baixa necessidade em azoto da espécie, que com se sabe apresenta valores de exportação na azeitona relativamente baixos (Rodrigues et al., 2012; Fernández-Escobar et al., 2015).

Foi também conduzida investigação que originou resultados em que a aplicação de azoto não aumentou a produção nas modalidades fertilizadas relativamente à testemunha. Fernández-Escobar et al. (2009a) não encontraram resposta na produtividade quando compararam modalidades fertilizadas com azoto e uma modalidade testemunha sem fertilização em ensaios com duração de 13 anos no sul de Espanha com a variedade 'Picual'. Em concordância, Fernández-Escobar et al. (2009b) também não encontraram diferenças no crescimento vegetativo, tamanho dos frutos, teor em óleo e produtividade, num estudo que envolveu quatro olivais e cinco anos de investigação. Em trabalho posterior, Fernández-Escobar et al. (2012) fundamentaram a falta de resposta à aplicação de azoto com base num estudo de balanços de azoto no agro-sistema em que estimaram que as quantidades de azoto mineral que entram no sistema via mineralização da matéria orgânica e na água da chuva será equivalente ao azoto que sai na azeitona e na lenha de poda.

As determinações analíticas efetuadas ao solo mais diretamente associadas ao ciclo do azoto, como carbono orgânico, azoto Kjeldahl, e azoto inorgânico extraído com

KCl a quente e a frio não revelaram diferenças significativas entre tratamentos, o que poderá indicar elevada suscetibilidade do azoto aplicado a sair do sistema. Contudo, quando se cultivou uma planta anual nitrófila (a nabiça) no início do Outono para servir de indicador de disponibilidade biológica de azoto, foram encontradas grandes diferenças entre tratamentos, com valores de produção de biomassa, teor de azoto nos tecidos e azoto recuperado significativamente mais elevados na modalidade fertilizada relativamente à modalidade testemunha. Tendo em conta que a nabiça foi cultivada entre setembro e janeiro, os resultados revelam a existência no solo de azoto particularmente vulnerável a sair do sistema por lixiviação ou desnitrificação com as chuvas de Inverno, apesar da adubação ter sido efetuada mais de meio ano antes, no fim do mês de março. As análises ao solo revelaram também que as camadas superficiais contêm mais azoto orgânico (potencialmente mineralizável) que as camadas profundas, o que pode em parte ajudar a justificar a limitada absorção pelas oliveiras durante o período seco estival, uma vez que a camada superficial se mantém desidratada durante o Verão. Este resultado parece revelar que a oliveira cultivada em sequeiro é pouco eficiente a absorver azoto disponível no solo durante o período estival, possivelmente condicionada pela forte desidratação da camada superficial do solo, ficando este azoto disponível para sair do sistema com as chuvas de Outono que se seguem, uma vez que o excesso de precipitação origina perdas de azoto por lixiviação (Mulla e Strock, 2008; Havlin et al., 2014) e desnitrificação (Kissel et al., 2008; Havlin et al., 2014) e justifica a importância que vem sendo dada nos últimos anos à introdução de coberturas vegetais que funcionam com *catch crops* para o azoto residual, quer em culturas anuais (Rodrigues et al., 2002), quer em culturas perenes (Ferreira et al., 2013; Rodrigues et al., 2013).

No ensaio Campo N2 avaliou-se o efeito da aplicação de azoto sobre o crescimento vegetativo inicial de jovens plantas de oliveira, estimado através da produção de matéria seca separada em caules e folhas e também a concentração de nutrientes nos tecidos e a exportação de nutrientes. Neste ensaio foi registado um estímulo no crescimento das plantas pela aplicação de azoto, que se traduziu em diferenças significativas na matéria seca de folhas e também na matéria seca total (folhas mais caules). A aplicação de azoto teve um efeito positivo modesto na concentração de azoto nas folhas, uma vez que em quatro datas de amostragem em apenas uma as diferenças foram significativas. Talvez o aumento de produção de matéria seca nas folhas tenha originado um efeito de diluição na concentração do

nutriente nas folhas, aspeto bem esclarecido desde trabalhos iniciais de nutrição mineral das plantas (Smith, 1962; Jarrel e Beverly, 1981), atenuando o efeito dos tratamentos. Os resultados de azoto exportado foram significativamente mais elevados na modalidade fertilizada em virtude da maior produção de massa de folhas a que se adiciona o ligeiro aumento da concentração de azoto nas folhas. As folhas são locais de acumulação de azoto nas plantas por excelência, uma vez que é nas folhas que se encontram as clorofilas, sendo estas estruturas que concentram a maior parte do azoto das células (Lopez-Cantarero et al., 1994; Rodrigues, 2000). Na área da nutrição vegetal e em sistemas de agricultura de precisão é frequente usar-se a intensidade da cor verde (que é uma medida indireta do teor de clorofila) para inferir sobre o estado nutricional azotado de um coberto vegetal aplicando índices de vegetação diversos (López-Bellido et al., 2012; Basyouni et al., 2015; Dunn et al., 2016; Afonso et al., 2018a).

A determinação da concentração de outros nutrientes (fósforo, potássio, cálcio, magnésio, boro, cobre, ferro, manganês e zinco) nas folhas e nos caules quer na experiência Campo N1 quer em Campo N2 não revelou tendências claras do efeito do azoto sobre a concentração nos tecidos de outros nutrientes, não ocorrendo de uma maneira geral diferenças significativas entre tratamentos. Provavelmente as doses de azoto utilizadas não originaram desequilíbrios nutricionais que interferissem de forma significativa com a concentração dos outros nutrientes nos tecidos.

A experiência Vasos N permitiu monitorizar a resposta da oliveira a diferentes doses de azoto através de três cortes de biomassa aérea ao longo de três estações de crescimento anuais, tendo o último corte incluído a parte radicular. No primeiro ano registou-se um ligeiro acréscimo de produção de biomassa da modalidade N0 para a modalidade N2 e decréscimo desta para a modalidade N3 sem contudo as diferenças terem significado estatístico. Nos segundo e terceiro anos esta tendência de acréscimo de N0 para N2 acentuou-se e as diferenças mostraram significado estatístico. A tendência de decréscimo de N2 para N3 manteve-se nos segundo e terceiro cortes mas sempre sem diferenças significativas. Este ensaio mostrou um curva típica de resposta ao azoto, em que a produção de biomassa aumenta enquanto a disponibilidade do elemento é limitante estabilizando num patamar ou até decrescendo quando se ultrapassam as doses de azoto ótimas (Rodrigues, 2000; Varennes, 2003; Santos, 2015). Em oliveira Fernández-Escobar et al. (2004) reportaram resultados de um ensaio em vasos em que aplicaram várias fontes de azoto, designadamente adubos de libertação lenta, e concluíram que a adubação azotada é necessária para o crescimento das plantas

ainda que se deva evitar usar azoto em excesso. O excesso de azoto deve ser evitado devido aos custos económicos do nutriente, mas também aos tremendos impactes ambientais a que pode estar associado quando ocorrem perdas para o meio ambiente (Scherer e Mengel, 2007; Werner, 2007). O azoto, sendo um macronutriente, normalmente não se lhe associam efeitos tóxicos diretos na vegetação, com exceção de situações particulares de disponibilidade excessiva de NH_3 ou NO_2^- no solo na fase de germinação das plantas (Santos, 2015). Contudo a perda de produção pelas doses excessivas de azoto pode dever-se a efeito salino e desequilíbrios nutricionais, sobretudo tendo em conta que as experiências decorreram em vasos onde os fenómenos são mais de reear. Erel et al. (2013b) registaram que o crescimento de oliveiras e a floração e vingamento dos frutos foram reduzidos por doses excessivas de azoto em ensaios em contentores com perlite como substrato.

O aumento da disponibilidade de azoto no solo aumentou a proporção de biomassa aérea relativamente à biomassa radicular e também a proporção de folhas relativamente à proporção de caules. Com azoto disponível no solo (e água, devido à rega regular dos vasos) a planta parece redirecionar preferencialmente os fotoassimilados para o aparato fotossintético em detrimento das raízes, tornando-se uma planta mais eficiente do ponto de vista fotossintético. Esta capacidade das plantas em alocar recursos a destinos (*sink*) prioritários dependendo das condições de crescimento, designadamente reduzir a proporção de raízes com o aumento de disponibilidade de azoto no solo está bem documentada (Hawkesford et al., 2012).

Na experiência em vasos a acumulação de azoto nos tecidos aumentou desde o primeiro corte e de forma significativa entre N0 e N3. As concentrações de azoto foram mais elevadas e aumentaram mais com o azoto aplicado nas folhas comparativamente com os caules. No terceiro corte, em que foram incluídas as raízes, verificou-se que a concentração de azoto nas raízes aumentou significativamente entre N0 e N3 tal como verificado para os caules. Nas raízes, os valores de concentração de azoto foram mais baixos que as concentrações em azoto nas folhas mas mais elevados que as concentrações de azoto nos caules. Este resultado demonstra que as folhas são órgãos prioritários na acumulação de azoto devido à presença da molécula da clorofila. Mostra também que o azoto é um elemento que pode ser usado pela planta em consumo de luxo (Varenes, 2003; Santos, 2015), aumentando a concentração nos tecidos para além das necessidades fisiológicas imediatas das plantas. Note-se que a concentração de azoto nos tecidos aumentou até à dose correspondente à modalidade N3 enquanto a produção

de biomassa só aumentou até à dose de azoto correspondente à modalidade N2. Por as raízes serem menos frequentemente amostradas em trabalhos de investigação, este resultado permite destacar a elevada importância da raiz na estratégia da planta em acumular azoto em consumo de luxo.

A aplicação de azoto no ensaio Vasos N teve um efeito marcado em algumas propriedades do solo. A acidez assentou-se significativamente com a aplicação de azoto, provavelmente devido à nitrificação da componente amoniacal do nitrato de amónio, pela libertação de prótons durante o processo (Osman, 2013; Santos, 2015). Foi também registado aumento significativo de carbono e azoto orgânico no solo. A maior disponibilidade de azoto terá estimulado o crescimento da biomassa microbiana e o desenvolvimento de algas nos vasos em extensão suficiente para aumentar a quantidade de carbono e de azoto imobilizado no solo. A determinação da fração mineral de azoto no solo através de extracções com KCl a quente e a frio e o uso de membranas de troca aniónica, revelou grande acréscimo de azoto mineral no solo apenas para a dose mais elevada, correspondente à modalidade N3. Nas doses inferiores, as plantas e a microbiologia do solo terão tido capacidade para imobilizar a maior parte do azoto aplicado. Assim, as perdas de azoto são sobretudo de recesso para doses superiores à capacidade de imobilização biológica no solo.

5.2. Fósforo

Na experiência Campo P1, a aplicação de fósforo não influenciou os parâmetros associados ao crescimento das árvores, designadamente o aumento do diâmetro do tronco, o volume da canópis ou a matéria seca da lenha de poda. De igual forma, os registos da produção anual de azeitona de 2014 a 2016, bem como a produção acumulada, também não variaram de forma significativa com os tratamentos fertilizantes. Outros parâmetros biométricos dos frutos como a sua massa e a relação polpa/caroço também não variaram significativamente com a aplicação de fósforo ao solo. No ensaio Campo P2 não foram registadas diferenças significativas na produção de biomassa na parte aérea (folhas, caules e total) em qualquer dos três anos de ensaio nem na biomassa total ao fim dos três anos de ensaio. Os resultados estão de certa forma de acordo com Hartmann et al. (1966) quando referem que não são conhecidos estudos que reportem resposta da oliveira à aplicação de fósforo em condições de campo. Autores de publicações mais recentes na forma de livros de texto, como Freeman e Carlson (2005), Gregoriou e El-Kholy (2010) e Fernández-Escobar et al. (2017), também são unânimes em considerar que não é frequente observar-se resposta à aplicação de fósforo em ensaios de campo.

Na primeira experiência em vasos (Vasos P1) em que se ensaiaram três doses de fósforo e uma modalidade testemunha também não se registaram diferenças significativas na produção de biomassa aérea (folhas, caules e total) em 2014 e 2015 nem em 2016 quando foi incluída a matéria seca da raiz. De qualquer forma, na segunda experiência em vasos (Vasos P2) foi registado aumento significativo de produção de matéria seca em 2015 e 2016 (folhas + caules) e em 2017 (folhas + caules + raízes). A experiência Vasos P2 diferiu da experiência vasos P1 na medida em que foram usados vários solos ácidos o que pode estar na origem da diferença nos resultados relativamente à experiência Vasos P1. Como se sabe, a acidez é um dos aspetos que pode restringir fortemente a disponibilidade do fósforo no solo (Chaney, 2007; Havlin et al., 2014). Como foi referido, em poucos estudos foram registados efeitos positivos no crescimento e produtividade da oliveira pela aplicação de fósforo. Contudo, Erel et al. (2013b), com base em estudos conduzidos em contentores com perlite como substrato, registaram aumentos de floração, vingamento de frutos, número de frutos por árvore e produção total de azeitona nos tratamentos fertilizados com fósforo relativamente à modalidade testemunha sem aplicação do nutriente. Deve notar-se que a perlite é um substrato

praticamente inerte em que as plantas ficam inteiramente dependentes do fornecimento exterior do nutriente. Também Centeno e Campo (2011) reportaram um ligeiro aumento de produtividade pela aplicação foliar de fósforo, ainda que em apenas um ano e em uma cultivar ('Arbequina'), num ensaio de dois anos com duas cultivares.

Na experiência Campo P1 a aplicação de fósforo não influenciou a concentração de fósforo nos frutos (polpa ou caroço). No ensaio Campo P1 também não foi claro o efeito da aplicação de fósforo na concentração de fósforo nas folhas. Se a concentração de fósforo nas folhas for comparada com o intervalo de concentrações críticas definidas para esta cultura, uma vez que as folhas foram colhidas de acordo com o procedimento padrão internacional (Bryson et al., 2014), pode verificar-se que as concentrações de fósforo nas folhas ao longo do tempo se situaram sempre dentro do intervalo de concentrações críticas (1 a 3 g kg⁻¹), quer as provenientes da modalidade fertilizada quer as procedentes da modalidade testemunha. Este resultado pode ajudar a compreender a falta de resposta no crescimento das árvores e na produção de azeitona à aplicação de fósforo, na medida em que as plantas da modalidade testemunha mantiveram os níveis de fósforo nas folhas dentro da zona de concentrações adequadas.

Na experiência Campo P2, e sobretudo nas experiências em vasos (Vasos P1 e Vasos P2), as concentrações de fósforo nas folhas e demais tecidos analisados aumentou com a aplicação de fósforo ao solo. O aumento da concentração de fósforo nas folhas em resultado da aplicação de fósforo ao solo foi registado previamente em outros estudos (Morales-Sillero et al., 2009; Erel et al., 2013b). No caso das experiências em vasos a limitação de fósforo no meio terá facilitado o aparecimento de diferenças significativas pela aplicação do nutriente. No último corte das experiências em vasos foi possível avaliar a matéria seca nas raízes e também a concentração de nutrientes nestes tecidos. As análises à concentração de fósforo nas raízes revelaram diferenças significativas entre tratamentos e originaram informação inequívoca de que as raízes são os tecidos da planta com maior concentração em fósforo em comparação com caules e folhas. Em estudo anterior, Loupassaki et al. (2002) já tinham registado teores de fósforo nas raízes mais elevados que nas folhas e nos caules num estudo que incluiu seis cultivares de oliveira. Na experiência Vasos P2 para além do aumento da concentração de fósforo nas raízes com a aplicação de fósforo foi também registado aumento da relação raiz/parte aérea. Assim, parece que com o aumento da disponibilidade de fósforo no solo não só aumenta a concentração de fósforo na raiz mas aumenta também a massa do sistema radicular relativamente à parte aérea. Estes resultados parecem

atribuir papel importante à raiz na dinâmica do fósforo na planta. A raiz parece ter capacidade para tamponizar o teor de fósforo na parte aérea, podendo auxiliar a planta a ultrapassar períodos de privação e a armazená-lo em períodos de disponibilidade elevada. O resultado pode também ajudar a explicar a dificuldade em obter resposta da oliveira à aplicação do nutriente em experiências de campo. Este resultado parece também confirmar o papel habitualmente atribuído ao fósforo na expansão do sistema radicular das plantas (Havlin et al., 2014; Santos, 2015).

As análises ao solo na experiência Campo P1, sobretudo a disponibilidade de fósforo no solo determinado por quatro métodos laboratoriais, revelaram aumentos significativos de fósforo no solo na modalidade fertilizada relativamente à testemunha para qualquer dos métodos analíticos. Foi também determinada a atividade da fosfatase ácida, não tendo esta variado significativamente com a aplicação de fósforo. Foi também avaliada a disponibilidade de fósforo ao longo do perfil, colhendo amostras de solos nas profundidades 0-5 cm, 5-10 cm e 10-20 cm. Verificou-se que a disponibilidade de fósforo no solo reduziu significativamente com a profundidade, quando determinado por qualquer dos métodos analíticos usados neste estudo. A atividade da fosfatase ácida também reduziu significativamente com a profundidade, bem como outros parâmetros importantes da fertilidade do solo, como o carbono orgânico facilmente oxidável. O aumento da disponibilidade de fósforo no solo com a aplicação do nutriente é esperado, bem como a diminuição do teor de fósforo no solo nas camadas mais profundas, conhecida que é a reduzida mobilidade de fósforo no solo (Santos, 2015). Contudo, a aplicação de fósforo não influenciou a atividade da fosfatase ácida, tendo esta sido mais elevada nas camadas mais superficiais do solo. A partir destes resultados, o substrato orgânico parece ter sido mais decisivo na atividade da fosfatase ácida do que o teor de fósforo inorgânico no solo. Em estudos anteriores tinha já ficado demonstrada a importância do substrato orgânico na regulação da atividade da fosfatase ácida (Turner, 2008; Kitayama, 2013; Zhang et al., 2014).

No ensaio Vasos P1 a aplicação de fósforo aumentou a disponibilidade de fósforo no solo, enquanto a atividade da fosfatase ácida também não variou significativamente. Nesta experiência o pH do solo foi corrigido com calcário o que terá reduzido a atividade da fosfatase ácida. Está bem demonstrado que atividade elevada da fosfatase ácida domina em solos ácidos enquanto em solos neutros a alcalinos domina a atividade da fosfatase alcalina (Eivazi e Tabatabai, 1977; Nannipieri et al., 2011). Na experiência Vasos P2, o fósforo extraível determinado pelos quatro métodos analíticos

aumentou com a aplicação de fósforo enquanto a atividade da fosfatase ácida diminuiu com a aplicação de fósforo. Este resultado pode ser considerado esperado na medida em que está bem demonstrado que fósforo inorgânico solúvel no solo inibe a atividade da fosfatase ácida (Olander e Vitousek, 2000; Zheng et al., 2015).

5.3. Potássio

No ensaio Campo K1 não foi registado efeito significativo pela aplicação de potássio ao solo nos parâmetros utilizados para avaliar o crescimento das árvores, como sejam o aumento do diâmetro do tronco, o volume da canópia e a massa da lenha de poda. A produção de azeitona também não sofreu variação significativa com os tratamentos fertilizantes, assim como o tamanho dos frutos e a razão polpa/caroço. Apesar da disponibilidade de potássio no solo ter aumentado de forma significativa com a aplicação de potássio, em particular nas camadas mais superficiais, a concentração de potássio nas folhas e também nos frutos não aumentou de forma significativa com a aplicação de potássio. Contudo, verificou-se que a concentração de potássio nas folhas nunca desceu abaixo do nível considerado de deficiência (4 g kg^{-1}) e manteve-se frequentemente acima do limite inferior do intervalo de suficiência tal como estabelecidos em Fernández-Escobar et al. (2017), mesmo na modalidade testemunha. Este facto pode ajudar a explicar a falta de resposta das plantas à aplicação de potássio.

Na experiência Campo K2 a aplicação de potássio ao solo não originou acréscimo significativo na produção de matéria seca da parte aérea das plantas (folhas, caules ou total), apesar da concentração de potássio nas folhas ter aumentado significativamente na modalidade fertilizada relativamente à modalidade testemunha, o que, por sua vez, fez também aumentar de forma significativa a quantidade de potássio exportado na biomassa aérea. Os resultados da experiência Campo K1 combinados com os da experiência Campo K2 parecem suportar a tese de Khan et al. (2013), quando afirmaram ser difícil obter, em condições de campo, resposta da oliveira à aplicação de potássio. Os resultados de Erel et al. (2013b) apontam no mesmo sentido, uma vez que só verificaram diminuição da intensidade de floração e da produção de azeitona quando foi imposta uma deficiência severa e prolongada às plantas, o que foi possível uma vez que as plantas foram cultivadas em contentores com perlite, que é um substrato praticamente inerte, ficando as plantas dependentes da aplicação externa da generalidade dos elementos essenciais. Os solos em que decorreram os ensaios podem ter tido a sua influência na falta de resposta à aplicação de potássio. Estudos em lúcia lima (*Aloysia citrodora* Paláu), realizados na região em solos de origem similar, quer em campo quer em vasos, mostraram igualmente falta de resposta positiva na produção de matéria seca com a aplicação de potássio (Afonso et al., 2018b). Na experiência Campo K2, tal como referido para a experiência Campo K1, provavelmente os níveis de

potássio nas folhas nunca descenderam a níveis de deficiência na modalidade testemunha a pontos de penalizarem de forma significativa a produção de matéria seca, apesar destes valores não deverem ser comparados com os valores de suficiência estabelecidos para a cultura por se tratar de plantas jovens para as quais não há padrões de interpretação de resultados. Os ensaios de campo também não revelaram variação significativa entre tratamentos ou qualquer tendência clara na concentração de outros nutrientes nos tecidos.

A aplicação de potássio ao solo aumentou a concentração de potássio nas folhas no ensaio Campo 2 e nos ensaios em vasos. A concentração de potássio nos caules e nas raízes aumentou também nos ensaios em vasos em resposta ao potássio aplicado ao solo. Contudo, em nenhuma das experiências foi possível observar um aumento de biomassa devido à aplicação de potássio, incluindo as experiências em vasos. Ainda assim, a aplicação de potássio aumentou a relação parte aérea/raiz. As experiências em vasos também mostraram que a concentração de potássio nas raízes foi inferior à concentração de potássio na parte aérea para teores baixos de potássio no solo, mas à medida que a disponibilidade de potássio no solo aumentou a concentração de potássio nas raízes aumentou de forma mais que proporcional que na parte aérea, tendo atingido valores próximos dos registados nas folhas. Estes resultados parecem indicar que a parte aérea é prioritária para o potássio disponível e que as raízes podem funcionar como reserva de potássio quando a disponibilidade no solo é elevada. Os importantes papéis do potássio no processo fotossintético, na regulação estomática, na síntese proteica e no transporte de fotoassimilados (Scherer e Mengel 2007; Hawkesford et al., 2012; Zörb et al., 2014) parecem justificar a elevada concentração de potássio na parte aérea das plantas.

A aplicação de potássio não influenciou de forma significativa a densidade foliar, o conteúdo relativo em água e o conteúdo em água à saturação. O potássio também exerceu efeito significativo em parâmetros fisiológicos relacionados com trocas gasosas pela folha, fluorescência da clorofila *a* e fluorescência transiente OJIP. Uma vez mais, talvez estes resultados se possam justificar pelo facto de nestas experiência nunca ter ocorrido verdadeira deficiência em potássio, mesmo na modalidade testemunha, para que os processos fisiológicas da planta fossem significativamente afetados.

A segunda experiência em vasos revelou que o stresse hídrico imposto às plantas reduziu significativamente a produção de matéria seca. No tratamento em que foi

induzido stresse hídrico, a redução de água disponível restringiu a abertura dos estomas afetando negativamente o crescimento das plantas e a acumulação de biomassa tal como observaram Bacelar et al. (2007) num estudo envolvendo três cultivares de oliveira. Sob stresse hídrico, a concentração de potássio na parte aérea (caules e folhas) aumentou, mas reduziu-se significativamente nas raízes. Em condições de stresse hídrico, mais potássio foi translocado para a parte aérea provavelmente devido ao seu papel na regulação da função estomática e relações hídricas da célula (Shabala e Pottosin, 2014; Zörb et al., 2014), reduzindo-se assim a concentração de potássio na raiz. Por outro lado, a redução da humidade do solo restringe o movimento do potássio para as raízes por difusão e a redução da transpiração reduz o movimento de potássio por fluxo de massa (Havlin et al., 2014), pelo que a absorção não terá conseguido compensar o potássio que foi enviado para a parte aérea, o que reduziu a concentração de potássio nas raízes. Entretanto, o stresse hídrico aumentou a densidade do tecido foliar para contrabalançar o estado hídrico inadequado, tal como indicado pelos valores baixos de conteúdo relativo em água. Vários estudos anteriores tinham já mostrado um decréscimo no conteúdo relativo em água com o agravamento das condições de stresse (Boughalleb e Hajlaoui, 2011; Ghahfarokhi et al., 2015; Zegaoui et al., 2017). O stresse hídrico tende a aumentar a densidade foliar na medida em que a redução da pressão de turgor e a expansão celular resultam na mesma massa seca em menor área foliar (Peña-Rojas et al., 2005). O aumento da densidade foliar é uma resposta de aclimação à reduzida disponibilidade de água, na medida em que folhas com maior densidade estão melhor preparadas para responder a uma situação de stresse severo devido à maior resistência a dano físico provocado pela desidratação (Mediavilla et al., 2001). Além disso, o stresse hídrico reduziu severamente F_V/F_M e F_0/F_M e todos os pontos da curva OJIP com exceção do valor de fluorescência na origem a $20 \mu s$ (O), enquanto aumentou significativamente a fluorescência mínima (F_0). Assim, o stresse hídrico exerceu um efeito negativo marcado nas reações fotoquímicas da fotossíntese, em concordância com os resultados que têm sido obtidos em outros estudos (Boughalleb e Hajlaoui, 2011; Gomes et al., 2012; Jedmowski et al., 2013), o que terá contribuído para a redução da produção de matéria seca nas plantas sujeitas a stresse hídrico.

A cv. 'Arbequina' produziu significativamente mais fitomassa do que a cv. 'Cobrançosa'. As plantas da cv. 'Arbequina' eram ligeiramente mais vigorosas na plantação e isso pode ter-lhes dado alguma vantagem, embora tenham sido podadas de forma a harmonizar o tamanho das duas cultivares no momento da plantação. Por outro

lado, 'Arbequina' é um cv. de maior precocidade (Barranco, 2017) em comparação com 'Cobrançosa', o que pode ajudar a justificar a maior produção de matéria seca da primeira. 'Arbequina' mostrou concentrações de potássio significativamente mais elevadas que 'Cobrançosa' na parte aérea e tendencialmente mais baixas na raiz. Sendo 'Arbequina' uma cv. mais precoce, com um crescimento mais rápido nas fases juvenis, poderá necessitar mais potássio na parte aérea, levando a uma redução do nutriente na raiz, uma vez que a disponibilidade de potássio no solo foi equivalente. As cultivares não mostraram diferenças significativas na densidade foliar, mas 'Arbequina' apresentou menor conteúdo relativo em água e maiores valores de conteúdo em água à saturação que 'Cobrançosa', resultado que pode ser esperado considerando que 'Arbequina' é reconhecidamente uma cultivar menos bem adaptada ao stresse hídrico. Estudos anteriores conduzidos por Bacelar et al. (2004) mostraram que 'Arbequina' apresentou menor conteúdo relativo em água e maior conteúdo de água à saturação que 'Cobrançosa', indicando maior perda de água da primeira em condições de stresse hídrico. Em outros estudos utilizando diferentes genótipos de oliveira, Bacelar et al. (2006; 2007) consideraram 'Cobrançosa' uma cultivar muito promissora para cultivo em sequeiro em regiões semiáridas. Neste estudo, 'Arbequina' apresentou também valores de F_v/F_M e F_v/F_0 mais baixos que 'Cobrançosa', indicando menor adequação para ser cultivada sob o stresse hídrico, em concordância com os resultados de Bacelar et al. (2004).

5.4. Boro

O ensaio do boro com árvores produtivas (Campo B1) revelou falta de resposta à aplicação do nutriente nos parâmetros de crescimento das árvores, diâmetro do tronco, volume da canópia e lenha de poda. Também não se registaram diferenças significativas na produção de azeitona entre a modalidade fertilizada e a testemunha, bem como no tamanho dos frutos e na relação polpa/caroço. Contudo, a concentração de boro nos frutos, quer na polpa quer no caroço, aumentou significativamente na modalidade fertilizada relativamente à testemunha. A concentração de boro na lenha de poda (caules e folhas) foi também mais elevada na modalidade fertilizada. As folhas amostradas regularmente nas datas padrão de Verão e no repouso vegetativo revelaram concentrações de boro mais elevadas na modalidade fertilizada. Estes resultados parecem enquadrar uma situação típica em que a aplicação de boro aumenta a concentração do nutriente nos tecidos mas não provoca alterações fisiológicas nas plantas suficientemente relevantes para afetar a performance agronómica incluindo a produtividade. O limite inferior de intervalo de suficiência encontra-se estabelecido em, 19 mg kg^{-1} (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007; Gregoriou e El-Kholy, 2010; Bryson et al., 2014; Fernández-Escobar, 2017) e os sintomas visíveis de deficiência normalmente só surgem para valores inferiores a 14 mg kg^{-1} (Freeman et al., 2005; Vossen, 2007; Gregoriou e El-kholy, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Assim, mesmo na modalidade testemunha a severidade da deficiência nunca terá sido suficientemente forte para originar diferenças de crescimento e produtividade das árvores.

No segundo ensaio de campo com boro (Campo B2) a produção de matéria seca aumentou com a aplicação de boro ao solo. Também a concentração de boro nos tecidos (caules e folhas) bem como o boro recuperado na biomassa aérea aumentaram em resposta à aplicação do boro. Apesar do boro ser um micronutriente, toda a literatura da especialidade refere o boro como um importante problema nutricional em olival, sendo frequente a ocorrência de situações de deficiência (Freeman e Carlson, 2005; Freeman et al., 2005; Arrobas e Moutinho-Pereira, 2009; Therios, 2009; Gregoriou e El-Kohly, 2010; Fernández-Escobar, 2017). Contudo, estudos que tenham mostrado aumento de crescimento das oliveiras ou de produção de azeitona pela aplicação de boro não são abundantes. Contudo, Soyergin (2010) verificaram que a aplicação de boro ao solo e por via foliar aumentou a produção de azeitona. Também Rodrigues et al. (2011b) registaram quebra de produção de azeitona num ensaio em que mantiveram um

tratamento em que as oliveiras estiveram quatro anos sem serem fertilizadas. O incremento da concentração de boro nos tecidos da planta pela aplicação de boro ao solo mostra desde já a eficiência desta forma de aplicação, que é atualmente vista como a mais eficiente (Wimmer e Eichert, 2013).

As folhas do ensaio Campo B1 colhidas dentro do procedimento padrão de amostragem registaram valores mais elevados de boro nas folhas na amostragem de Verão relativamente à amostragem de Inverno. Esta constatação já tinha sido observada por outros investigadores (Fernández-Escobar et al., 1999; Sibbett e Ferguson, 2002; Chatzissavvidis et al., 2005; Arrobas et al., 2010; Rodrigues et al., 2011a; 2012) e tem levado a que estejam propostas normas de interpretação de resultados diferentes para amostras colhidas no Verão ao endurecimento do caroço ou no Inverno no repouso vegetativo (LQARS, 2006; Therios, 2009).

No ensaio Campo B1 foi determinada a disponibilidade de boro no solo através de um processo de extração química e usando nabiça como planta bioindicadora da disponibilidade de boro no solo. Pelo método de extração química registou-se um aumento significativo de boro extraível no solo no talhão fertilizado relativamente à testemunha. A aplicação de boro ao solo originou também maior produção de matéria seca de nabiça, concentração de boro nos tecidos e boro recuperado na biomassa aérea. Assim, os métodos químico e biológico deram informação no mesmo sentido e justificam as diferenças encontradas na concentração de boro nos tecidos da oliveira (folhas e caules). Os resultados revelaram também maior concentração de boro na camada superficial do solo (0-5 cm) relativamente às camadas mais profundas (5-10 cm e 10-20 cm). Assim, apesar do boro ser genericamente considerado móvel no solo e com riscos de lixiviação (Hu e Brown, 1997), este solo parece ter alguma capacidade de o reter, talvez em parte associado à matéria orgânica (estando esta presente também em maior nível na camada superficial) ou ligado à fração argila (representa 14,5% da fração mineral), uma vez que estas são importantes propriedades responsáveis pela retenção do boro no solo (Keren e Talpaz, 1984; Goldberg, 1997; Goldberg et al., 2005; Gupta, 2007; Havlin et al., 2014).

No ensaio Vasos B1, em que se compararam diferentes formas de fornecimento de boro, designadamente boro aplicado ao solo e por via foliar e uma modalidade testemunha, registaram-se concentrações de boro nos tecidos significativamente mais elevadas na modalidade de aplicação de boro ao solo em comparação com aplicação

foliar e desta significativamente mais elevadas que na modalidade testemunha. Raízes, caules e folhas atingiram concentrações de boro equivalentes. A aplicação de boro ao solo aumentou de forma significativa o nível do boro no solo, quando extraído pelo método da azometina-H, em comparação com a aplicação foliar e com a modalidade testemunha. Apesar da grande diferença na concentração de boro nos tecidos entre tratamentos, não foram detetadas diferenças na produção de biomassa das plantas, quer nas folhas, caules ou raízes. Os níveis de boro nos tecidos das plantas talvez não tenham atingido valores suficientemente baixos para reduzir a produção de biomassa tal como foi sugerido para o ensaio Campo B1.

No ensaio Vasos B2 foi aplicado boro por via foliar à totalidade da parte aérea ou apenas a partes da parte aérea, num estudo conduzido com as cultivares ‘Arbequina’ e ‘Cobrançosa’. Foram analisados tecidos das plantas para a concentração de boro, designadamente as partes velhas previamente molhadas e as partes jovens que se desenvolveram após a aplicação da calda foliar, bem como as raízes. Os tecidos das plantas tratadas, total ou parcialmente, exibiram concentrações de boro mais elevadas que os das plantas testemunha. Na cultivar ‘Arbequina’ as folhas jovens, que se desenvolveram após o tratamento, revelaram teores de boro mais baixos que as folhas velhas que receberam diretamente a calda. Na cultivar ‘Cobrançosa’ as folhas velhas e jovens apresentaram concentrações de boro similares. Este resultado parece indicar maior restrição à mobilidade do elemento nos tecidos na cv. ‘Arbequina’ e maior mobilidade na cv. ‘Cobrançosa’. Os caules jovens e velhos não mostraram diferenças significativas na cv. ‘Arbequina’ e na cv. ‘Cobrançosa’ os caules jovens revelaram teores de boro mais elevados que os caules velhos, parecendo indicar que nos caules há menor restrição à mobilidade que nos limbos. As raízes registaram concentrações de boro mais elevadas nas modalidades fertilizadas, total ou parcialmente, em comparação com a modalidade testemunha. Este resultado demonstra também de forma inequívoca alguma mobilidade do boro na planta, uma vez que aplicado à parte aérea este pode atingir a raiz. O boro é conhecido por ser um elemento de reduzida mobilidade nas plantas (Shorrocks, 1997), embora tenha sido demonstrada elevada mobilidade em algumas espécies, sobretudo em prunóideas e pomóideas (Brown e Shelp, 1997; Blevins e Lukaszewski, 1998; Wimmer e Eichert, 2013). Na oliveira o boro é genericamente considerado pouco móvel (Gregoriou e El-Kholy, 2010). Os sintomas típicos de clorose e morte dos ápices jovens em crescimento que algumas cultivares exibem é um sintoma típico de um elemento de reduzida mobilidade na planta. Alguns estudos têm, contudo,

sugerido que o boro apresenta alguma mobilidade na oliveira (Delgado et al., 1994; Perica et al., 2002; Liakopoulos e Karabourhiotis, 2005). Por outro lado, os sintomas de morte dos ápices vegetativos referidos parecem não ser comuns a todas as cultivares, ficando em aberto a possibilidade da mobilidade do boro na oliveira estar de alguma forma dependente da cultivar.

Capítulo **6**

Conclusões

6. Conclusões

6.1. Azoto

Os resultados do ensaio de campo com árvores em início de produção não mostraram diferenças significativas na expansão vegetativa pela aplicação de azoto, mas mostraram já alguma tendência para aumentar a produção de fruto, na medida em que em 2015 a modalidade fertilizada produziu mais azeitona que a modalidade testemunha. Se por um lado o azoto é um elemento reconhecidamente determinante na expansão vegetativa, por outro, na oliveira tem, por vezes, havido dificuldades em mostrar resposta significativa à aplicação do elemento, devido, provavelmente, à reduzida exportação do elemento pela cultura e alguma disponibilidade natural no solo. De notar que as plantas deste ensaio são jovens e cultivadas em regime de sequeiro, pelo que as necessidades tenderão a ser naturalmente reduzidas. A justificar a falta de resposta à aplicação de azoto está o facto da concentração do nutriente nas folhas nunca ter baixado do limite inferior do intervalo de suficiência, mesmo na modalidade testemunha. As determinações efetuadas no solo, quer com métodos químicos quer biológicos, revelaram aumento da disponibilidade de azoto pela aplicação do elemento ao solo.

O segundo ensaio de campo com plantas jovens não produtivas revelou a ocorrência de diferenças significativas na concentração de azoto nas folhas em algumas datas e também na produção de biomassa aérea, com valores mais elevados na modalidade fertilizada em comparação com a modalidade testemunha. Este resultado é bastante mais consentâneo com o efeito habitualmente atribuído ao azoto na produção vegetal.

O ensaio em vasos mostrou uma curva de saturação típica à aplicação de azoto, com aumento de produção de biomassa para doses de azoto moderadas e estabilização ou decréscimo para doses mais elevadas (possivelmente excessivas). O azoto mostrou também grande influência na redistribuição dos fotoassimilados pelas diferentes partes da planta, com aumento da relação parte aérea/raiz em resposta à aplicação crescente do nutriente. Sem limitação de recursos importantes no solo, como água e azoto, a planta terá alocado preferencialmente os fotoassimilados para o aparato fotossintético, tentando maximizar a eficiência de uso destes recursos. As folhas revelaram-se como locais preferenciais de acumulação de azoto quando aplicado em quantidades elevadas.

Contudo, deve ser notado que a concentração de azoto nas raízes também aumentou significativamente com a aplicação de azoto, o que revela um importante contributo da raiz na estratégia da planta em acumular azoto nos tecidos quando este se encontra disponível no solo em quantidades elevadas e é absorvido em quantidades superiores às necessidades metabólicas imediatas, habitualmente designado de consumo de luxo.

6.2. Fósforo

Os resultados da experiência de campo com as árvores em início de produção revelaram completa ausência de resposta à aplicação de fósforo, desde o crescimento das árvores, produção de azeitona aos parâmetros biométricos dos frutos. Por outro lado, os teores de fósforo nas folhas também não variaram significativamente e mantiveram-se dentro do intervalo de suficiência. No segundo ensaio de campo com árvores recém-plantadas também não se registaram diferenças na produção de biomassa aérea ainda que os teores de fósforo nas folhas tenham aumentado com a aplicação de fósforo ao solo. Os resultados destas duas experiências são importantes porque sugerem que nesta região a utilização de fósforo no olival pode ser substancialmente reduzida sem que exista risco apreciável de redução de produtividade.

Na experiência em vasos em que se utilizaram doses crescentes de fósforo também não se registaram aumentos de produção de biomassa em nenhum dos componentes da planta (raízes, caules e folhas) pela aplicação do nutriente. No entanto, na segunda experiência em vasos em que se utilizaram quatro solos diferentes num fatorial com duas doses de fósforo, registaram-se diferenças significativas na produção de biomassa, provavelmente porque em alguns solos muito ácidos a limitação de fósforo terá sido suficientemente severa para originar diferenças no crescimento das plantas. As experiências em vasos permitiram ainda verificar que a aplicação de fósforo originou o aumento da relação raiz/parte aérea e que a concentração de fósforo na raiz aumentou mais do que proporcionalmente ao registado na parte aérea da planta. Este resultado parece atribuir um importante papel à raiz na expansão do sistema radicular e na acumulação de fósforo na planta. O fósforo presente na raiz pode tamponizar o fósforo na parte aérea em momentos de menor disponibilidade de fósforo no solo e pode ajudar a explicar as dificuldades em obter resposta à aplicação de fósforo em ensaios de campo.

A determinação da atividade da fosfatase ácida como método de avaliação da biodisponibilidade do fósforo no solo revelou que a atividade da enzima se reduz com o aumento da disponibilidade de fósforo inorgânico no solo e que aumenta com o aumento do teor de matéria orgânica no solo.

6.3. Potássio

A aplicação de potássio ao solo não aumentou a expansão vegetativa das árvores nem a produção de azeitona na experiência Campo 1, nem a produção de biomassa aérea na experiência Campo 2, em comparação com a modalidade testemunha. Na experiência Campo 1 não se registaram diferenças significativas na concentração de potássio nas folhas com a aplicação de potássio ao solo, tendo-se os valores mantido dentro do intervalo de concentrações adequadas para as duas modalidades de fertilização. Contudo, na experiência Campo 2 existiu um aumento significativo no teor de potássio nas folhas pela aplicação de potássio. De uma maneira geral, as experiências de campo apontam para dificuldades evidentes em se obter resposta à aplicação de potássio nos solos desta região. O facto das plantas utilizadas no estudo serem jovens pode também ajudar a explicar o resultado, na medida em que as maiores necessidades em potássio na oliveira estão associadas ao engrossamento do fruto.

As experiências em vasos permitiram mostrar um aumento da concentração de potássio nas folhas pela aplicação de potássio ao solo, sem que isso tenha sido suficiente para originar aumentos de produção de biomassa, quer na parte aérea quer na raiz. Ainda assim, a aplicação de potássio aumentou a relação parte aérea/raiz. A concentração de potássio na raiz tendeu a ser mais baixa que na parte aérea mas à medida que aumentou a dose de potássio aplicada a concentração de potássio na raiz aumentou de forma mais que proporcional que na parte aérea. O resultado pareceu indicar que a parte aérea é prioritária para o potássio disponível, embora as raízes possam acumular potássio quando a disponibilidade de potássio no solo é elevada.

O potássio não revelou efeito positivo significativo nos índices de esclerofilia e estado hídrico das plantas nem em parâmetros fisiológicos diversos relacionados com trocas gasosas e fluorescência da clorofila, talvez porque os níveis de potássio nas folhas na modalidade testemunha nunca tenham sido suficientemente baixos.

A segunda experiência em vasos revelou que a indução de stresse hídrico foi determinante na redução da produção de biomassa e originou redução da concentração de potássio na raiz eventualmente por redução de absorção e aumento de transporte para a parte aérea, devido ao papel do potássio na regulação estomática. O stresse hídrico influenciou significativamente os índices de esclerofilia e estado hídrico das plantas e as reações fotoquímicas da fotossíntese. As duas cultivares em estudo mostraram diferenças marcadas na adaptação ao stresse hídrico, com a cultivar ‘Cobrançosa’ a revelar melhor potencial para ser cultivada em sequeiro que a cultivar ‘Arbequina’.

6.4. Boro

No ensaio de campo com árvores em início de produção não foram registadas diferenças significativas no crescimento das árvores nem na produção de azeitona pela aplicação de boro ao solo. Contudo, o teor de boro nos frutos (polpa e caroço) e também nas folhas aumentou de forma significativa com a aplicação de boro. A ausência de resposta no crescimento e produção à aplicação de boro poderá dever-se ao facto de os níveis de boro nas folhas não terem descido à zona de deficiência na modalidade testemunha. Contudo, na segunda experiência de campo, os teores de boro nos tecidos, a biomassa produzida e o boro exportado aumentaram de forma significativa com a aplicação de boro ao solo, resultado que parece estar mais de acordo com a importância habitualmente atribuída ao boro em olival.

A análise de folhas na experiência Campo 1, que foram colhidas pelo procedimento padrão, revelaram valores mais elevados de Verão que de Inverno, o que reclama que este aspeto seja tido em conta nos sistemas de recomendação de fertilização que admitem como válidas as duas datas de amostragem como acontece em Portugal.

O boro no solo revelou estar presente em maior concentração na camada superficial (0-5 cm), coincidindo com a camada com o teor de matéria orgânica mais elevado, e demonstra a capacidade do substrato orgânico em reter boro no solo reduzindo o risco de perda do nutriente por lixiviação.

Na experiência Vasos B1, a aplicação de boro ao solo originou teores de boro nas folhas particularmente mais elevados que a aplicação de boro por via foliar, embora esta forma de aplicação também tenha aumentado os teores de boro nos tecidos relativamente à modalidade testemunha. Assim, a aplicação ao solo revelou-se uma

forma de aumentar o teor de boro nos tecidos quantitativamente mais relevante, dadas as maiores quantidades do nutriente que podem ser aportadas.

As análises aos diferentes tecidos da planta (raízes, caules e folhas) revelaram que o boro se encontra distribuído de forma equivalente por todos estes tecidos.

No ensaio Vasos B2, em que foi aplicado boro por via foliar em apenas algumas partes da canópis, tendo outras sido protegidas da calda, revelaram que os tecidos jovens da cultivar ‘Arbequina’, que se desenvolveram após a aplicação da calda, apresentaram teores de boro mais baixos que os tecidos velhos que receberam calda, o que demonstra alguma restrição à mobilidade do boro nos tecidos. Na cultivar ‘Cobrançosa’ o boro apareceu homogeneamente distribuído entre tecidos jovens e velhos, parecendo a mobilidade do boro ser mais efetiva nesta cultivar. De qualquer forma, o boro mostrou alguma mobilidade nas duas cultivares, na medida em que os teores de boro nas raízes aumentaram após aplicação de boro à parte aérea. Estes resultados são importantes porque ajudam a esclarecer sobre a possibilidade de usar a adubação foliar como meio de fornecer boro à oliveira.

Capítulo 7
Referências Bibliográficas

7. Referências Bibliográficas

- Afonso, S., Arrobas, M., Ferreira, I. Q., Rodrigues, M. A. 2018a. Assessing the potential use of two portable chlorophyll meters in diagnosing the nutritional status of plants. *Journal of Plant Nutrition* 41:2, 261-271.
- Afonso, S., Arrobas, M., Ferreira, I. Q., Rodrigues, M. A. 2018b. Leaf nutrient concentration standards for lemon verbena (*Aloysia citrodora* Paláu) obtained from field and pot fertilization experiments. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 8: 33-40.
- Agroconsultores, Caba. 1991. Carta dos solos, carta do uso actual da terra e carta de aptidão da terra do nordeste de Portugal. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Antoniadis, V., Chatzissavvidis, C., Paparnakis, A. 2013. Boron behavior in Apple plants in acidic and limed soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 176: 267–272.
- Arquero, O., Barranco, D., Benlloch, M. 2006. Potassium starvation increases stomatal conductance in olive trees. *HortScience* 41 (2): 433-436.
- Arrobas, M., Afonso, S., Rodrigues, M. A., 2018. Diagnosing the nutritional condition of chestnut groves by soil and leaf analyses. *Scientia Horticulturae* 228: 113–121.
- Arrobas, M. 2000. Fracionamento do fósforo em solos de Portugal. Tese de doutoramento, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD). Vila Real. 270 pp.
- Arrobas, M., Ferreira, I. Q., Freitas, S., Verdial, J., Rodrigues, M. A. 2014. Guidelines for fertilizer use in vineyards based on nutrient content of grapevine parts. *Scientia Horticulturae* 172: 191-198.
- Arrobas, M., Lopes, J. I., Pavão, F., Cabanas, J. E., Rodrigues, M. A. 2010. Comparative boron nutritional diagnosis for olive based on July and January leaf samplings. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41: 709–720.
- Arrobas, M., Moutinho-Pereira, J. 2009. Fertilização do olival. In: Rodrigues, M. A., Correia, C. M. (Eds.). Manual da safra e contra safra do Olival. pp. 21-39.

- Bacelar, E. A., Correia, C. M., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Lopes, J. I., Torres-Pereira, J. M. 2004. Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions. *Tree Physiology* 24: 233–239.
- Bacelar, E. A., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F., Correia, C. M. 2007. Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany* 60: 183–192.
- Bacelar, E. A., Santos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F., Correia, C. M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science* 170: 596–605.
- Bai, Z., Ma, L., Ma, W., Qin, W., Velthof, G. L., Oenema, O., Zhang, F. 2016. Changes in phosphorus use and losses in the food chain of China during 1950–2010. and forecasts for 2030. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 104: 361–372.
- Barber, S. A. 1995. Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York.
- Barranco, D. 2017. Variedades y patrones. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. (Eds.). *El cultivo del olivo*, 7th ed. Madrid, Spain: Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. pp. 63–95.
- Basyouni, R., Dunn, B., L., Goad, C. 2015. Use of nondestructive sensors to assess nitrogen status in potted poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* L. (Willd. ex Klotzsch)) production. *Scientia Horticulturae* 192: 47–53.
- Blevins, D. G., Lukaszewski, K. M. 1998. Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 481–500.
- Bouat, A. 1987. Olives: Introduction and general. In: Martin-Prével, P., Gagnard, J., Gautier, P. (Eds). *Plant analysis as a guide to the nutritional requirements of temperate and tropical crops*. New York: Lavoisier Publishing. pp. 299–309.
- Boughalleb, F., Hajlaoui, H. 2011. Physiological and anatomical changes induced by drought in two olive cultivars (cv Zalmati and Chemlali). *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 53–65.

- Bouhafa, K., Moughli, L., Bouchoufi, K., Douaik, A., Daoui, K. 2014. Nitrogen Fertilization of Olive Orchards under Rainfed Mediterranean Conditions. *American Journal of Experimental Agriculture* 4 (8): 890-901.
- Bourbia, S. M., Barré, P., Kaci, M. B. N., Derridj, A., Velde, B. 2013. Potassium status in bulk and rhizospheric soils of olive groves in North Algeria. *Geoderma* 197–198: 161–168.
- Boussadia, O., Steppe, K., Zgallai, H., Ben El Hadj, S., Braham, M., Lemeur, R., Van Labeke, M. C. 2010. Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars ‘Meski’ and ‘Koroneiki’. *Scientia Horticulturae* 123: 336–342.
- Bremner, J. M. 1996. Nitrogen-Total. In: Sparks, D. L. (Ed.). *Methods of soil analysis. Part 3- Chemical Methods*. SSSA. Book series n° 5. Madison, Wisconsin.
- Brennan, R. F., Bolland, M. D. A. 2001. Comparing fertilizer phosphorus requirements of canola, lupin, and wheat. *Journal of Plant Nutrition* 24(12): 1885–1900.
- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F., 2012. Function of nutrients, micronutrients. In: Marschner, P. (Ed.), *Marschner’s Mineral Nutrition of Higher Plants*. Elsevier, London, UK. pp. 191–248.
- Bronson, K. F. 2008. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.). *Forms of inorganic nitrogen in soils. Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph n.° 49*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 31–55.
- Brown, P. H., Shelp, B. J. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil* 193: 85–101.
- Bryson, G., Mills, H. A., Sasseville, D. N., Jones Jr., J. B., Barker, A. V. 2014. *Plant Analysis Handbook III. A Guide to Sampling, Preparation, Analysis and Interpretation for Agronomic and Horticultural Crops*. Micro-Macro Publishing, Inc., Athens, GA.
- Buresh, R. J., Reddy, K. R., Kessel, C. v. 2008. Nitrogen transformations in submerged soils. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.). *Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph n.° 49*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 401–436.
- Bustan, A., Avni, A., Yermiyahu, U., Ben-Gal, A., Riov, J., Erel, R., Zipori, I., Dag, A. 2013. Interactions between fruit load and macroelement concentrations in

- fertigated olive (*Olea europaea* L.) trees under arid saline conditions. *Scientia Horticulturae* 152: 44–55.
- Cakmak, I., Römheld, V. 1997. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil* 193: 71–83.
- Campbell, C. A. 1978. Soil organic carbon, nitrogen and fertility. In: Schnitzer, M.; Khan, S. U. (Eds). *Soil Organic Matter*. Elsevier, Development in Soil Science, 8, Amesterdan.
- Casa do Azeite, 2018. <http://www.casadoazeite.pt/> [acedido em maio de 2018].
- Centeno, A., Campo, M. G. 2011. Response of mature olive trees with adequate leaf nutrient status to additional nitrogen, phosphorus and potassium fertilization. *Acta Horticulturae* 888: 277–280.
- Chaney, K. 2007. Phosphate fertilizers (Cap 6). In: Ullmann's Agrochemicals 1, Wiley-VCH, Velag GmbH & Co. KGaA.
- Chatzissavvidis, C., Therios, I. 2010. Response of four olive (*Olea europaea* L.) cultivars to six B concentrations: Growth performance, nutrient status and gas exchange parameters. *Scientia Horticulturae* 127: 29–38.
- Chatzissavvidis, A. C, Therios, I. N., Molassiotis, A. N. 2005. Seasonal variation of nutritional status of olive plants as affected by boron concentration on nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition* 28: 309–321.
- Civantos, L. 2017. La olivicultura en el mundo y en España. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, L. Rallo, L. (Eds). *El cultivo del olivo*, 7th ed. Mundi-Prensa., Madrid, Spain. pp. 19-35.
- Clescerl, L., Greenberg, A. E., Eaton, A. D. 1998. *Standard Methods for Examination of Water & Wastewater (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater)* (20 ed.). APHA, AWWA, WEF.
- Combs, S. M, Nathan, M. V. 1998. Soil organic matter. In: Brown, J. R. (Ed.). *Recommended Chemical Soil Test Procedures for the North Central Region*, NCR Research Publication, University of Missouri, Columbia. pp. 53- 58.
- Connell, J. H., Vossen, P. M. 2007. Organic olive orchard nutrition. In: Vossen, P. M. (Ed.) *Organic olive production manual*. Agriculture and Natural Resources, Publication 3505, University of California. pp. 37-43.

- Connor, D. J., Fereres, E. 2005. The physiology of adaptation and yield expression in olive. *Horticultural Reviews* 31: 155–229.
- Cooper, J., Scherer, H. 2012. Nitrogen fixation. In: Marschner, P. (Ed.) *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, Third Edition. Academic Press, London. pp. 389–408.
- Coyne, M. S. 2008. Biological denitrification. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.). *Nitrogen in Agricultural Systems*. Agronomy Monograph n.º49. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 201–253.
- Dag, A., Ben-David, E., Kerem, Z., Ben-Gal, A., Erel, R., Basheerb, L., Yermiyahu, U. 2009. Olive oil composition as a function of nitrogen, phosphorus and potassium plant nutrition. *Journal of Science of Food and Agriculture Society of Chemical Industry*. Published online in Wiley Interscience.
- Delgado, A., Benlloch, M., Fernández-Escobar, R. 1994. Mobilization of boron in olive trees during flowering and fruit development. *HortScience* 29(6): 616–618.
- Dell, B., Huang, L. 1997. Physiological response of plants to low boron. *Plant and Soil* 193: 103–120.
- Diário da República, 2.ª série, n.º 28. Despacho 34/94, de 3 de fevereiro de 1994. Pág. 1036.
- Dodd, R. J., Sharply, A. N. 2016. Conservation practice effectiveness and adoption: unintended consequences and implications for sustainable phosphorus management. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 104: 373–392.
- Duarte, F., Jones, N., Fleskens, L. 2008. Traditional olive orchards on sloping land: Sustainability or abandonment? *Journal of Environmental Management* 89: 86–98.
- Dunn, B., Shrestha, A., Goad, C. 2016. Use of nondestructive sensors to quantify ornamental kale nitrogen status. *Journal of Plant Nutrition* 39: 1123–30.
- Eivazi, F., Tabatabai, M. A. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 9: 167–177.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., Alpaslan, M. 2007. Boron toxicity alters nitrate reductase activity, proline accumulation, membrane permeability, and mineral constituents of tomato and pepper plants. *Journal of Plant Nutrition* 30: 981–994.

- Erel, R., Dag, A., Ben-Gal, A., Schwartz, A., Yermiyahu, U. 2008. Flowering and fruit set of olive trees in response to nitrogen, phosphorus, and potassium. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133 (5): 639-647.
- Erel, R., Kerem, Z., Ben-Gal, A., Dag, A., Schwartz, A., Zipori, I., Basheer, L., Yermiyahu, U. 2013a. Olive (*Olea europaea* L.) tree nitrogen status is a key factor for olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 11261–11272.
- Erel, R., Yermiyahu, U., Van Opstal, J., Ben-Gal, A., Schwartz, A., Dag, A. 2013b. The importance of olive (*Olea europaea* L.) tree nutritional status on its productivity. *Scientia Horticulturae* 159: 8–18.
- Fageira, N. K., Baligar, V. C., Clark, R. B. 2002. Micronutrients in crop production. *Advances in Agronomy* 77: 185–268.
- Fernández-Escobar, R., 2017. Fertilization. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. (Eds.). *El Cultivo del Olivo.*, 7th ed. Mundi-Prensa., Madrid, Spain. pp. 419–460.
- Fernández-Escobar, R., Beltrán, G., Sánchez-Zamora, M. A., García-Novelo, J., Aguilera, M. P., Uceda, M. 2006. Olive Oil Quality Decreases with Nitrogen Over-fertilization. *HortScience* 41(1): 215-219.
- Fernández-Escobar, R., Benlloch, M., Herrera, E., García-Novelo, J. M. 2004. Effect of traditional and slow-release N fertilizers on growth of olive nursery plants and N losses by leaching. *Scientia Horticulturae* Volume 101, Issues 1–2: 39-49.
- Fernández-Escobar, R., García-Novelo, J. M., Molina-Soria, C., Parra, M. A. 2012. An approach to nitrogen balance in olive orchards. *Scientia Horticulturae* 135: 219-226.
- Fernández-Escobar, R., Marin, L., Sánchez-Zamora, M. A., García-Novelo, J. M., Molina-Soria, C., Parra, M. A. 2009a. Long-term effects of N fertilization on cropping and growth of olive trees and on N accumulation in soil profile. *European Journal Agronomy* 31: 223-232.
- Fernández-Escobar, R., Moreno, R., Garcia-Creus, M., 1999. Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia Horticulturae* 82: 25–45.

- Fernández-Escobar, R., Parra, M. A., Navarro, C., Arquero, O. 2009b. Foliar diagnosis as a guide to olive fertilization. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7 (1): 212-223.
- Fernández-Escobar, R., Sánchez-Zamora, M. A., García-Novelo, J. M., Molina-Soria, C. 2015. Nutrient Removal from Olive Trees by Fruit Yield and Pruning. *HortScience* vol. 50 n.º. 3: 474-478.
- Ferreira, J., García Ortiz, A., Frias, L., Fernández, A. 1984. Los nutrientes N, P, K en la fertilización del olivar. X Aniversario Red Cooperativa Europea de Investigación en Oleicultura, Córdoba.
- Ferreira, I., Arrobas, M., Claro, A. M., Rodrigues, M. A. 2013. Soil management in rainfed olive orchards may result in conflicting effects on olive production and soil fertility. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11 (2): 472 - 480.
- Firestone, M. K. 1982. Biological denitrification. In: Stevenson, F. J. (ed.) Nitrogen in Agricultural Soils. Agronomy 22. ASA-CSSA-SSSA, Madison, Wis. pp. 289-318.
- Francis, D. D., Vigil, M. F., Mosier, A. R.. 2008. Gaseous losses of nitrogen other than through denitrification. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.). Nitrogen in agricultural systems. Madison. WI: ASA, CSSA, SSSA. 255–79.
- Freeman, M., Carlson, R. M. 2005. Mineral nutrient availability. In: Sibbett, G.S., Ferguson, L. (Eds.) Olive Production Manual, 3353, 2nd ed. University of California Publication, Oakland, California. pp. 75–82.
- Freeman, M., Uriu, K., Hartmann, H. T. 2005. Diagnosing and correcting nutrient problems. In: Sibbett, G. S., Ferguson, L. (Eds.) Olive Production Manual, 3353, 2nd ed. University of California Publication, Oakland, California. pp. 83-98.
- Gerendás, J., Heuser, F., Sattelmacher, B. 2007. Influence of nitrogen and potassium supply on contents of acrylamide precursors in potato tubers and on acrylamide accumulation in french fries. *Journal of Plant Nutrition* 30: 1499–1516.
- Ghahfarokhi, M. G., Mansurifar, S., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Saeidi, M., Jamshidi, A. M., Ghasemi, E. 2015. Effects of drought stress and rewatering on antioxidant systems and relative water content in different growth stages of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Archives of Agronomy and Soil Science* 61 (4): 493–506.

- Goldbach, H. E., Yu, Q., Wingender, R., Schulz, M., Wimmer, M., Findelee, P., Baluka, F. 2001. Rapid response reactions of roots to boron deprivation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164: 173–181.
- Goldberg, S. 1997. Reactions of boron with soils. *Plant and Soil* 193: 35-48.
- Goldberg, S., Corwin, D., Shouse, P., Suárez, D. 2005. Prediction of boron adsorption by field samples of diverse textures. *Soil Science Society of America Journal* 69: 1379-1388.
- Goldberg, S., Suarez, D. L. 2012. Role of organic matter on boron adsorption-desorption hysteresis of soils. *Soil Science* 177: 417-423.
- Gomes, M. T. G., Luz, A. C., Santos, M. R., Batitucci, M. C. P., Silva, D. M., Falqueto, A. R. 2012. Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll a fluorescence transient. *Scientia Horticulturae* 14: 49–56.
- Gregoriou, C., El-Kholy, M. 2010. Fertilization, in: Olive GAP Manual: Good Agricultural Practices for the Near East & North Africa Countries. FAO, Rome, Italy.
- Günes, A., Alpaslan, M. 2000. Boron uptake and toxicity in maize genotypes in relation to boron and phosphorus supply. *Journal of Plant Nutrition* 23(4): 541-550.
- Gupta, U. C. 1979. Boron nutrition of crops. *Advances in Agronomy* 31: 273–307.
- Gupta, U. C. 2007. Boron. In: Barker, A. V., Pilbeam, D. J. (Eds.) Handbook of plant nutrition. CRC. pp. 241-277.
- Hartmann, H. T., Uriu, K., Lilleland, O. 1966. Olive nutrition. In: Childers, N. F (Ed.) Temperate to tropical fruit nutrition. Hort. Publ. Rutgers Univ., New Brunswick, N.J. pp. 252-261.
- Havlin, J. L., Tisdale, S. L., Nelson, W. L., Beaton, J. D. 2014. Soil fertility and fertilizers, an introduction to nutrient management, 8th edition. Pearson, Inc, New Jersey, USA.
- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Moller, I. S., White, P. 2012. Function of macronutrients. In: Marschner, P. (Ed.), Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Elsevier, London, UK, pp. 135–189.
- Holding, A. J. 1982. Some priority research areas in nitrogen studies. *Plant and soil* 67: 81-90.

- Howe, P. D. 1998. A review of boron effects in the environment. pp. 153-166.
- Hu, H., Brown, P. H. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil* 193: 49-58.
- INE. 2017. Estatísticas Agrícolas 2016. Instituto Nacional de Estatística. ISBN 978-989-25-0395-0. Lisboa. Portugal. pp. 13-30.
- Jackson, G. D., Kushnak, G. D., Carlson, G. R. Wichman D. M. 1997. Correlation of the Olsen phosphorus soil test: Spring wheat response. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 28 (9&10): 813-822.
- Jansson, S. L., Persson, J. 1982. Mineralization and immobilization of soil nitrogen. In: Stevenson, F. J. (Ed.). Nitrogen in agricultural soils. Agronomy, n° 22. pp 229-252.
- Jarrell W. M., Beverly, R. B. 1981. The dilution effect in plant nutrition studies. *Advances in Agronomy* 34: 197-224.
- Jasrotia, A., Singh, R. P., Singh, J. M., Bhutami, V. P. 1999. Response of olive trees to varying levels of N and K fertilizers. *Acta Horticulturae* 474: 337-340.
- Jedrowski, C., Ashoub, A., Brüggemann, W. 2013. Reactions of Egyptian landraces of *Hordeum vulgare* and *Sorghum bicolor* to drought stress, evaluated by the OJIP fluorescence transient analysis. *Acta Physiologiae Plantarum* 35: 345–354.
- Jones Jr., J. B., 2001. Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis. CRC Press, Boca Raton, Washington, D.C.
- Jones, Jr., J. B. 2012. Plant nutrition and soil fertility manual. 2nd edition, CRC Press, New York.
- Keren, R., Talpaz, H. 1984. Boron adsorption by montmorillonite as affected by particle size. *Soil Science Society of America Journal* 48: 555–559.
- Khan, S. A., Mulvaney, R. L., Ellsworth, T. R. 2013. The potassium paradox: Implications for soil fertility, crop production and human health. *Renewable Agriculture and Food Systems* 29(1): 3–27.
- Kissel, D. E., Cabrera, M. L., Paramasivan, S. 2008. Ammonium, ammonia, and urea reactions in soils. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.). Nitrogen in agricultural systems. Madison, WI: ASA, CSSA, SSSA. pp. 101–155.

- Kitayama, K. 2013. The activities of soil and root acid phosphatase in the nine tropical rain forests that differ in phosphorus availability on Mount Kinabalu. Borneo. *Plant and Soil* 367: 215–224.
- Kongshaug, G. 2007. Phosphate fertilizers (Caps 1-4, 13-15). In: Ullmann's Agrochemicals 1, Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Lakanen, E., Erviö, R. 1971. A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agralia Fennica* (123): 223-232.
- Li, H., Shen, J., Zhang, F., Marschner, P., Cawthray, G., Rengel, Z. 2010. Phosphorus uptake and rhizosphere properties of intercropped and monocropped maize, faba bean, and white lupin in acidic soil. *Biology and Fertility of Soils* 46: 79–91.
- Li, G., Huang, G., Li, H., van Ittersum, M. K., Leffelaar, P. A., Zhang, F., 2016. Identifying potential strategies in the key sectors of China's food chain to implement sustainable phosphorus management: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 104: 341–359.
- Liakopoulos, G., Karabourniotis, G. 2005. Boron deficiency and concentrations and composition of phenolic compounds in *Olea europaea* leaves: A combined growth chamber and field study. *Tree Physiology* 25 (3): 307–315.
- Lopez-Cantarero, I., Lorente, F. A., Romero, L. 1994. Are chlorophylls good indicators of nitrogen and phosphorus levels? *Journal of Plant Nutrition* 17: 979-990.
- López-Bellido, R. J., López-Bellido, L., Fernández-García, P., López-Bellido, J. M., Muñoz-Romero, V., López-Bellido, P. J., Calvache, S. 2012. Nitrogen remote diagnosis in a creeping bentgrass golf green. *European Journal of Agronomy* 37: 23–30.
- Loupassaki, M. H., Chartzoulakis, K. S., Digalaki, N. B., Androulakis, I. I. 2002. Effects of salt stress on concentration of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, and sodium in leaves, shoots, and roots of six olive cultivars. *Journal of Plant Nutrition* 25 (11): 2457–2482.
- LQARS (Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva). 2006. Manual de fertilização das culturas. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas. Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas, Lisboa, Portugal.

- Ma, Q., Longnecker, N., Atk, C. 2002. Varying phosphorus supply and development, growth and seed yield in narrow-leaved lupin. *Plant and Soil* 239: 79–85.
- MAP. 1977. Ministério de Agricultura e Pescas. Laboratório de Química Agrícola "Rebelo da Silva" Sector de Fertilidade de solo: Documentação 2. Série Divulgação. Lisboa, Portugal: DGSA.
- Marcelo, M. E., Jordão, P. V., Matias, H., Rogado, B. 2010. Influence of nitrogen and magnesium fertilization of olive tree 'Picual' on yield and olive oil quality. In: Pestana, M., Correia, P. J. (Eds.). *Acta Horticulturae* 868: VI International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops pp. 445-450.
- Matoh T. 1997. Boron in plant cell walls. *Plant and Soil* 193: 59-70.
- McDowell, R. W., Dils, R. M., Collins, A. L., Flahive, K. A., Sharpley, A. N., Quinn, J. 2016. A review of the policies and implementation of practices to decrease water quality impairment by phosphorus in New Zealand, the UK, and the US. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 104: 289–305.
- Mediavilla, S., Escudero, A., Heilmeyer, H. 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. *Tree Physiology* 21: 251–259.
- Middelkoop, J. C., Salm, C., Ehlert, P. A. I., de Boer, I. J. M., Oenema, O. 2016. Does balanced phosphorus fertilisation sustain high herbage yields and phosphorus contents in alternately grazed and mown pastures? *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 106: 93–111.
- Miwa, K., Fujiwara, T. 2010. Boron transport in plants: co-ordinated regulation of transporters. *Annals of Botany* 105: 1103–1108.
- Morales-Sillero, A., Fernández, J. E., Ordovás, J., Suárez, M. P., Pérez, J. A., Liñán, J., López, E. P., Girón, I., Troncoso, A. 2009. Plant-soil interactions in a fertigated 'Manzanilla de Sevilla' olive orchard. *Plant and Soil* 319: 147-162.
- Mosier, A. R., Duxubury, J. M., Freney, J. R., Heinemeyer, O., Minami, K. 1996. Nitrous oxide emissions from agricultural fields: assessment, measurement and mitigation. *Plant and Soil* 181: 95-108.

- Mpelasoka, B. S., Schachtman, D. P., Treeby, M. T., Thomas, M. R. 2003. A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 9: 154–168.
- Mulla, D. J., Strock, J. S. 2008. Nitrogen transformation process in soils. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.), *Nitrogen in Agricultural Systems*. Agronomy Monograph n.º 49. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 361–400.
- Mullins, G. L., Reeves, D. W., Schwab, R. L. 2001. Effect of seed phosphorus concentration, soil pH, and soil phosphorus status on the yield of white lupin. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32: 127–137.
- Myrold, D. D., Bottomley, P. Y. 2008. Nitrogen mineralization and immobilization. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Ed.). *Nitrogen in agricultural systems*. Madison, WI: ASA, CSSA, SSSA. pp. 157–72.
- Nable, R. O., Bañuelos, G. S., Paull, J. G. 1997. Boron toxicity. *Plant and Soil* 198: 181–198.
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., Renella, G. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. In: Bünemann E, Oberson A, Frossard E (Eds.). *Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling*. *Soil Biology* vol 26. Springer, Heidelberg.
- Nelson, D. W. 1982. Gaseous losses of nitrogen other than through denitrification. In: Stevenson, F. J. (Ed.). *Nitrogen in agricultural soils*. Agronomy, nº 22. pp 327–363.
- Nieves-Cordones, M., Alemán, F., Martínez, V., Rubio, F. 2014. K⁺ uptake in plant roots. The systems involved, their regulation and parallels in other organisms. *Journal of Plant Physiology* 171: 688–695.
- Neilsen, G. H., Neilsen, D., Herbert, L. C., Hogue, E. J. 2004. Response of apple to fertigation of N and K under conditions susceptible to the development of K deficiency. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129 (1): 26–31.
- Nommik, H., Vahtras, K. 1982. Retention and fixation of ammonium and ammonia in soils. In: Stevenson, F. J. (Ed.). *Nitrogen in agricultural soils*. Agronomy, n.º 22. pp. 123–171.

- Norton, J. M 2008. Nitrification in agricultural soils. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.), Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph n.º 49. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 173–199.
- Nziguheba, G., Zingore, S., Kihara, J., Merckx, R., Njoroge, S., Otinga, A., Vandamme, E., Vanlauwe, B. 2016. Phosphorus in smallholder farming systems of sub-Saharan Africa: implications for agricultural intensification. *Nutrient Cycling Agroecosystems* 104: 321–340.
- Olander, L. P., Vitousek, P. M. 2000. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry* 49: 175–190.
- Olk, D. C. 2008. Organic forms of soil nitrogen. In: Schepers, J.S., Raun, W.R. (Eds.), Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph n.º 49. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 57–100.
- Olsen, R. A., Cole, V., Watanabe, F. S., Dean, L. A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular 939, Washington, DC.
- Oosterhuis, D. M., Loka, D. A., Raper, T. B. 2014. Potassium and stress alleviation: Physiological functions and management in cotton. e-ifc n.º 38. International Potash Institute. pp. 19-27.
- Osman, K. T. 2013. Soils. Principles, Properties and Management. Springer.
- Paul, E. A., Clark, F. E., 1996. Soil Biology and Biochemistry, 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Peña-Rojas, K., Aranda, X., Joffre, R., Fleck, I. 2005. Leaf morphology, photochemistry and water status changes in resprouting *Quercus ilex* during drought. *Functional Plant Biology* 32: 117–130.
- Perica, S., Brown, P. H., Connell, J. H., Nyomora, A. M. S., Dordas, C., Hu, H. 2002. Olive response to foliar boron application. *Acta Horticulturae* 586: 381-383.
- Pettigrew, W. T., 2008. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. *Physiologia Plantarum* 133: 670–681.
- Power, P. P., Woods, W. G. 1997. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and Soil* 193: 1-13.

- Qiu, S., Xie, J., Zhao, S., Xu, X., Hou, Y., Wang, X., Zhou, W., He, P., Johnston, A. M., Christie, P., Jin, J. 2014. Long-term effects of potassium fertilization on yield, efficiency, and soil fertility status in a rain-fed maize system in northeast China. *Field Crops Research* 163: 1–9.
- Rapoport, H. F. 2017. Botánica y morfología. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. (Eds.). *El Cultivo del Olivo*, 7th ed. Mundi-Prensa., Madrid, Spain. pp. 39-62.
- Rashid, A., Ryan, J. 2004. Micronutrient constraints to crop production in soils with mediterranean-type characteristics: A Review. *Journal of plant nutrition* Vol. 27, N.º 6, pp. 959–975.
- Reid, R. J., Hayes, J. E., Post, A., Stangoulis, J. C. R., Graham, R. D. 2004. A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 1405–141.
- Reid, R. 2014. Understanding the boron transport network in plants. *Plant and Soil* 385: 1–13.
- Restrepo-Díaz, H., Benlloch, M., Fernández-Escobar, R. 2009. Leaf potassium accumulation in olive plants related nutritional K status, leaf age and foliar application of potassium salts. *Journal of Plant Nutrition* 32: 1108-1121.
- Restrepo-Díaz, H., Benlloch, M., Navarro, C., Fernández-Escobar, R. 2008. Potassium fertilization of rainfed olive orchards. *Scientia Horticulturae* 116: 339-403.
- Rodrigues, M. A. 2000. Gestão do azoto na cultura da batata. Tese de doutoramento. UTAD, Vila Real.
- Rodrigues, M. A., Arrobas, M. 2008. Effect of soil boron application on flower bud and leaf boron concentrations of olives. *Acta Horticulturae* 791: 393-396.
- Rodrigues, M. A., Cabanas, J. E. 2009. Manutenção do solo. In: Rodrigues, M. A., Correia, C. M. (Eds.). *Manual da safra e conta safra do olival*. Instituto Politécnico de Bragança. Portugal. pp. 41-57.
- Rodrigues, M. A., Correia, C. M., Claro, A. M., Ferreira, I. Q., Barbosa, J. C., Moutinho-Pereira, J. M., Bacelar, E. A., Fernandes-Silva, A. A., Arrobas, M. 2013. Soil nitrogen availability in olive orchards after mulching legume cover crop residues. *Scientia Horticulturae* 156: 45–51.

- Rodrigues, M. A., Coutinho, J., Martins, F. 2002. Efficacy and limitations of triticale as nitrogen catch crop in a Mediterranean environment. *European Journal of Agronomy* 17: 155-160.
- Rodrigues, M. A., Dimande, P., Pereira, E. L., Ferreira, I. Q., Freitas, S., Correia, C. C., Moutinho-Pereira, J., Arrobas, M. 2015. Early-maturing annual legumes: an option for cover cropping in rainfed olive orchards. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* Vol. 102/3.
- Rodrigues, M. A., Ferreira, I. Q., Claro, A. M., Arrobas, M. 2012. Fertilizer recommendations for olive based upon nutrients removed in crop and pruning. *Scientia Horticulturae* 142: 205–211.
- Rodrigues, M. A., Lopes, J. I., Pavão, F. M., Cabanas, J. E., Arrobas, M. 2011a. Effect of Soil Management on Olive Yield and Nutritional Status of Trees in Rainfed Orchards. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 42: 993–1007.
- Rodrigues, M. A., Pavão, F., Lopes, J. I., Gomes, V., Arrobas, M., Moutinho-Pereira, J., Ruivo, S., Cabanas, J. E., Correia, C. M. 2011b. Olive yields and tree nutritional status during a four year period without nitrogen and boron fertilization. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 42 (7): 803-814.
- Rosati, A., Caporali, S., Paoletti, A. 2015. Fertilization with N and K increases oil and water content in olive (*Olea europaea* L.) fruit via increased proportion of pulp. *Scientia Horticulturae* 192: 381–386.
- Russelle, M. P. 2008. Biological dinitrogen fixation in agriculture. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.). Nitrogen in agricultural systems. Agronomy Monograph n.º 49. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 281–359.
- Sanchez, C. A. 2007. Phosphorus. In: Barker, A. V., Pilbeam, D. J. (Eds.). Handbook of Plant Nutrition. CRC. pp. 51-90.
- Santos, J. Q. 2015. Fertilização. Fundamentos agroambientais da utilização dos adubos e corretivos. Publindústria, Edições técnicas.
- Sarkar, D., De, D. K., Das, R., Mandal, B. 2014. Removal of organic matter and oxides of iron and manganese from soil influences boron adsorption in soil. *Geoderma* 214–215: 213–216.

- Saykhul, A., Chatzissavvidis, C., Therios, I., Dimassi, K., Chatzistathis, T. 2014. Growth and nutrient status of olive plants as influenced by foliar potassium applications. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14 (3): 602-615.
- Säumel I, Kotsyuk I, Hölscher M, Lenkerei C, Weber F, Kowarik I. 2012. How healthy is urban horticulture in high traffic areas? Trace metal concentrations in vegetable crops from plantings within inner city neighbourhoods in Berlin, Germany. *Environ Pollut.* 165: 124–132.
- Scherer, H. W., Mengel, K. 2007. Ullmann's Agrochemicals. Fertilizers, vol. 3. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Weinheim (Chapter 2).
- Schmidt, E. L. 1982. Nitrification in soil. In: Stevenson, F.J. (ed.), Nitrogen in Agricultural Soils. Agronomy 22. ASA-CSSA-SSSA, Madison, Wis. pp. 253-288.
- Schultz, H. 2007. Potassium compounds (Caps 1, 4, 6-10, sections 3.3, 5.1, 5.2, 5.4-5.6, 5.8-5.12). In: Ullmann's Agrochemicals 1, Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Schulze, J., Temple, G., Temple, S., Beschow, H., Vance, C. P. 2006. Nitrogen fixation by white lupin under phosphorus deficiency. *Annals of Botany* 98: 731–740.
- Sepehr, E., Rengel, Z., Fateh, E., Sadaghiani, M. R., 2012. Differential capacity of wheat cultivars and white lupin to acquire phosphorus from rock phosphate, phytate and soluble phosphorus sources. *Journal of Plant Nutrition* 35: 1180–1191.
- Shabala, S, Pottosin, I. 2014. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum* 151: 257–79.
- Shorrocks, V. M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and Soil* vol. 193: 121-148.
- Shepherd, J. G., Kleemann, R., Bahri-Esfahani, J., Hudek, L., Suriyagoda, L., Vandamme, E., van Dijk, K. E. C. 2016. The future of phosphorus in our hands. *Nutrient Cycling Agroecosystems* 104: 281–287.
- Sibbett, G. S., Ferguson, L. 2002. Nitrogen, boron, and potassium dynamic in 'On' vs 'Off' cropped Manzanillo olive trees in California, USA. *Acta Horticulturae* 586: 369–373.

- Sims, J. T. 1996. Lime requirement. In: *Methods of Soil Analysis. Part 3 – Chemical Methods*. SSSA Book Series:5. pp. 491-515.
- Smith, P. F. 1962. Mineral analysis of plant tissues. *Annual Review of Plant Physiology* 13: 81-108.
- Soyergin, S. 2010. Effects of soil and leaf treatments to eliminate boron deficiency in olives. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41: 2004–2010.
- Stevenson, F. J. 1986. *Cycles of Soil. Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. John Wiley & Sons, New York. 380 pp.
- Tabatabai, M. A., Bremner, J. M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1(4): 301–307.
- Tan, D., Jin, J., Jiang, L., Huang, S., Liu, Z. 2012. Potassium assessment of grain producing soils in North China. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 148: 65–71.
- Tekaya, M., Mechri, B., Bchir, A., Attia, F., Cheheb, H., Daassa, M., Hammami, M. 2013a. Effect of nutrient-based fertilisers of olive trees on olive oil quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93: 2045–205.
- Tekaya, M., Mechri, B., Bchir, A., Attia, F., Cheheb, H., Daassa, M., Hammami, M. 2013b. Enhancement of Antioxidants in Olive Oil by Foliar Fertilization of Olive Tree. *Journal of the American Oil Chemists Society* 90: 1377–1386.
- Therios, I. N. 2009. *Olives. Crop Production Science in Horticulture*, 18. Oxfordshire, UK: CABI International.
- Tomasi, N., Weisskopf, L., Renella, G., Landi, L., Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P., Torrent, J., Martinoia, E., Cesco, S. 2008. Flavonoids of white lupin roots participate in phosphorus mobilization from soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1971–1974.
- Toker, C., Yavuz, N. 2015. The effect of boron application on chemical characterization and volatile compounds of virgin olive oil of ayvalik olive cultivar. *Journal of the American Oil Chemists Society* Volume 92. pp 1421–1428.
- Türk, M., Albayrak, S., Yüksel, O. 2007. Effects of phosphorus fertilisation and harvesting stages on forage yield and quality of narbon vetch. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 50: 457-462.

- Turner, B. L. 2008. Resource partitioning for soil phosphorus: a hypothesis. *Journal of Ecology* 96: 698–702.
- Uhde-Stone, C., Gilbert, G., Johnson, J. M. F., Litjens, R., Zinn, K. E., Temple, S. J., Vance, C. P., Allan, D. L. 2003. Acclimation of white lupin to phosphorus deficiency involves enhanced expression of genes related to organic acid metabolism. *Plant and Soil* 248: 99–116.
- van Reeuwijk, L. P. 2002. Procedures for soil analysis. Sixth edition. ISRIC. FAO.
- Varenes, A. 2003. Produtividade dos solos e Ambiente. Escolar Editora.
- Veneklaas, E. J., Stevens, J., Cawthray, G. R., Turner, S., Grigg, A. M., Lambers, H. 2003. Chickpea and white lupin rhizosphere carboxylates vary with soil properties and enhance phosphorus uptake. *Plant and Soil* 248: 187–197.
- Voroney, P., Derry, D. 2008. Origin and distribution of nitrogen in soil. In: Schepers, J. S., Raun, W. R. (Eds.), Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph n.º 49. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. pp. 1–30.
- Vossen, P. M. 2007. Organic olive production manual. University of California. Agriculture and Natural Resources Communication Services. Publ. 3505. 112 pp.
- Wakeel A. 2013. Potassium–sodium interactions in soil and plant under saline-sodic conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 176: 344–54.
- Wang, B. L., Shen, J. B., Zhang, W. H., Zhang, F. S., Neumann, G. 2007. Citrate exudation from white lupin induced by phosphorus deficiency differs from that induced by aluminum. *The New Phytologist* 176: 581–589.
- Wang, X., Guppy, C. N., Watson, L., Sale, P. W. S., Tang, C. 2011. Availability of sparingly soluble phosphorus sources to cotton (*Gossypium hirsutum* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.) and white lupin (*Lupinus albus* L.) with different forms of nitrogen as evaluated by a ³²P isotopic dilution technique. *Plant and Soil* 348: 85–98.
- Wang, X., Tang, C., Guppy, C. N., Sale, P. W. G. 2010. Cotton, wheat and white lupin differ in phosphorus acquisition from sparingly soluble sources. *Environmental and Experimental Botany* 69: 267–272.

- Watt, M., Evans, J. R. 2003. Phosphorus acquisition from soil by white lupin (*Lupinus albus* L.) and soybean (*Glycine max* L.), species with contrasting root development. *Plant and Soil* 248: 271–283.
- Werner, W. 2007. Environmental aspects of fertilizer application. In: Ullmann's Agrochemicals, Fertilizers, 3 (Chap. 9). Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. pp. 99–111.
- Wimmer, M. A., Eichert, T. 2013. Review: Mechanisms for boron deficiency-mediated changes in plant water relations. *Plant Science* 203–204: 25–32.
- Xu, J. M., Wang, K., Bell, R. W., Yang, Y. A., Huang, L. B. 2001. Soil boron fractions and their relationship to soil properties. *Soil Science Society of America Journal* 65: 133–138.
- Yermiyahu, U., Keren, R., Chen, Y. 2001. Effect of composted organic matter on boron uptake by plants. *Soil Science Society of America Journal* 65: 1436–1441.
- Zegaoui, Z., Planchais, S., Cabassa, C., Djebbar, R., Belbachir, O. A., Pierre Carol, P. 2017. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *Journal of Plant Physiology* 218: 26–34.
- Zhang, G., Chen, Z., Zhang, A., Chen, L., Wu, Z., Ma, X. 2014. Phosphorus composition and phosphatase activities in soils affected by long-term application of pig manure and inorganic fertilizers. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45:1866–1876.
- Zhao, S., He, P., Qiu, S., Jia, L., Liu, M., Jin, J., Johnston, A. M. 2014. Long-term effects of potassium fertilization and straw return on soil potassium levels and crop yields in north-central China. *Field Crops Research* 169: 116–122.
- Zheng, M., Huang, J., Chen, H., Wang, H., Mo, J. 2015. Responses of soil acid phosphatase and beta-glucosidase to nitrogen and phosphorus addition in two subtropical forests in southern China. *European Journal of Soil Biology* 68: 77–84.
- Zörb, C., Senbayram, M., S., Peiter, E. 2014. Potassium in agriculture-Status and perspectives. *Journal of Plant Physiology* 171: 656–669.