



3

EVOLUÇÃO
TECNOLÓGICA
EM OLIVICULTURA



EVOLUÇÃO TECNOLÓGICA DA OLIVICULTURA

PROF. J. MOTA-BARROSO; PROF PEÇAS, PROF. DIAS, PROF. PINHEIRO, PROF PEIXE.

TECNOLOGIAS CULTURAIS

A evolução dos sistemas de condução da oliveira

Embora na literatura clássica sobre esta espécie lenhosa a terminologia de sistemas de condução não seja muito comum, pensamos que a sua utilização se justifica plenamente pela analogia com o que se passa em outras culturas lenhosas, bem como por facilitar bastante a compreensão da maioria das práticas e técnicas culturais utilizadas ao longo dos tempos e que geralmente se justificam em função de uma perspectiva mais integrada da cultura. Assim entendemos por sistema de condução não apenas a forma da copa dada às árvores, mas todas as componentes do sistema de cultivo que se consideram mais ou menos fixos durante a vida das mesmas, como o compasso, a orientação, a armação e manutenção do solo, o sistema de poda, a altura e forma da copa e o tipo de rega e fertilização entre outros. De facto embora a renovação da copa na Oliveira seja uma condição indispensável à manutenção da sua boa produção, porque produz apenas em jovens ramos de um ano de idade, a sua elevada rusticidade e facilidade de cicatrização da sua madeira, permitem muitas e diversas estratégias de gestão da copa, que são em geral consequência de outros factores de condução da cultura.

Olival tradicional disperso

O sistema mais tradicional de cultivar a oliveira em toda a zona mediterrânica, correspondia a situações de árvores mais ou menos dispersas, cuja implantação das mesmas não obedecia a nenhuma ideia de cultura continua

propriamente dita, representando cada uma delas um objectivo cultural. Assim elas podiam aparecer associadas a zonas de horta ou defesas mais ou menos protegidas, bordejando caminhos ou dividindo parcelas e propriedades, Podiam ainda ser o resultado da enxertia de zambujeiros selvagens aproveitando a sua implantação natural. De comum este sistema tinha o facto de possuir uma reduzida densidade, em geral menos de 70 árvores por ha, não representar uma utilização exclusiva do solo, estando associado a outras utilizações mais ou menos intensivas consoante as regiões, e não ser alvo de grandes cuidados na sua manutenção. A única operação cultural utilizada para além da colheita dos frutos, era a poda da copa, em geral drástica, reduzindo a copa ao mínimo possível, e mesmo assim a sua pratica dependia mais da oportunidade ou necessidade de utilização da sua lenha que dum plano prévio e justificado da operação. Mais recentemente estas árvores mesmo dispersas começaram a receber alguns tratamentos fitossanitários ocasionais, mas devido à sua implantação muitas vezes em zonas inacessíveis e montanhosas a grande maioria foi resistindo sem qualquer cuidado a esse nível. Grande parte deste olival está hoje abandonado pela sua baixa produtividade e inviabilidade económica, e constitui uma reserva botânica e genética apreciável, sendo ainda um manancial apreciável para a utilização de velhas árvores transplantadas para novos jardins e parques. As variedades mais comuns neste olival são rústicas e resistentes às pragas e doenças mais comuns, estando muito bem adaptadas a cada região. Em Portugal a mais frequente é a Galega vulgar.

Olival tradicional alinhado

Com uma densidade inferior a 120 árvores por ha, este olival representa ainda hoje quase 50% de todo o olival mediterrânico, estando fortemente ameaçado na sua viabilidade económica, pelo facto da sua conta de cultura não resistir à concorrência dos sistemas mais intensivos



em que a produtividade não para de subir à medida que novas tecnologias vão sendo utilizadas, proporcionando custos de produção unitários cada vez menores. Aqui já existe uma preocupação de “cultura” associando as árvores de forma a facilitar as diversas intervenções sobretudo ao solo, procedendo-se ao seu alinhamento. Neste sistema de cultivo a utilização do solo é em geral exclusiva, embora nem sempre, existindo a preocupação em realizar operações de manutenção do solo, para combater as infestantes, em geral mobilizações do tipo gradagens ou escarificações superficiais, e a poda das arvores já obedece a um plano prévio, em que quer a forma da copa, altura do tronco, intervalo entre intervenções está estabelecido. A utilização de factores de produção é ainda muito reduzida, sendo a pratica da fertilização por exemplo uma atenção nem sempre respeitada, mas onde a mecanização das mobilizações se começou a generalizar à medida que a oferta de meios foi aparecendo no mercado e variando também muito com a dimensão das explorações. A utilização de animais como única força de tracção nos trabalhos em explorações mais pequenas e familiares chegou até ao final do século XX. A utilização da mão de obra em todas as operações era a regra, na poda e queima da respectiva lenha que ocorria em geral de sete em sete anos, na colheita, nos poucos tratamentos fitossanitários efectuados utilizando pulverizadores de jacto manejados a partir do solo.

Este olival estava em geral associado à pequena propriedade, mesmo em regiões de grande propriedade como o Alentejo, e muitas vezes consociado com outras culturas como a vinha ou mesmo hortícolas onde se dispunha de água. A consociação com a vinha respondia à necessidade de obter rendimento mais rápido, sendo o olival uma cultura de tardia entrada em produção, e isto era particularmente importante na pequena exploração onde as alternativas de outras culturas não existiam. Os longos períodos de juventude das árvores são consequência da excessiva atenção dada à poda de formação, em que a constituição de um esqueleto grande e robusto constituía a prioridade dos primeiros anos da cultura, secundarizando a entrada em produção. A produtividade típica deste olival varia de 500 a 1500 kg de azeitona por ha e a sua extrema irregularidade e alternância são a sua imagem de marca. As podas muito espaçadas e intensas que eliminavam a grande parte da copa já velha e improdutivo, obrigando a esperar algum tempo para que a mesma se recompusesse, associadas a práticas de colheita da azeitona não muito respeitadoras dos pequenos ramos portadores dos frutos e dos gomos florais são a principal causa.

Este é um olival em geral de sequeiro, embora



Fig. 000- Cultura da oliveira em mezza luna. Olivaes e Lagares, Mota Prego.

Fig. 000 – Olival na meia encosta. Olivaes e Lagares, Mota Prego.

Fig. 000 – Exemplo de velho olival disperso.

Fig. 000– Tradicional olival alinhado de sequeiro

Fig. 000– Moderno olival intensivo com rega gota a gota

recentemente em casos muito pontuais e onde era possível dispor de água para rega alguns agricultores tenham instalado sistemas de rega tipo gota a gota, com resultados muito positivos ao nível da produtividade por árvore. No entanto as pequenas densidades de árvores por ha e pouca eficiência na condução e poda da copa, limitam as produções potenciais, que dificilmente mesmo nestes casos sobem acima dos 3000 kg por ha nos melhores anos.

Olival intensivo

Como a palavra “intensivo” sugere, neste sistema existe a preocupação de tirar o máximo partido da área ocupada com a cultura, aumentando as densidades de plantas para as 200 a 450 por ha, consoante solos e variedades, e introduzindo a rega geralmente localizada do tipo gota a gota como factor essencial da produtividade. As produtividades podem atingir as 7 ou 9 toneladas por ha, por vezes mesmo mais, dependendo do nível de utilização de outros factores sobretudo da fertilização e controlo de pragas e doenças. Aspecto importante deste sistema é a distribuição das plantas em rectângulo, existindo sempre uma diferença de 2 a 3m entre a distancia das plantas na entre-linha para as plantas na linha. Esta exigência tem a ver com as exigências de mecanização, sobretudo na apanha mecanizada com vibradores de tronco, e a dimensão dos tractores utilizados como se falará mais à frente. Mas é também o resultado da massificação na utilização da rega gota-a-gota que ao colocar o tubo de distribuição de agua num dos sentidos do alinhamento das arvores, corta assim a possibilidade de aí passarem as maquinas.

Ainda assim neste sistema, as copas das arvores são geralmente conduzidas em vaso alto mas não se tocam na linha, constituindo copas independentes e cuja captação de luz radiante se estende a todo o perímetro. Uma boa condução da copa implica a constante intervenção no centro da copa para retirar os ramos vigorosos que fecham o centro, evitando que o vaso se transforme num globo, o que reduz em muito a relação superfície/ volume do sistema com consequências negativas para a produtividade.

Existe neste sistema a preocupação de optimização de dois factores essenciais para a produtividade da oliveira: exposição dos ramos à luz e disponibilidade de agua ao longo do ciclo. As podas passam a ser anuais e constituídas por intervenções mais racionais, em que os objectivos são a eliminação dos ramos ladrões e madeira velha improdutivo, mantendo sempre uma copa bem preenchida de jovens ramos produtivos. O objectivo deverá ser o de manter a maior relação possível de madeira nova vs madeira velha.

Olival alta densidade

A alta densidade representa a evolução natural do sistema intensivo, estando muito dependente das soluções de apanha mecânica disponíveis. A densidade deste sistema sobe para 600-800 arvores, essencialmente como consequência da maior aproximação das árvores na linha. O sistema de condução da copa pode ser na mesma o vaso alto, mas o eixo central ganha predominância, pela maior facilidade de poda mecanizada e pela dificuldade de manter um centro aberto em árvores muito apertadas na linha. A filosofia geral do sistema é a de manter uma sebe contínua de vegetação ao longo da linha, deixando de haver individualidade de copas no que diz respeito à sua condução. Se para muitas operações como os tratamentos fitossanitários esta condução não tem grandes implicações, já para a colheita esta solução implica a utilização de vibradores laterais ou sacudidores de copa, máquinas menos divulgadas e geralmente só ao alcance das grandes plantações. A redução de custos da cultura é a principal preocupação deste sistema, e a mecanização tende a ser total, incluindo a poda, o que implica que alguns detalhes da condução da copa sejam esquecidos. Mais importante que a produtividade por ha procura-se aqui reduzir ao máximo o custo por kg de azeitona produzido.

Sendo um sistema de muito baixo custo de operação, pode ainda compatibilizar a elevada densidade de plantas por ha com a utilização de variedades vigorosas, dispensando a necessidade de controlar a altura das arvores e permitindo a utilização de máquinas de colheita de grande produtividade. O potencial de produção deste sistema compete com o super-intensivo superando as 12 toneladas por ha e embora tenha uma entrada em produção mais lenta em virtude de ser necessário mais tempo até à plena ocupação do espaço disponível, pode ter uma maior longevidade na generalidade das variedades utilizadas. O equilíbrio do vigor e produção é mais fácil de controlar a partir dos 10-12 anos, porque a dimensão final das árvores se aproxima mais do seu tamanho natural. As distâncias de plantação podem reflectir o diferente vigor das variedades e pode assim variar de 6 x 2,5 nas menos vigorosas até 7 x 4 ou 8 x 4 nas mais vigorosas.

Olival super – intensivo

Representou a grande revolução na cultura do olival, porque permitiu obter em 10 anos de cultura a mesma produção acumulada de um olival tradicional de sequeiro em 70 anos. Resultado de uma extraordinária visão de aproveitamento de uma variedade já muito antiga, mas com a rara característica de ser muito pouco vigorosa



– a ‘Arbequina’ e da existência de uma tecnologia desenvolvida para a vinha – a máquina de vindimar cavalgadora com barras que permitem sacudir lateralmente a copa. Com densidades de plantação ultrapassando as 1500 árvores por ha, permite uma entrada em produção ultra-precoce, logo ao terceiro ano, porque combina o reduzido período de juventude característico das variedades pouco vigorosas com a elevada densidade e proximidade entre sistemas radiculares, que reduz ainda mais esse período. É assim possível atingir produções de cruzeiro a partir do 6º ano, que facilmente ultrapassam as 12 toneladas e cuja colheita é extremamente facilitada pela utilização da já referida maquina vindimadora que colhe em contínuo de um e outro lado da sebe.

As grandes vantagens deste sistema residem na extraordinária precocidade da entrada em produção, permitindo obter elevadas colheitas logo entre o 3 e o 8º ano com a manutenção da copa muito reduzida, e a facilidade da apanha mecanizada. Os pontos negativos estão na dificuldade de controlo do vigor das árvores, estando a sua utilização restrita às variedades de muito reduzido vigor, e na sua curta vida económica. Claro que o potencial deste sistema intensivo só é plenamente aproveitado em regime de rega e fertilização sem restrições, para o qual é necessário

Fig. Exemplo de olival super-intensivo após a realização da poda anual

dispor de conhecimento e monitorização adequado.

A MECANIZAÇÃO

Colheita mecanizada de azeitona – Portugal acompanhando a evolução

Nos olivais “tradicional”, com pouco menos de 100 a pouco mais de 200 árvores/ha, a colheita mecanizada recorre sobretudo a vibradores de tronco montados em veículos especializados (fig. 1) ou em tractores agrícolas (fig. 2). A recolha é efetuada em panais ou lonas estendidos por



operadores na projeção das copas e transferidos de árvore para árvore ao longo da linha. O número de operadores, a sua experiência e o modo de contrato (pagamento ao dia ou em função da massa de azeitona recolhida) determinam a capacidade de trabalho.

A figura 1 tem a particularidade de mostrar um equipamento marcante da fase pioneira da mecanização da olivicultura. Tal se deve à visão esclarecida do Engenheiro José Franco de Oliveira Falcão que, após viagem aos Estados Unidos da América em 1973, importou dois vibradores automotrizes utilizados na colheita de frutos secos e empreendeu a tarefa de modificá-los para melhorar a sua prestação na colheita da azeitona. A campanha de 1974, em que pela primeira vez se efetuou, a colheita por vibração ao tronco na Herdade de Torre das Figueiras é um marco histórico na mecanização da olivicultura no Alentejo.

Foi igualmente na década de 70 que, pela iniciativa do Engenheiro Camilo António de Almeida Gama Lemos Mendonça, se importaram e difundiram no Nordeste Transmontano os primeiros modelos de equipamentos para a colheita de azeitona, constituídos por vibrador e apara frutos.

A figura 2 tem a particularidade de mostrar o primeiro equipamento da Estação de Olivicultura (Elvas), constituído por uma cabeça de vibração fabricada pelo Engenheiro José Franco de Oliveira Falcão na Herdade de Torre das Figueiras em Monforte.

Os modernos tratores equipados com transmissões de comando eletro-hidráulico facilitam a manobra do operador do trator. Contudo, são os veículos especialmente concebidos – vibradores automotrizes – que, servindo-se de transmissões hidrostáticas e grande facilidade de mudar de direção e sentido, permitem elevados valores de capacidade de trabalho.

A utilização de um apara frutos como sistema de recolha, associado ao vibrador de tronco (fig. 3), surge como uma alternativa para reduzir a dependência da mão-de-obra.

Nas campanhas de 1995 a 1998, num âmbito dum projeto de investigação levado a cabo Departamento de Engenharia Rural da Universidade de Évora, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança e Departamento de Olivicultura da Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, foi construído e avaliado um equipamento denominado “semirreboque enrolador de panos”, concebido para a recolha de azeitona destacada por vibrador de tronco (fig. 6).

Nos ensaios realizados em 2 olivais no Alentejo com 400 árvores por hectare (Peça *et al.*, 2005), a cadeia baseada no vibrador de tronco e panais estendidos manualmente mostrou valores de capacidade de trabalho de 77 a 91 árvores/h, ou seja, 11 a 13 árvores/homem-hora; a cadeia baseada no mesmo vibrador de tronco servindo dois semirreboques de enrolar panos, trabalhando em paralelo

num vibrador de tronco e apara frutos revelou uma capacidade de trabalho (árvores/h) entre 77 a 100% do valor obtido na cadeia baseada no mesmo vibrador de tronco e recolha em panais. Contudo em termos de árvores/homem-hora a cadeia do vibrador de tronco e apara frutos apresentou valores 3,5 a 4 vezes superiores, mostrando claramente o seu potencial em termos de custos.

Naturalmente, o diâmetro do tronco pode inviabilizar a utilização do vibrador de tronco pela impossibilidade deste abraçar a árvore. O recurso a vibração de pernas não constitui uma verdadeira alternativa em virtude de penalizar fortemente a capacidade de trabalho (Almeida *et al.*, 2001). Em particular, a forma do tronco pode impossibilitar a armação do apara frutos em torno da árvore. A elevada carga no eixo frontal do trator conjugada com a fraca capacidade de sustentação dos solos na altura da colheita (inverno) é outra limitação desta opção. A elevada carga imposta fora do entre-eixos do trator é motivo para especiais cuidados na descida de declives os quais, se necessário, devem ser negociados em marcha atrás.

Nos olivais “intensivos”, com 260 a 550 árvores/ha, a mecanização da colheita recorre sobretudo a vibradores de tronco montados em tratores agrícolas (fig. 4). A recolha é efetuada em panais ou lonas estendidos por operadores na projeção das copas e transferidos de árvore para árvore ao longo da linha. A proximidade das árvores torna difícil ou impossível o recurso a apara frutos.

As empresas olivícolas de maior dimensão têm apostado no olival “intensivo” e conseqüentemente investido em equipamentos de grande capacidade de manobra (fig. 5). Contudo, reconhecem a séria dependência em mão-de-obra na colheita deste tipo de olival, pelo que estão sempre recetivos a alternativas de colheita.

Nas campanhas de 2001 a 2003, num âmbito dum projeto de investigação levado a cabo pelo Departamento de Engenharia Rural da Universidade de Évora, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança e Departamento de Olivicultura da Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, foi construído e avaliado um equipamento denominado “semirreboque enrolador de panos”, concebido para a recolha de azeitona destacada por vibrador de tronco (fig. 6).

Nos ensaios realizados em 2 olivais no Alentejo com 400 árvores por hectare (Peça *et al.*, 2005), a cadeia baseada no vibrador de tronco e panais estendidos manualmente mostrou valores de capacidade de trabalho de 77 a 91 árvores/h, ou seja, 11 a 13 árvores/homem-hora; a cadeia baseada no mesmo vibrador de tronco servindo dois semirreboques de enrolar panos, trabalhando em paralelo

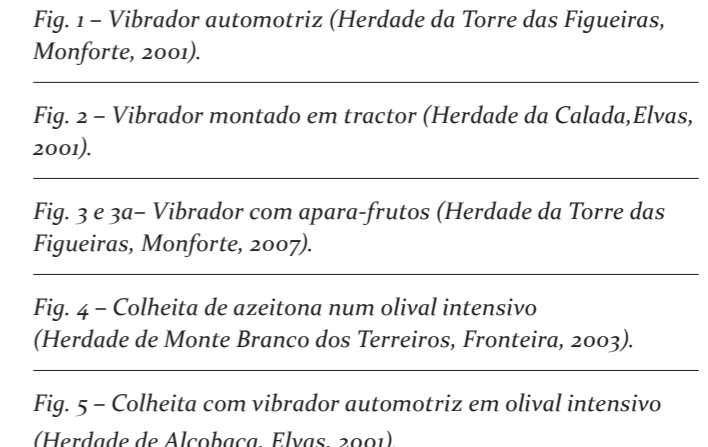


Fig. 1 – Vibrador automotriz (Herdade da Torre das Figueiras, Monforte, 2001).

Fig. 2 – Vibrador montado em tractor (Herdade da Calada, Elvas, 2001).

Fig. 3 e 3a – Vibrador com apara-frutos (Herdade da Torre das Figueiras, Monforte, 2007).

Fig. 4 – Colheita de azeitona num olival intensivo (Herdade de Monte Branco dos Terreiros, Fronteira, 2003).

Fig. 5 – Colheita com vibrador automotriz em olival intensivo (Herdade de Alcobaça, Elvas, 2001).

Fig. 6 – Semirreboque enrolador de panos (Olival de Vale Pradoso, Mirandela, 2003).



(fig. 7), mostrou ser possível valores semelhantes de 80 árvores/h (11.4 árvores/homem-hora).

Ainda que o esforço requerido aos operadores na cadeia do enrolador de panos seja inferior, de facto, não existe redução de mão-de-obra, pelo que a solução não vingou.

Uma diferente abordagem está presentemente a ser seguida para a colheita do olival “intensivo”; trata-se de substituir a vibração do tronco pela vibração da copa. Desta forma a energia para o destaque é colocada mais perto do fruto e, sobretudo, substitui-se um método baseado numa rotina de operações realizadas árvore a árvore, por um método contínuo de colheita com uma substancial redução de mão-de-obra.

Num âmbito dum projeto de investigação levado a cabo pelo Departamento de Engenharia Rural da Universidade de Évora e a Empresa Vítor Cardoso Lda. com a colaboração de Torre das Figueiras – Sociedade Agrícola, Lda., está a ser concebido e avaliado um equipamento denominado “Máquina de Colheita em Contínuo de Azeitona” (fig. 8). Os resultados preliminares das campanhas de 2009 a 2011 sugerem um grande potencial para esta técnica e, conseqüentemente, que a tecnologia devidamente testada terá impacto na olivicultura moderna.

Nos olivais “superintensivos”, em que os mais frequentes em Portugal têm 1850 a 2100 árvores/ha, a colheita mecanizada recorre a máquinas de colheita automatizadas cuja concepção se baseia na máquina de vindimar automatizada (fig. 9), possibilitando capacidades de trabalho de 3h/ha (Basílio, 2008).

O crescimento das árvores e a conseqüente limitação para o desempenho deste tipo de máquinas tem levado ao aparecimento de variantes específicas para a olivicultura (fig. 10) cujo tamanho permite, inclusivamente, o seu uso em olivais intensivos nos primeiros anos de produção.

Nestes tipos de máquinas, o destaque da azeitona é efetuado interagindo, de um lado e do outro da copa, barras com movimento lateral oscilatório ou varetas vibrantes

Fig. 7 – Recolha de azeitona com dois semirreboques de enrolar panos em paralelo (Herdade de Monte Branco dos Terreiros, Fronteira, 2003)

Fig. 8 – Máquina de Colheita em Contínuo de Azeitona (Herdade da Torre das Figueiras, Monforte, 2011)

Fig. 9 – Colheita com máquina de vindimar em olival superintensivo (Quinta de Vale de Lobos, Santarém, 2006).

Fig. 10 – Colheita com máquina automatizada em olival intensivo (Herdade do Marmelo, Ferreira da Alentejo, 2010).



colocadas radialmente em mastros verticais.

A mecanização na poda

Tradicionalmente a poda da oliveira era executada manualmente com serrote e machado. O aparecimento da motosserra, em particular o modelo em altura (fig. 11) que permite efectuar a poda sem necessidade de subir às árvores, contribuiu para aumentar o nível de mecanização da poda da oliveira.

Na fase inicial de condução do olival, quando as intervenções de poda são ligeiras, são particularmente úteis os equipamentos de poda manual assistida mecanicamente, como as tesouras pneumáticas ou as tesouras eléctricas (fig. 12).

A necessidade de aumentar o nível de mecanização da poda da oliveira, como forma de redução de custos, levou a que, em 1997, se iniciasse a avaliação da utilização da máquina de podar de discos (fig. 13) na poda da oliveira (Dias *et al.*, 1998). Em trabalhos efectuados em olivais tradicionais, obteve-se uma capacidade de trabalho com a máquina de podar de discos que variou entre as 150 e as 200 árvores por hora enquanto na poda com motosserra a capacidade de trabalho variou entre 10 a 20 árvores podadas por hora x homem (Dias, *et al.*, 2001). A utilização da máquina de podar de discos permite reduzir os custos de poda e simultaneamente manter as árvores sem quebras de produção comparativamente com as podadas manualmente, durante um período de 6 a 7 anos (Dias, 2006).

Tal tem contribuído para que esta técnica de poda tenha vindo a ganhar mais adeptos, situação bem evidente nos olivais superintensivos, onde a necessidade de controlar a dimensão das árvores para permitir a utilização de máquinas cavalgadoras na colheita da azeitona, tem levado os olivicultores a optarem por esta solução, visto permitir reduzir consideravelmente os custos de poda.

A necessidade de controlar mecanicamente a dimensão da parte inferior da copa das oliveiras para permitir a

Fig. 11 – Poda com motosserra em altura (Quinta de Vale de Lobos, Santarém, 2011).

Fig. 12 – Poda com tesoura eléctrica (Herdade da Torre das Figueiras, Monforte, 2012).

Fig. 13 – Corte horizontal da copa máquina de podar de discos (Herdade Torre das Figueiras, Monforte, 2001).

Fig. 14 – Corte de ramos pendentes na parte inferior da copa (Herdade Torre das Figueiras, Monforte, 2007).





colocação do “vibrador + aparta-frutos” para a colheita da azeitona, levou a que se desenvolvesse uma barra de corte com um menor número de discos para permitir a passagem da máquina de cada um dos lados do tronco da oliveira (fig.14). No caso dos olivais intensivos onde os ramos das oliveiras são mais flexíveis este tipo de intervenção é realizado por uma máquina de podar com barra de corte de facas (fig. 15). No caso do olival superintensivo, existem máquinas de podar com barra de corte de facas que permitem podar, simultaneamente, duas linhas de árvores (fig. 16).

A mecanização na eliminação da rama de poda

A eliminação da rama de poda era tradicionalmente efectuada por queima, prática cuja utilização tem limitações ambientais. A solução alternativa é a fragmentação em pedaços de menor dimensão que ficam depositados na superfície do solo (Dias *et al.*, 2005). Para a mecanização integral do processo utiliza-se uma máquina de encordoar (fig. 17) para retirar os ramos da projecção da copa das árvores e formar um cordão na zona central da entrelinha. Esse cordão é posteriormente fragmentado em pedaços de pequena dimensão pela máquina de destroçar (fig. 18).

A mecanização no maneio do solo

A mobilização do solo, com grades de discos (fig. 19) e escarificadores foi, e continua a ser, prática comum para controlar as infestantes dos olivais. Num passado recente era opinião generalizada, entre os olivicultores, que estas práticas favoreciam a infiltração de água, durante a estação das chuvas, aumentando a sua disponibilidade para as árvores durante a estação seca. Consideravam importante ter o solo limpo para facilitar a colheita e eventual apanha da azeitona do chão (fig. 18).

No entanto caso o solo esteja nu a energia das gotas de água das primeiras chuvas outonais desagrega o solo e promove o seu arrastamento, provocando graves problemas de erosão, já que a água em vez de se infiltrar escorre à

Fig. 15 - Controlo dos ramos pendentes num olival intensivo (Herdade de Malheiro, Vidigueira, 2011).

Fig. 16 - Controlo dos ramos pendentes num olival superintensivo. (Quinta de Vale de Lobos, Santarém, 2007).

Fig. 17 - Máquina de encordoar (Herdade Torre das Figueiras, Monforte, 2003).

Fig. 18 - Máquina de destroçar (Monte do Abreu, Elvas, 2004).

superfície do solo (fig. 21).

Estando os olivais plantados em zonas de declive acentuado a mobilização favorece a erosão hídrica do solo (fig. 22). O arrastamento de grandes massas de solo, e de fertilizantes, para as linhas de água contribui para a redução da fertilidade do solo dos olivais e para a diminuição da qualidade da água e, como tal, influencia negativamente o ambiente. As massas de solo arrastadas têm igualmente efeitos negativos em diferentes infra-estruturas contribuindo para a imagem negativa associada à actividade agrícola (Pinheiro, 2005).

As alterações provocadas na superfície do solo dificultam o trânsito dos tractores e dos diferentes equipamentos, nomeadamente os utilizados na colheita da azeitona, reduzindo a capacidade de trabalho dos mesmos. (fig. 23).

As mobilizações tradicionais começaram a ser substituídas, nos finais do século passado, por práticas alternativas como é o caso do fomento das faixas com coberto vegetal onde a vegetação é controlada mecanicamente (fig. 24).

Em 1998, no âmbito de um projecto de investigação que incluía membros do Departamento de Engenharia Rural e do Departamento de Biologia da Universidade de Évora, da Direcção Regional de Agricultura do Alentejo e do Departamento de Olivicultura da Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, foi instalado um ensaio, na herdade dos Lameirões em Safara, onde a influência de dois maneios do coberto vegetal, mobilização tradicional e enrelvamento (fig.25), nas características do solo tem vindo a ser estudada. As observações feitas e os dados recolhidos permitem concluir que o enrelvamento, em particular, o aumento da proporção de solo coberto por leguminosas e gramíneas, beneficia o olival, visto que aumenta a infiltração de água no solo, principalmente no início da estação pluviosa e diminuiu as perdas de água por evaporação na estação seca, particularmente em anos de precipitação reduzida. Para além disso, melhora as condições de transitabilidade dos equipamentos na época da colheita e reduz os

Figura 19 - Grade de discos em trabalho num olival (Herdade dos Lameirões; Safara, 2004).

Figura 20 - Aspecto do solo dum olival depois de gradado (Herdade dos Lameirões; Safara, 2006).

Figura 21 - Aspecto de um olival depois de ser ter registado precipitação (Figueira de Cavaleiros, 2012).

Figura 22 - Sulcos num olival provocados pela escorrência da água da chuva (Herdade Torre das Figueira, Monforte, 2004).

Figura 23 - Vibrador automatizado a atravessar um sulco (Herdade Torre das Figueira, Monforte, 2004).





custos de produção da azeitona. Este tratamento parece, assim, aumentar a disponibilidade global de água no solo, minorando simultaneamente os riscos de erosão, sem prejuízo da produção. (Belo, 2003)

O enrelvamento da entre linha dos olivais tem vindo a ter uma grande adesão por parte dos olivicultores. A vegetação das faixas centrais é controlada usando meios mecânicos, capinadeiras ou destroçadores de ervas, sempre que a competição para a água começa.

O controlo da vegetação na linha das oliveiras é feito usando equipamentos que permitem aplicar os herbicidas diluídos em água (fig. 26) ou sob a forma pura (fig. 27).

Os equipamentos que permitem a aplicação sob a forma pura têm vantagens pois permitem maiores capacidades de trabalho, redução da compactação do solo e maior economia de gasóleo contribuindo assim para a redução dos custos de produção da azeitona.

A mecanização na aplicação de fitofármacos

A aplicação de fitofármacos no olival ter-se-á iniciada em Portugal na década de 50 do século XX, na região do Baixo Alentejo. Estas aplicações visavam o controlo da mosca da azeitona e a prevenção do aparecimento da gafa.

Evoluiu-se da aplicação manual dos fitossanitários para pulverizadores semi-rebocados de jacto transportado (fig. 28) . Estes pulverizadores dispõem de reservatórios de grande volumetria e de ventiladores de grande diâmetro que geram o caudal de ar necessário para assegurar a penetração da calda na folhagem das oliveiras.

Para otimizar a aplicação de fitossanitários utilizam-se pulverizadores com sonar (fig. 29). Trata-se de um

Fig. 24 - Destroçador de vegetação em trabalho (Herdade dos Lameirões; Safara, 2004).



Fig. 25 - Olival com enrelvamento na entrelinha e o controlo de vegetação com herbicida na linha (Herdade Torre das Figueiras, Monforte, 2003).



Fig. 26 - Controlo da vegetação na linha usando pulverizadores, herbicida diluído (Herdade dos Lameirões; Safara, 2003).

Fig. 27 - Controlo da vegetação na linha usando aplicadores de herbicida puro. (Herdade dos Lameirões; Safara, 2004).

Fig. 28 - Pulverizador de jacto transportado (Herdade do Malheiro, Vidigueira, 2012).

Fig. 29 - Equipamento sonar (Herdade do Malheiro, Vidigueira, 2012).

Fig. 30 - Plantador guiado por GPS.



sensor que assegura que a distribuição da calda é feita apenas na copa das oliveiras, impedindo que haja pulverização entre as árvores. Deste modo contribui-se para economizar na quantidade de produto fitossanitário distribuído reduzindo o impacto ambiental da aplicação de fitossanitários nos olivais.

A mecanização na plantação do olival

A plantação de novos olivais em Portugal teve um grande incremento com a adesão à União Europeia. Nos olivais intensivos (≈ 400 árvores/ha), após a preparação do terreno com mobilizações do solo profundas, normalmente por ripagem, a plantação realiza-se colocando as árvores em covas abertas previamente com retroescavadora ou com uma broca perfuradora montada em tractor.

Nos olivais superintensivos, com densidades de cerca de 2000 árvores por hectare, faz-se a utilização de plantadores mecânicos (fig. 30) que, além de colocarem a planta no solo, também colocam os tutores, sendo a marcação das linhas de plantação efectuada recorrendo ao guiamento por satélite (GPS).



A IMPORTÂNCIA DA REGA NO OLIVAL. CONCEITOS E PRÁTICA.

FRANCISCO L. SANTOS, PH.D.

Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais
Mediterrânicas (ICAAM)
Universidade de Évora
e-mail: fls@uevora.pt

Nas regiões de clima Mediterrânico no verão as plantas estão sujeitas a elevadas temperaturas e intensidades de radiação solar e baixa humidade relativa, indutoras de crescimento e produtividade mas também de condições de défice e stress hídricos. A oliveira, por ser uma cultura mediterrânica milenária, é uma espécie hipoestomática bem adaptada a essas condições ambientais, em que as folhas toleram baixos potenciais hídricos foliares e os tecidos hidratam-se rapidamente após perdas consideráveis de água. Essa adaptação a condições de défice hídrico tem permitido a expansão do olival de sequeiro com produções aceitáveis em zonas de clima mediterrânico com estação seca de cinco a seis meses e precipitações médias anuais de cerca de 500 mm.

Nessas situações, caracterizadas por um elevado poder evaporativo da atmosfera (défice de pressão de vapor) o fecho dos estomas é umas das defesas que a oliveira usa para controlar e diminuir as perdas de água por transpiração, mantendo uma certa hidratação interna, o que é normalmente avaliada pelo potencial hídrico foliar de madrugada (máxima hidratação, antes do nascer do sol) e ao meio dia solar (mínima hidratação). O fecho estomático (relacionado com a condutância estomática) controla a taxa de transferência de água e de carbono (CO₂) entre a planta e a atmosfera e uma condutância estomática elevada (baixa resistência estomática) tende a favorecer uma elevada taxa de transpiração e de fotossíntese, resultando consequentemente numa diminuição do conteúdo de água no solo, o que por sua vez fará diminuir a condutância estomática com o tempo. Dai ter que se regar. No olival essa rega vai sendo praticada com sistemas de rega gota a gota, que favorecem elevadas eficiências e uniformidades de aplicação de água.

Potencial hídrico foliar e a rega

Trabalhos experimentais têm indicado valores de potencial hídrico a variar com as cultivares, o conteúdo de

água no solo e as condições atmosféricas prevalentes. Em geral, valores de potencial hídrico de madrugada (de base) entre -0,5 e 0,8 MPa são aceites como indicadores de boa disponibilidade de água no solo, decrescendo progressivamente esse potencial com o evoluir do dia e, também ao longo do tempo, com a diminuição da disponibilidade de água, até ao um limiar de extração de água disponível no solo considerado crítico. Abaixo dos valores de potencial hídrico para essa condição (indicador de défice hídrico), deve-se regar. Os potenciais hídricos observados ao meio-dia solar são sempre mais negativos que os de madrugada, podendo-o ser mesmo para árvores bem regadas, quando o défice de pressão de vapor da atmosfera é elevado. Os potenciais medidos ao meio dia solar, em folhas à sombra e de ramos próximos do tronco e protegidas durante meia-hora dentro de um saco de papel (ou outra técnica semelhante) antes de serem separadas do ramo e usadas para a medição do potencial (potencial do ramo), substituem os de madrugada, evitando-se os inconvenientes de medições antes do amanhecer.

Condutância estomática e a rega

As trocas gasosas entre as folhas e a atmosfera dão-se fundamentalmente através dos estomas, sendo o grau dessa abertura estomática um indicador indireto do estado hídrico da folha, geralmente avaliada através da chamada condutância estomática, com maiores aberturas associadas a aumentos de turgidez nas células-guarda dos estomas e as menores no caso inverso. Com os estomas a responderem prontamente a vários estímulos ambientais e endógenos, estudos recentes na oliveira indicam que os estomas reduzem a sua atividade a potenciais hídricos foliares (base) inferiores a -0,90 MPa, correspondendo a valores cada vez mais decrescentes de condutância estomática e de taxa fotossintética. Tais observações permitem a caracterização e o relacionamento do comportamento das trocas gasosas de variedades de oliveira sujeitas a diferentes condições de disponibilidade hídrica com a condutância estomática, relacionando-as com a disponibilidade de água no solo e na planta, para o estabelecimento de valores-limite de condutância e/ou potencial hídrico (das folhas e/ou do solo) abaixo dos quais se deve aplicar água de rega. Na verdade, a transpiração da oliveira é controlada pela condutância estomática, que por sua vez é muito sensível às variações diurnas da radiação fotossinteticamente ativa absorvida pelas árvores (fPAR), ao défice de pressão de vapor, à temperatura da folha, à condutividade hidráulica no interior da planta e ao conteúdo hídrico do solo nas zona das raízes. Desta forma, qualquer flutuação

na abertura estomática, fruto dessas diversas causas, leva a uma grande variação da transpiração e, consequentemente, da fotossíntese. É costume dizer-se que a transpiração é o preço que a árvore paga para produzir os assimilados necessários (fotossíntese) à formação de folhas, botões florais, madeira e frutos. Ou permite a máxima entrada de CO₂ pelos estomas e fotossintetiza assimilados, ou fecha-os para limitar ao máximo as perdas de água para a atmosfera (transpiração) e inexoravelmente a fotossíntese. Um dilema de todas as plantas superiores (Ferreira et al., 2005).

Transpiração, evapotranspiração e a rega

Nas condições climáticas da região Mediterrânica a situação de conforto hídrico e produtividade máxima das culturas, incluindo a oliveira, bem adaptada à secura estival, só é possível com a rega. Tal exige, para além de se saber quando regar, saber-se quanto regar, por quantificação das necessidades hídricas da cultura. Isso requer conhecer-se a evapotranspiração diária e sazonal das culturas, isto é as perdas de água por transpiração e por evaporação direta de água do solo. Essas componentes são difíceis de quantificar, uma vez que são influenciadas por fatores vários, como a idade das árvores, densidade de plantação, arquitetura, condutância estomática e sistemas de rega, o que tem levado à adoção de informação expedita que permita quantificar essas necessidades.

A estimativa da evapotranspiração da oliveira (ET_c) é geralmente obtida recorrendo ao procedimento clássico da FAO que faz uso de coeficientes culturais (K_c) e da evapotranspiração de referência (ET_o), que é geralmente de uma cultura de referência, normalmente a relva, que reflete o efeito das condições climáticas nas suas necessidades hídricas. O coeficiente cultural (K_c), geralmente tabelado, representa o efeito das características da cultura nas suas necessidades hídricas e é obtido experimentalmente. Nesta abordagem, as necessidades de rega (ET_c) são obtidas multiplicando ET_o pelo K_c (ET_c = K_c * ET_o), ainda que se saiba que os coeficientes culturais tabelados podem variar entre locais, e até mesmo entre anos, dependendo das condições atmosféricas locais e inter-anuais. O método de cálculo de K_c mensal pressupõe integrar as quatro componentes da evapotranspiração (ET_c), a saber: transpiração da planta (K_p), evaporação direta da água interceptada pela copa (K_{pd}), evaporação do solo (K_{s1}) e evaporação das áreas molhadas pelos gotejadores (K_{s2}), e requer informação sobre a densidade de plantação e do volume da copa, ET_o, fracção do solo molhada pelos gotejadores e intervalo entre regas (Orgaz et al., 2006).

No caso do olival regado, a curva anual do K_c apresenta um padrão de comportamento invertido em comparação com a curva típica do K_c das culturas herbáceas. A seguinte figura, adaptada de Testi et al., (2005) apresenta a variação anual dos valores mensais do coeficiente cultural (K_c) para um olival em Córdoba (Espanha) e em Fresno (Califórnia), com precipitação anual da ordem de 592 mm e 306 mm, respectivamente.

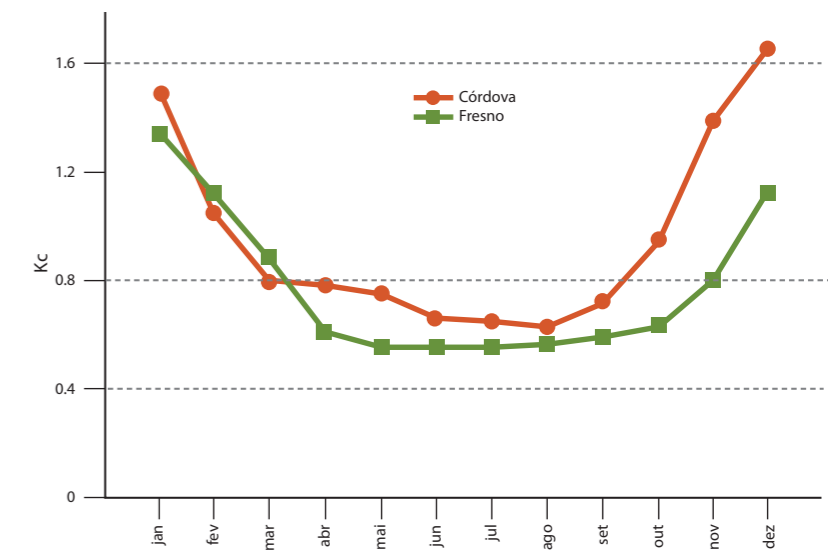


Fig.000 – variação anual dos valores mensais do coeficiente cultural (K_c) para um olival em Córdoba (Espanha) e em Fresno (Califórnia), com precipitação anual da ordem de 592 mm e 306 mm, respectivamente

Durante os meses de Inverno os valores de K_c são normalmente elevados, podendo ser superiores à unidade, devido principalmente à componente evaporação do solo. Contudo isso têm uma importância relativa na rega em climas mediterrânicos, já que ela é conduzida normalmente a partir dos meses de abril e maio, prolongando-se até setembro ou outubro. Para o olival tradicional na região de Moura (var. Cordovil) recentemente submetido à rega, o seguinte quadro apresenta a relação entre a transpiração (T) e ET_o obtida de um ensaio de rega conduzido na Herdade dos Lameirões, em Safara, onde o tratamento A é de rega plena, em que se aplicou bastante água de rega, da ordem dos 800 mm, o tratamento B é de rega deficitária sustentável, com aproximadamente 60% da água aplicada no tratamento A, o tratamento C, de rega deficitária controlada, em que se regou apenas em alguns períodos considerados críticos e tratamento D, de sequeiro, sem rega e com as árvores usando apenas a água das chuvas, armazenada no perfil do solo durante o outono-inverno. (Ramos e Santos, 2009).

Mês	T/ETo, tratamento e símbolo			
	A (u)	B (⊗)	C (□)	D (X)
Mar	0.75	0.92	0.88	0.65
Abr	0.80	1.02	1.03	0.59
Mai	0.69	0.73	0.88	0.40
Jun	0.61	0.70	0.67	0.46
Jul	0.60	0.74	0.57	0.39
Ago	0.67	0.84	0.44	0.37
Set	0.91	1.01	0.39	0.49
Out	N/A	N/A	1.04	0.70

Uma análise cuidada desses dados de T/ETo indicam que a relação T/ETo é mais elevada nos meses de março e abril, reduzindo-se progressivamente durante o verão, para voltar a aumentar a partir de setembro. Também se observa que esses valores não são mais elevados no tratamento A do que em B, facto curioso e de grande importância na gestão da rega do olival. Por mais água que se aplique ao olival (como no tratamento A), esta espécie não responde com maiores incrementos de transpiração, havendo um óptimo de água que é preciso atingir, e que neste caso se apresenta próximo da água aplicada ao tratamento B. Daí o sucesso da rega dita deficitária. Curioso é também de notar que o valor de T/ETo aumenta substancialmente a partir de setembro, devido às primeiras chuvas de outono, facto que é crucial para a manutenção do olival de sequeiro. Em anos de pouca disponibilidade de água para a rega, deve-se reduzir a aplicação de água durante o verão e aplicar essa água nos meses de setembro e outubro, caso haja falta de chuva (como aconteceu em 2011, p.ex.). Este facto não é de todo inédito no Alentejo e há que regar nessas alturas.

A transferência dos valores do quadro anterior para a seguinte forma gráfica (Ramos e Santos, 2009) mostra que as curvas resultantes (simbologia no quadro anterior) seguem o padrão de comportamento invertido, o que se deve ao efeito combinado da descontinuidade da precipitação que caracteriza o regime mediterrânico, da incompleta cobertura do solo e da natureza fisiológica da oliveira.

A seguinte figura apresenta essa dinâmica do uso da água pelo olival (transpiração), obtida de informação fornecida por sensores de fluxo de seiva, que introduzidos no tronco das árvores permitem detectar a velocidade do fluxo circulante e daí inferir em tempo real a transpiração (T). Esses valores podem ser usados para desencadear e quantificar a rega (quando e quanto regar) ou podem ser relacionados com a evolução do conteúdo de água no solo e/ou com o potencial hídrico e a condutância estomática

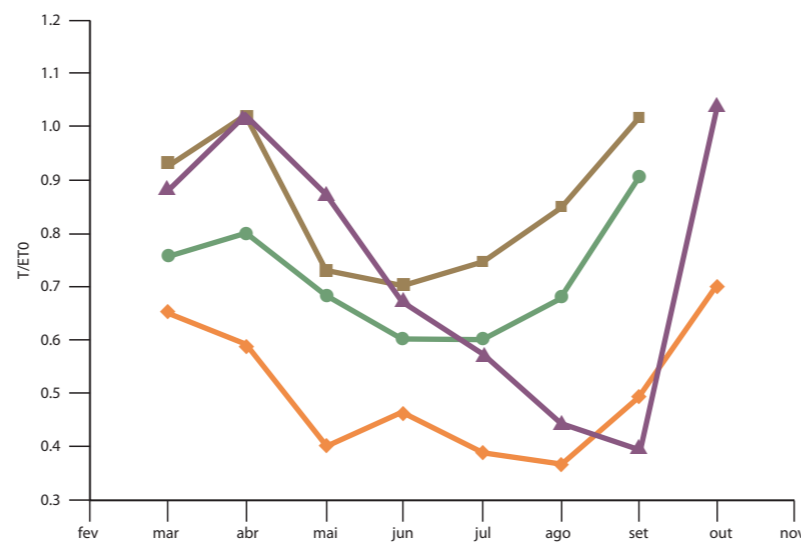
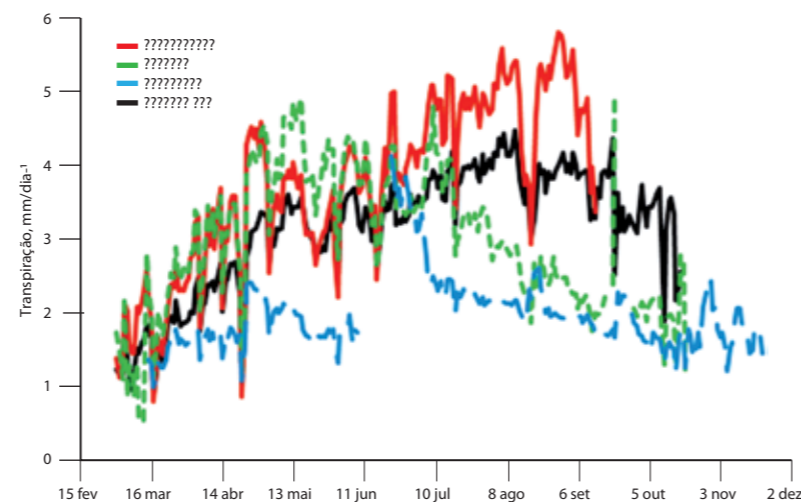


Fig. 001 - Transpiração (mm d⁻¹) em olival nas diferentes modalidades de rega (satisfação das necessidades máximas da cultura, satisfação de 60% das necessidades máximas, rega durante três períodos críticos do ciclo vegetativo) e em sequeiro ().

das folhas, permitindo estabelecer os valores-limite, críticos, dessas últimas variáveis, a partir dos quais se deve iniciar a rega.



Referências

Testi, L., Villalobos, F.J., Orgaz, F. e Fereres, E. (2005). Water requirements of olive orchards - I: simulation of daily evapotranspiration for scenario analysis. *Irrigation Science* 24: 69-76.

Orgaz, F., Testi, L., Villalobos, F.J., e Fereres, E. (2005). Water requirements of olive orchards - II: determining the crop coefficients for irrigation scheduling. *Irrigation Science* 24: 77-84.

Ramos, A.F. & Santos, F.L. (2009). Water use, transpiration, and crop coefficients for olives (cv. Cordovil), grown in orchards in Southern Portugal. *Biosystems Engineering* 102: 321-333.

Fereres, E., Orgaz, F., Pastor, M. (2005). Relaciones Suelo-Água-Planta. In *Cultivo del Olivo con Riego Localizado*. Ed. Miguel Pastor Muñoz-Cobo. Mundi-Prensa e Junta de Andalucía.

PROPAGAÇÃO DA OLIVEIRA; METODOLOGIAS E SUA EVOLUÇÃO POR AUGUSTO PEIXE, M^a LEONILDE SANTOS E SARA PORFÍRIO

INTRODUÇÃO

Nas oleáceas, família botânica onde se inclui a oliveira, para além da multiplicação por via sexuada (semente), a capacidade que as células vegetais têm de expressar a sua totipotência permite também a multiplicação por via assexuada ou vegetativa (estacaria, enxertia, mergulhia, etc.). Se no primeiro caso, especialmente em espécies alogâmicas como oliveira se obtém uma descendência que manifesta sempre características que refletem a variabilidade genética dos dois progenitores, dando origem a produtos híbridos, já no segundo se obtém clones, genotípica e fenotipicamente idênticos à planta da qual se retirou o propágulo vegetativo utilizado no processo de multiplicação escolhido.

De um modo geral a formação de raízes adventícias é um passo obrigatório na propagação vegetativa e, na oliveira, assim como em muitas outras espécies, dificuldades associadas a este processo resultam frequentemente em perdas económicas significativas.

Inicialmente o enraizamento adventício foi considerado como um processo caracterizado por uma só fase, sob o controlo de um regulador de crescimento específico (rizocalina). No entanto, progressos consideráveis foram feitos nas últimas décadas para uma melhor compreensão do enraizamento, caracterizando-o como um processo evolutivo, que consiste numa série de fases, sucessivas e interdependentes (iniciação, indução e expressão), cada uma apresentando necessidades fisiológicas e ambientais específicas (Moncousin *et al.*, 1988, Gaspar *et al.*, 1992, Gaspar *et al.*, 1994, Rout *et al.*, 2000).

A fase de indução é caracterizada por modificações a nível molecular e bioquímico sem alterações visíveis anatomicamente. A fase de iniciação caracteriza-se por divisões celulares que podem por um lado originar a formação do calo de cicatrização e, por outro, conduzem à organização dos primórdios da raiz, eventos estes já detetáveis histologicamente. Por último, a fase de expressão, caracteriza-se pelo crescimento dos primórdios radicais e emergência da raiz, conduzindo a significativas alterações na morfologia externa da estaca (Li *et al.*, 2009).

As raízes adventícias podem originar-se a partir da

rediferenciação de vários tipos de células como as dos tecidos sub-epidérmicos, do córtex, câmbio, floema secundário, periciclo, ou feixes vasculares (Ono *et al.*, 1996).

Em oliveira, a capacidade de desenvolvimento das raízes adventícias provou ser extremamente variável entre as cultivares (Salama *et al.*, 1987, El-Said *et al.*, 1990, Fouad *et al.*, 1990). Diferenças na estrutura anatómica das estacas foram propostas para explicar esta dependência do genótipo, com vários autores a afirmarem que a presença de um anel contínuo de esclerênquima entre o floema e o córtex, pode por vezes atuar como uma barreira mecânica para a emergência das raízes (Ciampi e Gellini, 1963, Salama *et al.*, 1987, Qrunfleh *et al.*, 1994). Outros autores no entanto referem que a incapacidade de várias cultivares de oliveira para formar raízes adventícias, está associada a causas genéticas, bioquímicas ou fisiológicas, e não a aspetos ligados à estrutura anatómica do caule (Bakr *et al.*, 1977, Fabbri, 1980).

A PROPAGAÇÃO DA OLIVEIRA DA ANTIGUIDADE AO INÍCIO DO SÉC. XX

Propagação por estacaria

Desde a antiguidade que o método mais utilizado para propagar a oliveira tem sido a estacaria. A ele já se refere Columela (s.d., tradução de Tinajero, 1897) na sua obra *Os Doze Livros de Agricultura*, que remonta ao período do Império Romano. Em 1902, Câmara define em pormenor oito tipos de estacas lenhosas, destas, três são para utilização direta no local definitivo de plantação (estacas de hemifuste, de tanchoeira e de tanchão), enquanto os cinco restantes (estacas de troços, de talão, de polas, de raiz e de protuberâncias), implicam a colocação prévia do propágulo em viveiro com posterior transplantação para o local definitivo da planta já enraizada.

Ao longo dos anos, algumas das designações apresentadas por Câmara (1902) para os vários tipos de material lenhoso utilizado na propagação da oliveira, ou deixaram de se utilizar, como é o caso das estacas de hemifuste, ou sofreram alterações nas suas designações, como é o caso das estacas de protuberâncias, atualmente designadas por óvulos. Em 1952, Galvão, na 2ª edição do Manual do Olivicultor, apenas refere as tanchoeiras, as estacas de viveiro, os óvulos e as pôlas, como formas de multiplicação da oliveira por estacaria lenhosa.

A facilidade com que a maior parte das variedades de oliveira enraizam por estaca lenhosa, não está totalmente esclarecida. É sabido que não se deve à existência de raízes

aéreas, que nunca foram observadas no género *Olea*, mas pode ser devida, como referem Fabbri *et al.* (2004), à existência de pontos meristemáticos latentes nos caules mais antigos, que terão grande facilidade de evoluir para novos rebentos ou novas raízes, dependendo das condições a que são submetidos.

Tanchoeiras

A tanchoeira (garrote para os Espanhóis) será de todos estes métodos o mais antigo (Galvão, 1952). A ele já faziam referência D'Herrera (1645) ou Dalla-Bella (1786), mas, ainda segundo Galvão (1952), será também o que mais problemas apresenta. De entre estes o autor destaca a baixa qualidade do sistema radical (poucas raízes e não uniformemente distribuídas no perímetro do tronco) e também a impossibilidade de utilizar a pastagem no olival, principalmente quando se recorre à tanchoeira curta. Esta designação de tanchoeira longa e curta é mais recente, tendo a última designação substituído o que Câmara (1902) designava por estaca de tanchão. A tanchoeira longa referia-se a uma estaca de 3-4 anos, com 4-10 cm de diâmetro e 1,5-2 m de comprimento, enquanto a curta se referia a uma estaca do mesmo tipo mas apenas com 0,8-1 m de comprimento.

A persistência deste processo de multiplicação ao

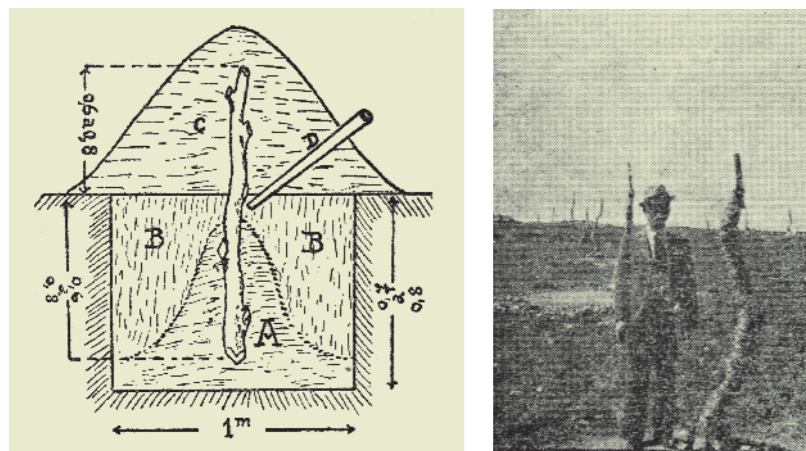


Fig.000 - Esquema ilustrando uma tanchoeira protegida por um montículo. (de terra. Note-se assinalado por (D), o tubo que depois de retirado originava o canal para colocação da água junto à estaca. (Fonte - Galvão, 1939, 1952)

Fig. 000 - Tanchoeiras protegidas por um entrançado de palha de centeio em plantação de novo olival na região de Castelo-Branco. (Fonte - Galvão, 1939, 1952)

longo do tempo deveu-se principalmente ao facto de a planta enraizar diretamente no local definitivo, sem necessidade de viveiros ou posteriores transplantes. Assim, não obstante as desvantagens referidas anteriormente, este foi até ao início do séc. XX o sistema de propagação preferido por muitos agricultores, principalmente nas regiões onde os viveiros de oliveiras não existiam.

Relativamente a esse assunto, Cidraes (1939), para além de também referir os inconvenientes da utilização da tanchoeira como forma de propagação da oliveira, salienta ainda a importância da instalação de viveiros por forma a fornecer plantas de melhor qualidade para os novos olivais. Acrescenta ainda que os viveiros industriais então existentes em Portugal se situavam no norte do país e no Algarve e, ainda que possuindo capacidade para colocar plantas em todo o país, produziam material de qualidade duvidosa.

Segundo o mesmo autor os primeiros viveiros particulares estavam então a instalar-se na região de Elvas e Campo-Maior levando a uma menor utilização da tanchoeira nesta região onde anteriormente era tão comum. Também na margem direita do Guadiana a tanchoeira estava a deixar de utilizar-se, mas, neste caso, devido às condições edáfo-climáticas pouco propícias da região.

Já nos concelhos da margem esquerda onde os terrenos conservavam alguma frescura durante o verão, a tanchoeira, baixa no concelho de Moura e alta na Granja-Amareleja, continuava a ser a forma mais comum de propagação, o mesmo acontecendo no concelho de Castelo-Branco.

Nesta última região as tanchoeiras eram protegidas por um entrançado de palha de centeio (Fig.1), enquanto no resto do país a proteção se fazia com o recurso a montículos de terra (Fig.2), onde se colocava um tubo que permitia humedecer o solo junto à estaca (D, na Figura 2).

Estacas de viveiro

A estacaria lenhosa de viveiro, outro processo de propagação vegetativa utilizado para a propagação da oliveira, também remonta segundo Fabbri *et al.* (2004) à época dos Fenícios, Romanos e Árabes, mas, ao contrário das tanchoeiras, ainda hoje continua a ter alguma expressão.

As estacas de viveiro devem ser retiradas de ramos com 2-6 cm de diâmetro sendo depois cortadas com serra em troços com aproximadamente 25-40 cm. O solo escolhido para a instalação do viveiro deve ser fértil, bem drenado e fresco (especialmente se o viveiro não for regado), mas sem apresentar tendência para o encharcamento.

As estacas podem ser colocadas no viveiro tanto horizontalmente (Fig.3) como verticalmente e a plantação,

assim como a transplantação, tanto do primeiro para o segundo viveiro, como destes para o local definitivo, deve ser feita no início da Primavera. Esta utilização de dois viveiros não sendo muito comum, é proposta por Galvão (1952), como forma de adaptar as plantas às condições que vão encontrar no local definitivo e também para melhorar a qualidade do sistema radical.

De acordo com este autor, as raízes formadas neste tipo de estaca são finas, compridas e pouco ramificadas. Deste modo, a transplantação para o segundo viveiro após 2 anos no viveiro inicial e a poda radical então efetuada, obriga a uma ramificação das raízes originando um sistema radical de melhor qualidade. Para o segundo viveiro deve escolher-se um solo semelhante ao que vai ser utilizado para a plantação do olival.

Normalmente neste viveiro não se efetuavam regas de modo a promover a adaptação das plantas às condições naturais de desenvolvimento no campo.

Atualmente o processo de multiplicação por estaca lenhosa ainda tem alguma expressão e de acordo com Fabbri *et al.* (2004), cerca de 5 milhões de plantas de oliveira ainda são produzidas anualmente por este processo. Na maior parte dos casos já não se recorre a viveiro em solo fazendo-se a plantação das estacas verticalmente em sacos



de plástico (Fig.4).

Propagação por enxertia

Quase tão antigo como a propagação por estaca lenhosa é o processo de propagação por enxertia, Columela (s.d., tradução de Tinajero,1897), a ele se refere, ainda que não o apresente como forma de multiplicar a oliveira e Dalla-Bella (1786), não só a ele se refere, como diz ser esta a melhor forma de obter plantas de oliveira produtivas, vigorosas e de grande longevidade.

Para além destas vantagens, hoje questionáveis tendo

em conta aquilo que se pretende de um olival, outras, como uma mais fácil difusão de variedades com características interessantes, o aproveitamento de propriedades particulares de alguns porta-enxertos ou a redução do preço de produção das plantas, têm sido apontadas ao longo do tempo pelos defensores da técnica.

Enxertia de garfo sobre plantas de semente

Atualmente o método de enxertia mais utilizado em viveiros para a obtenção de plantas enxertadas é o de garfo por incrustação de topo sobre plantas de semente (Fig. 5). Este método já foi também testado para enxertia de plantas auto-enraizadas, tentando assim tirar-se partido da utilização de porta-enxertos clonais, mas devido ao elevado valor a que estas plantas têm de ser vendidas por forma a tornar a técnica economicamente viável para o viveirista, não tem encontrado grande expressão.

A enxertia sobre plantas de semente remonta a tempos imemoriais e, de um modo geral, até às mais recentes comunicações sobre o assunto, os problemas identificados são sempre os mesmos; - dificuldade de germinação das sementes e tempo necessário para produzir uma planta capaz de ser enxertada.

Um endocarpo extremamente duro e a dormência

Fig.000 - (A) Estacas lenhosas em viveiro antes de serem cobertas com terra. Colocação horizontal sobre a superfície do solo (Fonte - Fabbri *et al.* 2004). (B) Estaca com novos lançamentos e com raízes, neste caso, de uma estaca inicial obtinham-se e novas plantas (Fonte - Peixe, 1997).

Fig.000 - Estacas lenhosas na posição vertical em sacos de plástico (Fonte - Peixe, 1997).

Fig. 000 – Diferentes fases da produção de plantas enxertadas a partir da germinação de sementes. (A) Bancadas de germinação de sementes. (B) Pormenor das plantas enraizadas. (C) Enxertia de garfo sobre as plantas germinadas. (D) Pormenor da enxertia. (E) Estufa com plantas já enxertadas. (Adaptado de COI - <http://www.internationaloliveoil.org/projects/paginas/Section-c.htm>)



fisiológica do embrião, são as principais causas da dificuldade de germinação das sementes. Os textos mais antigos referem a possibilidade de alimentar animais com as azeitonas e a posterior recolha das sementes nos dejetos, como uma forma de amolecimento do endocarpo (autor?????). Atualmente o endocarpo pode ser retirado por meios mecânicos sem danificar o embrião procedendo-se depois à germinação em câmaras de ambiente controlado em substratos estéreis, o que reduz significativamente os problemas apontados.

Como referimos anteriormente, a enxertia de jovens plantas multiplicadas vegetativamente não tem conduzido aos resultados esperados, devido ao fraco vigor destas plantas durante o primeiro e segundo anos após o enraizamento das estacas. Mas o interesse atual de obtenção de porta-enxertos ananizantes adaptados aos novos sistemas de condução em alta densidade e ainda a importância de se conseguir resistência a fatores bióticos e abióticos, como sejam por exemplo a resistência ao *Verticillium dahliae*, problema premente em algumas zonas oleícolas espanholas, e à salinidade, devido à cada vez pior qualidade das águas de rega, são razões que levaram a estudar adaptações à técnica de enxertia de garfo utilizada nas plantas de semente.

Enxertias de placa

A enxertia de placa sobre plantas com 3-5 anos de idade, realizada ainda em viveiro (no solo ou em contentores), ou já no local definitivo (Fig. 6), tem apresentado taxas de sucesso elevadas.

Segundo Fabbri *et al.* (2004), são multiplicadas anualmente por enxertia 7 milhões de plantas todo o mundo.

Mas a enxertia da oliveira não tem utilização apenas para a obtenção de plantas destinadas a novas plantações, a técnica tem também sido utilizada para a substituição da variedade produtora em olivais já instalados ou para a reparação de árvores danificadas quer por ação de máquinas quer por acidentes climáticos.

Nesses casos, com as devidas adaptações tendo em conta o grau de lenhificação dos ramos onde se faz a enxertia, o processo continua a ser a enxertia de placa. Na figura 7, apresenta-se a sequência de operações destinada à substituição de uma variedade num olival adulto.

OUTRAS TÉCNICAS DE PROPAGAÇÃO UTILIZANDO MATERIAL LENHOSO

Óvulos

Esta técnica foi inicialmente conhecida como propagação por estacaria de protuberâncias (Câmara, 1902) e só mais tarde passou a ser designada de propagação por mamilos radicíferos (Galvão, 1939) ou por óvulos (Cidraes, 1939), que os espanhóis designam por *zuecas* e os italianos por *ovoli*.

Consiste em aproveitar as excrescências em forma de mamilo que naturalmente se formam no tronco, colo ou sapata da oliveira adulta (Fig. 8). De acordo com Cidraes (1939), são formadas por tecido parenquimatoso tenro, mais ou menos esbranquiçado, rico em substâncias de reserva e possuindo grande número de gomos adventícios. Quando separados da planta original e plantados em viveiros, estes óvulos emitem vulgarmente um tufo de rebentos e raízes, bastando depois fazer a sua divisão com um instrumento de corte em tantas seções quantos os rebentos com raiz que se formam.

Segundo Galvão (1939, 1952) o método tem a vantagem de reduzir ao mínimo a quantidade de madeira velha que fica na nova planta, mas, de acordo com o mesmo autor e com Cidraes (1939), tem o inconveniente de a extração dos óvulos, mesmo quando feita no Inverno, em período de reduzida atividade vegetativa e recorrendo a instrumentos bem afiados, mutilar significativamente a planta dadora. Como normalmente estas estruturas se formam em plantas já velhas, o corte pode condenar a mesma irremediavelmente. Assim, como referido por Cidraes (1939), a técnica só deve ser utilizada se a árvore de onde são retirados os óvulos estiver condenada ao arranque.

Pôlas

As pôlas ou pés-de-burro desenvolvem-se na base do tronco de oliveiras adultas tendo a sua origem em óvulos. A elas já autores como Dalla-Bella (1786) faziam referência indicando-as como forma de multiplicar facilmente a oliveira. Como os rebentos têm dificuldade em enraizar quando separados da planta mãe antes de terem formado o seu próprio sistema radical (Galvão, 1939; 1952), são normalmente retirados da árvore, quando adquiriram suas próprias raízes e por isso não podem ser considerados estacas em sentido estrito.

Para ajudar ao enraizamento dos rebentos assim formados, a base da árvore é coberta com uma fina camada



Fig.000 – Enxertia de placa em plantas jovens no local definitivo. (A – B) Preparação da placa a partir de um lançamento com 1-2 anos de idade. (C – D) Abertura da janela de enxertia numa zona de entrenó no tronco da jovem planta. (E) Colocação da placa na janela de enxertia. (F) Fixação e proteção do enxerto. (Fonte Web - autor desconhecido).

Fig. 000 – (A) Pormenor de óvulos (*) na base do tronco de uma oliveira. (B) Esquema ilustrativo do desenvolvimento de uma nova planta de oliveira a partir de um óvulo. (Fonte: Fabri, 2004).



Fig. 000 – Enxertia de placa em árvores adultas. (A) Árvore a ser utilizada no processo de enxertia. (B) Preparação da árvore por eliminação das pernas principais. (C) Preparação do local de enxertia. (D) Preparação da placa a ser utilizada, a partir de um ramo com 2-3 anos de idade. (E) Colocação da placa na janela de enxertia. (F) Fixação da enxertia com cordel. (G) Protecção da zona de enxertia com papel de embrulho. (H) Aspeto dos novos rebentos evoluindo a partir das enxertias efetuadas. (Fotos gentilmente cedidas pelo Eng. Luis Santos)

Fig. 000 – Fazer as legendas a partir do livro Câmara (1902), de onde foram retiradas as imagens.

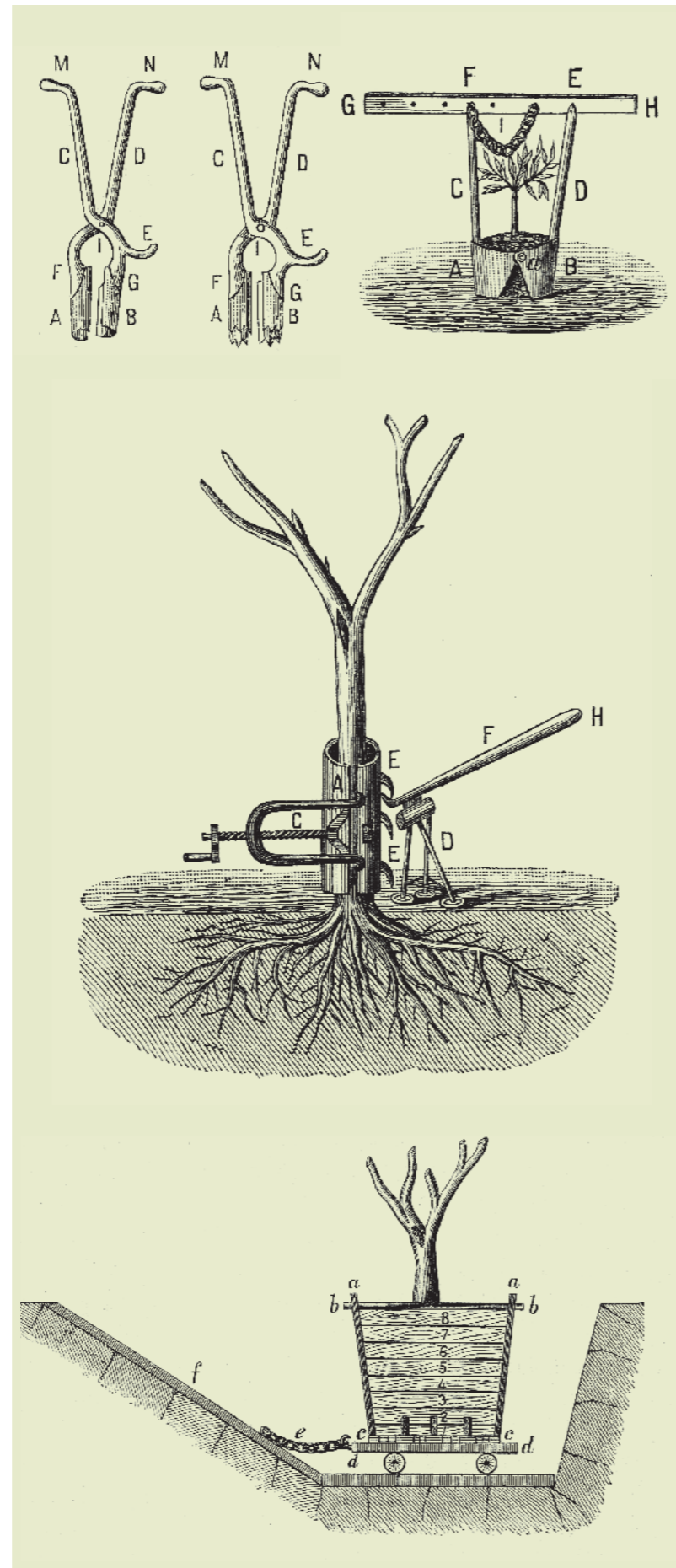


Fig. 000 – Transplante de árvores adultas. (A) Identificação da árvore a transplantar. (B) Preparação para o transplante. (C) Arranque da árvore. (D e E) Transporte para o novo local. (F) Árvore recuperada no novo local.

de solo. A anielagem dos novos rebentos junto à base tende a favorecer ainda mais a formação de raízes adventícias. Na Primavera, as pôlas enraizadas são separadas da planta mãe juntamente com um pouco de madeira velha, e transplantadas para viveiro antes de serem plantadas no local definitivo. Embora este método de multiplicação possa ser usado para a substituição de um pequeno número de árvores, ele não pode ser utilizado ao nível do viveiro porque é lento e dispendioso (Fabbri *et al.*, 2004).

Técnicas de Transplantação

A descoberta após a 2ª Guerra Mundial dos polímeros sintéticos como o poliestireno, o polietileno e o vinil e a sua forte difusão na vida quotidiana, na indústria e mesmo na agricultura, possibilitaram a utilização de sacos e vasos de dimensões variáveis e eliminaram em grande parte a necessidade de transplante das plantas obtidas pelos processos de propagação até aqui referidos, mas, anteriormente, o transplante entre viveiros e destes para o local definitivo era uma operação delicada.

Para facilitar essas operações foram desenvolvidos vários equipamentos, cujo nível de complexidade era diretamente proporcional ao tamanho da planta a transplantar. Câmara (1902) descreve com pormenor alguns destes transplantadores, que aqui se apresentam nas figuras 9 a 12.

Estes artefactos que hoje mais fazem lembrar instrumentos de tortura, não têm já qualquer utilidade prática, mas o transplante de plantas de oliveira continua a fazer-se, não entre viveiros nem destes para o local definitivo,

mas, a partir do momento em que a oliveira começou a ser encarada como uma planta ornamental, transplantam-se agora árvores centenárias dos seus locais de origem para jardins públicos ou privados e para outros espaços de lazer (Figura 13).

A PROPAGAÇÃO DA OLIVEIRA DE MEADOS DO SÉC. XX À ATUALIDADE

A expansão da área de olival tanto nas regiões tradicionalmente produtoras, como em novas regiões, motivada por um acréscimo significativo do consumo de azeite a nível mundial, teve como consequência natural um aumento da procura de plantas.

Atualmente a produção anual de oliveiras nos principais países oleícolas do mundo é de cerca de 40 milhões, com 32 milhões na bacia do Mediterrâneo e 8 milhões no resto do mundo (COI 2000). De acordo com a mesma fonte, 28 milhões destas plantas são obtidas anualmente por meio de propagação de estacaria semi-lenhosa sob nebulização. Esta técnica que se dispersou amplamente entre 1950 e 1960 é assim o método de propagação mais comum, nos casos onde não há nenhuma restrição financeira ou

técnica. Os materiais de propagação utilizados vêm do viveiro propriamente dito (campos de pés-mãe), de viveiros próximos ou de olivais de produção, geralmente situados a não mais de 50 a 100 quilômetros do viveiro.

Propagação por estacaria semi-lenhosa

Cidraes (1939) já fala brevemente sobre este método, dando-lhe o nome de propagação por “estaca verde”. Refere o autor que se trata de um método à época já muito utilizado nos EUA (Califórnia) mas, devido à necessidade de equipamento sofisticado e mão-de-obra qualificada ainda pouco utilizado na Europa. Natividade (1943) na sua obra “A heterofilia da oliveira do ponto de vista da propagação vegetativa” apresenta os primeiros resultados da aplicação do método em Portugal, referindo quase com alguma surpresa que é possível obter plantas perfeitamente enraizadas em 90-120 dias e que estas podem atingir os 50 cm de altura em 180-210 dias.

O autor terá testado diferentes períodos de recolha das estacas obtendo os melhores resultados no período que medeia entre a colheita e o início do abrolhamento primaveril, testou também a influência do posicionamento da estaca na árvore mãe, concluindo que os ramos da base do tronco têm uma melhor aptidão para o enraizamento

e refere-se ainda aos ramos estiolados indicando que conduzem a melhores resultados que aqueles expostos à luz solar direta. Nos seus ensaios chega a resultados que vão de encontro àquilo que hoje se sabe sobre a fisiologia do enraizamento em estacas semi-lenhosas, ainda que em alguns casos apresente justificações para esse comportamento que atualmente são questionáveis.

Na verdade, sabemos atualmente que as condições ambientais, os substratos de enraizamento e os reguladores de crescimento, para além do próprio genótipo, constituem os principais fatores que afetam o enraizamento das estacas semi-lenhosas.

O processo tem vindo a ser melhorado, com estufas cada vez mais sofisticadas.

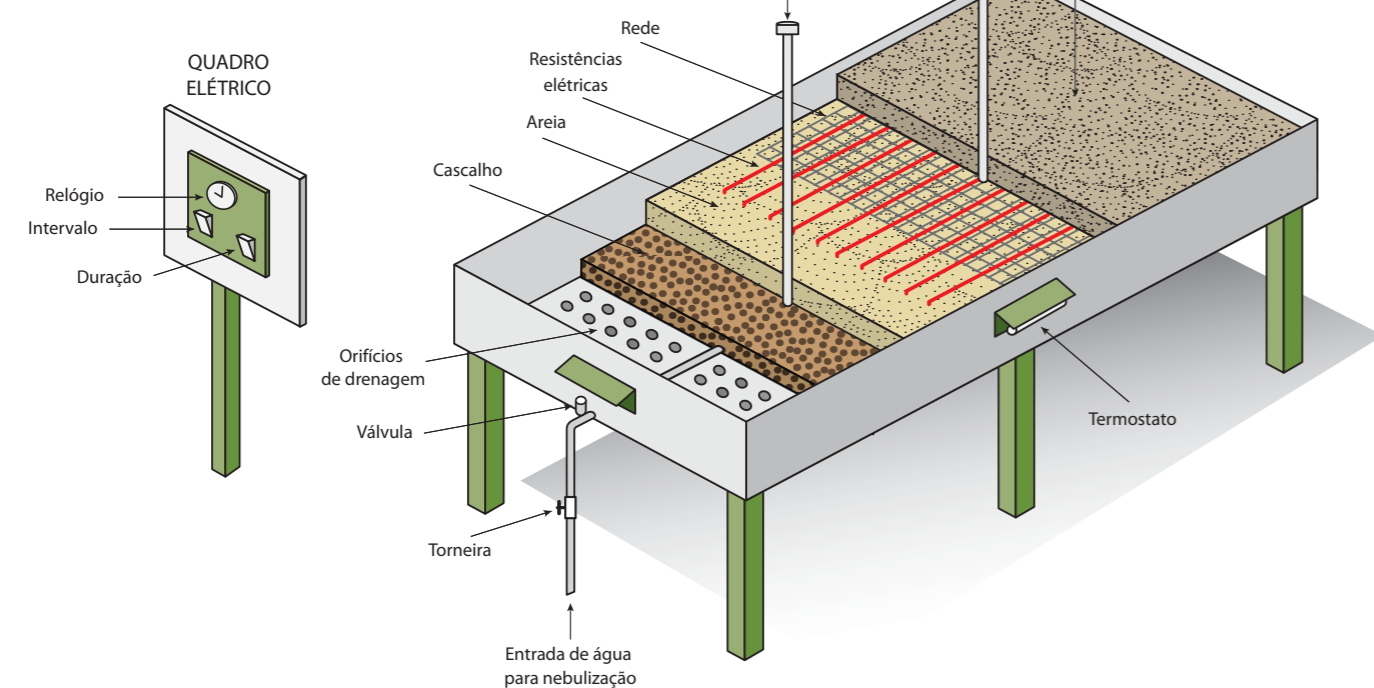
As estufas são coberturas transparentes à radiação solar visível de pequeno comprimento de onda (400 a 700nm), mas opacas às radiações de grande comprimento de onda (infravermelhos > 1000nm), emitidas pelo solo e pelas plantas e que causam o chamado efeito de estufa (Joyce, 1996).

Nas estufas existem bancadas de enraizamento (Fig. 14), com sistema de rega automatizado, sistema de aquecimento individualizado por bancada e com sistema regulador de ambiente (temperatura e humidade).

Fig. 000 – Pormenor de uma bancada de enraizamento.

Fig. Estufa de nebulização – bancadas com perlite (Foto - Leonilde Calado, 1994)

Fig. 000 – Bicos de nebulização e painéis higroscópicos.



Estas bancadas são frequentemente construídas em cimento, com a base perfurada para assegurar a drenagem. Sobre a base assenta uma camada de calhaus rolados, hoje frequentemente substituídos por argila expandida “Leca”, para fácil escoamento da água de rega. Superiormente existe uma camada de areia, sendo colocada no meio dela, uma resistência elétrica ou tubos de circulação de água quente, dependendo do tipo de sistema de aquecimento utilizado e que abrangem toda a bancada, de forma a manter a temperatura desejada no substrato de enraizamento.

São vários os substratos que podem ser utilizados:

- Vermiculite - apresenta boas condições de arejamento e de retenção de água. Tem elevada capacidade de intercâmbio catiónico e geralmente uma certa quantidade de potássio e magnésio assimilável;

- Perlite - material amorfo, de origem vulcânica, sem elementos nutritivos e sem capacidade de intercâmbio catiónico. Granulado rugoso, cuja função será só o de servir de suporte às estacas e de reter uma quantidade de água necessária à estaca. Tem uma boa porosidade, pH neutro, não é um meio propício à formação de algas e pode ser facilmente esterilizada (FAO- 1976).

Em 1993, Suárez *et al.* utilizaram também cortiça, cortiça lavada, e misturas de perlite com cortiça. Os resultados obtidos na percentagem de enraizamento com estes substratos não apresentaram diferenças significativas, e, segundo os autores, pode existir um efeito tóxico nos resíduos de cortiça não lavada.

Ardaiz *et al.* (1993) utilizaram ‘lã de rocha’, substância mineral que, pela sua extensão, forma parte importante da massa terrestre. Material leve, fibroso, esponjoso, absorvente e estéril. Tem uma elevada capacidade de retenção de água, e boas condições de arejamento. Além desta matéria os autores utilizaram também ‘sepiolite’, ou seja um hidrosilicato de magnésio, com boas condições de arejamento.

Também foi ensaiada areia, gravilha, areia+vermiculite, areia+gravilha e gravilha+vermiculite (Khalidy *et al.*, 1972), no entanto, o substrato que continua a ter uma maior utilização neste processo é a perlite (Fig. 15)

A temperatura de enraizamento deve ser na ordem dos 24-26°C, devendo a estufa manter uma temperatura ambiental entre os 21-24°C, durante o dia e cerca de 15°C à noite.

A humidade relativa dentro da estufa deverá ser sempre da ordem dos 100 %. Mantém-se esta taxa de humidade por um sistema de nebulização, cujo mecanismo se regula em função do aumento ou diminuição da temperatura ambiental “cooling system”.

A nebulização é feita por aspersores sobre as bancadas que funcionam 5-10 segundos em cada 20-30 minutos, durante o dia e mais espaçadamente à noite.

A radiação solar é controlada por um painel solar, interior, regulado por um sensor exterior à estufa. Este painel abre ou fecha automaticamente, em função da radiação solar existente.

A temperatura das bancadas é controlada por termómetros de mercúrio vermelho, que, com maior ou menor precisão, permitem registar os valores da temperatura da perlite.

A humidade relativa e a temperatura ambiente da estufa são controladas por um termohigrógrafo.

A propagação vegetativa por estacaria consiste na possibilidade de criar novos indivíduos auto-enraizados, obtidos de ramos colhidos em plantas bem seleccionadas e existentes num campo de pés-mães. Utilizam-se pequenas estacas ± 15cm de material **semi-lenhoso** (Fig. 17) que são sujeitas às diferentes fases do processo.

A – Fase de enraizamento

Esta fase inicia-se com a recolha do material vegetal a ser utilizado num “Campo de pés mães”. Este é constituído por plantas perfeitamente identificadas e seleccionadas,

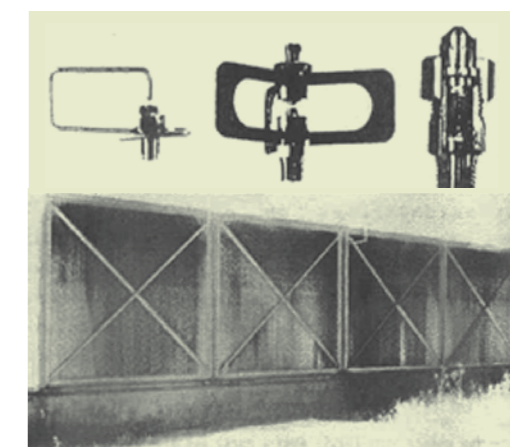




Fig. 000 – Estacas preparadas para serem colocadas na estufa de enraizamento (Foto - Alberto Miranda, 2012)

Fig. 000 – Estacas sujeitas ao tratamento hormonal de IBA (Foto - Alberto Miranda, 2012).

Fig. 000 – Estacas colocadas nas bancadas da estufa durante 60 dias (Foto - Leonilde Calado, 1994).

Fig. 000 – Rega por aspersão (Foto - Leonilde Calado, 1994).

de pé franco e com um bom desenvolvimento vegetativo

Estes campos devem obedecer a determinadas práticas culturais: podas anuais proporcionando sempre uma rebentação vigorosa, e dar à árvore o aspecto de arbusto baixo, facilitando a recolha das estacas; favorecer o desenvolvimento vegetativo, promovendo adubações e regas, tendo em atenção o estado sanitário das árvores e evitar a produção de gomos florais

A melhor época para a colheita do material é a primavera, ainda que esta seja possível durante todo o período de crescimento anual. As colheitas devem ser efetuadas durante a manhã e o material vegetal deve ser conservado em local fresco e húmido até à sua preparação.

Depois de preparadas e antes da sua colocação na bancada de enraizamento, as estacas são submetidas a um tratamento com uma solução de cuprovite 5 g/l, tendo-se o cuidado de molhar bem as folhas.

Depois disso segue-se o tratamento à base das mesmas com uma solução hormonal à base de ácido indol-3-butírico (IBA). A aplicação de auxinas na base das estacas determina um aumento da capacidade de enraizamento das estacas. As hormonas promotoras de enraizamento podem-se aplicar na forma de pó, misturadas com talco, como pasta, misturadas com lanolina ou em soluções hidro-alcoólicas de 50 a 100%.

Os melhores resultados têm sido obtidos com reguladores de crescimento do tipo auxínica: ácido indolbutírico (IBA), ácido indol-acético (IAA), ácido naftaleno-acético (NAA), em concentrações variáveis entre 2500 a 7500 partes por milhão (ppm) durante 10² a 15” (Fig. 18). O tratamento mais usual é a aplicação de IBA a 3500ppm em solução hidro-alcoólica a 50% durante 10”.

Em trabalho apresentado anteriormente (Calado-1992) pode-se concluir que os reguladores de natureza auxínica, aumentam a capacidade de enraizamento das diversas cultivares de oliveira, embora, sem dúvida, esta capacidade esteja muito dependente da cultivar e do estado do material utilizado. Neste trabalho, (Calado-1992) foi possível incrementar o enraizamento das estacas com tratamentos ricos em hidratos de carbono, ou com a imersão da base das estacas em soluções de pH ácido.

As estacas assim preparadas e tratadas são então colocadas nas bancadas de enraizamento onde permanecem entre 60 a 120 dias, dependendo da capacidade de enraizamento da variedade.

A presença de folhas numa estaca determina uma certa perda de água (transpiração), que a planta procura controlar, evitando a abertura dos estomas ou eliminando as folhas. No processo de nebulização procuramos manter as

folhas com uma ténue película de água, que provoca uma diminuição da temperatura dos tecidos da folha e, por sua vez, um aumento da tensão de vapor, reduzindo a transpiração e por conseguinte mantendo as folhas na estaca até à emissão das raízes (Figs. 19 e 20).

Com a presença de humidade será também permitido aproveitar o máximo de luminosidade natural, sem que os tecidos das folhas sejam sujeitos a temperaturas críticas. Nestas condições, os órgãos ativos e elaborantes da estaca estão em condições de um desenvolvimento de assimilação e transformação, tanto de natureza trófica como fito hormonal, que influenciam a rizogénese.

A capacidade de enraizamento das estacas de oliveira está dependente do estado fenológico das árvores e do tipo de estaca utilizada. Os ramos do ano, com 45-60 cm de comprimento e destinados à multiplicação, podem ser divididos em três partes e dar origem a três espécies de estacas: - basais, médias e apicais.

Estes três tipos de estacas apresentam uma capacidade de enraizamento diferente, que, se pode relacionar com a diferente composição química que os ramos apresentam na base ou na extremidade. Normalmente as estacas apicais oferecem melhores resultados, quando os ramos se obtêm no começo da atividade vegetativa, enquanto as estacas médias e basais podem ter resultados mais satisfatórios no Verão.

As estacas colhidas no Inverno são caracterizadas por uma menor capacidade de enraizamento, devido aos níveis de temperatura e luminosidade serem mais baixos.

Na Primavera, a atividade metabólica da árvore é máxima e as reservas são mais mobilizadas para assegurar o crescimento de novos rebentos e o desenvolvimento de órgãos florais.

Os melhores resultados foram obtidos em ensaios com estacas colhidas de Fevereiro a Abril e de Julho a Agosto.

As estacas enraizadas após os 60 (Fig. 21) dias são ensacadas e passam para um estufim onde permaneceram mais 60 dias.

B – Fase de endurecimento

A fase de endurecimento começa quando as estacas enraizadas no substrato são levantadas e colocadas em sacos numa mistura de terra e turfa em proporções adequadas. Estes sacos são colocados em estufins, estruturas com cobertura, que, sendo transparentes à radiação solar visível, deixam contudo passar parte da radiação infravermelha. Caso das coberturas de plástico (polietileno) com um controle de temperatura e rega. As plantas mantêm-se nestes estufins, numa fase de crescimento até irem para o local definitivo (Figs. 22 A e B)



Fig. 000 – Estacas enraizadas (Foto - Leonilde Calado, 1994)

Fig. 000 – Estufa de aclimatização com as plantas provenientes da estufa de enraizamento. (Foto - Alberto Miranda, 2012).

Fig. 000 – Estufim utilizado com o mesmo objetivo, utilizado em períodos do ano com temperatura mais amena (Foto - Alberto Miranda, 2012)

Propagação *in vitro*

A propagação *in vitro* através da cultura de meristemas, tem-se apresentado como uma técnica importante para a limpeza sanitária de variedades em processo de seleção, mas, recorrendo à proliferação axilar de segmentos uni-nodais, à organogénese, à embriogénese somática ou mesmo à microenxertia, as técnicas de cultura *in vitro* podem constituir-se em si mesmo como uma alternativa viável para a propagação de variedades de difícil enraizamento.

Micropropagação

A micropropagação pode ser considerada como um tipo específico de propagação por estacaria, uma vez que a técnica assenta na multiplicação de rebentos axilares sobre um segmento caulinar uninodal. Em oliveira os primeiros trabalhos sobre este tema datam dos anos 70 e desde então que tentam otimizar-se as condições a que os explantes são submetidos em cada um dos estádios da cultura, tanto os que decorrem *in vitro* (instalação, multiplicação/alongamento, enraizamento) como os que decorrem *in vivo* (escolha do explante e aclimatização).

Todo o processo de cultura *in vitro*, independentemente do tipo de explante de partida, baseia-se na possibilidade



Fig. 000 – Aspeto das estacas uni-nodais utilizadas para iniciar a cultura *in vitro* em oliveira (Peixe, 2007).

da sua instalação em meios artificiais sob condições de assepsia total e este é o principal problema na fase de instalação. Tem-se verificado uma enorme dificuldade em obter culturas não contaminadas quando se utilizam plantas adultas de oliveira, quer crescendo em condições de campo quer em estufa, como fonte de explantes iniciais.

A utilização de embriões zigóticos obtidos a partir da germinação *in vitro* de sementes não apresenta este problema, mas, devido à alogamia e heterozigocidade

Quadro ?? – Composição do meio de cultura OM (Olive Medium) (adaptado de Fabbri *et al.*, 2004)

Macronutrientes	mg/L
KNO ₃	1100
NH ₄ NO ₃	412
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	600
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
KCL	500
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1500
KH ₂ PO ₄	340
Micronutrientes	
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA	37.5
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3
H ₃ BO ₃	12.4
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	14.3
Na ₂ M0O ₄ ·2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.25
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025
KI	0.83
Vitaminas	
Myo-inositol	100
Tiamina HCl	0.5
Piridoxina HCl	0.5
Ácido nicotínico	5
Biotina	0.05
Ácido fólico	0.5
Aminoácidos	
Glicina	2
Glutamina	2194

natural da espécie, não são alternativa uma vez que pelas razões apontadas, apresentam uma enorme variabilidade genética.

O desenvolvimento recente de produtos com ação fungicida e bactericida, que podem ser adicionados ao meio de cultura sem prejudicar o desenvolvimento dos tecidos vegetais (ex: Plant Preservative Mixture – PPM™), têm ajudado a ultrapassar os problemas relacionados com a fase de instalação asséptica das culturas, fazendo com que as estacas uni-nodais (Fig. 23) recolhidas na extremidade de ramos do ano em fase de crescimento ativo sejam neste momento o material de eleição para iniciar um processo de micropropagação na oliveira

As taxas de multiplicação obtidas *in vitro* condicionam a utilização da técnica como forma de multiplicação em larga escala de uma espécie. Taxas de multiplicação inferiores a 3 em 30 dias, dificilmente conduzem a um processo economicamente competitivo, tendo em conta a sua exigência em mão-de-obra e energia.

Os esforços da investigação têm-se por isso concentrado no desenvolvimento de meios de cultura que permitam atingir esses objetivos e, a formulação mineral e vitamínica, assim como o tipo e concentração de reguladores de crescimento, ou a presença de uma fonte de energia sob a forma de hidratos de carbono, são aspetos críticos no desenvolvimento de um meio de cultura eficaz.

Quanto à formulação mineral e vitamínica, o meio base OM (Tab. 1), é atualmente o mais utilizado na micropropagação da oliveira. Foi desenvolvido por Rugini em 1984 especificamente para a estimulação de gomos axilares e crescimento de rebentos. As principais diferenças deste meio em relação a um dos meios que mais se utiliza em cultura *in vitro*, o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) são uma maior concentração de Ca, Mg, S, P, B, Cu e Zn, a utilização da glutamina como fonte de azoto orgânico (no meio MS é utilizada a glicina).

Quanto aos reguladores de crescimento, desde o já referido trabalho de Rugini (1984) que zeatina tem sido amplamente aceite como a única citocinina capaz de induzir um crescimento satisfatório em explantes de oliveira cultivados. Tem sido geralmente usada em concentrações que variam entre 4,56 a 45,62 µM. No entanto, devido ao seu elevado custo, há também uma opinião generalizada de que uma substituição alternativa deve ser alcançada para uso em protocolos de micropropagação comercial (Mencuccini *et al.*, 1997, Briccoli *et al.*, 2002). Alternativas para a zeatina foram relatadas por García et al-Ferriz (2002), que a substituiu por Tidiazurão (TDZ) e 6-Benzilaminopurina BAP ou por Peixe *et al.* (2007) que propõem a

sua substituição por água de coco e BAP. No entanto, tanto o tidiazurão, com a água de coco utilizada, ainda são compostos químicos muito caros pelo que os benefícios económicos da sua utilização como substitutos da zeatina não se mostraram relevantes.

Outro componente importante de todos os meios de cultura é como referimos a fonte de energia. A sacarose, ainda que amplamente utilizada para tal fim, não mostrou ser ideal para a oliveira. A esse respeito, Leva *et al.* (1992, 1994) trouxeram uma contribuição significativa ao propor a substituição de sacarose por manitol, hoje amplamente utilizado em protocolos de micropropagação da oliveira. Eles observaram que o aumento dos preços devido à utilização de manitol era altamente compensado pelas maiores taxas de multiplicação e capacidade de crescimento dos explantes. Observações similares relativamente ao desenvolvimento da parte aérea e quebra de dominância apical pela utilização de manitol em ensaios com a cultivar ‘Manzanillo’ foram relatados por Garcia *et al.* (2002).

Apesar dos estudos extensivos realizados nos últimos anos com o objetivo de melhorar as condições de cultura para algumas cultivares de oliveira, as taxas de sucesso da micropropagação são ainda limitadas. A taxa de proliferação dos explantes é geralmente baixa e dependente da cultivar (Dimassi-Theriou, 1994; Bartolini *et al.*, 1990), a formação de raízes adventícias em muitas cultivares micropropagadas de oliveira ainda é difícil e a percentagem de perdas pós transplante permanece elevada (Briccoli-Bati *et al.*, 1999; Rugini *et al.*, 1999).

Dado que um dos maiores problemas associados ao sucesso das culturas de oliveira é a capacidade de enraizamento das microestacas, é interessante ver que alguns autores têm encontrado nos microrganismos simbióticos uma alternativa possível. Peyvandi *et al.* (2010) descrevem o efeito promotor no enraizamento de rizobactérias *Pseudomonas fluorescent* em microestacas da cultivar ‘Rowghani’. Segundo estes autores, as rizobactérias foram mais eficazes que o IBA na indução da formação de raízes. No trabalho de Binet *et al.* (2007), a inoculação de plântulas Laragne com micorrizas arbusculares (do fungo *Glomus mosseae*) provocou um aumento significativo na sobrevivência e posterior desenvolvimento das plantas.

Por outro lado, há autores que desenvolveram métodos de enraizamento *ex vitro*, como é o caso de Leva (2011). Neste trabalho, as microestacas tratadas com NAA foram plantadas em pequenos vasos previamente humedecidos e submetidas a elevados níveis de humidade (80-85%) durante a fase de indução radicular. Por fim, é de realçar o trabalho de Padilla *et al.* (2009) que desenvolveram um



Fig. 000 – Aspecto dos explantes de ‘Galega vulgar’ nas primeiras fases da cultura *in vitro*. (A) Após o abrolhamento em meio de iniciação. (B) Após 30 dias em meio de multiplicação. (C) 45-50 dias após a segunda repicagem no meio de multiplicação. (D) Forma de corte dos explantes: (D-1) O ápice e 1º(s) entre-nós seguem para enraizamento; (D-2) Estacas uninodais e bases vão reiniciar a fase de multiplicação.

método alternativo de indução do enraizamento com base em pulsos eléctricos.

Para a cultivar Portuguesa ‘Galega vulgar’, Peixe *et al.* (2007) desenvolveram um protocolo eficiente de multiplicação *in vitro* por rebentamento axilar, com taxas de multiplicação de 4-5 em 80-90 dias, com taxas de enraizamento de 75-80% e com baixas perdas de plantas durante a fase de aclimatização. O processo está a ser utilizado a nível comercial pela empresa Biomelhora S.ATM e encontra-se esquematizado nas figuras 24 e 25.

Novas abordagens na propagação *in vitro* da oliveira

Nos últimos anos têm-se tentado desenvolver outros métodos de regeneração *in vitro* de oliveiras, de onde se destacam a embriogénese somática, a produção de sementes sintéticas e a microenxertia.

Embriogénese somática

O processo de embriogénese somática consiste no desenvolvimento de um embrião a partir de células somáticas. A formação do embrião pode ocorrer de forma directa, a partir de células de um explante cultivado *in vitro*; ou de forma indirecta, no tecido caloso que se formou a partir do

explante original. Apesar de ser o método mais comum em espécies lenhosas, a embriogénese somática indirecta implica o estímulo dos explantes com reguladores de crescimento (tais como o ácido 2,4- Diclorofenoxiacético (2,4-D)) para induzir a produção e proliferação de linhas embriogénicas – callus competentes para a formação de embriões somáticos. A principal desvantagem do processo indirecto de embriogénese somática é a introdução de variações somaclonais, ou seja, a existência de variabilidade genética entre os embriões produzidos. Por não envolver a formação de raízes, a embriogénese somática é muito importante para a regeneração de plantas de oliveira, uma vez que permite ultrapassar a falta de capacidade de enraizamento de algumas cultivares.

Em *Olea europaea* a embriogénese somática já foi conseguida a partir de explantes embrionários (embriões zigóticos maduros ou imaturos) e somáticos (tecidos retirados de plântulas e petíolas) (Rugini *et al.*, 2011). Os primeiros estudos em embriogénese somática em oliveira remontam a 1988, quando Rugini testou a capacidade embriogénica de discos foliares e embriões zigóticos. Neste trabalho o autor concluiu que o processo de embriogénese somática em oliveira é possível, mas apenas quando se utilizam embriões zigóticos jovens como explante inicial. Desde então, tem sido descrita a utilização de diferentes explantes tais como cotilédones (Leva *et al.*, 1995; Trabelsi *et al.*, 2003), embriões zigóticos maduros (Orinos e Mitrakos, 1991) e radículas isoladas de embriões maduros (Mitrakos *et al.*, 1992; Cerezo *et al.*, 2011). De facto, Rugini *et al.* (2005) descrevem vários protocolos para a obtenção de embriões somáticos a partir de embriões zigóticos maduros e imaturos, tecidos maduros, estudos histológicos e regeneração de plântulas. Segundo Therios (2009), entre os diferentes explantes, aqueles que permitem uma maior taxa de indução de tecido caloso são as raízes. No entanto, de acordo com Rugini (1988) os embriões imaturos possuem maior



capacidade embriogénica.

Apesar dos relatos acima referidos, apenas a embriogénese somática a partir de explantes de plantas adultas tem interesse para a propagação e transformação de cultivares de oliveira (Fabbri *et al.*, 2004). Em 1995, Rugini e Caricato desenvolveram um sistema cíclico de embriogénese somática a partir de tecidos adultos de oliveira e de recuperação de plantas, que permite a obtenção contínua de embriões somáticos. Neste trabalho, os embriões originaram-se a partir de massas morfogénicas derivadas de plantas micropropagadas, facto que veio a ser classificado como um sistema de dupla regeneração (Fabbri *et al.*, 2004). Nas massas embriogénicas eram visíveis, além dos embriões somáticos, embriões fundidos, estruturas claviformes e cotilédones anómalos (fig. 26), mas estas estruturas não se desenvolveram além disso.

Mais recentemente, Cerezo *et al.* (2011) desenvolveram um sistema de regeneração de plantas com base na formação indirecta de embriões somáticos a partir de radículas (fig. 27) recolhidas de sementes maduras. Os autores testaram duas adaptações do meio OM e utilizaram membranas de acetato de celulose para estimular a maturação dos embriões, tendo este tratamento aumentado a taxa de conversão de embriões maduros em plantas regeneradas.

Sementes sintéticas e microenxertia

Uma das aplicações mais relevantes da embriogénese somática é a possibilidade de produção de sementes sintéticas. Este conceito foi inicialmente proposto por Murashige (1978) e desde então já foram produzidas sementes sintéticas em várias espécies (McKersie *et al.*, 1989; Ipecki e Gozukirmizi, 2003; Kumar *et al.*, 2005; Aquea *et al.*, 2008). Sementes sintéticas são compostas por um explante (um gomo ou um embrião somático) encapsulado num gel que acaba por solidificar. Após a solidificação do gel de encapsulação, a semente pode ser tratada como

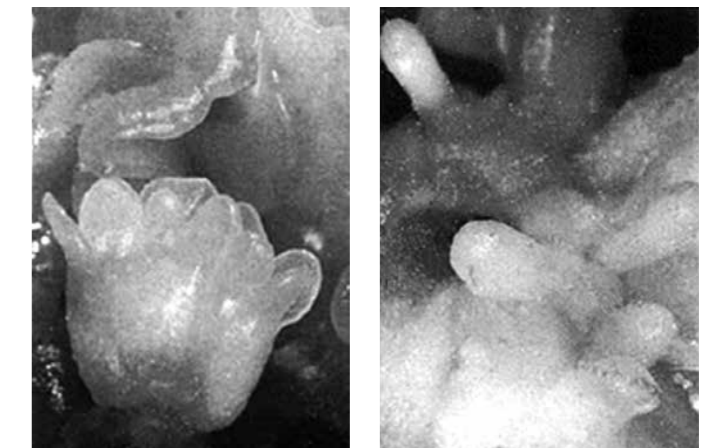


Fig. 000 – (A e B) Imagens das fases de enraizamento *in vitro* com pormenor do sistema radical desenvolvido; (C) Plantas já aclimatadas, prontas para ser transplantadas para o local definitivo.

Fig. 000 – Embriogénese somática em oliveira (cv. Canino) a partir de pecíolos de rebentos regenerados por organogénese directa e indirecta (A) Embrião somático obtido em meio líquido; (B) Embriões fundidos, cotilédones anómalos e estruturas claviformes (adaptado de Rugini e Caricato, 1995)

uma semente natural e germinada de forma a produzir um rebento ou uma plântula somática, consoante o explante que foi encapsulado. A designação ‘semente sintética’ é normalmente aplicada quando o explante encapsulado é um embrião somático. Quando se utiliza outro tipo de explante, dá-se ao produto final o nome de ‘cápsula’. A encapsulação garante ao explante protecção física, nutrientes, reguladores de crescimento, antibióticos, fungicidas, etc. (Kitto e Janick, 1985; Redenbaugh *et al.*, 1991). Dos vários compostos testados para o gel (alginato de cálcio ou sódio, gelrite, gelatina, óxido de polietileno, etc.) aquele

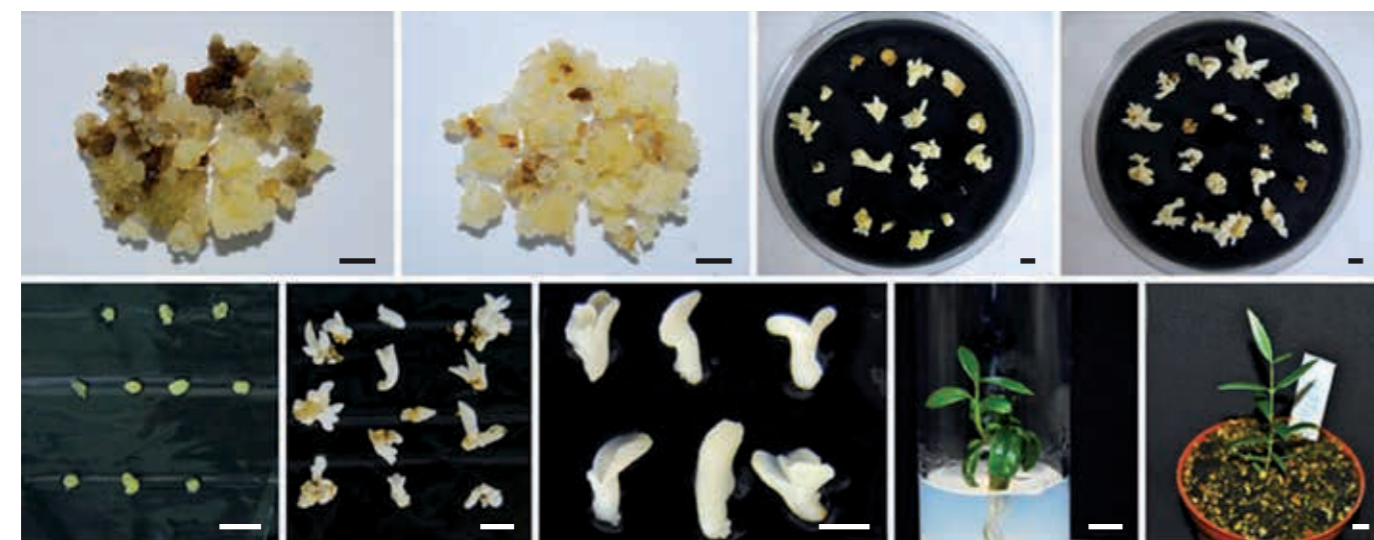


Fig.000 – Regeneração de plantas a partir de callus embriogénico em *Olea europaea* L. (a) e (b) Aparência de calli embriogénico após 4 semanas de cultura; (c) e (d) Maturação de embriões somáticos; (e) Embriões somáticos em fase globular; (f) Culturas após diferenciação em acetato de celulose; (g) Embriões somáticos maduros em fase de cotilédono (cotyledonary SE); (h) Embrião somático germinado (12 semanas); (i) Planta regenerada em fase de aclimação. Em todas as imagens, as barras correspondem a 5 mm (retirado de Cerezo et al., 2011)



Fig. 28 – Produção de sementes sintéticas em *Olea europaea* L. (A) Segmentos uninodais (explante inicial); (B) Matriz de alginato; (C) Sementes sintéticas da cv. 'Moraiolo'; (D) Rebotos resultantes da germinação das sementes após sementeira (retirado de Micheli et al., 2007)

que tem produzido melhores resultados é o alginato de cálcio (Bajaj, 1995).

De forma a estimular a germinação do embrião somático, podemos distinguir três tipos de sementes sintéticas, de acordo com o revestimento de alginato (Therios, 2009):

Micro-cápsulas, que libertam sacarose para a matriz de alginato;

Cápsulas em que a esfera de alginato se quebra de forma autónoma e facilita a germinação do explante;

Cápsulas do tipo farmacêutico, que contêm meio de cultura no seu interior de forma a garantir uma fonte

nutricional ao embrião encapsulado.

De acordo com Bajaj (1995), a produção de sementes sintéticas ganha relevância nas seguintes situações: (1) em culturas que não produzem sementes e onde a propagação vegetativa é difícil; (2) quando são produzidas pequenas quantidades de sementes e, (3) em culturas cujas sementes zigóticas são recalcitrantes e a conservação de germo-plasma não é possível.

Esta técnica tem, no entanto, algumas desvantagens associadas (Ara et al., 2000; Fabbri et al., 2004), que limitam a sua utilização prática:

A capacidade de enraizamento resultante é muito limitada;

O número de micropropágulos viáveis passíveis de serem utilizados na produção de sementes sintéticas é limitado;

Verifica-se um desenvolvimento anómalo e dessincronizado dos embriões somáticos;

A incorreta maturação dos embriões somáticos torna-os incapazes de germinar normalmente e originar novas plantas;

O armazenamento das sementes produzidas é restringido pela falta de dormência e tolerância ao stress dos embriões somáticos;

A baixa taxa de conversão micropropágulo planta aumenta os custos da tecnologia de produção das sementes, o que reduz o seu valor comercial.

Em oliveira a aplicação de sementes sintéticas foi já conseguida em algumas cultivares. Em 1998, Micheli et al., desenvolveram um método de síntese de sementes sintéticas utilizando gomos apicais e nodais da cultivar 'Moraiolo' encapsulados em alginato. Contudo, o enraizamento das sementes germinadas era insatisfatório. Mais tarde, foram produzidas sementes sintéticas das cultivares 'Canino' e 'Moraiolo' utilizando como explantes iniciais embriões somáticos (cv. 'Canino') e segmentos uninodais de rebentos micropropagados (cv. 'Moraiolo') (Micheli et al., 2002). Recentemente, Micheli et al. (2007) realizaram um estudo sobre o efeito do armazenamento a diferentes temperaturas durante vários períodos de tempo no desenvolvimento dos rebentos germinados em sementes sintéticas da cv. 'Moraiolo'. Neste trabalho os autores observaram a formação de dois rebentos de tamanho semelhante como resultado da germinação das sementes produzidas (fig. 28).

A microenxertia consiste na transferência de pequenos ápices caulinares para micro-porta-enxertos (Debergh, 2008) e pode ser útil na obtenção de plantas livres de vírus, no isolamento de vírus específicos em infecções mistas e no estudo da incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto bem como dos aspectos histofisiológicos da enxertia (Navarro, 1988). Os porta-enxertos mais utilizados são plântulas recém-germinadas, embora por vezes também se utilizem microestacas enraizadas. O processo pode ser desenvolvido in vivo ou in vitro (mais comum) e é especialmente importante a existência de cuidados durante a aclimação das plantas enxertadas. No entanto, nesta fase não são essenciais as condições de assepsia e podem mesmo utilizar-se porta-enxertos crescidos in vivo (Debergh, 2008).

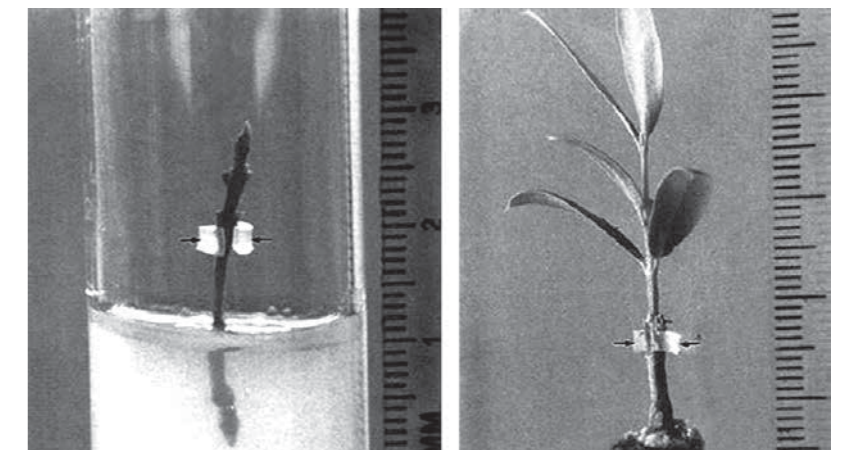


Fig. 000 – Microenxertia em *Olea europaea* L. (cv. 'Arbequina'). (A) Rebentos apicais maduros enxertados em porta-enxertos jovens desenvolvidos in vitro; (B) Crescimento do rebento após 30 dias em meio de proliferação. As setas realçam o anel de silicone que assegura o posicionamento de enxertia. (Adaptado de Revilla et al., 1996)

Em oliveira, a microenxertia foi conseguida por alguns autores (Revilla et al., 1996; Troncoso et al., 1999; Vidoy-Mercado et al., 2008; Farahani et al., 2011). No trabalho de Revilla et al. (1996) os autores utilizaram a técnica como forma de rejuvenescimento de plantas da cv. 'Arbequina' (fig.29). As estacas obtidas após a poda das plantas produzidas por microenxertia revelaram total recuperação da capacidade de enraizamento.

A microenxertia representa para a oliveira uma oportunidade de rejuvenescer genótipos recalcitrantes às condições in vitro (Rugini e Pesce, 2006). Contudo, e apesar dos relatos de sucesso já referidos, a técnica precisa ainda de melhorias adicionais antes de ser considerada uma alternativa viável.

Resumo dos trabalhos recentes

Nos últimos anos, o número de trabalhos publicados em micropropagação de oliveira tem vindo a aumentar (tabela 2). O aumento do número de publicações está relacionado com os esforços para melhorar a técnica e resolver os problemas até aqui encontrados.

Conclusões

Desde os primórdios da sua cultura e até à segunda

Quadro ?? – Exemplos de cultivares de *Olea europaea* L. utilizadas em trabalhos de micropropagação em diferentes países produtores de azeite.

Cultivar	País	Técnica utilizada (explante inicial)	Meio de cultura*	Referência
Arbequina	Brasil	Multiplicação de rebentos axilares (segmentos nodais)	OM, MS e WPM c/ zeatina	Donini <i>et al.</i> (2008)
Canino, Frantoio, Moraiolo, Rosciola e Piantone di Moiano	Itália	Multiplicação de rebentos axilares (segmentos nodais)	OM modificado c/ dikegulac (substituto da zeatina)	Gyves <i>et al.</i> (2008)
Oueslati	Turquia	Multiplicação de rebentos axilares (segmentos nodais)	OM	Rkhis <i>et al.</i> (2011)
Koroneiki	Grécia	Multiplicação de rebentos axilares (segmentos nodais)	Driver-Kuniyuki (meio para avelã) modificado c/ zeatina-ribósido, 2-iP, BAP e TDZ	Roussos e Pontikis (2002)
Chetoui	Tunísia	Embriogênese somática em cultura em suspensão (callus derivado de folhas)	OM (base, modificadopara cultura de callus e para embriogênese somática)	Trabelsi <i>et al.</i> (2011)
Nebbiara	Itália	Multiplicação de rebentos axilares (segmentos nodais)	OM c/ zeatina, manitol GA e IBA MS c/ sacarose, BAP e IBA ³	Zacchini e Agazio (2004)
Galega vulgar	Portugal	Multiplicação de rebentos axilares (segmentos nodais)	OM c/ zeatina, BAP, água de coco e manitol	Peixe <i>et al.</i> (2007)

*Componentes dos meios utilizados nas fases de multiplicação e enraizamento

metade do séc. XIX a oliveira foi propagada vegetativamente através de material lenhoso, estacas, óvulos e pólas. Dalla-Bella (1786) e Caruso (1883) questionavam estes métodos de multiplicação direta, defendendo que a enxertia era a única forma de multiplicação que conduzia à obtenção de árvores vigorosas, produtivas e com grande longevidade. Assim, embora como refere Fabbri *et al.* (2004) vários investigadores tenham demonstrado desde há muito que a multiplicação direta permite obter árvores com um desempenho agronómico comparável ao das plantas enxertadas, a verdade é que esta técnica se generalizou, não propriamente pela qualidade das plantas produzidas (onde a heterogeneidade devida ao uso de porta-enxertos francos até era desfavorável), mas sim porque permitia obter um número de plantas significativamente superior aos métodos diretos clássicos, aspeto que era fundamental para uma indústria de azeite em expansão.

Este panorama acaba por alterar-se na década de 40, quando se descobre, por um lado, que as auxinas estão diretamente envolvidas no processo de formação das raízes adventícias e se comprova a sua eficácia na indução do enraizamento de estacas semi-lenhosas de oliveira e, por outro, quando se conseguem sistemas de controlo ambiental em estufa com um baixo custo de instalação,

funcionamento e manutenção.

Em menos de duas décadas, a propagação direta de oliveira por estacaria semi-lenhosa tornou-se uma realidade e, não obstante tenha desde então vindo a registar várias melhorias para aumentar a sua eficiência, os conhecimentos fundamentais para a sua utilização estavam disponíveis em meados dos anos 1950.

Depois de décadas de investigação em várias estações experimentais a produção de oliveira por técnicas de micropropagação está atualmente ganhando terreno, contribuindo para aumentar a dominância dos métodos de multiplicação direta sobre os métodos indiretos.

Mas não se pense que com esta supremacia reconquistada da multiplicação direta a questão está resolvida para sempre. Tal como acontece com muitas outras fruteiras, a enxertia é uma técnica que provavelmente irá acompanhar para sempre a produção de plantas de oliveira. As razões para isso são inúmeras, mas alguns são particularmente importantes. Em primeiro lugar, nem todas as variedades são facilmente (i.e. economicamente) propagadas a partir de estacas ou *in vitro*. Em segundo lugar, a multiplicação direta envolve o uso de estruturas mais ou menos complexas, necessitando de dinheiro e formação que em muitas situações podem não estar disponíveis. Em terceiro lugar,

embora a disponibilidade de porta-enxertos clonais seja atualmente bastante limitada, a investigação está envolvida na seleção de genótipos que podem melhorar a aptidão cultural das variedades existentes ao influenciar o seu vigor, rendimento, eficiência e tolerância a stress. Em Itália, o principal produtor mundial de plantas de oliveira, a enxertia ainda hoje representa cerca de 30% das plantas produzidas anualmente.

Referências bibliográficas

Aquea, F., Poupin, M., Matus, J., Gebauer, M., Medina, C., Arce-Johnson, P. (2008) - *Synthetic seed production from somatic embryos of Pinus radiata*. Biotechnology Letters, 30, 1847-1852.

Ara, H., Jaiswal, U., Jaiswal, V., (2000) - *Synthetic seed: prospects and limitations*. Current Science, 78:12, 1438-1445.

Ardiz, C. M^o. W. & Ruiz, M. J. (1993) - *Propagación por estacilla leñosa de Vitis vinifera L., var. Zalema*. Denominação de origem-Condado de Huelva. Viticultura/Enologia Professional - 25:29-39.

Bajaj, Y., (1995) - *Somatic embryogenesis and synthetic seed I*. Springer, Berlin-Heidelberg, New York.

Bakr, E., Selim, H., Nour, G., Gabr, M. (1977) - *Developmental anatomy of adventitious roots on stem cuttings of 'Wetaken' olive cultivar*. Egyptian Journal of Horticulture, 4, 91-97.

Bartolini, G., Leva, A.R. and Benelli, A. (1990) *Advances on in vitro culture of the olive propagation of cv Maurino*. Acta Horticulturae, 286: 41-44.

Binet, M., Lemoine, M., Martin, C., Chambon, C., Gianinazzi, S. (2007) - *Micropropagation of olive (Olea europaea L.) and application of mycorrhiza to improve plantlet establishment*. In Vitro Cellular and Developmental Biology —Plant, 43, 473-478.

Briccoli, C., Godino, G. and Nuzzo, V. (2002) - *Preliminary agronomic evaluation of two cultivars of olive trees obtained from micropropagation methods*, Acta Horticulturae, 586: 876-870.

Briccoli-Bati C., Fodale A., Mule R. and Trombino T. (1999) - *Trials to increase in vitro rooting of Olea europaea L. cuttings*. Acta Horticulturae, 474: 91-94.

Calado, M. L. (1992) - "Reconversão Olivícola"- *Experimentação sobre a influência de diversos tratamentos no enraizamento de estacas herbáceas de algumas cultivares de oliveira, Olea europaea L.*. Trabalho de síntese para acesso a Assistente de Investigação. I.N.I.A.

Caruso, G. (1883) - *Monografia dell'olivo*. In: Enciclopedia Agraria Italiana, Vol.3 Part.5, UTET, Turin, Italy.

Cerezo, S., Mercado, J., Pliego-Alfaro, F. (2011) - *An efficient regeneration system via somatic embryogenesis in olive*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 106, 337-344

Ciampi, C., Gellini, R. (1963) - *The origin and development of adventitious roots in Olea europaea: the importance of anatomical structure in rootlet development*. G. Bot. Ital. 70, 62-74.

Cidraes, F. (1939) - *Métodos de reprodução da oliveira*, Direcção Geral dos Serviços Agrícolas, Folha de Divulgação, Série II, 6: 1-21.

Conselho Oleícola Internacional- COI (2000) - Web document: *Olive nursery production and plant production techniques - Section C: Plant production and growing techniques*, <http://www.internationaloliveoil.org/projects/paginas/Section-c.htm>.

Columela, M.J.L. (S/D) - *De los planteles de olivos y de su cultivo en ellos; del trasplante y del cultivo después de éste*. In: *Los Doce Libros de Agricultura - Libro Quinto - Capitulo IX*, Ed. Don Vicente Tinajero (1879), Imprenta de Miguel Ginesta, Madrid, 247-251.

Columela, M.J.L. (S/D) - *De los ingertos*, In: *Los Doce Libros de Agricultura - Libro Quinto - Capitulo XI*, Ed. Don Vicente Tinajero (1879), Imprenta de Miguel Ginesta, Madrid, 256-260

D'Herrera, A. (1645) - *Agricultura General*, Ed-Facsimile Universidad Politécnica de Madrid - 1994, 243p. In: *Libro Tercero - En que trata de los arboles*, 40-86.

Da Camara, M. S. (1902) - *Estudo da oliveira*, In: *Boletim da Direcção Geral da Agricultura*, Ano 7, nº 6, Ed. Imprensa Nacional, Lisboa, Portugal, 527-751.

Dalla-Bella, J. A. (1786) - *Memória sobre a Cultura das oliveiras em Portugal*, Ed. Real Officina Typografica da Universidade de Coimbra. 137p.Dalla-Bella (1786)

Debergh, P. (2008) - *Micropropagation: Uses and Methods*, in: George, E., Hall M., De Klerk G. (Eds.), *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd edition*, Springer Netherlands, 29-64.

Dimassi-Theriu, K. (1994) - *In vitro propagation of cv. 'Kalamon' olives (Olea europaea sativa L.)*. Adv. Hortic. 8: 185-189.

Donini, L., Schuch, M., Ribeiro, M., Souza, J., Soares, G. (2008) - *Estabelecimento in vitro de oliveira cv. 'Arbequina' para início da micropropagação*. Ciência Rural, 38:6, 1769-1772.

El-Said, M., Ikram, S., Youssef, N. (1990) - *Studies on some factors affecting ability of leafy olive cuttings*. Zagazig Journal of Agricultural Research, 17, 851-853.

Fabbri, A., Bartolini, G., Lambardi, M., Kailis, S. (2004) - *Olive Propagation Manual*, Csiro Publishing, Australia.

Fabbri, A. (1980) - *The effect of various anatomical characteristics on the rooting of cuttings in olive, cv. Frangivento*. Rivista Dalla Ortoflorofrutticoltura Italiana, 64:4, 325-335.

FAO (1976) - *Olivicultura moderna*. Centro de mejoramiento y demonstracion de la tecnica oleicola. C.E.M.E.D.E.T.O.-FAO-I.N.I.A.- Ministerio de Agricultura - Cordoba. España

Farahani, F., Razeghi, S., Peyvandi, M., Attaii, S., Mazinani, M. (2011) - *Micrografting and micropropagation of olive (Olea europea L.) Iranian cultivar: Zard*. African Journal of Plant Science, 5:11, 671-675.

Fouad, M., Fayek, M., Selim, H., El-Sayed, M. (1990) - *Rooting of eight olive cultivars under mist*. Acta Horticulturae, 286, 57-60.

Galvão, J.M. (1952) - *Manual do Olivicultor*, 2ª Edição, In: Biblioteca de Agricultura Alentejana, Vol - X, Ed. Minerva

- Comercial, Beja-Portugal, 378p.
- García, J. L., Troncoso J., Sarmiento R., Troncoso A. (2002) - *Influence of carbon source and concentration on the in vitro development of olive zygotic embryos and explants raised from them*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 69: 95-100.
- García-Férriz, L., Ghorbel, R., Ybarra M., Mari, A., Belaj A., Trujillo I. (2002) - *Micropropagation from adult olive trees*, Acta Horticulturae, 586: 879-882.
- Gaspar, T., Kevers, C., Hausman, J., Ripetti, V. (1994) - *Peroxidase activity and endogenous free auxin during adventitious root formation*, in: Lumsden, P.J., Nicholas, J.R., Davies, W.J. (Eds.) Physiology Growth and Development of Plant in Culture, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 289-298.
- Gaspar, T., Kevers, C., Hausman, J., Berthon, J., Ripetti, V. (1992) - *Practical uses of peroxidase activity as a predictive marker of rooting performance of micropropagated shoots*. Agronomie, 12, 757-765.
- Gyves, E., Mira, F., Rui, F., Rugini, E. (2008) - *Stimulation of node and lateral shoot formation in micropropagation of olive (Olea europaea L.) by using dikegulac*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 92, 233-238.
- Hartmann, H. T. (1946) - *The use of root promoting substances in the propagation of olives by softwood cuttings*. Proceedings American Society for Horticultural Science-Michigan. 48 : 303-308.
- Ipekci, Z., Gozukirmizi, N., (2003) - *Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from Paulownia elongate*. Plant Cell Reports, 22, 16-24.
- Joyce, A. (1996) - *Controlo ambiental de estufas de produção*. I.N.E.T.I. - Instituto de Tecnologias Energéticas, 64 p.
- Khalidy, R., Khan, I., Kridich, A.R. (1972) - *Rapport sur la multiplication vegetative des oliviers*. Inf. Oléicoles Intern. - 58-59 : 45-47.
- Kitto, S., Janick, J. (1985) - *Production of synthetic seeds by encapsulating asexual embryos of carrot*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 110, 227-282.
- Kumar, M., Vakeswaran, V., Krishnasamy, V. (2005) - *Enhancement of synthetic seed conversion to seedlings in hybrid rice*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 81, 97-100.
- Leva, A. (2011) - *Innovative protocol for "ex vitro rooting" on olive micropropagation*. Central European Journal of Biology, 6:3, 352-358.
- Leva, A., Muleo, R., Petruccelli, R. (1995) - *Long-term somatic embryogenesis from immature olive cotyledons*. Journal of Horticultural Science, 70:3, 417-421.
- Leva, A., Petruccelli, R., Bartolini, G. (1994) - *Mannitol 'in vitro' culture of Olea europaea L. (cv. Maurino)*. Acta Horticulturae, 356, 43-46.
- Leva, A.R., Petruccelli, R., Goretti, R., Panicucci, M. (1992) - *Ruolo di alcuni microelementi e carboidrati nella proliferazione 'in vitro' di cv. di olivo (Olea europaea L.)*. Atti Conv. "Olive oil quality", Firenze 1992, 333-334.
- Li, S.W., Xue, L., Xu, S., Feng, H., An, L. (2009) - *Mediators, Genes and Signaling in Adventitious Rooting*. The Bot Rev, 75: 2, 230-247.
- McKersie, B., Senaratna, T., Bowley, S., Brown, D., Krochko, J., Bewley, J. (1989) - *Application of artificial seed technology in the production of hybrid alfalfa (Medicago sativa L.)*. In Vitro Cellular&Developmental Biology, 25, 1183-1188.
- Mencuccini, M., Micheli, M., Standardi, A. (1997) - *Micropropagazione dell'olivo: effetto di alcune citochinine sulla proliferazione*. Italus Hortus, 4 (6): 32-37.
- Micheli, M., Hafiz, I., Standardi, A. (2007) - *Encapsulation of in vitro-derived explants of olive (Olea europaea L. cv. Moraiolo) II. Effects of storage on capsule and derived shoots performance*. Scientia Horticulturae, 113, 286-292.
- Micheli, M., Mencuccini, M., Standardi, A. (1998) - *Encapsulation of in vitro proliferated buds of olive*. Advances in Horticultural Science, 12, 163-168.
- Micheli, M., Standardi, A., Dell'Orco, P., Mencuccini, M. (2002) - *Preliminary results on the synthetic seed and encapsulation technologies of vitro-derived olive explants*. Acta Horticulturae, 586, 911-914.
- Mitrakos, K., Alexaki, A., Papadimitriou, P. (1992) - *Dependence of olive morphogenesis on callus origin and age*. Journal of Plant Physiology, 139:3, 269-273.
- Moncousin, C., Favre, F., Gaspar, T. (1988) - *Changes in peroxidase activity and endogenous IAA levels during adventitious rooting in cuttings*, in: Kutacek, M., Bandurski, R.S., Krekule J. (Eds.), Physiology and Biochemistry of Auxins in Plants, Academia, Prague, Czech Republic, 331-337.
- Murashige, T. (1978) - *The impact of plant tissue culture on agriculture*, in: Thorpe, T. (Ed.), Frontiers of plant tissue culture, IAPTC, University of Calgary, Alberta, Canada, 15-26.
- Murashige, T., Skoog, F. (1962) - *A Revised Medium for Rapid Growth and BioAssays with Tobacco Tissue Cultures*. Physiologia Plantarum, 15, 473-497.
- Natividade, J. V. (1943) - *A heterofilia da oliveira do ponto de vista da propagação vegetativa*, Ed. Oficinas da Tipografia Alcobacense, 185p.
- Navarro, L. (1988) - *Application of shoot-tip grafting in vitro to woody species*. Acta Horticulturae, 227, 43-55.
- Ono, E.O., Rodrigues, J.D., Pinho, S.Z. (1996) - *Action of auxins and/or boron, in the process of root formation in cuttings of coffee (Coffea arabica L. cv. Mundo Novo)*. Boron In Agriculture, Wigginton. 16:2, 14-14.
- Orinos, T., Mitrakos, K. (1991) - *Rhizogenesis and somatic embryogenesis in calli from wild olive (Olea europaea var. sylvestris (Miller) Lehr) mature zygotic embryos*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 27, 183-187.
- Padilla, I., Vidoy, I., Encina, C. (2009) - *Influence of indole-butyric acid and electro-pulse on in vitro rooting and development of olive (Olea europea L.) microshoots*. Plant Cell Reports, 28, 1411-1420.
- Peixe, A., Raposo, A., Lourenço, R. S., Cardoso, H., Santos Macedo, E. (2007) - *Coconut water and BAP successfully replaced*

- zeatin in olive (Olea europaea L.) micro-propagation*. Scientia Horticulturae, 113, 1-7.
- Peyvandi, M., Farahani, F., Mazinani, M., Noormohamadi, Z., Ataii, S., Asgharzade, A. (2010) - *Pseudomonas fluorescent and its ability to promote root formation of olive microshoots*. International Journal of Plant Production, 4:1, 63-66.
- Qrunfleh, M., Rushdi, Y., Musmar, T., Rushdi, L. (1994) - *Root formation in cuttings of the 'Nabali' olives with uniconazole and indolebutyric acid*. Dirasat: Agricultural Sciences, 21:6, 71-79.
- Redenbaugh, K., Fujii, J., Slade, D. (1991) - *Synthetic seed technology*, in: Vasil, K.I. (Ed.) Scale-up and Automation in Plant Propagation. Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vol. 8, Academic Press Inc., New York, 35-74.
- Revilla, M., Pacheco, J., Casares, A., Rodriguez, R. (1996) - *In vitro reinvigoration of mature olive trees (Olea europaea L.) through micrografting*. In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant, 32, 257-261.
- Rkhis, A., Maalej, M., Drira, N., Standardi, A. (2011) - *Micropropagation of olive tree Olea europaea L. 'Oueslati'*. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35, 403-412.
- Roussos, P., Pontikis, C. (2002) - *In vitro propagation of olive (Olea europaea L.) cv. Koroneiki*. Plant Growth Regulation, 37, 295-304.
- Rout, G., Samantaray, S., Das, P. (2000) - *In vitro rooting of Psoralea corylifolia Linn: Peroxidase activity as a marker*. Plant Growth Regulation, 305, 215-219.
- Rugini, E. (1988) - *Somatic embryogenesis and plant regeneration in olive (Olea europaea L.)*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 14, 207-214.
- Rugini, E., Caricato, G. (1995) - *Somatic embryogenesis and plant recovery from mature tissues of olive cultivars (Olea europaea L.) 'Canino' and 'Moraiolo'*. Plant Cell Reports, 14, 257-260.
- Rugini, E., Pesce, P. (2006) - *Genetic improvement of olive*. Pomologia Croatica, 12, 43-74.
- Rugini, E., Depace, C., Gutiérrez-Pesce, P., Muleo, R. (2011) - *Olea*, in: C. Kole (Ed.), Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Temperate Fruits, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 79-117.
- Rugini, E., Mencuccini, M., Biasi, R., Altamura, M. (2005) - *Olive (Olea europaea L.)*, in: Jain, S.M., Gupta, P.K., (Eds.), Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants, Springer, Netherlands, 345-360.
- Rugini, E., Gutierrez-Pesce, P. and Sampinato, P.L. (1999) - *New perspective for biotechnologies in olive breeding: morphogenesis, in vitro selection and gene transformation*. Acta Hort. 474: 107-110.
- Rugini, E. (1984) - *In vitro propagation of some olive (Olea europaea sativa L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos*. Scientia Horticulturae, 24, 123-134.
- Salama, M., Zahran, M., Hassan, M. (1987) - *Comparing the rooting ability of some olive cultivars propagated by leafy cuttings under mist*. Annals of Agricultural Science, 32:1, 577-590.
- Suárez, M. P., López-Rivares, E. P., Ordovás, J. (1993) - *Enraizamiento de estaquillas de adelfe, olivo y geranio en substrato de corcho*. II Congreso Ibérico de Ciências Horticolas : 1185 - 1190.
- Therios, I. (2009) - *Olives*. Crop Production Science in Horticulture vol. 18, CABI, Wallingford, UK
- Trabelsi, E., Bouzid, S., Bouzid, M., Elloumi, N., Belfeleh, Z., Benabdallah, A., Ghezal, R. (2003) - *In-Vitro Regeneration of Olive Tree by Somatic Embryogenesis*. Journal of Plant Biology. 46:3, 173-180.
- Trabelsi, E., Naija, S., Elloumi, N., Belfeleh, Z., Msellem, M., Ghezal, R., Bouzid, S. (2011) - *Somatic embryogenesis in cell suspension cultures of olive Olea europaea (L.) 'Chetoui'*. Acta Physiologiae Plantarum, 33, 319-324.
- Troncoso, A., Linan, J., Cantos, M., Acebedo, M., Rapoport, H. (1999) - *Feasibility and anatomical development of an in vitro olive cleft-graft*. Journal of Horticultural and Science Biotechnology, 74, 584-587.
- Vidoy-Mercado, I., Imbroda-Solano, I., Barceló-Muñoz, A., Viñuel, M., Pliego-Alfaro, F. (2008) - *The influence of in vitro micrografting on vegetative propagation of the olive cultivar 'Arbequina'*. Acta Horticulturae (ISHS), 949, 31-34.
- Zacchini, M., Agazio, M. (2004) - *Micropropagation of a local olive cultivar for germplasm preservation*. Biologia Plantarum, 48:4, 589-592.

A PROTECÇÃO SANITÁRIA DO OLIVAL

ENG TERESA CARVALHO

DOENÇAS DA OLIVEIRA.

Gafa

A doença da oliveira, conhecida, em Portugal, por “gafa” é bastante agressiva provocando graves lesões essencialmente no fruto, acompanhadas de destruição da polpa e, conseqüentemente, elevadas perdas quantitativas e qualitativas, de produção.

Os ataques elevados dão-se quando os Outonos são chuvosos uma vez que o fungo precisa de elevada humidade relativa para se desenvolver

O agente causal da doença foi identificado pela primeira vez em 1898 em Portugal por Almeida, classificando-o então como *Gloeosporium olivarum* Alm.(Almeida, 1899). Cem anos depois, por Von Arx em 1957 tendo mais meios de diagnóstico disponíveis reclassificou-o e incluído-o na espécie *Colletotrichum gloeosporioides*. A espécie *Colletotrichum acutatum*, que fora identificada em frutos afetados de podridão por Simonds (1965) foi isolado por Margarita *et. al.*(1986) em oliveira de amostras

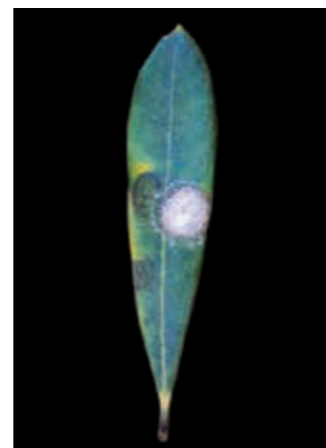
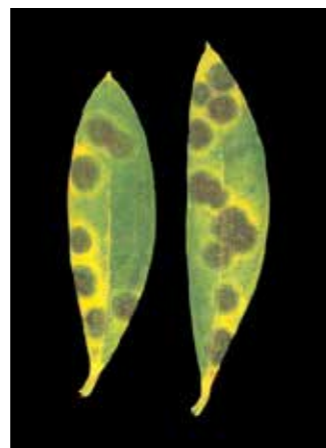
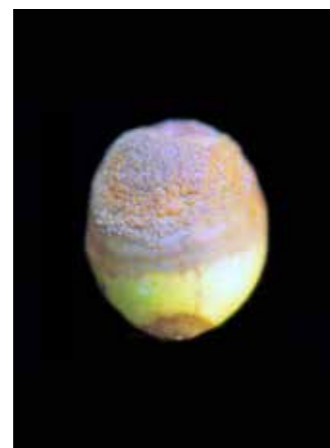
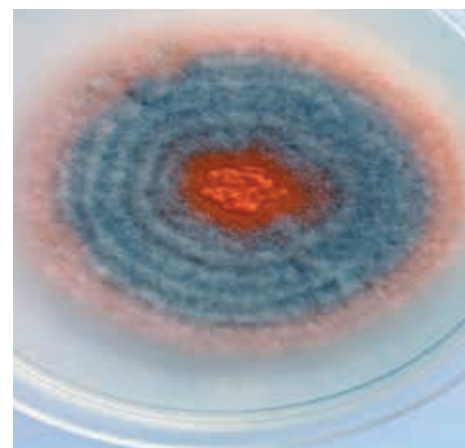


Fig. 000 – Sintomas de gafa no fruto maduro

Fig. 000 – Isolado *Colletotrichum acutatum* em meio de cultura (PDA)

Fig. 000 – Sintomas de gafa no fruto verde

Fig. 000 – Sintomas de olho de pavão

Fig. 000 – Lesão de olho de pavão coberta de micélio

Fig. 000 – Desfoliação intensa provocada pelo olho de pavão

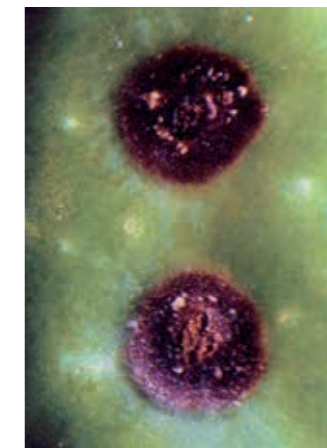


Fig. 000 – . Sintomas de verticilose de secagem lenta

Fig. 000 – Sintomas de verticilose de apoplexia rápida

Fig. 000 – Sintoma de tuberculose na rama

Fig. 000 – Sintomas de tuberculose no fruto

Fig. 000 – Sintomas de tuberculose no tronco

Fig. 000 – Sintomas de tuberculose nas folhas

provenientes da China. Mais tarde Martin e Garcia (1999) em Espanha e Cacciola *et. al.*(1996) em Itália e Carvalho *et.al* e Talhinhas *et.al* (2003) em Portugal identificaram a espécie *Colletotrichum acutatum* em oliveira.

O conjunto dos trabalhos realizados nestes três países europeus indica claramente que a antracnose da oliveira está associada à presença de uma ou das duas espécies *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum*.

Os ataques elevados dão-se quando os Outonos são chuvosos uma vez que o fungo precisa de elevada humidade relativa para se desenvolver.

Os sintomas são caraterísticos e fáceis de identificar. Começa por aparecer umas manchas depressionárias onde posteriormente se desenvolvem os esporos de coloração rosa-alaranjada que com o tempo se torna parda.

Olho de pavão

Olho de pavão é o nome vulgar da doença da oliveira causada pelo fungo *Spilocaea oleagina* (Cast.) Hughes que afecta principalmente as folhas, podendo em condições de exceção atacar o pedúnculo e mesmo os frutos.

Esta doença tem duas fases de desenvolvimento que acompanham a época das chuvas com temperaturas suas que são de Fevereiro a Abril e de Setembro a Novembro

O sintoma mais característico é o aparecimento de manchas escuras com um halo amarelo de tamanho variável. Quando se forma o micélio este é cor branca.

Verticilose

— Esta doença tem como agente causal o fungo de solo *Verticillium dahliae* Kleb. que entra pela raiz da oliveira e infecta os vasos condutores da planta impedindo a circulação da seiva até ao cimo da árvore o que leva à sua morte. A doença tem duas maneiras distintas de atacar, uma é a apoplexia rápida e a outra é uma secagem lenta.

A tuberculose da oliveira é causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. Os sintomas são visíveis em forma de tumores em todas as partes da planta podendo tomar grandes proporções nos ramos e tronco.

Bibliografia

- Almeida, M.J.V., 1899. La gaffa dês olives en Portugal. Bulletin de la Société Mycologique de France 15:90-94.
- Cacciola, S.O.; Agosteo, G.E.; Pane, A. & Magnano di San Lio, 1996. Osservazione sull'epidemiologia dell'antracnosi dell'olivo in Calabria. Informatori Fitopatologico 46: 27-32.
- Carvalho, M.T.; Piteira, M. C. & Clara, M.I. 2003. Identificação de *Colletotrichum acutatum* em *Olea europaea* afectada pela doença da gafa. . III Simpósio de Olivicultura. Castelo Branco Portugal.
- Guerber, J. C. & Correll, J. C. 2001. Characterization of *Glomerella acutata* the teleomorph of *Colletotrichum acutatum*. Mycologie 93:216-229.
- Martin, M.P. & Garcia-Figueres, F. 1999. *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* cause anthracnose on olives. European Journal of Plant Pathology 105: 733-741.
- Simmonds, J.H. 1965. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. Queensland Journal of Agricultural and Animal Science 22:437-459. (cit in Guerber & Correll,2001)
- Sutton, B.C.,1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum acutatum*. Biology, Pathology and Control. J.A. Bailey & M.J. (eds), CAB International, Wallingford, 1-26.
- Talhinhas,P.; Ferreira,P.; Neves-Martins, J.; Sreenivasaprasad, S. & Oliveira, H. 2003. *Colletotrichum acutatum*: Principal agente causal da gafa da oliveira. III Simpósio de Olivicultura. Castelo Branco Portugal.
- Von Arx, J.A.,1957. Die arten der gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopathologische Zeitschrift 29:413-468 (cit in Sutton, B.C.,1992).

PRAGAS PRINCIPAIS DA OLIVEIRA

Mosca da oliveira

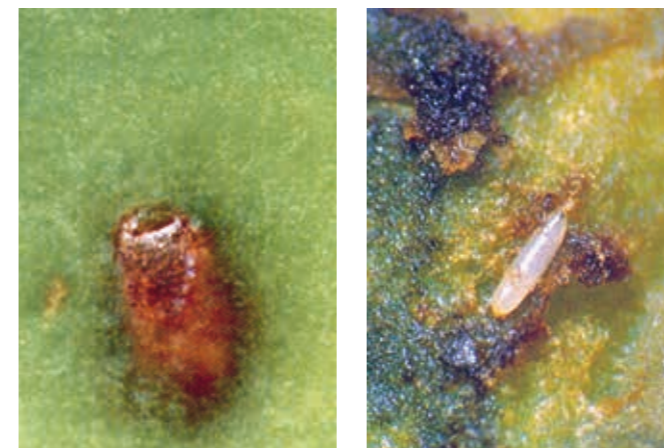
(*Bactrocera oleae* Gmel.) é um inseto da classe dos dípteros e família Tephritidae e é considerada a praga que maiores prejuízos causa à produção do olival. Afeta quase exclusivamente a oliveira. O adulto tem cerca de 4-5mm de comprimento por 10-20 de envergadura (Cantero,1997 Cit. Torres (coodenação),2007). A cabeça é grande de cor amarelada, os olhos são grandes com reflexos verde-violeta. O tórax é pubescente com três linhas longitudinais de cor mais escura e sem pelos O abdómen é de cor castanha encarniçado com 5 segmentos amarelados no dorso em que nas fêmeas o quinto está modificado para constituir o ovíscapto que tem forma cónica e mm de comprimento o que torna muito fácil a identificação de uma fêmea. As asas são transparentes com as extremidades escuras. As fêmeas são um pouco maiores que os machos e no final do abdómen têm o ovíscapto (Fig....) (de la Rosa *et al.*).

Os adultos voam quase todo o ano, baixando as suas populações até quase desaparecer em abril e maio. A partir de junho, quando as temperaturas são suaves, inicia-se a postura na azeitona dependendo a sua intensidade dos anos e das zonas. Estes ovos sofrem uma grande mortalidade devido às temperaturas e falta de humidade dos meses de verão. No outono a mosca torna-se muito ativa, aumentando progressivamente os índices de azeitona picada e rapidamente começa a encontrar-se todos os estados de desenvolvimento, sobrepondo-se as gerações. Este número é muito variável, dependendo anualmente da climatologia e a predisposição das cultivares.

Os ovos são brancos de forma alongada de tamanho aproximado de 0,7mm de comprimento por 0,2mm de largura.

A larva é ápoda de forma cilindro-cónica branca em que a tonalidade mais ou menos clara depende da maturação do fruto, esta dividida em 12 segmentos e possui umas mandíbulas fortes com armadura bucal mastigadora.

A larva apresenta 3 estados de desenvolvimento identificáveis pelo seu comprimento: L1 (até 1mm), L2 (1-3mm) e L3 (3-8mm). Passados estes estados larvares sofre metamorfose e transforma-se em pupa que é de forma elítica com cerca de 4-4mm de comprimento e 2mm de largura a sua cor varia entre o amarelo-ocre e branco-areia conforme se vai desenvolvendo.



Traça da oliveira

Prays oleae

A traça da oliveira é um lepidóptero da família Yponomeutidae, esta perfeitamente adaptada ao seu principal hóspede, a oliveira.

Esta praga passa por três gerações anuais que se sucedem ao longo da campanha, em perfeita sincronia com a evolução fenológica da oliveira.

A primeira geração é a filófaga que se desenvolve nas folhas. Os adultos, durante o mês de outubro e novembro fazem a postura dos ovos nas folhas e as larvas recém-nascidas mantêm-se em galerias interiores durante o inverno. Em fevereiro aumenta a sua atividade, mudam várias vezes de folha e saindo para o exterior onde se alimentam de gemas de folhas. A pupação dá-se geralmente na página inferior da folha no interior de um casulo, mas também podem fazê-lo no tronco e no solo.

A sintomatologia é fácil de identificar porque se observam galerias nas folhas com diferentes configurações. Mais tarde, no início da primavera as lagartas deslocam-se para os rebentos novos destruindo-os.

A segunda geração é a antófaga. Em abril e maio os adultos que provêm da geração anterior depositam os ovos nos botões florais fechados com preferência pelo cálice Pelekassis, 1962 e Bellido 1977). A fecundidade das fêmeas é grande. As larvas neonatas penetram diretamente no gomo floral e alimentam-se fundamentalmente das anteras e do pólen (Silvestris, 1977 citado por Pelekassis, 1962) ou estames e pistilos (Bellido, 1962). Pupam nos rebentos frutíferos protegendo-se por restos de flores secas unidas por sedas. Esta é a geração que se desenvolve mais rapidamente completando-se em média num mês e meio. O ataque verifica-se pela existência de fios de sedosos a envolver os cachos florais nos quais se acumulam excrementos e restos de pétalas.

A geração carpófaga inicia-se com a postura dos adultos sobre os frutos jovens. A duração da incubação situa-se

Fig. 000 – Adulto mosca da oliveira.

Fig. Adultos da mosca da oliveira, a fêmea (à esquerda) e o macho (à direita).

Fig. 000 – Aspecto exterior da azeitona depois da picada da mosca. Fig. 000 – Ovo da mosca da azeitona (no interior da azeitona aspecto em corte).

Fig. Adultos da mosca da oliveira, a fêmea (à esquerda) e o macho (à direita).

Fig. 000 – Larva amarelada no meio das pupas.



Fig. 000 – Adulto da geração filófoga

Fig 000 – Lagarta da geração antófoga

Fig. 000 – Ovo da geração carpófoga

Fig 000 – Cochonilha negra adulto

Fig. 000 – Cochonilha negra, ovos.

entre três a seis dias (Arambururg,1964). Após a eclosão, a larva penetra diretamente no fruto pelo lado do pedúnculo escavando umas pequenas galerias (Azevedo,1965). Uma vez no interior do fruto devoram o interior do caroço durante um período de tempo que pode ir aos 150 dias (Ramos *et al.*, 1976) e saem novamente para o exterior. A pupação dá-se normalmente no solo, uma vez que o fruto cai e no caso de não cair pupa em folhas ou no tronco (Torres, (coordenação) 2007).

Os sintomas observam-se facilmente à lupa os ovos no cálice dos frutos, em junho. Mais tarde dá-se uma queda de frutos sobretudo a partir de do fim de Junho e mais tarde em setembro. Seccionando os frutos podem ver-se as galerias de penetração das lagartas. Nos frutos caídos, em setembro/outubro, pode ver-se o orifício de saída das lagartas para pupa, geralmente na zona de inserção do pedúnculo (Torres, (coordenação) 2007).

Cochonilha

A cochonilha negra, *Saissetia oleae* Oliv. é um homóptero da família Coccidae. Trata-se de uma espécie ovípara com reprodução partenogenética (os machos são muito escassos) (Paparatti, 1986).

A euzofera, *Euzophera pinguis* Hawor. é um lepidóptero da família Pyralidae muito comum, como hospedeiro da oliveira, na região Mediterrânica. Durante alguns anos esta praga era considerada na península ibérica de importância económica média. Contudo, nos últimos anos os seus ataques têm-se agravado e já é considerada por Alcalde (2003) (Cit. Torres,2007) como a terceira praga com maior incidência no olival.

As lagartas abrem galerias na união dos ramos principais provocando o colapso dos mesmos. Em olivais novos a lagarta pode anilhar o tronco principal provocando a morte integral da oliveira. O controlo não é fácil uma vez que as lagartas se desenvolvem dentro dos troncos da oliveira e os inseticidas têm dificuldade em lá chegar.

O adulto é uma borboleta de 2-2,5 de envergadura de cor bege escuro com uma banda basal clara.

O ovo é de forma oval, achatado, de 1mm de comprimento de cor clara que vai escurecendo. A postura é feita em grupos de 5-6 ovos nas gretas do córtex ou nos nódulos da tuberculose.

A lagarta é cilíndrica, coberta de sedas de cor verde clara com a cabeça bem diferenciada.

A pupa tem 10-12mm de comprimento de cor clara e vai escurecendo.

Pragas secundárias da oliveira

O Caruncho da oliveira, *Phloeotribus scarabaeoides*



Bern. é um coleóptero da família Curculionidae e é considerada uma praga secundária na medida em está presente nos olivais com baixa incidência e apenas se desenvolve em árvores debilitadas (Torres,2007).

Bibliografia

- Alcalde, A.E.2003. Feromona sexual da *euzophera pinguis* Haw. para el control del agusanado del olivo. Phytoma España, 147: 60-61.
- Arambourg, Y. 1964. Caactéristiques du peuplement entomologique de l'olivier dans le Sahel de Sfax. Thèse Docteur Faculté des Sciences L'Université de Paris, 137 p.
- Azevedo, A. 1965. A defesa da oliveira contra as pragas e doenças no quadro da moderna olivicultura. Palestra proferida em Abrantes como chefe dos Serviços de Fitopatologia da Direção-Geral dos Serviços Agrícolas.
- Bellido, L.1977. El *Prays* del olivo. Biología, daños, parasitismo y dinámica de población. Tesis Doctoral, Universidad Córdoba, 149 p.
- Cantero, F. de A. 1997. Enfermedades e plagas del olivo. 3ª ed. Riquel y Vargas Ediciones, S.L., Jaén, 646p.
- Paparatti,B. 1986. Lecaniidae. *Saissetia oleae* Olivier. Entomologie oleicole. Conseil Oleicole International. Madrid: 173-186.
- Pelenkassis,C.1962. A contribution to the study of nomenclature,



Fig. 000 – Euzofera, *Euzophera pinguis* Hawor adulto.

Fig. 000 – Euzofera, *Euzophera pinguis* Hawor lagarta.

Fig. 000 – Adulto do caruncho-da-oliveira

Fig. 000 – Larva do caruncho-da-oliveira

- taxonomy, ecology and the natural parasitization of the olive kernel borer. Ann. Inst. Phytopath. Benaki. 3: 185-308.
- Ramos, P., Campos, M. & Ramos, J. Dados sobre la éco-biología de *Prays olea* Bern (Lepidóptero, Plutellidae) en el sur de España. II Generación carpófoga. Cuad. C. Biol., 5: 159-170.
- Rosa, J. L. de la; Herrera,B.; Coletto, F.; Zamorano, F.; Caballero, F.; Garrudo, L. & Barón,J. Control Sanitario del Olivar. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía
- Torres, L. (Coordenação) 2007. Manual de Proteção Integrada do Olival. 433pp. ISBN 978-972-9001-92-5

DESEQUILÍBRIOS NUTRICIONAIS MAIS COMUNS EM OLIVAIS PORTUGUESES

PEDRO JORDÃO & MARIA ENCARNAÇÃO F. MARCELO

A sintomatologia visual é uma forma de diagnóstico de desequilíbrios nutritivos em que estes são reconhecidos por aspetos particulares da planta, especialmente das folhas, embora o aspeto geral da árvore ou de alguns outros órgãos permitam reforçar a convicção da presença dos mesmos. O diagnóstico de deficiências ou de excessos a partir de sintomas visuais apresenta, todavia, algumas limitações. Refira-se, por exemplo, o facto de quando tais sintomas se manifestam de forma perceptível já os desequilíbrios nutritivos são tão marcados que a produção está afetada. Por outro lado, é notória a dificuldade de identificação de aspetos anómalos que resultam da ocorrência de sintomas pouco característicos, da sobreposição de carências ou excessos que conduzem a alterações dos sintomas usuais, bem como de alterações devidas a aplicações de produtos fitofarmacêuticos, ocorrência de pragas, doenças ou condições climatéricas adversas que podem ser confundidos ou ocultar os provocados por uma nutrição desequilibrada.

Apesar das suas limitações, este meio de diagnóstico é eficaz quando os sintomas visuais são típicos e a pessoa que os observa é experimentada/conhecedora. É um dos meios considerados mais eficazes, por exemplo, no diagnóstico da carência de ferro.

A confirmação dos desequilíbrios nutritivos deve ser efetuada através da análise foliar. Esta, independentemente da sua ocorrência, deve ser realizada anualmente, na altura do endurecimento do caroço, de modo a prevenir a ocorrência dos citados desequilíbrios. Para além deste meio de diagnóstico do estado nutricional das culturas, é necessário o recurso à análise de terra e, em olivais de regadio, à análise da água de rega para fundamentar uma fertilização racional que deverá ter igualmente em conta as características do olival e as práticas culturais efetuadas.

Os sintomas que a seguir se descrevem de forma sumária traduzem as principais carências de nutrientes observadas em olivais do nosso país.

Carência de potássio

As folhas apresentam inicialmente uma coloração amarelada na sua extremidade - clorose apical - que evolui para necrose (Figura 1). As zonas necrosadas podem atingir grande parte do limbo, sendo acentuada a separação entre estas e o resto do limbo verde, não existindo zona de transição. Simultaneamente com a necrose apical podem surgir necroses marginais.

Os sintomas iniciam-se nas folhas mais velhas e intensificam-se no outono ou inverno, particularmente em anos de safra, podendo evoluir para as folhas mais jovens. Quando a carência é acentuada existe desfoliação intensa e seca dos ramos da periferia da copa.

A deficiência de potássio ocorre principalmente em solos pobres em potássio, em solos ricos em carbonato de cálcio e/ou magnésio, com teores de argila muito altos, sujeitos a aplicações elevadas de azoto na forma amoniacal, em anos secos, em especial no caso dos olivais de sequeiro, e em anos de elevada produção.

As situações de carência de potássio podem corrigir-se através de aplicações por via foliar de nitrato de potássio (concentrações entre 2 e 3%) ou sulfato de potássio (concentrações entre 2 e 4%), particularmente quando o teor de humidade do solo é insuficiente ou o olival se encontra instalado em solos calcários. Estas aplicações deverão ser realizadas, entre outras épocas, antes da floração e no final do verão ou início do outono. As aplicações de potássio por via foliar não devem dispensar a sua aplicação ao solo que, em olivais de regadio, poderá ser através da água de rega.

Carência de magnésio

Os sintomas de carência de magnésio manifestam-se sobretudo nas folhas, que ficam cloróticas. A coloração verde-clara ou amarelada pode surgir quer na parte apical das folhas quer nas suas duas margens. Neste caso, a clorose evolui da periferia para o centro, permanecendo verde a base, o topo e a nervura principal das folhas (Figura 2). Em algumas folhas podem surgir necroses. As folhas caem prematuramente.

Os sintomas de carência de magnésio manifestam-se especialmente nas folhas da base dos crescimentos do ano, sendo mais facilmente visíveis a partir do outono.

A deficiência de magnésio ocorre sobretudo em solos pobres neste nutriente, especialmente de reação ácida, em solos ricos em potássio e em olivais em que houve uma adubação potássica excessiva.

Para a correção desta carência recomenda-se a aplicação ao solo de um adubo com magnésio ou, no caso de solos com pH baixo e pobres em cálcio e magnésio, a aplicação de calcário magnesiano ou dolomítico. Deve

proceder-se, ainda, a aplicações por via foliar de sulfato de magnésio ou nitrato de magnésio em concentrações de 2 a 3%, sendo uma das épocas o início da primavera.

Carência de boro

Nas folhas, os primeiros sintomas manifestam-se pelo aparecimento de uma clorose apical, verde clara a verde amarelada, enquanto a parte restante permanece verde. A clorose, frequentemente em forma de V, vai progredindo, podendo atingir grande parte do limbo (Figura 3 A). Por vezes, as folhas com cloroses são mais pequenas e apresentam-se deformadas. Podem, igualmente, observar-se folhas com necroses na sua extremidade, existindo com uma zona de transição, amarelada, entre a parte apical e a parte inferior que se mantém verde (Figura 3 B).

Os sintomas de carência de boro podem incluir uma intensa desfoliação, a morte dos gomos apicais, ficando a árvore com aspeto arbustivo e emajerado, inicialmente em apenas alguns dos quadrantes. Por vezes aparecem deformações nos frutos (Figura 3 c).

Os sintomas começam a manifestar-se nas folhas mais jovens e desenvolvem-se principalmente durante o outono e inverno, especialmente em anos secos. Evoluem depois para as folhas mais velhas (Figura 3 c).

A carência de boro, largamente difundida em Portugal, ocorre em diversos grupos de solos, em especial nos pobres neste elemento e arenosos. É mais frequente em situações de deficiência hídrica, especialmente notória em olivais de sequeiro.

Para corrigir a carência de boro deve proceder-se à sua aplicação ao solo. É necessário, também, aplicar por via foliar produtos solúveis com boro em concentrações de 0,2 a 0,5%, opção que é particularmente importante em olivais de sequeiro. Poderá ser necessário efetuar mais do que uma aplicação às folhas, devendo uma destas ser realizada cerca de um mês antes da floração. Para aumentar a absorção do boro, recomenda-se acrescentar ureia na concentração de 1% à solução com este elemento.

Carência de ferro

As folhas apresentam uma clorose generalizada (Figura 4 A), embora as nervuras se mantenham verdes na fase inicial da carência. Os ramos têm um crescimento reduzido, o mesmo acontecendo com as folhas.

Os sintomas de carência de ferro manifestam-se inicialmente nas folhas mais novas (Figura 4 b), mas podem estender-se a ramos inteiros (Figura 4 c) ou mesmo a toda a planta.

A carência de ferro ocorre especialmente em solos

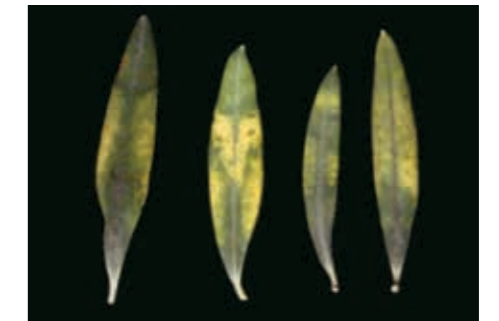


Figura 1 - Carência de potássio na cv. Galega Vulgar Castelo Branco

Figura 2 - Carência de magnésio na cv. Verdeal Transmontana - Mirandela

Figura 3 A - Carência de boro na cv. Galega Vulgar

Figura 3 B - Carência de boro na cv. Galega Vulgar

Figura 3 c - Carência de boro na cv. Galega Vulgar

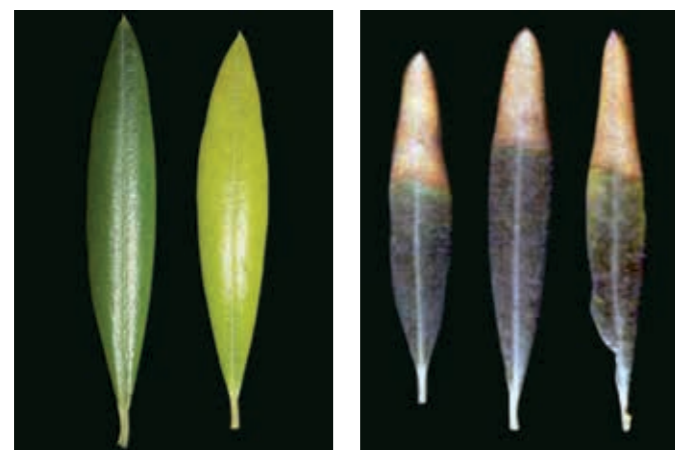


Figura 4 A - Carência de ferro na cv. Arbequina

Figura 4 B - Carência de ferro na cv. Arbequina

Figura 4 C - Carência de ferro na cv. Arbequina

Figura 5 - Folha da cv. Arbequina com distúrbio associado à carência de azoto, cálcio e magnésio

Figura 6 - Folhas da cv. Verdeal Transmontana infetadas com *Coleophoma oleae* e com carência de magnésio

Figura 7 - Folhas afetadas pela aplicação de herbicida

calcários e em solos pobres em ferro.

As aplicações de ferro por via foliar conduzem a resultados muito transitórios na correção da carência do nutriente. O emprego de quelatos de ferro injetados ao tronco das árvores ou ao solo nas proximidades do tronco, em oliveiras de sequeiro, ou aplicados através da água de rega, em oliveiras de regadio, apresenta-se como a forma mais eficaz de remediar esta carência. A sua prevenção através do uso de porta-enxertos/cultivares resistentes à clorose férrica surge como a medida mais adequada.

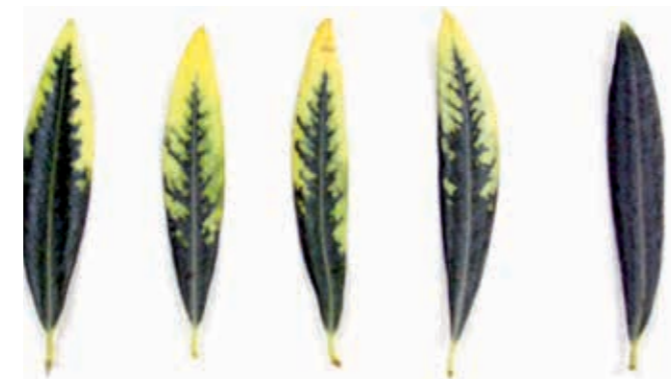
Outros sintomas anómalos

Muitos dos sintomas anómalos que se observam nas folhas, ramos ou frutos podem ter outras origens que não as de ordem nutricional (pragas, doenças, acidentes fisiológicos, etc.) ou aparecer simultaneamente com os sintomas de alguns desequilíbrios. Acresce que certos sintomas de carência são semelhantes aos de toxicidade, como pode acontecer com os de boro nas folhas.

Os desequilíbrios podem envolver mais do que um nutriente, conduzindo a sintomas pouco característicos, como é o caso dos apresentados na Figura 5, que inclui o azoto.

Apesar da relevância que a carência de azoto assume em vários oliveiros do país, é difícil diagnosticá-la exclusivamente através da sintomatologia visual, tal como, aliás, acontece com outros nutrientes.

Na Figura 6 observam-se folhas com necroses apicais, passíveis de serem confundidas com uma carência de potássio. Não é o caso, pois as necroses do ápice das folhas resultam da sua infeção pelo *Coleophoma oleae*, fungo detetado no olival. As folhas encontram-se, ainda, afetadas pela carência de magnésio que é mascarada pela ocorrência da referida infeção.



A aplicação inadequada de alguns herbicidas ao olival pode conduzir ao aparecimento de cloroses nas folhas, como as que se apresentam na Figura 7.

PÓLEN E POLINIZAÇÃO

HELENA RIBEIRO¹, LEONILDE CALADO², ANA CRUZ³, JUAN DE DIOS ALCHÉ⁴, ILDA ABREU² E AUGUSTO PEIXE⁵

Morfologia polínica

O grão de pólen é o gametófito masculino das plantas com semente que se forma e desenvolve na antera a partir de células especializadas (células esporogénicas), sendo posteriormente lançado para a atmosfera. Para além de ser uma estrutura de diminutas dimensões (2 a 200 µm) é parte integrante do ciclo de vida de uma planta, possuindo todas as suas características e potencialidades genéticas. Sendo uma estrutura biológica sem mobilidade própria, o seu transporte desde as anteras até ao estigma da mesma flor ou de outra flor da mesma espécie deve ser assegurado por vários agentes bióticos e abióticos. Este transporte designa-se por Fluxo Polínico, sendo caso da oliveira maioritariamente assegurado pelo vento.

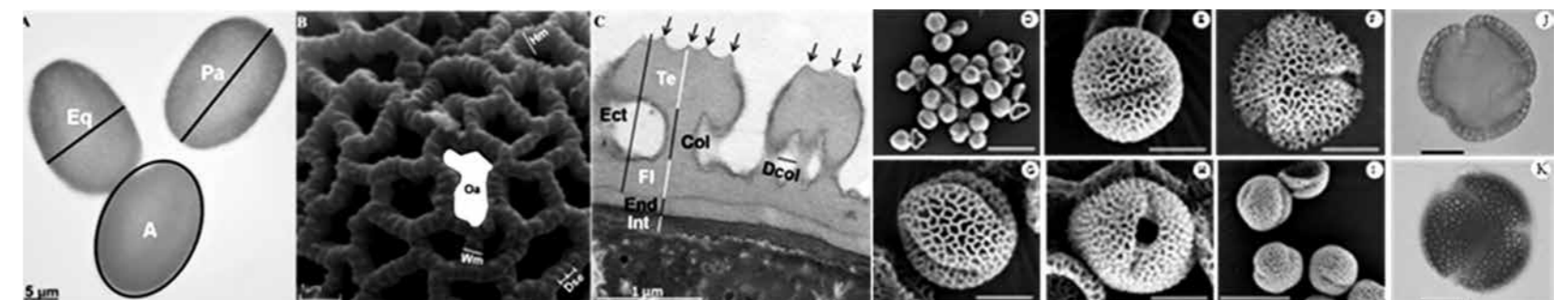
A palinologia é a ciência que estuda a morfologia externa do grão de pólen, a sua emissão e dispersão na atmosfera, bem como aplicações destes estudos em diversas áreas do conhecimento entre as quais a agricultura. Neste contexto, os estudos palinológicos poderão dar uma contribuição importante no desenvolvimento científico e tecnológico da Olivicultura.

Na generalidade, e em particular o grão de pólen da oliveira, é revestido por uma parede inerte, a esporoderme, sendo constituída por duas camadas: a intina, de

natureza pectocelulósica tendo função de protecção do conteúdo celular do grão de pólen, e a exina, camada mais externa, é constituída essencialmente por esporopolinina, que lhe confere resistência e protecção contra agentes físicos, químicos e biológicos. Esta última camada possui zonas com aberturas e apresenta-se dividida em duas camadas, a endexina, camada mais interna sendo homogénea e contínua, e a ectexina, que pode ser esculpida apresentando uma estrutura complexa formada por colunas ou báculas que podem estar unidas superiormente por uma camada que forma o tecto. Este pode apresentar-se compacto ou possuir perfurações, ser liso ou ornamentado exibindo picos ou outro tipo de saliências.

As inúmeras combinações entre a polaridade, simetria, tamanho, forma, estratificação e ornamentação da parede do grão de pólen, tipo, número e repartição das aberturas possibilitam a distinção morfológica e identificação entre os géneros e até mesmo entre espécies da mesma família, uma vez que a estrutura do pólen e o padrão da exina são geneticamente estáveis.

Assim, recorrendo a microscopia ótica, microscopia eletrónica de varrimento e microscopia eletrónica de transmissão foi possível determinar valores médios de vários parâmetros do grão de pólen da oliveira como área (A), diâmetro máximo (Pa) e mínimo (Eq) do grão de pólen o padrão da exina como largura e altura do muri (Wm, Hm), área dos orbículos (Oa) e distância entre os elementos de ornamentação (Dse) ou mesmo parâmetros da parede do grão de pólen como a largura da ectexina (Ect), da camada basal (Fl), da endexina (End), da intina (Int),



1 Grupo de Ambiente e Sociedade, Centro Geologia da UP, Rua do Campo Alegre, 687, 4169-007 Porto, Portugal; email: helena.ribeiro@fc.up.pt; ianoronh@fc.up.pt.

2 INRB, I.P./INIA, Herdade do Reguengo, Elvas, Portugal; email: leonilde.santos@inrb.pt

3 Serviço Patologia Clínica, Laboratório de Imunologia do Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia, Portugal.

4 Estación Experimental del Zaidín. CSIC. Granada. Spain;

5 Universidade de Évora - ICAAM, Ap. 94, 7002-557 Évora, Portugal, apeixe@uevora.pt

Fig. 1. Parâmetros morfológicos do grão de pólen de *Olea europaea* L. medidos ao microscópio óptico (A), electrónico de varrimento (B) e electrónico de transmissão (C). Grão de pólen da *Olea europaea* L. acetolisados, vista ao microscópio de varrimento (D a I). Barras: D = 50 µm; E a H = 10 µm; I = 30 µm. Grão de pólen da *Olea europaea* L. acetolisados, vista ao microscópio óptico (J e K). Barras = 10 µm.

A MORFOLOGIA DO POLEN NA CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE OLEA EUROPAEA L

Fausto Leitão, M^{te} Leonilde Calado, M^{te} Fatima Potes, Miguel Mota

Departamento de Genética e Melhoramento - Estação Agronómica Nacional - Oeiras

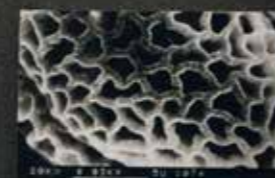


ELEMENTOS DE CARACTERIZAÇÃO CONSIDERADOS:

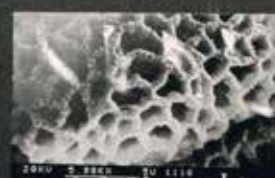
- Diâmetro maior (D) e diâmetro menor (d), em μ
- Relações D/d e Dxd
- Rugosidade, tipo e dimensões da malha
- Espessura dos tabiques
- Maior ou menor presença de tabiques incompletos



BRANQUETA
D=23,78 ± 1,35
d=16,65 ± 1,12



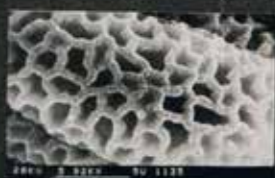
GALEGA VULGAR
D=22,35 ± 2,04
d=15,92 ± 1,76



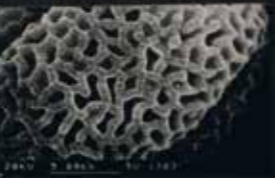
CARRASQUENHA
D=24,08 ± 1,25
d=17,49 ± 1,30



GORDAL
D=23,35 ± 1,39
d=18,01 ± 1,39



COBRANÇOSA
D=22,23 ± 1,27
d=16,14 ± 1,03



MAÇANILHA ALGARVIA
D=23,77 ± 1,18
d=16,82 ± 1,05



CORDOVIL DE SERPA
D=22,36 ± 1,27
d=16,14 ± 1,03



REDONDIL
D=22,69 ± 1,44
d=17,02 ± 1,36

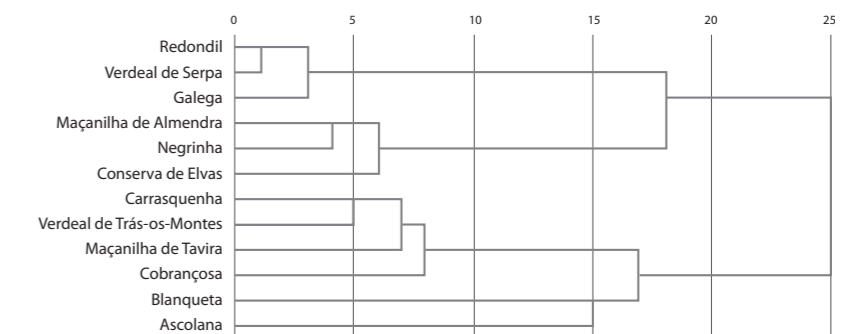
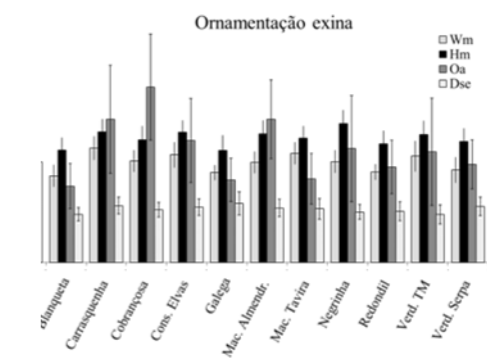
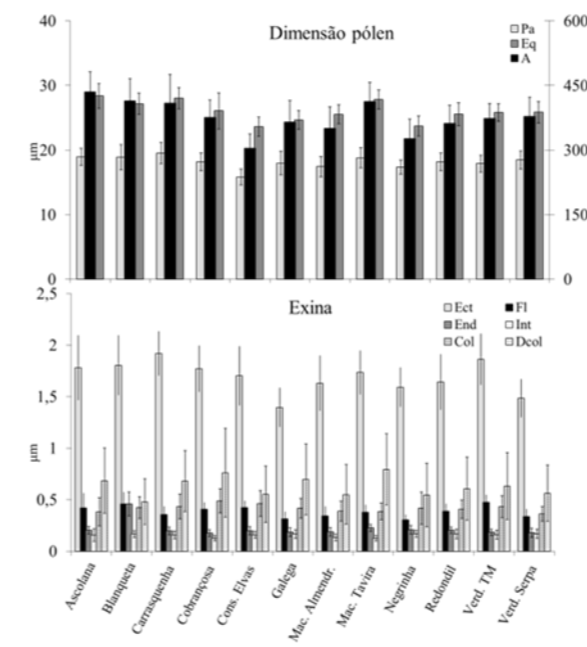


Fig. 2 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros morfológicos (dimensão, ornamentação da exina e elementos da exina) de 12 variedades de *Olea europaea* L.

Fig. 3 - Dendrograma obtido após análise de clusters a partir dos valores dos parâmetros morfológicos e ultraestruturais do grão de pólen medidos nas 12 variedades.

das columelas (Col) e a distância entre as columelas (Dcol) (Fig. 1).

Na Figura 2 estão representados valores médios das diversas medidas efectuadas em amostras de pólen de 12 variedades de oliveira: *Ascolana*, *Blanqueta*, *Carrasquenha*, *Cobrançosa*, *Conserva de Elvas*, *Galega Vulgar*, *Maçanilha de Almedralejo*, *Maçanilha de Tavira*, *Negrinha*, *Redondil*, *Verdeal de Serpa*, *Verdeal de Trás-os-Montes*, recolhidas em Elvas, nos campos de ensaio do Instituto Nacional dos Recursos Biológicos.

O pólen das 12 variedades de oliveira possuem na generalidade simetria radial, forma subprolada a esferoidal-prolada, tamanho pequeno a médio (média de 26,01 μ m de Pa e 18,12 μ m de Eq). A exina apresenta granulosidade, é tectada com ornamentação reticulada (Dse média de 0,33 μ m e Oa de 0,67 μ m), formada por uma malha larga (largura e altura médias do muri de 0,56 μ m e 0,73 μ m respectivamente) contínua, com columelas espessas e irregulares (valores médios das Col e Dcol de 0,42 μ m e 0,63 μ m).

No entanto, foram observadas diferenças inter-varietais a nível dos parâmetros do grão de pólen medidos, o que permitem a diferenciação entre as variedades de *Olea europaea* L., e estabelecer relações filogenéticas (Fig. 3), demonstrando que a morfologia e ultraestrutura polínicas

poderão ser descritores relevantes para o conhecimento das diferenças fenotípicas existentes no germoplasma de uma região, constituindo um bom parâmetro taxonómico de identificação.

Dado a existência de grande número de variedades de oliveira espalhados por várias partes do mundo, com características morfológicas muito semelhantes que torna por vezes difícil a sua correcta identificação, induzindo frequentemente à existência de variedades homónimos ou sinónimos, a caracterização morfológica do grão de pólen poderá auxiliar a caracterização taxonómica e identificação de variedades.

Previsão quantitativa de colheita

Um dos aspectos que tem merecido destaque nos últimos anos é a possibilidade de estimar antecipadamente a produção anual de azeitona. A previsão da produção de fruto, fiável, precoce e operacional poderá ser um elemento importante no auxílio à tomada de decisões, tornando possível ao agricultor o planeamento de todas as actividades relacionadas com a colheita (quantidade de mão-de-obra, escalonamento das parcelas a colher, transporte até ao lagar), transformação (organização da extracção e armazenamento) e comercialização (definição do volume de stocks, campanhas de promoção, definição de preços e contactos com exportadores) e aos organismos públicos na determinação das ajudas económicas anuais a atribuir à produção ou no caso de compensações decorrentes de catástrofes naturais.

A utilização da fracção polínica atmosférica total (FPA) na elaboração de um modelo de previsão de colheita baseia-se no princípio que o número de flores de uma determinada espécie por unidade de área é superior nos anos mais produtivos, originando assim maior emissão polínica e por isso maior quantidade de pólen presente na atmosfera. Partindo deste princípio é possível correlacionar as variações inter-anuais da FPA com a produção de frutos de

modo à obtenção de um modelo de previsão do potencial de produção – modelo aeropalínológico.

A utilização da FPA na previsão da produção anual de fruto tem ainda duas vantagens adicionais. A primeira é permitir a integração de vários factores pré-florais determinantes na colheita. Assim, condicionalismos associados a stress hídrico, térmico, fitossanitário ou nutricionais ocorridos no ano ou anos anteriores reflectem-se no número de flores produzido e na quantidade de pólen emitido para a atmosfera. A outra vantagem é a adaptação automática do modelo ao longo das campanhas seguintes uma vez que a plantação de novos ou reestruturação de antigos olivais e mudança no processo produtivo de semi-intensivo para intensivo e até mesmo superintensivo, reflectem-se na quantidade de pólen que é emitido para a atmosfera.

A FPA de oliveira de uma determinada região é obtida pela amostragem atmosférica do pólen durante a floração de Maio a Junho podendo recorrer-se a diferentes tipos de equipamentos envolvendo, todos eles, uma componente instrumental e vários princípios operacionais que se baseiam essencialmente na gravimetria, no impacto e/ou na sucção.

Estes equipamentos foram instalados em locais estratégicos da região (representação geográfica do olival e orientação dos ventos dominantes) (Fig. 4).

Através da monitorização dos fluxos polínicos é determinado o período principal de polinização da oliveira, ou seja, o período onde se regista uma maior FPA, pelo ajuste de um modelo logístico às emissões polínicas (Ribeiro *et al.*, 2007). Este modelo permite determinar o período efectivo de polinização e o cálculo de um índice polínico regional (IPR), que será utilizado na estimação dos modelos de previsão da produção de azeitona.

Após alguns anos de amostragem dos fluxos polínicos da oliveira nas regiões de Trás-os-Montes e Alto Douro e no Alentejo, foi desenvolvido um modelo bioclimático de previsão da produção anual de fruto, que é actualizado em

Fig. 4. Captadores Tipo Hirst (A) e Tipo Cour (B) apresentando um interceptor de fluxo, orientam-se de acordo com a direcção do vento.

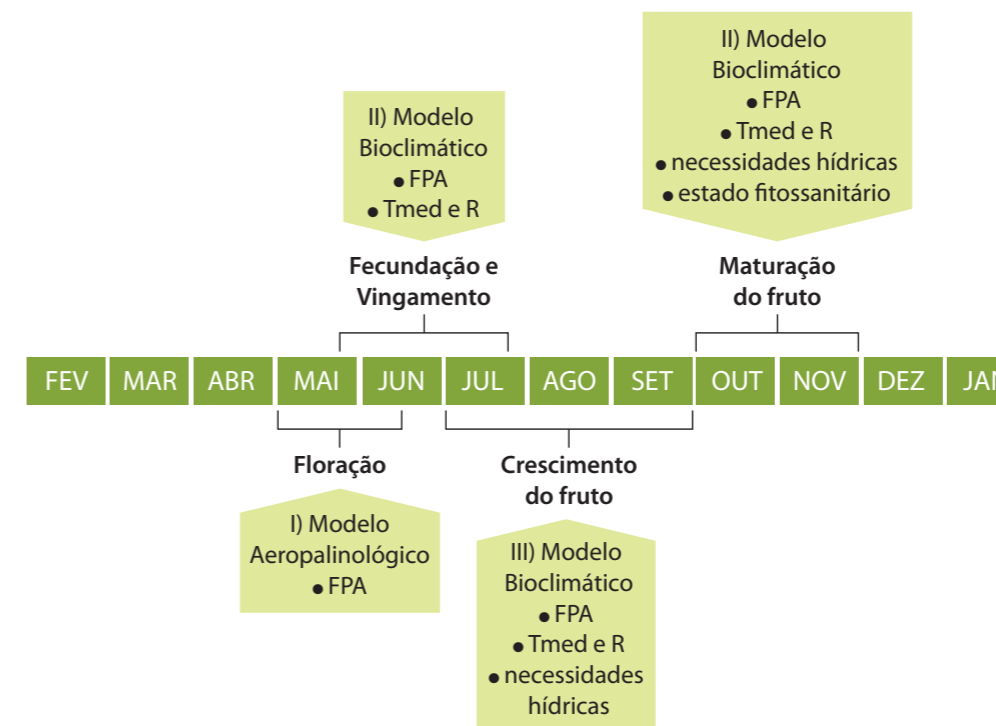


Fig. 5. Metodologia e variáveis explicativas dos modelos de previsão estimados ao longo do ciclo de desenvolvimento da oliveira. FPA: Fracção Polínica Atmosférica

três fases de desenvolvimento ao longo da campanha: i) floração; ii) crescimento do fruto; e iii) maturação do fruto (Fig. 5).

O modelo de previsão, para além da variável independente IPR, integra também variáveis pós-florais uma vez que durante o período entre a floração e a colheita, as plantas ficam expostas a condições ambientais que poderão alterar o potencial de produção determinado durante o período da floração. No caso do olival, o longo período entre a floração e a colheita da azeitona potencia o aumento dos riscos de ocorrência de factores de stress para a planta e que não são considerados pelos modelos de previsão baseados unicamente na amostragem aeropolínica. Assim, incorporou-se a influência das condições pós-florais, tais como stress térmico ou hídrico e a ocorrência de doenças e/ou pragas, que podem ter influência determinante nas fases de crescimento e maturação dos frutos com consequências na produtividade da cultura, através da introdução por exemplo de índices derivados de pré-processamento dos dados meteorológicos brutos – modelo bioclimático de previsão.

Este modelo incluiu duas variáveis pós-florais: índice conforto hídrico-ICH e índice estado fitossanitário do fruto - Ifit. O ICH foi calculado mensalmente, de Junho a Agosto, pela diferença entre a evapotranspiração cultural (ET_c) e o volume de precipitação (R), sem considerar a reserva hídrica do solo, de acordo com a equação de Hargreaves (Allen *et al.*, 1998), para determinar o valor da

evapotranspiração de referência (ET_o) e da evapotranspiração cultural (ET_c) a partir de dados meteorológicos e do coeficiente cultural (K_c) (Ribeiro *et al.*, 2009). O Ifit foi calculado com base nas condições meteorológicas consideradas favoráveis ao desenvolvimento de pragas e doenças do olival. Este índice é representado pelo somatório dos dias de ocorrência de precipitação com temperaturas médias amenas entre os 15 e 25°C para o período entre Setembro-Outubro.

O ajuste dos modelos de previsão foi efectuado por regressão multilinear com os valores referentes à quantidade de azeitona oleificada pelos lagares (toneladas), para as regiões do Alentejo e de Trás-os-montes e Alto Douro, obtidos a partir da base de dados do Instituto Nacional de Estatística. Após este ajuste, verificou-se que o índice polínico regional foi a variável independente com maior influência, mostrando uma capacidade explicativa da variabilidade inter-anual de produção foi de 58% em Trás-os-Montes e Alto Douro e de 66% no Alentejo, evidenciando a importância do período pré-floral e floral nas flutuações inter-anuais de produção de fruto. Consequentemente, com o modelo aeropalínológico torna-se possível conseguir, 7 a 8 meses antes da colheita, uma previsão da produção de fruto, obtendo-se uma primeira avaliação do potencial produtivo da planta.

A inclusão, no modelo, das variáveis pós-florais atenuou os desvios observados na previsão, complementando a explicabilidade da variável independente índice polínico

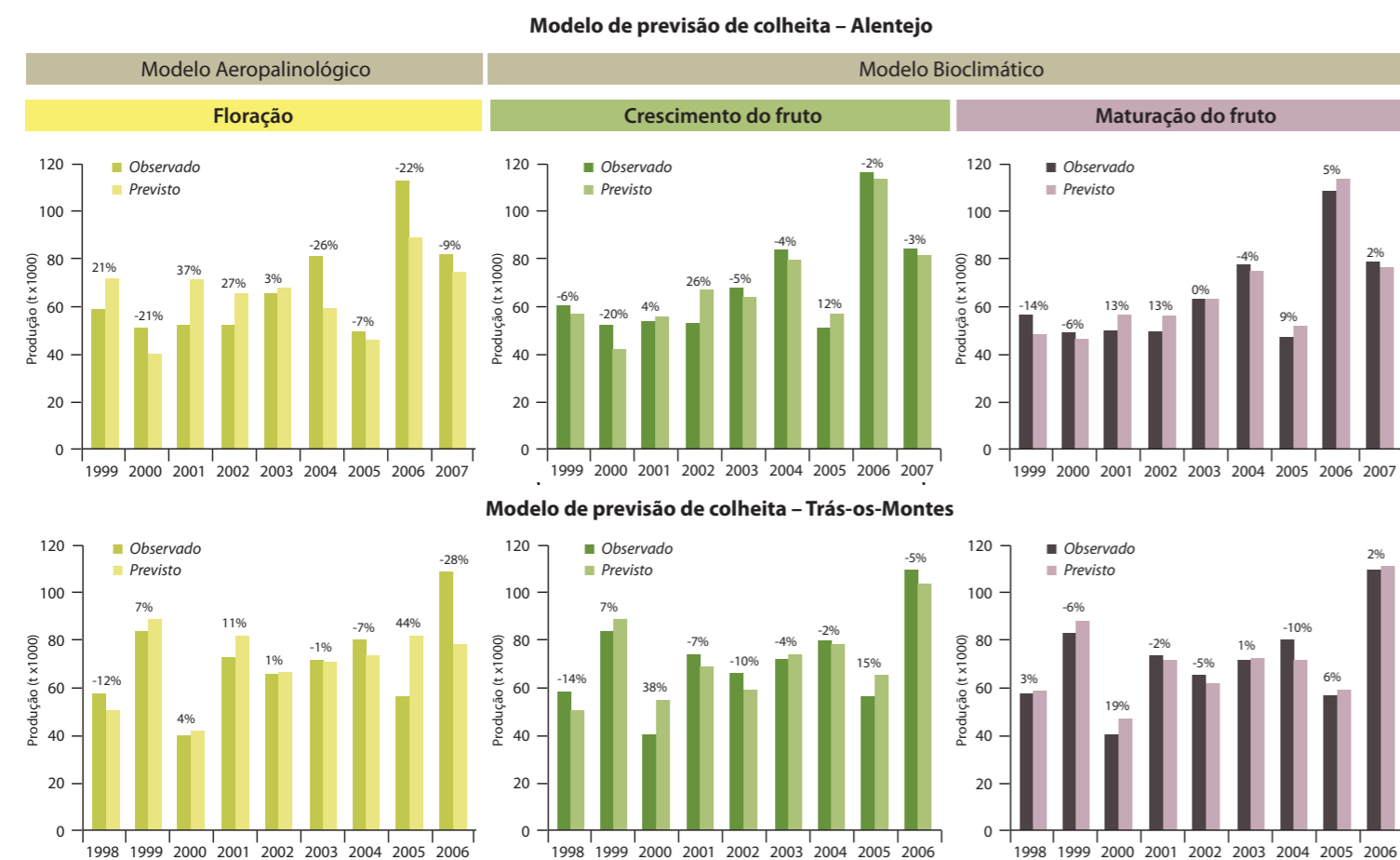


Fig. 6. Diferenças, em percentagem, entre produção observada e estimada pelos modelos de previsão Aeropalínológico (na etapa de floração) e Bioclimáticos (no final das etapas de crescimento e de maturação do fruto).

regional. A variável índice de conforto hídrico (ICH) permitiu um aumento da explicabilidade dos modelos de previsão para 93% em Trás-os-Montes e Alto Douro e para 92% no Alentejo, enquanto o índice do estado fitossanitário (Ifit) permitiu um aumento da explicabilidade para 97% em ambas as regiões (Fig. 6). No final as diferenças médias obtidas a entre produção prevista pelos modelos estimados e observada foram de 6% em Trás-os-Montes e Alto Douro e 7% no Alentejo.

Polinização e vingamento

Uma única oliveira pode produzir 500.000 flores

em cada ano, mas apenas aproximadamente 1,2% destas vão dar origem a fruto (Cuevas, 2005). Para esta baixa taxa de vingamento contribuem aspetos como as condições ambientais durante a floração, a esterilidade masculina e feminina e ainda problemas de incompatibilidade de pólen-pistilo.

A esterilidade morfológica feminina ocorre quando se formam flores que possuem um ovário muito rudimentar ou não o possuem de todo, são as chamadas flores estaminadas e a esterilidade morfológica masculina deve-se à ausência de anteras funcionais e a anomalias no desenvolvimento do pólen (Loussert e Brousse, 1980). Já a incompatibilidade é um tipo de esterilidade caracterizado pela existência de estruturas reprodutivas funcionais, que não formam descendência devido a um obstáculo fisiológico que impede a fecundação. Esse obstáculo pode ser a não germinação do pólen ou alterações ao normal desenvolvimento do tubo polínico.

A existência de flores anormais em oliveira quer por atrofia dos órgãos reprodutores masculinos quer dos femininos é conhecida desde há muito, mas, devido à baixa percentagens de flores polinizadas necessária para se obter anualmente uma boa produção, o problema nunca suscitou grande interesse.

O conhecimento da existência de problemas de auto e inter-incompatibilidade na oliveira é mais recente, razão pela qual, ainda hoje, é raro pensar-se na necessidade de utilização de polinizadoras durante os estudos de implementação de novos olivais.

Sobre este aspeto, Pinillos e Cuevas (2009) referem que, em Espanha, a maioria dos olivais é monovarietal e que este facto deve-se à crença dos agricultores de que a oliveira não requer polinização cruzada. Os mesmos autores referem ainda que, no caso de países onde o património varietal oleícola é rico, a polinização livre é suficiente para assegurar a necessária polinização cruzada, sendo por isso natural que os agricultores não compreendam a necessidade de introdução de polinizadoras.

Cuevas e Pollito (1997), já tinham referido que nos casos de auto-polinização a maioria dos tubos polínicos era incapaz de crescer através do estilete e alcançar o óvulo por forma a consumir a fertilização. Os mesmos autores referem que, o pólen de outras variedades que chega ao estigma de uma flor, através de polinização cruzada, desenvolve tubos polínicos que apresentam um rápido crescimento ao longo do estilete e asseguram fertilização, dados que apontam claramente para a existência de um sistema de auto-incompatibilidade em oliveira.

Desde essa altura a ideia de que todas as variedades de oliveira são auto-compatíveis foi abandonada e a espécie passou a ser considerada como parcialmente auto-incompatível. Os mecanismos de controlo da incompatibilidade em oliveira ainda não estão totalmente esclarecidos, Cuevas e Polito (1997), propuseram que se trataria de um sistema de incompatibilidade gametofítico, mas nos sistemas de incompatibilidade sob controlo gametofítico, é de esperar encontrar relações recíprocas de compatibilidade / incompatibilidade entre cultivares e, se em muitos casos isso acontece (Lewis 1994; Sedgley 1994), em outros (Moutier, 2002; Lavee *et al.*, 2002), esta relação de reciprocidade não pode ser confirmada.

Lavee *et al.* (2002) sugerem que a diversificada origem da espécie *Olea europaea* L. terá dado origem a um complexo sistema de controlo da auto-compatibilidade e por esse motivo, é necessário continuar os trabalhos de investigação neste domínio por forma a entender o processo e os genes que o controlam.

Mas independente dos mecanismos de controlo da incompatibilidade, sabe-se também que a resposta é condicionada pelas condições climáticas. As temperaturas elevadas no período de floração podem afetar a receptividade do estigma, a longevidade do óvulo e o crescimento do tubo polínico (Griggs *et al.*, 1975; Cuevas *et al.*, 1995). As

temperaturas máximas e médias registadas no período de Fevereiro a Maio condicionam a data e a duração da floração, nomeadamente um somatório das temperaturas máximas elevado, que corresponde a uma antecipação da época de floração (Cordeiro e Martins, 2002). Na variedade 'Manzanilla de Sevilla' registaram-se diferentes respostas de incompatibilidade em anos diferentes, tendo sido atribuídas a um efeito das temperaturas elevadas durante o período de floração (Griggs *et al.*, 1975).

Cuevas (1992) refere no entanto que não inexistem um efeito direto das altas temperaturas no processo de incompatibilidade mas apenas um efeito indireto, devido à sua influência na qualidade da flor (Cordeiro *et al.*, 2004).

O estudo das relações de compatibilidade tem sido efetuado com base em processos de polinização cruzada artificial e subsequente observação do crescimento do tubo polínico (Bartoloni e Guerriero 1995; Cuevas *et al.*, 2001) e das taxas iniciais de vingamento (Singh e Kar 1980). Foi com base neste tipo de metodologia que Cuevas (2005), classificou as principais variedades Espanholas de oliveira em três grandes grupos; -auto-compatíveis, -parcialmente auto-incompatíveis e auto-incompatíveis (Fig.7).

Nestes estudos assume-se que o tubo polínico atinge o saco embrionário, que a fertilização é bem-sucedida e que o fruto atinge a maturidade. No entanto, acontece frequentemente que após um desenvolvimento inicial observa-se uma elevada taxa de abscisão de frutos, mostrando que outros fatores não necessariamente relacionados com a compatibilidade estão envolvidos nas quedas de frutos pós-fertilização.

De la Rosa *et al.*, (2004) constataram a existência de um elevado nível de contaminação por pólen estranho, ao realizarem testes de paternidade baseados em quarto marcadores microssatélites (SSR) com o objetivo de identificar os progenitores envolvidos na produção de plantas híbridas que se pensava terem sido obtidas por auto-polinização e por polinização cruzada. Os resultados obtidos surpreenderam e pela primeira vez colocaram em causa os procedimentos utilizados para a realização de polinizações controladas, especialmente quando os sacos de proteção das inflorescências não são colocados bastante antes da antese.

Diáz *et al.*, (2006) corroboram as afirmações de De la Rosa *et al.*, (2004) referindo que as deficiências metodológicas detetadas em alguns estudos sobre análise da incompatibilidade podem ter conduzido a uma constatação errada de autocompatibilidade. Estes autores desenvolveram um trabalho em que, tal como De la Rosa *et al.*, (2004), utilizam marcadores SSR para avaliar o nível de

Quadro 1- Classificação de 48 variedades espanholas em função do seu nível de auto-incompatibilidade, medida no final da fase de vingamento dos frutos. A negrito identificam-se as principais variedades.

(Adaptado de Cuevas, 2005)

Classe (n.º de variedades)	Índice de auto-compatibilidade	Variedades ¹
Variedades auto-compatíveis (18)	>0,8	Arbequina , Alameño de Cabra, Bolvino, Callosina, Cornezuelo de Jaén, Empeltre , Gordal Sevillana , Habichuelero de Baena, Imperial, Jaropo, Limoncillo, Manzanilla de Jaén, Manzanilla de Tortosa, Morrut , Nevadillo Blanco de Lucena , Ocal, Picual de Estepa e Verdilla de Calatayud.
Variedades parcialmente auto-incompatíveis (18)	0,5 - 0,8	Blanqueta , Caballo, Campanita de Écija, Cornicabra , Escarabajuelo, Hojiblanca , Imperial de Jaén, Lechin de Granada , Manzanilla Cacereña , Morona, Negrillo de Arjona, Nevadillo de Santisteban del Puerto, Nevado Azul, Pajarero, Perillo de Jaén, Picual , Picudo e Verdial de Huevar .
Variedades auto-incompatíveis (12)	0 - 0,5	Alameño de Montilla, Changlot Real , Dulzal de Carmona, Manzanilla de Sevilla , Manzanilla del Piquito, Nevadillo Negro de Jaén, Nevadillo Blanco de Jaén, Pavo, Pico Limón, Rapasayo, Sevillena e Zarzariaga de Orcera

autoincompatibilidade das cultivares ‘Picual’ e ‘Arbequina’. Na cultivar ‘Arbequina’ encontraram uma total ausência de frutos resultantes de auto-polinização, enquanto na ‘Picual’ observaram uma baixa taxa de auto-fecundação. Estes resultados estão claramente em contradição com os anteriormente apresentados por Cuevas (2005), que classificam estas cultivares respectivamente como auto-compatível (‘Arbequina’) e parcialmente auto-compatível (‘Picual’), comprovando as deficiências metodológicas referidas e provando que a auto-incompatibilidade é a forma de compatibilidade mais frequente em oliveira.

Guerin e Sedgley (2007) também utilizaram marcadores SSR para determinar quais os dadores de pólen para cinco cultivares, ‘Barnea’, ‘Frantoio’, ‘Koroneiki’, ‘Kalamata’ e ‘Mission’, plantadas em olivais no sul da Austrália, em regime de polinização livre. Os autores põem em relevo o facto de as oliveiras estudadas raramente serem auto-polinizadas: apenas foram observados 2 casos de auto-polinização num total de 800 estudados e ambos do cultivar Mission (Tab 1).

Ainda de acordo com os dados apresentados na tabela 1, os autores realçam que o cv. ‘Barnea’ é receptivo ao pólen de vários dadores; que a maioria dos embriões do cv. ‘Mission’ resultam da polinização por ‘Koroneiki’, cultivar que é também dador relativamente ao cv. ‘Kalamata’. Fazem ainda notar que o facto de nenhum dos embriões de ‘Frantoio’ e ‘Barnea’ ser atribuído ao cv. ‘Koroneiki’, apesar da proximidade física das árvores em estudo, sugere uma possível incompatibilidade entre estes cultivares. Os pares de cultivares ‘Frantoio’ e ‘Kalamata’, ‘Frantoio’ e ‘Mission’,

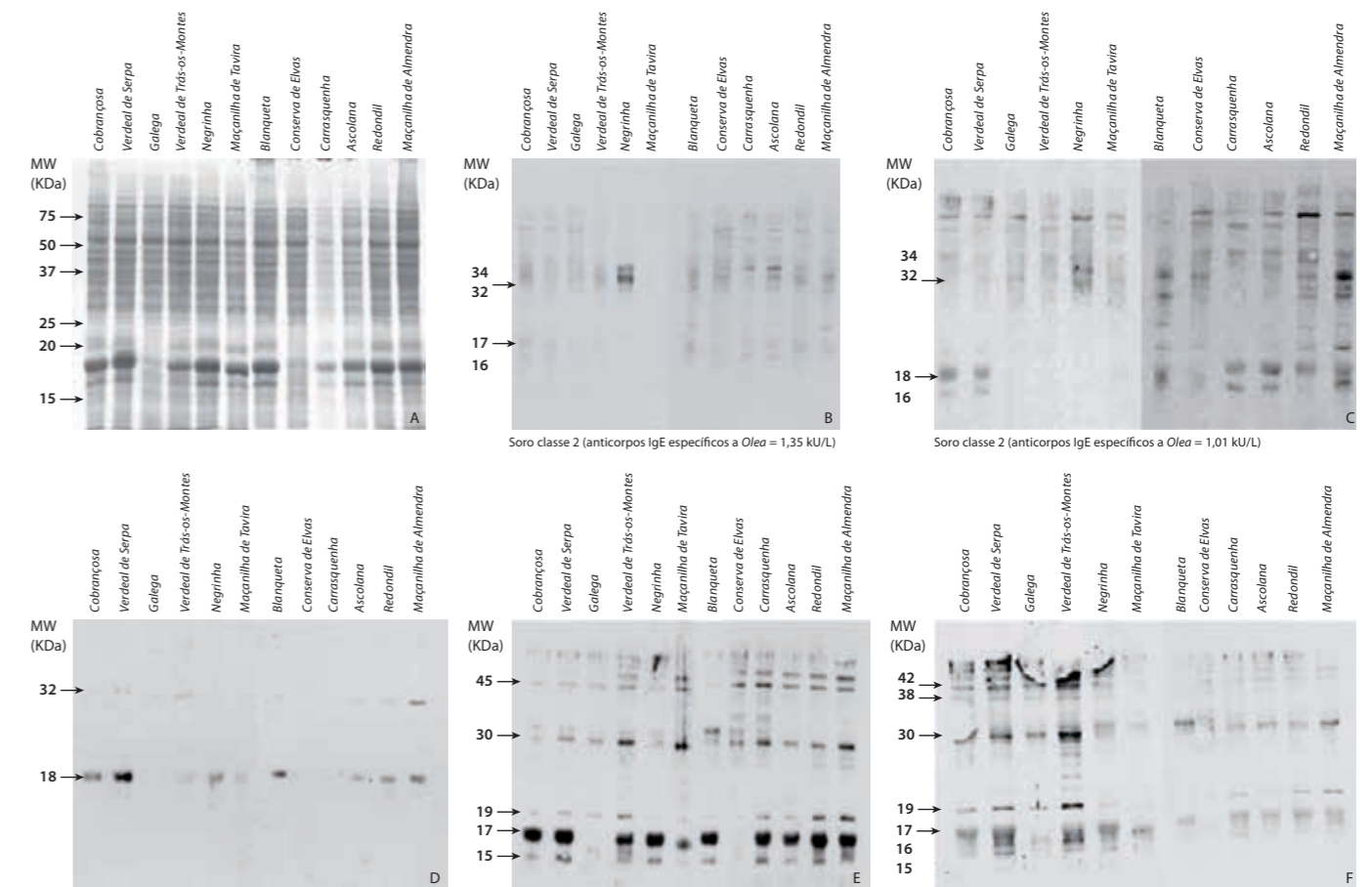
Tabela 1. Número de embriões atribuídos a cada um dos prováveis dadores de pólen, em dois anos de observações.

Pollen donor:	Bar.	Fra.	Kor.	Kal.	Miss.	Kat.
Mother Tree Barnea	0	4	0	18	30	3
Frantoio	1	0	0	29	45	1
Koroneiki	3	0	0	12	68	4
Kalamata	0	26	87	0	3	0
Mission	1	6	82	0	2	1

Os nomes dos cultivares foram abreviados da seguinte forma: Bar, Barnea; Fra, Frantoio; Kor, Koroneiki; Kal, Kalamata; Mis, Mission. (Adaptado de Guerin e Sedgley, 2007).

‘Kalamata’ e ‘Koroneiki’ e ‘Koroneiki’ e ‘Mission’ parecem ser reciprocamente inter-compatíveis, ao contrário do par ‘Frantoio’ e ‘Koroneiki’ que exibem inter-incompatibilidade recíproca. Os autores sublinham que o polinizador dominante não é necessariamente o “vizinho mais próximo”, indicando que a compatibilidade desempenha um papel central no sucesso da polinização.

Como conclusão pode dizer-se que os estudos mais recentes provam de forma irrefutável a existência de uma auto-incompatibilidade dominante na maioria das cultivares de oliveira e também a existência de casos de inter-incompatibilidade. Como referem Pinillos e Cuevas (2009) este facto pode não ser um fator determinante para condicionar a produção em regiões onde a diversidade genética da



espécie é naturalmente elevada, como acontece em toda a bacia mediterrânica, mas, em zonas onde a oliveira não é uma espécie endémica, a instalação de novos olivais monovarietais ou mesmo a falta de cuidado na escolha dos polinizadores, pode levar a grandes problemas de produtividade das plantações.

Alergenicidade do pólen

A alergia pode ser entendida como uma resposta exacerbada do sistema imunitário a substâncias estranhas ao organismo, estando dependente de vários fatores como a natureza e a duração de exposição aos alérgenos.

No pólen de oliveira foram já identificadas cerca de 11 proteínas capazes de induzir reação do sistema imunitário humano e provocar alergias respiratórias (Salamanca et al., 2010). Este facto aliado à característica do ciclo reprodutivo da oliveira que consiste na produção de grandes quantidades de pólen que conjuntamente com a elevada densidade de olival existente nas principais regiões olivícolas, potenciam a ocorrência de doenças respiratórias alérgicas tornando-se um constrangimento importante no quotidiano dos trabalhadores do olival e mesmo dos habitantes destas regiões.

As 12 variedades utilizadas na análise da morfologia polínica foram também analisadas relativamente ao seu potencial alergológico. Para isso procedeu-se à extração

das proteínas solúveis do pólen e sua quantificação segundo um método colorimétrico. Assim, para pesquisa de diferenças na reatividade entre as variedades, foram utilizadas técnicas bioquímicas, nomeadamente SDS-PAGE para análise dos perfis proteicos, e Western-blotting, para análise da alergenidade, usando como anticorpo primário soros doentes sensibilizados ao pólen de oliveira.

Foram verificadas diferenças nos perfis proteicos e alergenidade diferenciada entre o pólen das diversas variedades estudadas (Fig. 8).

Comparando os perfis proteicos das diferentes variedades, verifica-se a presença dos mesmos polipeptídeos mas alguns deles apresentam diferenças de intensidade de coloração das bandas dependendo da variedade. Esta maior intensidade de coloração indica-nos a presença de maior quantidade desse polipeptídeo. Estas diferenças a nível do perfil proteico refletiram-se em variações na reatividade média dos soros de doentes alérgicos aos extratos de pólen.

Entre as diversas variedades analisadas, Conserva de Elvas e Galega apresentaram menor alergenidade enquanto a Verdial de Serpa foi sempre a mais reativa. A menor ou maior reatividade é indicada pela afinidade menor ou maior à imunoglobulina E (IgE), anticorpo responsável pela reação do organismo a alérgenos como as proteínas

do pólen, que é dada pela menor ou maior espessura das bandas marcadas nos immunoblots resultantes do western blot. O pólen das variedades Cobrançosa, Redondil, Verdeal de Trás-os-Montes, Ascolana e Negrinha também apresentaram grande reatividade, dependendo dos soros testados.

Bibliografia

Allen, R.G., Smith, M., Raes, D., Pereira, L.S. (1998) *Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop requirements*. Roma, FAO.

Bartoloni, S., Guerriero, R (1995) *Self-compatibility in several clones of oil olive cv. Leccino*. *Advances Horticultural Science*, 9: 71-74.

Cordeiro, A.M., Martins, P. (2002) Épocas de Floração de Variedades de Oliveira na Região de Elvas. *Melhoramento*, 38 : 205-214

Cordeiro, A. M., Martins, P., Rosa, M. M., Mouro, F., Botelho, R., Ramos, A. (2004) *Incompatibilidade pólen/pistilo em variedades de oliveira (Olea europaea L.)*, *Melhoramento*, 39: 114-121.

Cuevas, J., Diaz-Hermoso, A.J., Galian, D., Hueso, J.J., Pinillos, V. M. P., Sola, D., Polito, V.S. (2001) *Response to cross pollination and choice of pollinisers for the olive cultivars (Olea europaeaL.) ‘Manzanilla de Sevilla’, ‘Hojiblanca’ and ‘Picual’*. *Olivae*, 85: 26-32.

Cuevas, J. (2005) *Incompatibilidad polen-pistilo*, In: *Variedades de olivo em Espanha*, Rallo, L. et al. (Eds), Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Espanha, 301-308.

Cuevas, J., Rapoport, H.F., Rallo, L. (1995) *Relationship among reproductive processes and fruitlet abscission in ‘Arbequina’ olive*. *Advances in Horticultural Science*, 9: 92-96.

Cuevas, J., Polito V. (1997) *Compatibility relationships in ‘Manzanillo’ olive*. *HortScience*, 32:1056-1058.

De la Rosa, R., James, C.M., Tobutt, K.R. (2002) *Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in olive (Olea europaea L.) and their transferability to other genera in the Oleaceae*. *Mol. Ecol. Notes*, 2:265-267.

De la Rosa, R., James, C.R., Tobutt, K.R. (2004) *Using microsatellites for paternity testing in olive progenies*. *HortScience*, 39:351-354.

Diáz, A., Martín, A., Rallo, P., Barranco, D., De la Rosa, R. (2006) *Self-incompatibility of ‘Arbequina’ and ‘Picual’ olive assessed by SSR markers*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 131:250-255

Griggs, W.H., Hartmann, H.T., Bradley, M.V., Iwakiri, B.T., Whisler, J.E. (1975) *Olive pollination in California*. *California Agr. Expt. Sta. Bul.*, 869:1-50.

Guerin, J., Sedgley, M. (2007) *Cross pollination in olive cultivars*. Australian Government - Project Report - RIRDC

Publication No 07/169, RIRDC Project No UA-65A, October 2007, p.51.

Lavee, S., Taryan, J., Levin, J., Haskal, A. (2002). *Importancia de la polinización cruzada en distintas variedades de olivo cultivadas en olivares intensivos de regadio*. *Olivae*, 91:25-36.

Loussert, R., Brousse, G. (1980) *El olivo*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 533p

Moutier, N. (2002) *Self-fertility and inter-compatibilities of sixteen olive varieties*. *Acta Hort*. 586:209-212.

Pinillos, V., Cuevas, J. (2009) *Open-pollination provides sufficient levels of cross-pollen in Spanish monovarietal olive orchards*. *HortScience*, 44: 499-502.

Ribeiro, H., Cunha, M., Abreu, I. (2007) *Definition of the main pollen season using a logistic model*. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14:159-167.

Ribeiro, H., Cunha, M., Abreu, I. (2009) *A bioclimatic model for forecasting olive yield*. *Journal of Agricultural Science*, 147:647-656.

Salamanca, G., Rodríguez, R., Quiralte, J., Moreno, C., Pascual, C.Y., Barber, D. (2010) *Pectin methylesterases of pollen tissue, a major allergen in olive tree*. *FEBS Journal*, 277(13):2729-2739.

Sedgley, M. (1994) *Self-incompatibility in woody horticultural species*, In: E.G. Williams, A.E. Clarke, and B.R. Knowx (eds.). *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, 141-163

Singh, R.P., Kar, P.L. (1980) *Compatibility studies in some olive cultivars*. *Progressive Horticulture*, 12: 9-15.

A OLIVICULTURA BIOLÓGICA
CAROLA MEIERROSE

O cultivo em modo biológico

“A olivicultura biológica é um modo de produção que utiliza os recursos naturais de uma forma sustentável e contribui para a segurança e qualidade alimentar. A agricultura biológica não recorre a organismos geneticamente modificados, a pesticidas, fertilizantes, promotores de crescimento ou hormonas de síntese” (Poças,2003, em Ferreira, 2010).

“Este tipo de agricultura baseia-se no funcionamento do ecossistema agrário e recorre a práticas agrícolas que fomentam o seu equilíbrio e biodiversidade, dando um importante contributo para a redução da degradação e poluição ambiental” (Associação Portuguesa de Agricultura Biológica, em Ferreira, 2010). “A agricultura biológica respeita os ciclos da natureza” (Alcobia, Ribeiro, 2001).

“Os objectivos subjacentes a este tipo de cultura são: (1) preservar o solo e desenvolver a sua fertilidade, (2) melhorar as produções, (3) preservar a fauna auxiliar do olival, (4) obter produtos finais de qualidade superior, (5) valorizar o produto e (6) aumentar o rendimento do olivicultor”.

Em 2008, o Alentejo foi a região do país com maior área de olival biológico (GPP, 2010), situada, predominantemente, na zona entre Serpa e Moura.

Uma importante parte destes olivais, de plantação tradicional, apresenta uma densidade de 100 oliveiras por hectare, e possui em média 26 hectares geridos em uso misto com a silvi-pastorícia. Nalguns dos olivais biológicos pratica-se a rega para aumento da produção.

Ferreira (2010), faz uma análise profunda do rendimento da cultura. Indica como rendimento líquido sem e com subsídio os valores referentes às explorações médias de 26 hectares (Quadro 1).

Deste quadro ressalta que o modo biológico de cultivo é o mais rentável, economicamente, desde que se possa contar com os subsídios actualmente praticados. Um factor importante, que pesa nos rendimentos é a parcial ausência de vias de comercialização por parte dos olivicultores em regime biológico, de produtos de alto valor tais como a azeitona de mesa, o azeite, a pasta de azeitona e demais produtos provenientes do regime de silvi-pastorícia em agricultura biológica . Os mercados internacionais recompensam o esforço investido nestes produtos sobretudo na gama de alimentos *gourmet*.

Os tratamentos fitossanitários são responsáveis por 11-14% dos custos globais (Quadro 2).

O ecossistema

A olivicultura “biológica” pode considerar-se a forma natural e original de condução do olival, desde os tempos em que a oliveira é cultivada na região mediterrânea.

A extraordinária longevidade das oliveiras garante a conservação da biodiversidade nos locais da sua implantação, abrangendo tanto pragas e doenças, os seus antagonistas naturais e,, bem assim, um sem número de participantes “indiferentes”.

Estes organismos “indiferentes” não lesam a oliveira, nem os fitófagos ou seus antagonistas. Pelo contrário,, muitas vezes alimentam elos do ecossistema tais como predadores ou parasitóides polífagos, durante períodos em que as pragas potenciais se encontram em estado de

Quadro 1: Resultados económicos globais, com e sem subsídio (Ferreira, 2010)

	Biológico de sequeiro 12 m x 12 m	Biológico de sequeiro 10 m x 10 m	Biológico com rega 10 m x 10 m	Biológico com rega 7 m x 5 m
Valor Bruto da Produção	14040	23400	45240	93600
Custos Operacionais	13321	17459	32680	57931
Resultados da Actividade	719	5941	12560	35669
Total de Outros Custos	666	696	5321	9074
Rendimento Líquido sem Ajudas	53	5245	7239	26595
Resultados da Actividade com Ajudas	6567	11789	23270	46379
Rendimento Líquido com Ajudas	5901	11093	17949	37305

Nota: Valores apresentados para uma área de 26 hectares.

Quadro 2: Peso das intervenções nos custos associados à cultura (Ferreira, 2010)

Grupo de Operações Culturais	Biológico de sequeiro 12 m x 12 m ou irregular	Biológico de sequeiro 10 m x 10 m	Biológico com rega 10 m x 10 m	Biológico com rega 7 m x 5 m
Preparação do Terreno	11%	12%	7%	4%
Podas	16%	18%	9%	12%
Fertilização (a)	11%	13%	18%	20%
Tratamentos Fitossanitários	14%	11%	12%	11%
Rega	0%	0%	10%	9%
Colheitas	40%	40%	37%	40%
Carga e Transportes	5%	4%	2%	1%
Factores de produção				
Máquinas e Equipamentos	39%	38%	34%	36%
Mão-de-Obra	39%	40%	31%	34%
Consumos Intermediários	22%	22%	35%	31%

Nota: (a) – Não inclui custos com a instalação de enrelvamento, pois esta rubrica está incluída no item «preparação do terreno» por se considerar que para além da disponibilização de azoto, adquire extrema importância ao nível da manutenção e melhoria das características do solo.

dormência, em fases críticas do seu ciclo de desenvolvimento, ou, de outra maneira, inacessíveis aos seus inimigos naturais. Assim, os “indiferentes” garantem a diversidade funcional indirecta do ecossistema. Todos fazem falta e, se possível, não devem ser perturbados com produtos agro-químicos, se possível.

Assim, na zona da olivicultura clássica, cada velha árvore comporta em si não só os potenciais problemas, mas igualmente as soluções destes problemas, que possam surgir de maneira acentuada nos olivais modernos.

A composição da biodiversidade actual na biocenose olival foi estudada em grande pormenor nas principais regiões de implantação da oliveira em Portugal (Torres *et al.*, 2007, Rei, 2006), e também em toda a região mediterrânica. Os resultados constituem uma ferramenta indispensável para a olivicultura biológica moderna, com respeito à protecção fitossanitária.

Torres (2007) reuniu numa lista de pragas, doenças e antagonistas da oliveira, identificados até ao nível de espécie - 23 pragas potenciais entre insectos e ácaros, 18 agentes de doenças fúngicas e bacterianas, 9 vírus patogénicos, 20 espécies de nemátodos e, curiosamente, 6 espécies de infestantes.

Como inimigos naturais de insectos e ácaros, foram identificados, no mesmo sistema, 49 espécies de parasitoides, 32 espécies de predadores mais específicos e 6

espécies de predadores generalistas tais como aranhas e aves. Estes números evidenciam que, em caso de desequilíbrio do complexo ecossistema “olival” não existe uma solução única contra todas as pragas, mas a concertação entre todos estes participantes permite uma produtividade regular da oliveira e a sua extraordinária longevidade.

A oliveira constitui assim abrigo e alimento directo ou indirecto para todas estas espécies e as suas populações.

Os estados fenológicos da oliveira, susceptíveis aos diversos ataques dos seus consumidores parciais, atraem e favorecem – ou não - o sucesso de um dado consumidor de órgãos tais como inflorescências, frutos em formação, folhas jovens, ramos e lenho, ou rizoma. Por outro lado, os factores climáticos, regem o momento de emergência e a dinâmica populacional das potenciais pragas, dos seus antagonistas e, bem assim, das doenças. Cada espécie tem as suas necessidades térmicas, nomeadamente: limiares inferior e superior de temperatura, humidade, resposta ao ciclo luminoso, à intensidade luminosa, resistência ou não à seca. Conforme as condições anuais do microclima, uns são favorecidos e outros não.

Tendo em conta as minúsculas dimensões dos insectos e ácaros e o seu diminuto consumo da matéria vegetal, perante a quantidade de órgãos da planta hospedeira –oliveira-, fica patente que apenas populações de pragas muito densas podem interferir negativamente na

produtividade do seu hospedeiro.

Na presença de populações abundantes de inimigos naturais das potenciais pragas, o sistema regula-se de modo a que, nomeadamente em olivais antigos, não se verificam, em todos os anos, níveis económicos de ataque das pragas potenciais.

Do mesmo modo, em termos percentuais, nenhum dos antagonistas, isoladamente, consegue controlar as principais pragas porque a sua biologia os limita ao parasitismo ou à predação dos ovos. Outras espécies parasitam apenas larvas ou são predadores de ninfas, outras alimentam-se de pupas, e por fim, outras espécies, eventualmente vertebrados, são predadoras de adultos.

As relações tróficas que se estabelecem entre o cortejo dos antagonistas, composto por espécies que partilham entre si o recurso “praga” consoante os diferentes estados de desenvolvimento ovo, larva ou ninfa, pupa e adulto, faz com que se houver necessidade de escolher uma espécie para biofabricação e largada nos olivais modernos, nenhum antagonista seja, *a priori*, candidato único para uma acção. Uma acção concertada, tal como se verifica, predominantemente, nos olivais antigos, constitui um serviço gratuito do ecossistema que convém preservar e fomentar como medida complementar da olivicultura biológica ou integrada. (Hinesman, Torres *et al.*, 2007). Tentar substituir este sistema seria não só muito complicado como in-comportavelmente oneroso.

A Luta Biológica pode, no entanto, eleger inimigos naturais das pragas especializadas em estados iniciais dos fitófagos, tais como ovos e larvas jovens, largando-os em momentos exactos da oviposição da praga visada, assegurando que os olivicultores não usam insecticidas e assim permitir a invasão gratuita do olival pelas outras espécies auxiliares naturais.

Estes conhecimentos detalhados e muito exactos relacionados por Torres *et al.* (2007), constituem uma excelente ferramenta para a planificação eficaz e a prática da protecção biológica do olival moderno, em que a densidade das oliveiras pode atingir até 1500 plantas por hectare.

Alguns antagonistas das potenciais pragas principais

As tabelas 1 e 2 exemplificam quantos elementos compõem a biocenose directamente ligada ao hospedeiro oliveira, mostrando a riqueza deste serviço gratuito do ecossistema. Os dados são oriundos da obra de Torres, 2007, e da versão Wikipedia em Inglês, em que se encontram preciosas informações complementares sobre a bioecologia, taxas de eficácia de certos inimigos naturais, e muitas

outras informações imprescindíveis a uma profunda compreensão do sistema oliveira em contexto natural.

Tabela 1 resume os antagonistas da mosca da oliveira, enquanto a tabela 2 se debruça sobre o complexo dos inimigos naturais da traça da oliveira. Em Torres, encontram-se os dados necessários para elaborar mais tabelas do complexo dos antagonistas das demais pragas potenciais do olival.

A Modernização do olival

É ponto assente que soluções de protecção puramente química criam novas pragas (pelos desequilíbrios entre fitófagos e os seus antagonistas provocados pelos produtos) e, no pior dos casos, as principais pragas tornam-se resistentes aos pesticidas. A curto prazo, ter-se-á de recorrer a largadas de auxiliares, investimento oneroso porque não basta uma espécie chave, como veremos nas tabelas dos auxiliares – ou inimigos naturais

Se, nos olivais antigos, a situação fitossanitária se encontra, em princípio, favorável a um equilíbrio flutuante relativamente, pois não faltam conhecimentos pormenorizados relativos aos equilíbrios ecológicos e à sua manutenção em condições tradicionais, a situação apresenta-se bem diferente na zona de expansão da olivicultura moderna.

Neste modo de condução, alteram-se, de súbito, muitos dos principais parâmetros da cultura: aumenta-se a superfície de cultivo muito além dos 26 hectares em média verificados nos olivais tradicionais. Passa-se de uma densidade de 82 ou 100 árvores por hectare a 150 ou mesmo 1500 árvores por hectare, não deixando oliveiras centenários nos arredores. Recorre-se a material genético (outras variedades de oliveira) oriundo de outras regiões geográficas. Introduce-se a rega como factor de cultivo intenso, alterando assim, de vez, o micro-clima da cultura, criando-se condições extremamente favoráveis para certos organismos consumidores, potenciais pragas do olival.

Árvores jovens estão, no momento de transplante, isentas tanto de pragas potenciais, como dos seus inimigos naturais. Os primeiros colonizadores, têm um grande avanço sobre as populações inimigas dos fitófagos. Se, na margem dos arvoredos, ainda se existe uma biodiversidade aceitável, no interior destes olivais instalam-se primeiro as pragas que encontram uma situação muito favorável ao seu desenvolvimento.

Se no olival tradicional o serviço do ecossistema é gratuito e conta com centenas de anos de co-evolução nos locais da sua implantação, no olival moderno, este ecossistema está profundamente alterado e desequilibrado, o que

impõe actividades de protecção fitossanitária onerosas, quer seja em modo de produção integrada, quer seja em modo biológico.

Nos novos olivais, coloca-se, de maneira aguda, o problema da protecção fitossanitária. Favorável seria a existência de algumas das oliveiras centenárias na proximidade das novas plantações, porque são “biofábricas naturais e gratuitas” dos auxiliares com que a evolução presentiu a olivicultura.

Quadro 3 – Antagonistas da mosca da oliveira

Hospedeiro	Parasitóides	Hyper-parasitóides	Predadores
<i>Bactrocera (Daculus) oleae</i> Gmelin (Diptera, Tephritidae)	Generalistas Em larvas		de ovos Generalistas, de adultos Predadores ocasionais (de larvas, pupas, adultos)
	<i>Opius concolor</i> (Ichneum., Bracon.) Endoparasitóide		<i>Lasioptera berlesiana</i> Paoli (Dipt. Cecidom.) (até 30%) Araneidae (adultos)
	<i>Pnigálio agraulis</i> Walker (Hym., Chalcid.) Ectoparasitóide		<i>Chrysoperla carnea</i> , Neuropt. <i>Carabidae</i> , <i>Coleoptera</i>
	<i>Eupelmus martellii</i> Masi (Hym. Chalcidoidea) Ectoparasitóide	<i>Eupelmus urozonus</i>	<i>Staphylinidae</i> , <i>Coleoptera</i> Ovelhas consumidoras de azeitonas atacadas e caídas ao solo (larvas, pupas)
	<i>Eurytoma martellii</i> Domenichini, (Hymenoptera, Chalcidoidea) Ectoparasitóide	<i>Eupelmus urozonus</i>	<i>Forficulidae</i> (bicho-cadela) Aves consumidoras de azeitonas atacadas (larvas, pupas)
	<i>Cyrtoptyx latipes</i> Rondani (Hym., Chalcidoidea), Ectoparasitóide		<i>Formicidae</i> (formigas) Pequenos Mamíferos (larvas, pupas)

Fontes: L. Torres, 2007; Wikipedia Olive Fruit Fly, em Inglês, consult. Julho 2012, ACTA

Para além dos insectos e demais animais mencionados usou-se *Bacillus thuringiensis*, mas com pouco sucesso devido à biologia críptica desta praga.

Quadro 4 – Antagonistas da traça da oliveira *Prays oleae* (Bernard)

Hospedeiro	Parasitóides	Predadores
<i>Prays oleae</i> (Bernard) 3 gerações sobre a oliveira	Específico Polífago	de ovos de lagartas Predadores ocasionais (de larvas, pupas, adultos)
	Encirtídeo <i>A. fuscicollis</i> 30-76%, 80% eficácia nalgumas situações, larvas e pupas	Crisopídeos <i>Chrysoperla carnea</i> 80-90% de ovos Crisopídeos <i>Chrysoperla carnea</i>
	Calcídídeos	<i>Dichochrysa flavifrons</i> (Brauer) <i>Dichochrysa flavifrons</i> (Brauer)
	Trichogrammatídeos 40% de mortalidade dos ovos	Eulofídeos <i>P. agraulis</i> , 20% ou menos Eulofídeos <i>E. flabellatus</i> Ectoparasita, e hiperparasitóide de outros auxiliares
		Antocorídeos <i>A. nemoralis</i> Antocorídeos <i>A. nemoralis</i>
		Ichneumonídeos <i>Diagegma armillatum</i> (Gravenhorst) 0,1-2,9% eficácia Vespídeos
		Sirfídeos <i>X. comptus</i> (+ de 100 lagartas/ indivíduo)
	Braconídeo <i>C. elaeophilus</i> (47% nalgumas situações) postura nos ovos do hospedeiro	Braconídeo <i>A. xanthostigma</i> Postura nas lagartas jovens do hospedeiro (30% eficácia) Sirfídeos <i>Phytomyptera nitidiventris</i> Rondani
		Acarídídeos Ácaros Aranhas <i>Salticus</i> sp.
		Coccinélídeos <i>Scymnus (pullus) suturalis</i> Thunberg Aranhas <i>Philodromus</i> sp.
		Formigas <i>Tapinoma nigerrimum</i> (Nylander) Aranhas <i>Icius hamatus</i> (C.L.Koch)

Bibliografia

- L. Torres, 2007, *Manual de Protecção Integrada do Olival*, Viseu, João Azevedo, Ed., 433pp. ISBN 978-972-9001-92-5
- F. Rei, 2006, *A artropodofauna associada ao olival no âmbito da protecção da cultura contra pragas*. Tese de Doutoramento, 297 pp. Universidade de Évora
- Poças, E. M. (2003). *As Medidas Agro-Ambientais e o Olival: O Caso Particular do Olival Biológico*. Lisboa: Trabalho de Fim de Curso ISA, Lisboa. In Ferreira, D.J.B., 2010 - *O olival em modo de produção biológico: Custos e Rentabilidade na região de Moura, Alentejo*, Tese de Mestrado, 95pp, Lisboa
- Ferreira, D.J.B., 2010 - *O olival em modo de produção biológico: Custos e Rentabilidade na região de Moura, Alentejo*, Tese de Mestrado, 95pp, Lisboa
- Alcobia, M. D. & Ribeiro, J. R. 2001. Manual do olival em agricultura biológica. Terra Sã. Alijó, I II pp.
- Ciberreferências
Consultadas em Julho 2012
1. http://www.ehow.com/how_4523425_care-olive-trees.html.
 2. <http://sbrtv3.ibict.br/resposta-tecnica/downloadsRT/MjEyMTg=>
 3. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:189:0001:0023:PT:PDF>
 4. http://en.wikipedia.org/wiki/Olive_fruit_fly



4

MELHORAMENTO
EM OLIVICULTURA



DO MELHORAMENTO TRADICIONAL À SELECÇÃO CLONAL EM PORTUGAL.

HANS JÖRG BÖHM

A escola de árvores fruteiras

Com o reconhecimento de variabilidade dentro da mesma espécie de árvores fruteiras, o homem sedentário do neolítico foi seleccionando as que apresentavam maior valor alimentar. Face à grande variabilidade entre as diferentes plantas, começou a experimentar técnicas de propagação vegetativa que lhe permitissem manter o genótipo. Tal aconteceu com muitas espécies, nomeadamente com a *Olea europaea* var. *silvestris* até obter as cultivares consideradas “*O. sativa*”. Na antiguidade, esta técnica estava aperfeiçoada como se reconhece, ainda hoje, com a existência de árvores milenárias. Dos países de marinheiros tais como dos Fenícios e especialmente dos Gregos, genótipos produtivos e com boa qualidade de azeite migraram, em várias ondas, do Este do mediterrâneo em direcção ao Oeste atingindo a Península ibérica. As técnicas de propagação deste tempo eram adequadas ao transporte e encontram-se descritas no capítulo sobre propagação.

O melhoramento cultural de *Olea europaea* por selecção

O homem moderno reconheceu a instabilidade entre indivíduos da mesma variedade, resultante de causas várias e começou a eliminar indivíduos com base em critérios de decadência na plantação em novos olivais (selecção eliminatória). Mais tarde, começaram a multiplicar apenas genótipos que apresentassem a melhor expressão das características fenotípicas desejadas (selecção massal).

A experiência adquirida com a espécie *Vitis vinifera* nos finais do século XIX, permitiu aperfeiçoar a técnica da selecção da *Olea europaea*. Em lugar de multiplicar material vegetativo de todos as plantas identificadas e marcadas, foram sistematicamente estudadas as características do produto final de plantas individuais no local da sua plantação e definidos alguns, poucos, indivíduos que foram consideradas cabeça de clone. Após estudos de adaptação em diferentes situações edafo-climáticas, foram definidos clones distintos adequados a diferentes objectivos e localidades para futura implantação.

Após a grave decadência e o abandono de olivais portuguesas, no último século, face à concorrência de óleos

alimentares provenientes de outras oleaginosas, nomeadamente os vindos do ultramar (dendém, amendoim ...) desenvolveu-se, nos últimos anos, uma consciência de saúde (alto teor em ácidos gordos insaturados) e ambiental, à qual se associou o sucesso dos azeites italianos (Óleo Sasso, Óleo Dante e azeite de alta qualidade e caro de pequenos agricultores). Tal levou a que se tenha desenvolvido, mundialmente, uma nova tendência a favor do azeite da oliveira.

A cultura da variedade de oliveira nanicante *Arborequina* na Andaluzia, Espanha, face à condição do seu de *Terroir* favorável (elevada capacidade de retenção de água no solo) e na Catalunha, praticando uma cultura regada, superintensiva, comprovaram a rentabilidade sustentável destas culturas. Nos anos 80, o governo português reconheceu a necessidade de melhorar os olivais existentes. Nesse tempo, mais de 50% do azeite consumido era importado. Para simplificar e possibilitar novas plantações em larga escala, foram desenvolvidas novas técnicas de propagação (*mist-propagation*) por Paiva Caldeira (anos 80) que se deparou com o problema da qualidade do material vegetativo. A técnica da selecção clonal, conhecida pelo seu grande sucesso na viticultura pois levou à recuperação de variedades com alto valor enológico que, antes da selecção, eram praticamente improdutivas (Touriga Nacional, Cercial, Encruzado...) foi adoptada tendo em vista a produção sustentável de azeite de qualidade.

No passado, as espécies de fruticultura eram melhoradas por selecção com base nas suas melhores características. Uma vez seleccionadas muitas são utilizadas ainda hoje. A plantação homogénea com plantas apresentando as mesmas características fenotípicas, foi possível através da propagação vegetativa. Mas nos séculos passados, por razões várias, apareceram, na descendência, novos genótipos ligeiramente alterados, na sua maioria em desfavor das características desejadas.

A falta de homogeneidade intra-varietal, ao longo do tempo, pode resultar de:

Infecção sistémica natural por microrganismos patogénicos ou transmissão mecânica na propagação.

Envelhecimento ontogénico da planta artificialmente prolongado com a propagação vegetativa repetida. Na fase final considerada como de senilidade, a população de uma variedade pode perder a sua estabilidade e homogeneidade na expressão das características observadas.

Mutações somáticas ocorridas, regularmente, nas diferentes fases de replicação celular (mitose), com consequentes alterações nas características das plantas e no produto final (produtividade, álcool, acidez, entre outras).

Macro mutações espontâneas (*sports*) são raras e, normalmente, são eliminados com a selecção (Becker, 1982).

TÉCNICAS DE MELHORAMENTO PARA ELIMINAÇÃO DE FENÓMENOS DE DEGRADAÇÃO

Selecção sanitária da Oliveira

Na tentativa de obter material clonal de oliveiras, Portugal, desde início, considerou indispensável a diagnóstico de infecções por microrganismos patogénicos sistémicos e transmissíveis como critério de eliminação na multiplicação.

- **Bactérias:** a tuberculose da oliveira, *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*,
- **Fungus:** *Verticillium dahliae* Klebahn, e as doenças radiculares: *Rosellinia negatrix* Pillieux, *Armillaria mellea* (Vahl:Fr)
- **Fitoplasma** da Oliveira.
- **Vírus:** Foram detectadas, em Portugal, doenças causadas por vírus, alguns apresentando sintomas evidentes. M. Ivonne Clara (2007) refere a presença de 15 diferentes viroses na Oliveira. São eles: *Nepovirus:* Arabismosaic (ArMV), Cherry leaf roll virus (CLRSV), Strawberry latent ringspot virus (SLRSV), Olive latent ringspot virus (OLRSV), *Cumcumovirus:* Vírus do Mosaico das Cucurbitáceas (CMV), *Oleavirus:* Olive latent vírus (OLV-2), Necrovirus: Olive latent (OLV-1), Vírus da Necrose do tabaco (TNV-D) Tobamovirus: Vírus do Mosaico do tabaco (TMV) Potexvirus: Olivevein yellowing-associated virus (OVYaV) Closterovirus: Olive yellow mottling and decline-associated (OLYMDaV) Não classificados: Olive latent (OLV-3), Olive mild mosaic (OMMV), Olive semi latent (OSLV)

Sintomas da infecção por vírus:

Na oliveira, M. Ivonne Clara (2007:318) referindo Martelli (1998, 1999) : identificou os seguintes sintomas: Paralisia parcial, deformação foliar, folha fauciforme, amarelo infeccioso, Spherosis (Olive micro spheroblasts).

M. Ivonne Clara e Serrano (1995) comprovaram uma forte redução da capacidade de enraizamento de estacas semi-lenhosas de Oliveira em casos da infecção por vírus. No caso da variedade Galega vulgar a infecção por vírus é responsável pelo fracasso no enraizamento de estacas semi-lenhosas.

Técnicas de detecção: Dentre as técnicas utilizadas na detecção de vírus citam-se:

O teste Elisa (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), transmissão mecânica em indicador, dsRNA (RNA de dupla hélice), RT-PCR (*Reverse-Transcription Polimerase Chain Reaction*)

O envelhecimento ontogénico

Segundo Becker (1982) o envelhecimento ontogénico provoca uma diferenciação das castas em culturas estáveis e culturas instáveis. Os clones mais velhos podem ser objecto de “selecção *diplontica*” visto que, na mesma planta se encontram diferentes tipos de tecidos (quimeras somáticas). Os tecidos “dominantes” dominam os menos fortes e causam a eliminação somática destes (Becker, 1982). Para manter um clone de uma espécie de fruticultura homogéneo e estável, os materiais de multiplicação devem ser reinstalados *de novo*, regularmente, originando, assim, sub-clones novos (Becker 1982). Uma outra técnica para obtenção de clones estáveis e homogéneos é utilizada no novo mundo vitícola e na fruticultura. A cultura *in vitro* de plantas (Fevereiro, 1977) de clones importantes pode servir para produzir gerar clones rejuvenescidos de plantas com interesse económico (Fevereiro, 1977). Esta técnica serve, ao mesmo tempo, para eliminar eventuais re-infecções com micróbios patogénicos sistémicos.

Micro - mutações espontâneas.

As variedades de oliveira, mesmo em estado jovem e considerado estatisticamente estável, sofrem, com a mitose, um certo número de mutações somáticas. Na sua maioria, estas mutações são suprimidas pelo tecido original. Outras permanecem e são responsáveis pela “variabilidade intra-varietal” (Martins, 2007). Para diferenciar entre a variação fenotípica (reversível) causada pela influência ambiental, e a micro-mutação no genótipo (estável) foram realizadas plantações experimentais englobando um grande número de cultivares de oliveira, estruturadas em conformidade com as regras estatísticas que servem como base de uma futura selecção clonal em conformidade com o potencial económico da variedade.

A SELECÇÃO CLONAL EM *OLEA EUROPAEA*

Cappelletti (1998) refere que esta cultura, historicamente implantada em áreas difíceis como bordaduras ou zonas de valor agrícola marginal, apresenta uma forte retro orientação. A inovação tecnológica orientada para a cultura sustentável, provocou divisão entre dois tipos de olivicultores - tradicional, e com filosofia comercial-, pelo que esta espécie não foi ainda muito afectada por programas de melhoramento genético. Alguns programas de melhoramento por selecção clonal deram origem a variedades com importância económica. Mas, o melhoramento tem limitado interesse quando se trata de selecção intravarietal. Cappelletti(1998) apresenta um catálogo exaustivo dos objectivos do melhoramento da oliveira e refere estratégias, seguidas internacionalmente, na maioria orientadas para a obtenção de características genéticas desejadas por cruzamentos controlados.

A prática da selecção clonal pode ser diferenciada de acordo com o seu objectivo. Para obter rapidamente material de propagação em condições favoráveis para o sector produtivo empresarial, serve seleccionar plantas com características favoráveis mantidas durante uma certa fase. Para servir este sistema, a comunidade Europaea optou pela certificação (e também pela norma CAC, aplicada em Portugal) do material de propagação da oliveira. O objectivo era pragmático e orientado para a competitividade nos mercados e para uma rápida resposta por parte do material de propagação.

Rosati/ Itália (2008) refere a riqueza genética da oliveira, com a existência de 2600 variedades e um ainda maior número de sinonímias. Assim considera que o objectivo da selecção clonal, em combinação com a selecção sanitária, permite fixar o genótipo e obter material conforme com o original - “trueness to type” -. Para aumentar a biodiversidade este autor sugere a utilização de técnicas de cruzamentos controlados tendo em vista objectivos específicos.

Rallo/ Espanha (2005) considera a selecção clonal um procedimento tradicional para melhoramento genético da oliveira. Segundo Rallo plantas com melhoramento genético e sanitário em comparação com o conjunto varietal é objectivo principal da selecção, no sentido de optimizar o material de propagação. Este autor considera correctos os programas de selecção realizados na Catalunha (Arbequina), na Andaluzia (Mancanilla de Sevilla) e no Val de Ebro (Empeltre) visto que foram baseados numa metodologia sistemática.

Um exemplo de resultado obtido em Espanha para os diferentes critérios de selecção:

- Aptidão para o enraizamento: Clone M-44 Mancanila d.S. apresenta 62,5%, - a média 19,5%
- Produção de azeitona (Kgs/planta): Clone M-44 Mancanila d.S. apresenta 78,6%, - a média 53,1%
- Peso do fruta (gs): Clone M-44 Mancanila d.S. não apresenta diferenças

A prospecção das características desta variedade foi realizada nas diferentes localidades DOP (Denominação de Origem Protegida), (19 municípios e 7 comarcas), englobando um total de 109 cultivares distintas. Em Mas Bové foram multiplicados 15 diferentes clones, observado a regularidade da produção e o volume da azeitona, tendo estas analisadas tendo em vista a avaliação da produtividade, quantidade e composição em ácidos gordos, homogeneidade, estabilidade e características sensoriais do azeite.

O Instituto da Oliveira em Sfax (Tunísia). A problemática da olivicultura na Tunísia não é comparável com qualquer outra, devido à reduzida densidade de plantação (17 plantas/ha) e em condições de extrema secura sem utilização de rega. Apesar estas condições tão distintas foram também desenvolvidas técnicas de avaliação de dados técnicos em plantas individuais com resultados visando a distinção de “clones”.

Em Portugal foi iniciada experimentação sistemática com vista ao melhoramento da oliveira, mas não resultou em certificação. Os estudos efectuados dizem respeito a genética quantitativa e os ensaios foram realizados com o objectivo primário de eliminar, ao máximo, o efeito ambiental no fenótipo da planta. A. Martins (1997) assinalou várias fragilidades no sistema da certificação comunitária.

A base da selecção deve corresponder à existência real de sub populações de diferentes genótipos, diferenciados, naturalmente, nas diferentes regiões com presença tradicional da variedade. Devem ser seleccionadas cultivares em conformidade com a sua densidade na zona respectiva.

Para conhecer as características genotípicas de um clone deve ser eliminado o efeito ambiental no fenótipo da cultivar. Para tal, foi desenvolvido e utilizado um novo método de avaliação de matemática quantitativa que pressupõe, a recolha dos dados, a sua análise e a validade estatística do ensaio.

Não é considerado correcto multiplicar clones individuais, antes de conhecer o comportamento dos clones nas diferentes situações edafo-climáticos do País. A. Martins recomenda a utilização policlonal, após uma segunda fase de selecção e limitação do volume a 10% da selecção inicial.

A discriminação generalizada de micróbios sistémicos na selecção sem conhecer a sua patogenicidade para o clone em questão, limita excessivamente o espectro genético. Por isso Martins é a favor da utilização de um conjunto policlonal, incluindo clones de plantas pré-imunizadas (infectadas com virus inactivos) se estes estiverem conformes com os critérios estatísticos da selecção.

Segundo Fausto Leitão, “ o projecto PAMAF IED nº 2009 (início anos 90) - Valorização das cultivares de Olea europaea L. ‘Negrinha de Freixo’ (denominação de origem) e ‘Santulhana’ em Trás-os-Montes reuniu uma equipa multidisciplinar e interinstitucional” com objectivo de melhorar a “qualidade dos produtos tradicionais e o estabelecimento de novos olivais”. Neste sentido, a obtenção de clones mais produtivos e isentos de virus, resultantes da selecção... Por outro lado o material vegetativo a obter poderá, posteriormente, estar disponível para ser certificado e entregue à actividade viveirista”.

O melhoramento tradicional da Oliveira em Portugal

Em meados dos anos 90, do sec.xx, na então estação de Olivicultura em Elvas, Luis Santos, após os resultados menos favoráveis do primeiro programa de dinamização do olival nacional com base na multiplicação da variedade Blanqueta, optou pela variedade tradicional do país: a Galega vulgar. A selecção de genótipos de Galega, em praticamente todo o País, resultou numa primeira plantação na quinta do Leão no Alentejo. A plantação foi orientada por Antero Martins (1997), tendo em vista os seguintes objectivos:

- Avaliação da variabilidade genética das sub - populações regionais com vista à obtenção de melhorias genéticas.
- Estudo da presença de virus e do seu efeito nas características analisadas, para relacionar a importância da sanidade com a genética.
- Utilização das seguintes características de selecção: capacidade de enraizamento, produtividade, estabilidade da produção, redução do desprendimento da fruta (Galega); obtenção de colheitas com bom rendimento e com elevado teor de ácidos gordos e grande estabilidade à oxidação.

Para avaliar o efeito ambiental numa selecção exclusivamente fenotípica foi realizada uma plantação experimental em grande escala, com base numa larga prospecção de plantas mães nas diferentes regiões como segue: no caso da Galega vulgar foi avaliado um total de 128 genótipos (25 na Beira Litoral, 46 no Ribatejo, 57 no Alentejo),

com 5 repetições e 2 plantas instaladas por genótipo.

Na valoração da genética A. Martins refere a seguinte formula:

$$R = \sigma \cdot I \cdot h^2$$

R = vantagem genética,
σ = desvio típico do fenótipo
i = intensidade da selecção
h² = hereditabilidade

Por falta de apoios ao agricultor instalador desta plantação não havia rega suficiente e a plantação não permitiu a obtenção de dados adequados para uma análise matemática. A variedade Galega apresenta recalcitrância ao enraizamento (índice médio de enraizamento: 14,1 %). Na propagação dos diferentes genótipos verificou-se uma grande variabilidade na capacidade de desenvolver raízes adventícias (drasticamente condicionada pela presença de virus (Ivone Clara, 2007). A capacidade elevada de enraizamento de alguns clones da Galega vulgar obtidos, inicialmente, na propagação efectuada em Elvas, parece depender ainda de outros factores. A propagação em larga escala (Viveiros PLANSEL) dos 10 clones de maior pegamento não surtiu o mesmo efeito.

A. Martins acompanhou um outro ensaio clonal das castas Cobrançosa e Madural (colaboração Elvas/Mirandela). Enquanto o ensaio de Madural falhou devido a dificuldades na propagação vegetativa por enraizamento directo, a Cobrançosa apresentou um índice de enraizamento de 36,4%. Foram seleccionados 104 clones da variedade Cobrançosa em 9 diferentes conselhos (das quais 50% em Macedo de Cavaleiro e Mirandela) e multiplicados em Mirandela. A plantação foi efectuada realizou-se em 1996. Estes clones foram avaliados estatisticamente por A. Martins de acordo com os seguintes critérios: teor em ácidos gordos e produtividade estável e elevada nos anos 1999 a 2003. O material policlonal desta plantação foi fornecido a multiplicadores. A PLANSEL escolheu, com o apoio de A. Martins, os 10 melhores clones que se encontram plantados em Montemor.

Até agora não foi possível a certificação oficial em Portugal para qualquer das variedades.

ACTIVIDADES DE I&D PARA ENRAIZAMENTO DIRETO DA GALEGA VULGAR

A variedade Galega vulgar representa, de longe, a maior superfície oleícola em Portugal. Esta variedade produz azeite de elevada qualidade. Historicamente,

a multiplicação utilizando a zambujeira (*Olea silvestris*) como porta-enxerto resulta bem. Esta técnica, porém, perdeu a sua validade quando estão em causa programas de reestruturação em grande escala, com exigências de períodos de tempo para implementação muito curtos e de custos por instalação muito abaixo dos possíveis usando esta técnica tradicional. Na Galega a propagação directa por escacaria semi lenhosa (tipo *mist-propagation*) não é aplicável, pelo que, a reestruturação do olival quase não considerou a manutenção desta variedade autóctone.

Foram os seguintes os projectos desenvolvidos no sentido de proporcionar a manutenção do olival de Galega para produção industrial:

1998/2001 projecto “Progalega” Agência de inovação (Adi - IC-PME) Estratégias para propagação da variedade de “Galega”. Parceiros do projecto: consultor- Ruggini (Viterbo - Italia); participantes - ex-Estação de melhoramento nacional (olivicultura Elvas), Universidade de Évora, Viveiros PLANSEL.

2004 - AGRO 683 - Desenvolvimento integrado de estratégias de reabilitação da cv. Galega vulgar como cultivar de charneira no património oleícola nacional. Parceiros do projecto: Universidade de Évora, Escola Superior Agrária de Santarém, Instituto Superior de Agronomia, Instituto



Fig.1 - Plântulas obtidas por micropropagação de genótipos da cv Galega. (foto Plansel)

do Ambiente e Vida, Associação Agricultores do Ribatejo. Direcção Regional Agricultura Ribatejo-Oeste (DRARO); Estação Nacional de Melhoramento de Plantas - Elvas, Viveiros PLANSEL e Lacrome.

A propagação por enraizamento directo melhorou significativamente com o aperfeiçoamento da técnica. O controlo de factores como o tempo de permanência na estufa, temperatura na câmara de cultura, estado fisiológico da planta a estabelecer em cultura, qualidade sanitária do material vegetativo utilizado permitem uma multiplicação *in vitro* adequada. Mas o problema de insucesso total em alguns programas de enraizamento, certamente relacionados com o genótipo, limita o interesse do viveirista para se dedicar a esta cultura em grande escala. Os viveiros PLANSEL, com o apoio da Universidade de Évora, optaram pela micropropagação clonal. Foi instalada uma estação de micropropagação, utilizando material oriundo de clones da (Fig.1) selecção sanitária da cv. Galega, dos quais existem já resultados positivos (Fig.1).

Com a revolução a favor das plantações regadas intensivas e super-intensivas e a entrada em Portugal, em força, de empresas olivícolas espanholas, nas grandes superfícies do Alentejo, na última década, o paradigma a favor do melhoramento das variedades autóctones mudou completamente. Com a importação de castas de plantas nanicantes (Abequina, Koroneiki, Chiquitita...) e das castas espanholas Picual e Hojiblanca para reestruturação do olival português de acordo com sistemas muito bem organizados do vizinho espanhol, o interesse nas variedades autóctones foi marginalizado. Assim o melhoramento por selecção clonal das variedades portuguesas perdeu, nas duas últimas décadas, o interesse por parte dos profissionais da olivicultura.

A variedade Cobrançosa tem condições para ser certificada. Apesar das dificuldades descritas, a variedade Galega continua a apresentar um certo interesse embora de forma limitada. A micropropagação clonal desta variedade apresenta alguma viabilidade no caso da selecção de clones com produção elevada e homogénea. A preocupação com a originalidade regional das variedades autóctones, pela sua reduzida dimensão, não tem justificado o desenvolvimento de dispendiosos e morosos programas de selecção clonal, com riscos para a perda e a utilização de genótipos com características de elevado valor acrescentado.

Referencias bibliográficas

- Becker Helmut, (1982), *Mutation und Klonenzüchtung im Weinbau*, in Deutsches Weinbau Jahrbuch, Waldkirchner Verlagsgesellschaft p. 15 - 32
- Fevereiro Pedro et al., (1997), *Cultivo in vitro de variedades portuguesas da Olea europaea L. Objectivos e resultados*, Olivae nº 66 p. 54-55
- Fontanazzo Guisepppe et al., (1998), *Aspectos genéticos e técnicas de propagação para cultivo intensivo*. In *Enciclopédia mundial da Oliveira*, Conselho oleícola internacional, Plaza & Janés Editores Barcelona, p.111-134
- Clara Maria Ivone et al (2007), *Os Virus*, in Manual de protecção integrada do Olival, João Azevedo Editor, Viseu p.318-340.
- Leitão F., Serrano J. M.. et al (1996) *Estudios de selección clonal del Olivo cv. Negrinha, en la provincia de Trás os Montes*. Olivae, no 62: 38-45
- Leitão F, Serrano J.M. et al, (1997), *Selección clonal y sanitaria de 10 cultivares de Olea europaea L. en el sur de Portugal*, Olivae, no 66: 51-53
- Martelli, Giovanni P. (1998) *Enfermedades infecciosas y certificación del olivo: Panorama general*. Phytoma, 102: 180-186
- Martins Antero et al. (1997) *Selección de las variedades antiguas de olivo Galega y Cobrançosa*, Olivae, ciência y técnica, Madrid, nº 66 Abril.
- Martins Antero (2007), *Variabilidade genética intravarietal das castas*. In Portugal vitícola, o grande livro das castas, Chaves Ferreira p.53
- Mohsen Khelif,(2008) *Observations preliminaires a une selection clonale de la varieté d'olivier Chamlali* (Olea europaea) revista nacional Tunisia ano p. 71 - 75
- Rallo Luis, (Plana J., Ordoval J.), 2004, *Selección clonal en Variedades*, in *Variedades de Olivo en España*, mundi prensa, Madrid: 397-404
- Rosati A.et al, (2008), *Genetic improvement of olive from clonal selection to cross-breeding programs*, Adv. Horticultural science, 22(2): 73-86

MELHORAMENTO POR HIBRIDAÇÃO

ANTÓNIO CORDEIRO

No melhoramento genético por cruzamento a planta é regenerada a partir da semente. A variabilidade na descendência é previsível atendendo a que a oliveira é uma espécie vegetal heterozigótica e alopoliplóide (COUTINHO, 1956). Na descendência sexuada de cultivares de oliveira, diversos autores (COUTINHO, 1956; BELLINI, 1993; LAVEE, 1990; NATIVIDADE, 1968; SANTOS-ANTUNES et al., 1997) verificaram a existência de acentuado polimorfismo durante a fase juvenil e que a descendência F₁ é de grande importância no processo de selecção. Fiorino (2004), além de confirmar essa variabilidade, considera ainda que a oliveira é uma espécie onde existiu uma reduzida selecção.

A semente encontra-se no interior do fruto, a azeitona e está constituída pelo embrião, os órgãos de reserva e os tecidos de protecção. O embrião resulta da união entre gâmetas femininos e masculinos, durante o processo de fecundação. Os cotilédones são os órgãos de reserva da futura plântula e onde também se encontram os fito reguladores endógenos. Os tecidos de protecção são formados pelo tegumento e pelo endocarpo. O endocarpo ou caroço inicia o seu desenvolvimento a partir da fecundação e aumenta de tamanho nos dois meses seguintes. Na fase final deste crescimento, o embrião e o endocarpo alcançam o seu tamanho máximo e ocorre o endurecimento (esclerificação) do endocarpo. Este procedimento além de facilitar a dispersão e o armazenamento das sementes, controla a germinação (Rapoport, 2001)

A implementação de um programa de melhoramento por cruzamento exige que se definam objetivos e estratégias. Nas últimas décadas, diversos programas de melhoramento foram iniciados: na China (Anno, 1980, segundo Lavee, 1999), em Espanha (León et al., 1998; Rallo et al., 1998; Santos-Antunes et al., 1997), em Israel (Lavee, 1990, 1994), em Itália (Bellini, 1990, 1993; Fontanazza e Baldoni, 1990), na Tunísia (Msallen, 1995), na Turquia (Çirik, 1994) ou em Portugal (Cordeiro et al., 2003). Nos programas em curso os objetivos são diversos, destacam-se por procurar obter novas cultivares de oliveira resistentes ao frio (Anno, 1980, segundo Lavee, 1999), cultivares para conserva (Bellini, 1993; Msallen, 1995), cultivares produtivas e adaptadas aos sistemas intensivos, resistentes à seca e ao olho de pavão (Lavee, 1994), cultivares produtivas e

adaptadas a sistemas super intensivos (Rallo, 1995), cultivares produtivas e regulares, com maior rendimento em gordura e composição em ácidos gordos similar ao progenitor feminino e tolerantes à gafa (Cordeiro et al. 2003).

Os diferentes programas de melhoramento por cruzamento tem por objetivo obter plantas com características bastante precisas e com uma elevada e constante produtividade, otimizados com o ambiente. Através do cruzamento intervartietal ou interespecífico procura-se acumular numa só entidade as características desejadas de cada um dos progenitores (Fiorino, 2004).

Seleção de progenitores

A implementação de um programa de melhoramento exige a idealização de um modelo de planta a obter. Trata-se, como referiram Fiorino e Fettini (1995), de conceber a planta ideal nos diferentes aspetos: produtivo, morfológico, fisiológico, de adaptabilidade ao ambiente, capaz de proporcionar um produto em quantidade e em qualidade adequada ao seu destino – azeite ou azeitona de mesa – resistente às pragas e doenças e aos estresses bióticos e abióticos mais comuns.

A seleção dos progenitores tem sido realizada com base no conhecimento agronómico, sanitário e tecnológico através de avaliações em coleção e/ou em ensaios comparativos e/ou em condições controladas. Os resultados obtidos confirmam a grande variabilidade intervartietal existente e para todas as características estudadas (Caballero et al., 1990; Cimato, 1997). Em Portugal a informação disponível acerca das cultivares de oliveira autóctones é ainda escassa e incompleta (ver capítulo 5.2 – Cultivares de oliveira – identificação e características principais). Na atualidade existem coleções em Elvas (Herde do Reguengo, INIAV) e em Mirandela (Quinta do Valongo, DRAPN), que incluem cultivares autóctones e estrangeiras.

A maioria dos programas tem optado por utilizar a variabilidade que nos foi legada no processo histórico de seleção. Na Tunísia escolheram como progenitores, as cultivares ‘Meski’ e ‘Manzanilla de Sevilha’ - a principal cultivar de azeitona de mesa. Em Espanha escolheram como progenitores nomeadamente as cultivares ‘Arbequina’, ‘Frantoio’ e ‘Picual’ selecionadas pela precocidade, vigor e produtividade, respetivamente. Em Portugal e na 1ª fase do programa optou-se pelo cruzamento em polinização livre de oliveiras ‘Galega vulgar’ e ‘Cobrançosa’ estabelecidas numa parcela com mais de vinte cultivares diferentes, com o objetivo de melhorar algumas das suas características agronómicas. Presentemente, está em curso a 2ª fase do programa que inclui cruzamentos controlados entre as cultivares ‘Galega vulgar’, ‘Cobrançosa’, ‘Arbequina’

e ‘Cordovil de Serpa’, escolhidas pela produtividade e qualidade do azeite, rendimento e características pomológicas, precocidade e hábitos de crescimento e pela qualidade do azeite.

Existem ainda outras possíveis fontes de genes: 1) Como a maioria das cultivares autóctones são procedentes de seleções fenotípicas de populações de zambujeiros, separadas 1 a 2 gerações do próprio zambujeiro a exploração do potencial genético da *Olea europaea L.* está ainda muito limitada (Lavee, 1999). 2) As espécies próximas, estreitamente relacionadas e parcialmente auto férteis com a oliveira, tais como *Olea chrysothilla* e *Olea ferruginea* podem também ser uma importante fonte de genes (Lavee, 1999). Nas últimas décadas foi implementado na China um programa de melhoramento genético da oliveira para a resistência ao frio que inclui genes de outras espécies do género *Olea* (Anno, 1980 segundo Lavee, 1999). 3) Apesar da variabilidade intervartietal existente, alguns autores têm também recorrido à indução de mutações com o objetivo de conseguir numa planta uma maior e mais significativa presença das características consideradas necessárias (Donini e Roselli, 1973).

Germinação das sementes

A germinação é a primeira etapa no estudo da descendência em oliveira e está considerada finalizada com o aparecimento da radícula (Sottomayor, 1989). A germinação é um processo de reativação do aparelho metabólico da semente e compreende três etapas (Hartmann e Kester, 1987):

- 1) **Ativação**, inicia-se pela fase de embebição de água, posteriormente ocorre a síntese de enzimas e o alongamento de células e emergência da radícula;
- 2) **Digestão e translocação**, caracterizada pela digestão de substâncias de reserva e a sua translocação aos locais de crescimento;
- 3) **Crescimento da plântula**, caracterizada por uma fase de divisão celular ativa, a expansão de estruturas da planta – emergência - e a ativação da fotossíntese e o incremento da taxa respiratória.

Em condições naturais a germinação é lenta e progressiva (Natividade, 1968; Ruggini, 1990). Esta espécie desenvolveu diversos mecanismos de sobrevivência das sementes. O desfasamento representado pelo tempo necessário para a rutura do endocarpo, permite que a germinação apenas ocorra quando as condições são favoráveis e que mantenha a capacidade germinativa por vários anos. A percentagem de sementes sãs em oliveira é variável, tendo nomeadamente Fernández-Escobar et al. (1981) encontrado para certas cultivares um efeito maior da cultivar que do tipo

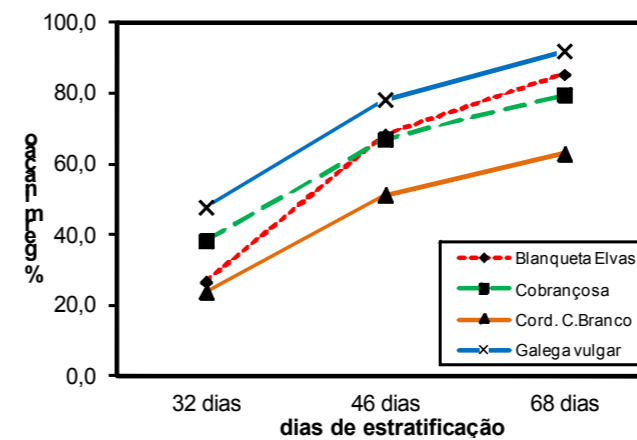


Fig. 2 – Endocarpos de oliveira (ou Azeitona)?

Fig. 3 – Evolução da germinação de sementes de oliveira

de polinização. Scaramuzzi (1957) citado por Sottomayor (1989), obtiveram taxas entre 20 a 25% enquanto Sottomayor (1989), obteve apenas 14% na taxa de germinação.

Para que ocorra a germinação, a semente deve ser viável, ter superado o período de dormência e existirem condições ambientais adequadas. A dormência da semente pode ser definida como uma suspensão temporal do crescimento induzida por condicionalismos externos ou internos que impedem a sua germinação. Entre as diferentes formas de dormência, existe a evidência em oliveira da dormência mecânica e da dormência embrionária. O endocarpo constitui um impedimento externo para a germinação do embrião tendo nomeadamente Crisosto et al. (1985), obtido uma quase nula germinação de sementes com endocarpo enquanto a germinação de sementes sem endocarpo alcançou valores próximos de 100%. A escarificação de endocarpos tem sido preconizada através de vários procedimentos, sendo que, a rotura mecânica adotada por Sottomayor e Caballero (1990), tem mostrado maior

eficácia e menores danos para a semente. A dormência embrionária está controlada pelo embrião e pelos tecidos que rodeiam a semente, a cobertura e o endocarpo. Segundo Lavee (1990), a oliveira desenvolveu um mecanismo endógeno que limita a germinação ao período entre o final do inverno e o princípio da primavera (condições edafo climáticas favoráveis). Esta evidência é confirmada pela necessidade de frio e humidade relativa elevada (estratificação) que o embrião isolado requer para a germinação.

A estratificação de sementes de oliveira sem endocarpo tem sido objeto de estudo por diversos autores. Crisosto e Sutter (1985); Sottomayor e Caballero (1990); Alvarado (1994), Santos-Antunes (1999) estratificaram à temperatura de 14 - 15°C e obtiveram taxas de germinação muito elevadas. Botelho et al. (2006), após rutura mecânica dos endocarpos estratificaram sementes das cultivares ‘Blanqueta de Elvas’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Castelo Branco’ e ‘Galega vulgar’ e determinaram a taxa de germinação aos 32, 46 e 68 dias (GRÁFICO). A germinação foi progressiva, com maiores acréscimos no período entre os 32 e os 46 dias. A viabilidade das sementes aos 68 dias foi muito elevada, taxas de germinação variando entre 63 e 92%. Observaram-se diferenças entre cultivares, maior taxa de germinação em ‘Galega vulgar’ e ‘Blanqueta de Elvas’ (92 e 85%, respetivamente) e menor em ‘Cordovil de Castelo Branco’ – 63%.

Encurtamento do período juvenil

O prolongado período juvenil na oliveira constitui desde sempre o principal obstáculo ao melhoramento por cruzamento. Na sua revisão bibliográfica Hackett (1985), indica que no desenvolvimento das plantas lenhosas a partir de semente, existe um período denominado, período juvenil, durante o qual a floração não ocorre nem pode ser realizada. Em certas espécies este período é muito longo. Na oliveira a sua duração varia, segundo Fontanazza e Baldoni (1990), entre 15 e os 20 anos, mas pode, como referiu Natividade (1972), alcançar os 50 anos.

Após a germinação o crescimento vegetativo inicial da plântula é rápido, alcançando a plântula um tamanho razoável num curto período de tempo. Durante o período juvenil, na oliveira observam-se alterações morfológicas nas folhas: mais notórias na cutícula, na grossura, na forma e na pigmentação (em geral folhas mais pequenas e arredondadas e de cor mais intensa); no elevado número de lançamentos axilares e no padrão de ramificação; e na capacidade para formar raízes adventícias. As folhas alongadas aparecem ao final do período juvenil e a partir do seu surgimento, as plantas podem ser induzidas à floração (Lavee, 1986). Entre o período juvenil e o período adulto

existe uma fase de transição em que a planta adquire as características morfológicas de uma oliveira adulta mas onde ainda não ocorreu a floração / frutificação (Alvarado, 1994). Na copa das árvores a maturidade sexual verifica-se das partes mais externas para as mais internas.

À semelhança de outras fruteiras a forçagem do crescimento constituiu o ponto fulcral na redução do período juvenil (Hackett, 1985; Lavee, 1990). De acordo com Lavee (1989) no período posterior à germinação, as boas condições culturais para o crescimento das plântulas (temperatura e humidade adequadas, nutrição racional e rega controlada) e a poda dos lançamentos laterais são a chave do êxito. Com este procedimento Lavee (1989) antecipou o período juvenil a 4 - 5 anos. Outros autores, Clavero e Pliego (1993) e Santos-Antunes et al. (1997), para além dos procedimentos culturais genéricos, utilizaram o fotoperíodo contínuo mediante a iluminação noturna que favoreceu o crescimento das plantas em altura. Clavero e Pliego (1993) submetendo plantas de semente de oliveira a fotoperíodo contínuo e plantas a fotoperíodo de 12 horas verificaram que 31% e 8% das plantas, respetivamente, entraram em floração ao 4º ano. Santos-Antunes et al. (1997) com plântulas conduzidas a um eixo revestido e a poda dos lançamentos laterais aumentou o diâmetro e a altura das plântulas. Utilizando este procedimento, 28 meses contados desde a germinação de sementes as primeiras plântulas tinham alcançado a floração.

Na figura apresentamos o procedimento experimental, proposto por Santos Antunes (1999) para o encurtamento do período juvenil. A semente é extraída do endocarpo após rutura mecânica, sendo as perdas irrisórias. As sementes são posteriormente sujeitas a uma estratificação em ambiente com humidade relativa próxima da saturação e a uma temperatura favorável. A germinação ocorre ao fim de 30 a 45 dias e taxa de sucesso pode ser superior a 75%. As plantas assim obtidas são colocadas em crescimento forçado até alcançarem aproximadamente 1,80m, após o que são transferidas para o campo onde se inicia a primeira etapa da avaliação, a seleção de genótipos individuais - F₁.

Durante o período juvenil a poda demasiado intensa condiciona o diâmetro dos troncos e afeta a duração da fase (Santos-Antunes, 1997). Natividade (1972), descreve a evolução de zambujeiros na região da Serra d' Aire submetidos a um constante pastoreio de animais onde encontrou zambujeiros em período juvenil com uma idade que poderia chegar aos 50 anos. Da sua observação concluiu que qualquer fator que possa afetar negativamente o desenvolvimento radicular e o equilíbrio raiz - copa, provoca uma maior duração do período juvenil e considerou poder

existir algum mecanismo hormonal que através das raízes controla o começo da fase adulta.

Outra metodologia para o encurtamento do período juvenil é a enxertia de lançamentos no estado juvenil em porta-enxertos adultos. Os resultados são contraditórios. Segundo Zimmerman (19729 citado por Alvarado (1994) a sua eficácia apenas se verifica quando as plantas já se encontram na fase de transição, isto é sem as características morfológicas verificadas no período juvenil. No entanto para Lavee (1989) este procedimento em oliveira apresenta um efeito contrário, por conduzir ao prolongamento do período juvenil.

Quadro: ano de entrada em floração de genótipos de semente após a plantação

Ano após plantação	Descendência de «Galega vulgar»	Descendência de «Cobrançosa»
1 ano	5%	0%
2 anos	17%	3%
3 anos	44%	31%
4 anos	78%	57%

A entrada em floração /frutificação (final do período juvenil) de plantas de semente de oliveira é progressiva. No quadro apresentamos a evolução de entrada em floração de descendências de polinização livre de 'Galega vulgar' e 'Cobrançosa'. Os primeiros genótipos entraram em floração um ano após a sua plantação em campo. Ao 4º ano após plantação ainda nem todos os genótipos eram adultos e mesmo ao final do 8º ano desde a plantação ainda existiam genótipos no período juvenil.

Avaliação das descendências

O conhecimento atual da heritabilidade das diferentes características na oliveira ainda é reduzido. De acordo com Lavee (1999), o potencial genético estuda-se geralmente através da expressão das diferentes características nas descendências F₁ e F₂, em híbridos obtidos por autopolinização ou em cruzamentos dirigidos.

A duração do período juvenil refere-se ao período de tempo a partir do qual um dado genótipo alcança o estado adulto, inicia a floração / frutificação e é a normalmente a primeira característica a ser avaliada numa descendência de um cruzamento. A relevância desta característica é a sua manutenção durante a fase adulta. Aquando do estabelecimento de um olival comercial o material vegetal mais precoce tem também uma entrada em produção mais cedo. Num programa de melhoramento por cruzamento esta característica está claramente determinada

pela escolha dos progenitores:

Nas diferentes combinações realizadas Bellini (1993), verificou que todas as descendências dos cruzamentos da cv. 'Leccino' apresentaram um período juvenil mais curto. Resultado similar foi também obtido para a descendência da cv. 'Verdale' como progenitor masculino. As descendências das cultivares 'Coratina', 'Picholine' e 'Tanche' foram as que apresentaram o período juvenil mais prolongado.

No programa de cruzamentos com as cultivares 'Arbequina', 'Frantoio' e 'Picual' Santos-Antunes et al. (1997), observaram que a cv. 'Arbequina' conhecida pela sua precocidade transmitiu essa característica às descendências. No sentido inverso, o comportamento tardio de 'Frantoio' apenas se viu melhorado quando 'Arbequina' esteva presente.

A cultivar 'Galega vulgar' apresenta uma entrada em produção precoce enquanto em 'Cobrançosa' é média. As descendências de 'Galega vulgar' e 'Cobrançosa' polinizadas livremente (quadro), entraram em produção um ano e dois após plantação em campo, respetivamente.

O vigor nas descendências é também condicionado pelos progenitores selecionados. Durante a fase juvenil Bellini (1993), observou um predomínio de plantas de vigor médio, mas em todas as combinações foram identificados genótipos com muito e pouco vigor. A autopolinização também condiciona o vigor das plântulas. Todas as populações de semente de híbridos obtidos a partir da autopolinização realizados por Lavee (1999), deram origem a plântulas de vigor mais débil comparativamente às que se desenvolveram a partir de cruzamentos ou de populações de semente procedente de polinização livre. A autopolinização provocou também na maioria dos casos uma diminuição acentuada do vingamento.

O porte das árvores verificou-se estar condicionado pelos progenitores selecionados. Nas descendências dos cruzamentos da cultivar 'Manzanilla' as árvores são maioritariamente pequenas e apresentam um porte de crescimento chorão enquanto as dos cruzamentos de 'Barnea' as árvores apresentam um porte ereto e estreito (Lavee, 1999). Bellini (1993) verificou o porte ereto nas descendências das cultivares 'Grossane' e 'Verdale' (progenitor masculino) e o porte chorão nas descendências de 'Verdale' e 'Picholine'.

A época de floração e de maturação de azeitona das descendências de 'Galega vulgar' e 'Cobrançosa' polinizadas livremente apresentaram uma distribuição normal sem dominância.

Das características pomológicas o tamanho do fruto, de acordo com Lavee (1999), varia consideravelmente nos primeiros anos de produção, pois com o aumento de produção diminuiu o tamanho. Nos cruzamentos realizados

este autor encontrou uma distribuição normal sem dominância. Este autor também refere que nos primeiros anos o tamanho pode ser notável mas nos anos seguintes com o aumento da produção varia consideravelmente. Relativamente à forma do fruto Bellini (1993), encontrou a forma arredondada como a mais representativa nas descendências estudadas. Por sua vez, Lavee (1999), refere a dominância da forma alongada na descendência dos cruzamentos das cultivares 'kalamata' e 'Barnea'.

Outras características, como o conteúdo em gordura e o potencial frutífero apenas se estabilizam depois de 2 a 3 anos de produção. Lavee (1999) observou a ausência de dominância na heritabilidade dos níveis de rendimento em azeite. Na descendência de 'Galega' polinizada livremente foram encontrados genótipos com diferentes níveis de rendimentos, alguns dos quais com rendimento bastante superior à do progenitor feminino.

A capacidade de enraizamento é também uma característica muito importante já que o estabelecimento de novas plantações depende das plantas auto enraizadas. Estudos realizados com descendências F₁ de 'Manzanilla' (capacidade de enraizamento elevada) polinizada livremente mostraram uma ampla variabilidade na aptidão ao enraizamento mas poucos genótipos apresentaram uma capacidade superior à do progenitor. Na descendência F₁ de 'Kalamata' (enraizamento difícil) polinizada livremente um elevado número de genótipos apresentou maior capacidade de enraizamento que a planta mãe (Wiesman e Lavee, 1993). De forma similar nas descendências F₁ de 'Galega' (enraizamento difícil) e 'Cobrançosa' (capacidade de enraizamento elevada) polinizadas livremente houve uma resposta similar. A propagação vegetativa de descendentes F₁ de 'Galega' polinizada livremente registou uma maior capacidade de enraizamento que a planta mãe mas são ainda necessários trabalhos complementares para confirmar.

A avaliação / seleção da resistência a doenças e pragas é ainda difícil pois é necessário as plantas alcançarem o estado adulto. A susceptibilidade a algumas doenças, de acordo com Lavee (1999), é considerada maior em plântulas no período juvenil que em adultas. Particularmente observou que a suscetibilidade ao fungo olho de pavão (*Spilocaea oleaginea* L.) em folhas juvenis das plântulas é consideravelmente maior que as folhas adultas. Esta observação permitiu ao autor para realizar com êxito a seleção para esta doença.

Referências Bibliográficas:

(A ENVIAR POR CORREIO ELECTRONICO)

A DIVERSIDADE BIOMOLECULAR DA OLIVEIRA PORTUGUÊS

PEDRO FEVEREIRO

A oliveira cultivada (*Olea europaea* L. subs *europaea* var. *europaea*) (figura 1) é uma entidade biológica que apresenta grande variabilidade, como pode verificar-se em Portugal, onde se encontram disseminadas variadíssimas cultivares com características bem diversas, algumas das quais fundamentais para a composição distintiva da maioria dos azeites nacionais, sobretudo os produzidos nas regiões DOP.

O germoplasma português da oliveira é objecto de estudo e referência há mais de dois séculos. De facto, o sócio da Real Academia das Ciências, João António Dalla-Bella refere três variedades (espécies) de oliveira - *Durazia*; *Cordovezas* e *Verdeas* - nas suas “Memórias sobre a cultura das oliveiras em Portugal”, cuja primeira edição é datada de 1786. O conhecimento acerca do número, origem e características das variedades de oliveira cultivadas em Portugal sofreu incremento com trabalhos de vários autores nos finais do século XIX e início do século XX. Mais



Fig. 1 – Oliveira Centenária. Pedras d’el Rei, Tavira.

recentemente, é de referir a descrição fenotípica de vinte e duas variedades cultivadas, trabalho realizado na década de 1980 por Leitão, Potes, Calado e Almeida (1986).

Actualmente, reconhece-se em Portugal um número significativo de variedades cultivadas, que constituem o germoplasma português da oliveira cultivada. Nas três colecções públicas existentes – na Herdade do Reguengo em Elvas (D.O./ENMP/actual INIAV), na Herdade dos Soidos (DRARO) em Santarém e na Quinta do Valongo em Mirandela (DRATM) – encontram-se, pelo menos, 40 cultivares portuguesas distintas, com as seguintes denominações: Azeiteira; Bical de Castelo Branco; Bico de Corvo; Blanqueta de Elvas; Borrenta; Carrasca Comprida; Carraspana; Carrasquenha; Carrasquinha de Elvas; Cobrançosa; Conserva de Barranlas; Conserva de Elvas; Cordovil de Castelo Branco; Cordovil de Elvas; Cordovil de Serpa; Cordovil de Trás-os-Montes; Cornicabra; Curtideira; Galega de Monforte da Beira; Galega Vulgar; Galego de Évora; Galego Grado de Serpa; Gulosinha; Lentrisca; Maçanilha de Elvas; Maçanilha Algarvia; Maçanilha de Tavira; Madural; Moral; Negro à Estanqueiro; Negrinha de Freixo Planalto; Quinta do Portado; Redondal; Santulhana; Tentilheira; Verde Verdelho; Verdeal Alentejana; Verdeal de Elvas; Verdeal de Trás-os-Montes. Existe ainda, na Quinta do Valongo em Mirandela, uma colecção de 27 ecótipos, recolhidos pela equipa de Fausto Leitão.

A par das oliveiras cultivadas, persistem em Portugal, populações de zambujeiros, algumas em áreas naturais protegidas, da variedade silvestre da oliveira (*Olea europaea* L. subs *europaea* var. *sylvestris*), também denominadas de “oleaster” que provavelmente estiveram na origem de algumas das variedades cultivadas portuguesas. Subsistem também exemplares “assilvestrados” que corresponderão a plantas de semente resultantes quer de cruzamentos entre cultivares, quer de cruzamentos entre cultivares e zambujeiros.

A identificação e a variabilidade das características das cultivares de oliveira sempre constituíram dilemas de difícil resolução. Durante os anos 50 do século passado começou a verificar-se que o germoplasma português da oliveira se caracteriza por uma grande variabilidade. Esta variabilidade foi verificada não só a nível fenotípico, (Coutinho (1955) mostrou a presença, numa só árvore de “Cordovil”, de seis troncos com características completamente distintas), mas também a nível genético. A este propósito, quer Almeida (1955), quer Coutinho (1956) observaram a variabilidade do número de cromossomas e de alterações cromossomais existentes em diversas variedades portuguesas e estrangeiras. Em 1982, Francisco José de Almeida

escrevia que “A dificuldade de caracterização das cultivares, acrescida pela confusa sinonímia olivícola nas diversas regiões do País, é ainda agravada pela interferência dos factores mesológicos na fisiologia da árvore, por sua vez susceptível de expressão morfológica”.

Embora seja possível a utilização de parâmetros carpo-métricos (dimensões do endocarpo – semente - da azeitona) (figura 2) para identificação e discriminação varietal, tal só é possível quando as árvores se encontram em fase de frutificação. Em regra, só é possível a partir do terceiro ano de crescimento e, mesmo assim, é necessária uma análise estatística comparativa para se ter fiabilidade na identificação. No entanto, a discriminação das cultivares torna-se muito difícil, se não impossível, quando as árvores são jovens. Esta discriminação é fundamental para se garantir a qualidade e a denominação de origem quer do azeite quer da azeitona de mesa, pois ambas dependem, em grande parte, das cultivares utilizadas na sua produção. A diversidade existente pode ser considerada uma riqueza patrimonial importante pois confere singularidade aos produtos produzidos em Portugal e, em última análise, é uma fonte de diferenciação valiosa se, a essa diferenciação, for associado um “selo” de qualidade.



A diversidade genética da sub-espécie *europaea* deve-se à predominância de auto-incompatibilidade que promove a polinização cruzada entre as variedades e entre as cultivares e à fácil dispersão do pólen e das sementes, estas últimas facilmente transportadas pelas aves e outros animais. Segundo de Casas e colaboradores (2006), é bastante improvável a existência de isolamento reprodutivo. A propagação vegetativa e enxertia, executadas pelo homem, fixam e reproduzem determinados genótipos, mantendo alguma diferenciação genética entre as cultivares, mas também permitem propagar novas variedades seleccionadas

de genótipos resultantes de cruzamentos efectuados pelo homem.

A utilização de marcadores moleculares permitiu não só uma identificação inequívoca de indivíduos, clones, variedades e espécies, mas também o estudo e esclarecimento das origens e da estrutura genética da oliveira. Marcadores moleculares são proteínas ou sequências de DNA que apresentam polimorfismos (diferentes formas) quando é feita uma comparação entre indivíduos, populações ou grupos taxonómicos. Estes marcadores são transmissíveis à descendência e a sua transmissão é monitorizável. Polimorfismos são pequenas variações na sequência de proteínas, que não alteram a sua função, ou no DNA da sequência que constitui o marcador. Estas alterações resultam de mutações espontâneas e a sua frequência varia conforme o tipo de multiplicação (vegetativa ou por semente) e com o tipo de marcador molecular utilizado.

A utilização de zonas do DNA como marcadores que discriminam as cultivares tem-se mostrado valiosa. No final do século XX utilizaram-se marcadores moleculares aleatórios denominados RAPDs e ISSRs (RAPD – polimorfismos de DNA amplificados ao acaso - ou os ISSR – regiões do DNA amplificadas entre microssatélites) para discriminar com sucesso cultivares portuguesas de oliveira (Gemas

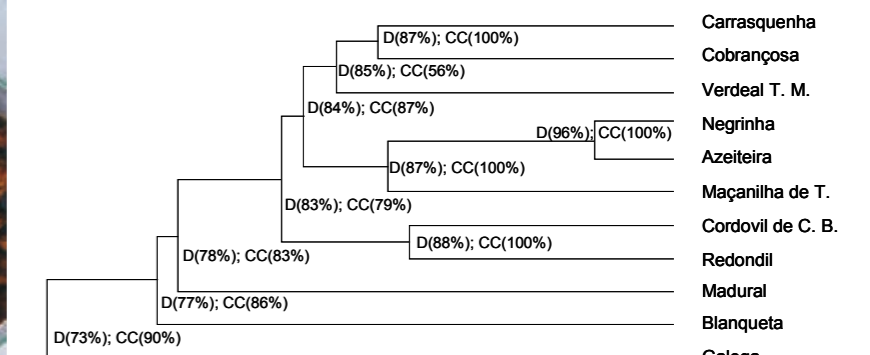


Fig. 2 – Endocarpos das cultivares Galega Vulgar, Verdeal Alentejana e Cordovil de Serpa.

Fig. 3 – Fenograma de 11 cultivares portuguesas, obtido por marcadores RAPD. A distância genética foi calculada com o índice de semelhança de ‘Dice’, o método de aglomeração utilizado foi o UPGMA. Os valores indicados nos nós de cada ramo representam respectivamente: D- distância genética em percentagem de identidade, CC – coeficiente de correlação cofenética. Neste fenograma é possível verificar que Negrinha e Azeiteira são sinónimos e que a Galega é a cultivar mais distinta entre as que foram estudadas (Verdeal de T.M – Verdeal de Trás-os-Montes; Maçanilha de T. – Maçanilha de Tavira; Cordovil de C.B. – Cordovil de Castelo Branco). (Gemas e colaboradores 2004).

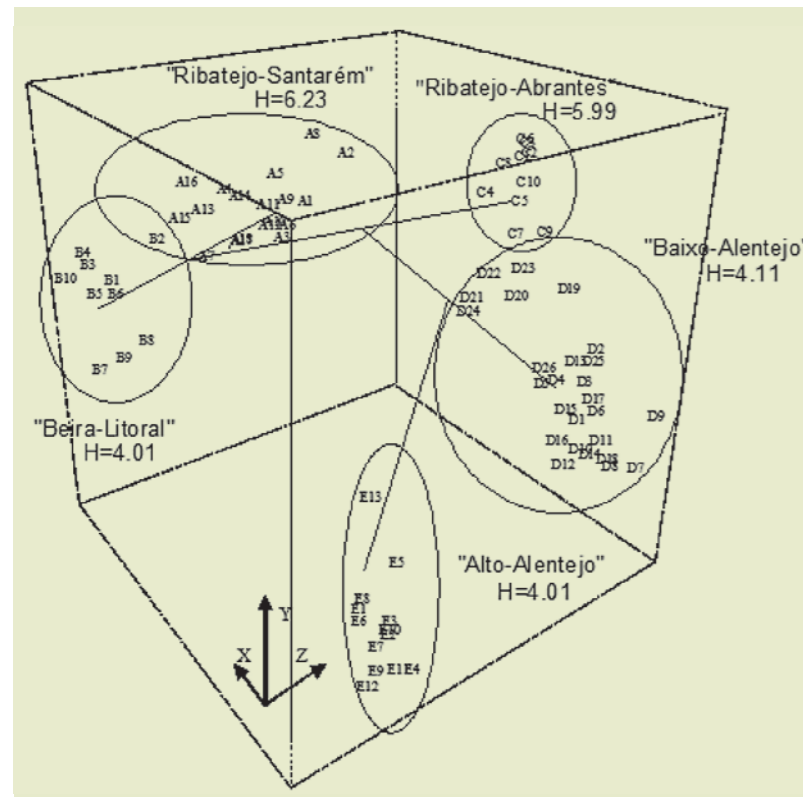


Fig. 4 – Ramo de Galega Vulgar com frutos

Fig. 5 – Aglomeração não hierárquica tridimensional entre 77 genótipos da cultivar Galega baseada nos componentes principais de uma análise discriminante. Os eixos X-, Y- e Z- são respectivamente a primeira, segunda e terceira componente, representando, respectivamente, uma percentagem de discriminação de 49%, 27% e 14%, com um nível de confiança de 0.001. Cada agrupamento é constituído por árvores colhidas nas regiões identificadas na figura. Os valores de H correspondem ao índice de diversidade de Shannon aplicado aos dados genotípicos. (Gemas e colaboradores 2004).

e colaboradores 2004) (figura 3). Em alguns países, como na vizinha Espanha, a certificação das cultivares é feita com recurso a este tipo de marcadores moleculares, cuja identificação é rápida, pouco dispendiosa e necessita apenas de uma pequena porção da planta (duas folhas), mesmo quando se trata de plantas recém-enraizadas.

Os RAPD e os ISSR, marcadores, baseados em zonas aleatórias do DNA permitiram reconhecer a existência de diversidade intra-cultivar, mais acentuada em algumas das cultivares do que noutras. É o caso da cultivar Galega, a mais disseminada em Portugal (figura 4) onde ocupa mais de 60 por cento da área de olival (MADRP, 2007). O estudo de colecções de árvores desta cultivar provenientes de diferentes regiões do país permitiu verificar que não se trata de uma entidade constituída por indivíduos clonais (como se esperaria de uma variedade cujas plantas são propagadas vegetativamente) mas sim de um conjunto de árvores com variabilidade genotípica (Gemas e colaboradores 2004) (figura 5).

Os estudos de Gemas e colaboradores (2004) permitiram também a associar os genótipos identificados com a sua localização geográfica. Foi possível associar a região de proveniência das galegas estudadas com os perfis de marcadores desenvolvidos, através da verificação dos níveis de diversidade existentes em cada uma das regiões estudadas. De facto ambos os índices de diversidade aplicados (Shannon e Simpson) (tabela 1) demonstram que a região Ribatejo Santarém é a que contém maior diversidade e, portanto, aquela a partir da qual esta cultivar se deve ter difundido para o resto do país.

Tabela 1 – Medida da diversidade intra-cultivar em 77 árvores da cultivar galega.

AER	^a H _g	^b t-test	^c H _h
Alto Alentejo (V)	4.01		0,73
Beira Litoral (II)	4.01		0,70
Baixo Alentejo (IV)	4.11	IV - V*	0,79
Ribatejo-Abrantes (III)	5.99	III - IV*	0,69
Ribatejo - Santarém (I)	6.23	I - III*	0,88

Hg - índice de diversidade de Shannon. Hh - índice de diversidade de Simpson. O test T foi aplicado para confirmar a diferenciação entre os genótipos das diferentes regiões.

* = p < 0,001 (Gemas e colaboradores 2004)

A utilização de marcadores moleculares de DNA do tipo microsatélite (figura 6), só disponíveis na oliveira a partir do início do século XXI, permitiu esclarecer vários aspectos relacionados com a diversidade genética do

germoplasma português. Os microsatélites são sequências repetidas de DNA, geralmente neutras (não influenciam as características observáveis dos organismos), que são sujeitos a frequências relativamente elevadas de mutação, normalmente por alteração do número de repetições ladeadas por sequências únicas de DNA. Com a possibilidade de sequenciar de forma simples e eficaz o genoma dos organismos, a descoberta destas regiões tornou-se cada vez mais simples. Estão actualmente disponíveis, centenas de sequências de microsatélites de oliveira.

tgatggttaaattgctctctctctctctctctctctctctctacattatgatgtagtac

As oliveiras são plantas diplóides, ou seja apresentam uma duplicação do seu genoma estruturado em pares de cromossomas homólogos. O uso dos microsatélites permite uma maior reproducibilidade dos resultados e também a distinção entre árvores homozigóticas que apresentam a mesma sequência de unidades repetidas nos dois cromossomas, no mesmo local (locus), e heterozigóticas que apresentam dois alelos com variação no número de repetições das unidades do microsatélite para o mesmo locus.

A utilização de microsatélites no germoplasma português de oliveira permitiu a discriminação entre as diferentes cultivares e confirmar a existência de variabilidade genética intra-cultivar. Os dez marcadores utilizados na caracterização molecular das cultivares [GAPU101 sequência repetida - (GA)₈(G)₃(AG)₃; GAPU103A sequência repetida - (TC)₂₆; GAPU71B sequência repetida - GA(AG)₆(AAG)₈; UDO99-028 sequência repetida - (CA)₂₃(TA)₃; EMO3 sequência repetida - (CA)₃G(AC)₁₄; ssrOeUA-DCA15 sequência repetida - (CA)₃CT(CA)₃(GA)₁₉; ssrOeUA-DCA3 sequência repetida - (GA)₁₉; ssrOeUA-DCA9 sequência repetida - (GA)₂₃; e PA(GA)₅ sequência repetida - (GA)₁₂], tendo sido já propostos para constituir um conjunto de referência para descrever a variabilidade molecular da oliveira, foram escolhidos por serem os mais utilizados pela comunidade internacional e por apresentarem um grau elevado de polimorfismo (número elevado de alelos). Repare-se que 5 microsatélites com 5 alelos, igualmente distribuídos numa população, podem permitir discriminar entre 700.000 genótipos distintos. Também para as cultivares portuguesas estes marcadores se mostraram úteis e discriminantes.

A aplicação destes marcadores a uma colecção de 77 árvores consideradas antigas (mais de 80 anos), da cultivar Cobrançosa, recolhidas por Antero Martins em 9 regiões de Trás-os-Montes e mantidas em ensaio de proveniência

na Herdade do Escaramunheiro em Mirandela (Martins e colaboradores, 1998) mostrou que, mesmo numa cultivar cuja origem se julga ser em Trás-os-Montes e que até há poucos anos apresentava uma distribuição geográfica bastante restrita, se pode encontrar mais do que um genótipo (Alves, M. 2007), o que pressupõe ou uma origem policlonal desta cultivar ou uma variação clonal bastante rápida. De facto, quando aos dados obtidos se aplica uma análise de coordenadas principais é possível reconhecer, pelo menos, 3 grupos genéticos distintos de cobrançosas (figura 6).

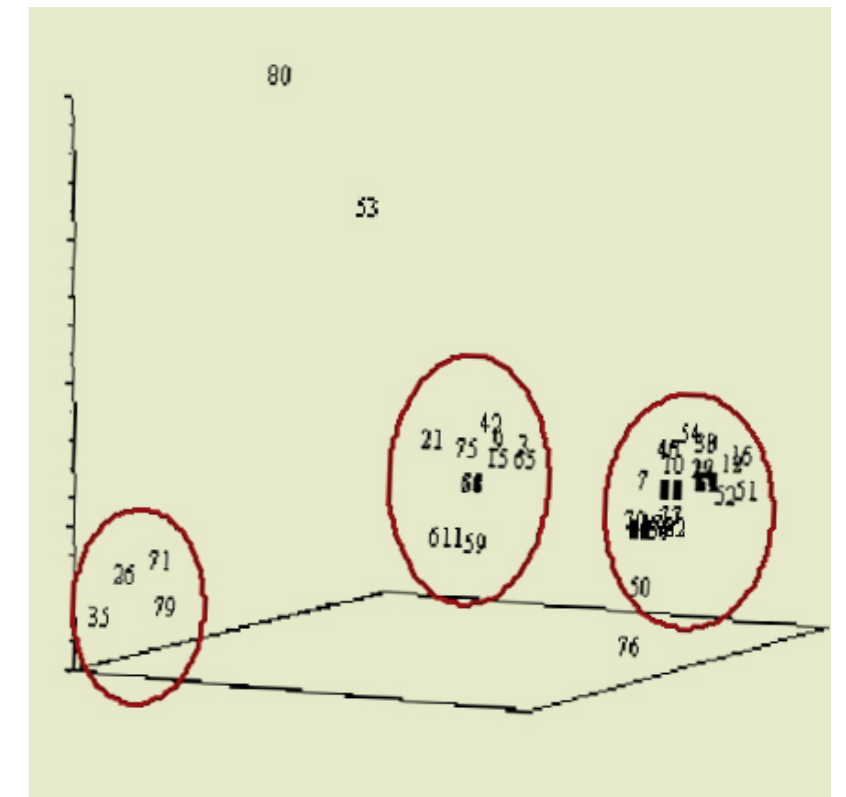


Fig. 6 – Microsatélite presente no gene da enzima lupeol sintase de oliveira constituído por uma repetição de 12 CTs (a amarelo). (GenBank accession - AB025343.1)

Figura 6 – Análise de coordenadas principais da genotipagem com dez microsatélites da colecção de Cobrançosas mantida na Herdade do Escaramunheiro, com a diferenciação de três grupos genéticos distintos. As três dimensões explicam respectivamente 58% (1ª dimensão), 30% (2ª dimensão) e 8% (3ª dimensão) da variabilidade existente, num total 96%. (Alves, M. 2007)

Os mesmos marcadores foram utilizados para estudar as três colecções de oliveiras cultivadas já referidas atrás. A análise da genotipagem das árvores destas colecções, através da aglomeração hierárquica com recurso ao algoritmo

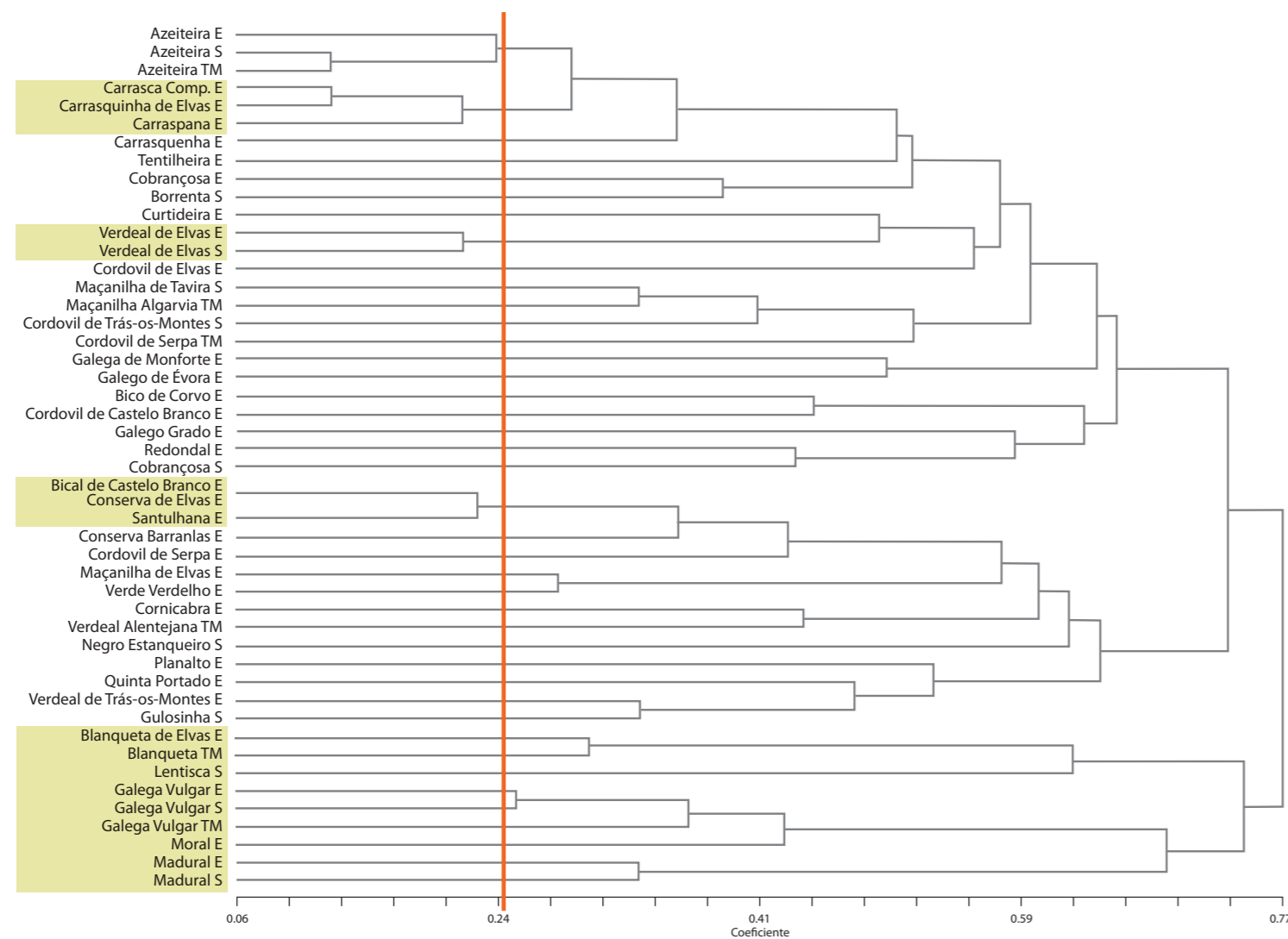


Fig. 7 – Fenograma das cultivares mantidas nas colecções públicas portuguesas, genotipadas com 10 microssatélites. As distâncias genéticas calculadas para o inverso dos alelos partilhados foram aglomeradas através do método UPGMA. A linha a vermelho representa o erro do método. As bifurcações para a esquerda desta linha não representam verdadeiras diferenças (Fevereiro, P. e colaboradores, 2011)

UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean – média aritmética do emparelhamento não ponderado) sobre as distâncias genéticas computadas pelo inverso dos alelos partilhados, mostra as relações genéticas entre estas cultivares (figura 7). A linha vertical vermelha corresponde ao limite do erro da técnica e indica que as diferenças genéticas para a sua esquerda não são reais.

Da observação do dendrograma da figura 7 é possível verificar que em alguns casos diferentes denominações correspondem de facto a sinonímias, ou seja que a mesma cultivar apresenta diferentes denominações. É o caso da Bical de Castelo Branco, da Conserva de Elvas e da

Santulhana. O mesmo se passa com as denominações de Carrasca Comprida, Carrasquinha de Elvas e Carraspana. Por outro lado, verifica-se que em diferentes colecções se encontram árvores com a mesma denominação mas com genótipos distintos, como é o caso da cultivar cobrançosa. Finalmente, é possível observar que a cultivar Galega Vulgar, juntamente com mais 4 cultivares, se distancia geneticamente das restantes cultivares portuguesas.

A distanciação genética e morfológica da Galega Vulgar, a sua expansão por todo o território e a sua rusticidade serviu de mote para o estudo da sua relação genética com os zambujeiros. Para esclarecer esta possível relação, foram recolhidas amostras de zambujeiros em áreas naturais protegidas do litoral centro de Portugal. Depois de genotipados foram comparados com uma população de Cobrançosas e uma população de Galegas, utilizando uma análise de coordenadas principais. Como seria de esperar, as árvores da cultivar cobrançosa diferenciam-se completamente dos Zambujeiros (figura 8).

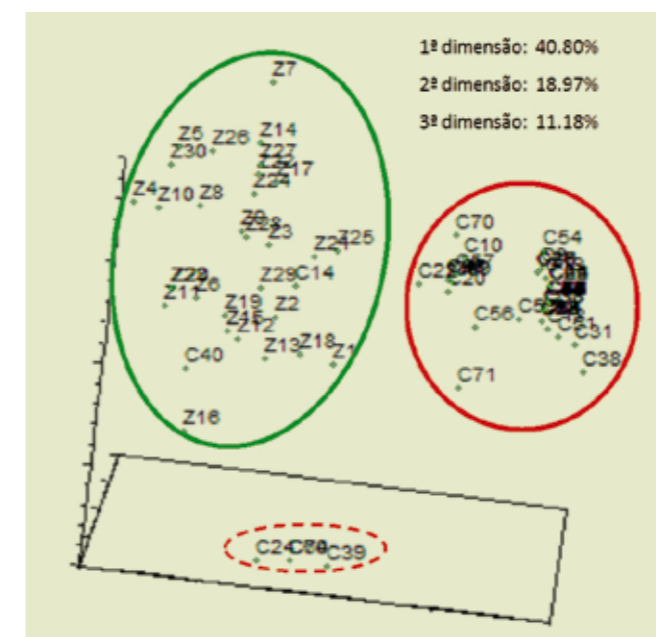


Figura 8 - Análise de coordenadas principais da genotipagem com dez microssatélites da colecção de Cobrançosas mantida na Herdade do Escaramunheiro, e de Zambujeiros pertencentes a cinco populações naturais portuguesas. Z- zambujeiro; C- cobrançosa. As três dimensões explicam 41% (1ª dimensão), 19% (2ª dimensão) e 11% (3ª dimensão) da variabilidade existente, num total 71%. (Alves, M. 2007)

No entanto, tal não acontece quando a mesma análise é feita entre as árvores de Galega e os zambujeiros (figura 9) (Fevereiro et al 2011). Neste caso, é praticamente impossível discriminar entre as árvores denominadas de Galega e os zambujeiros. Esta análise é corroborada por uma análise de identidade, de acordo com a qual, 7 árvores Galega poderiam ser identificadas como zambujeiros, e 25 zambujeiros poderiam ser identificados como pertencentes à cultivar Galega (figura 10).

Esta sobreposição entre as árvores da cultivar Galega e os Zambujeiros, associada às semelhanças encontradas entre as características morfológicas das duas variedades e as relacionadas com a especificidade da Galega (cultivar reconhecida como exclusivamente portuguesa) e a sua distribuição por todo o território nacional sugere que a Galega é uma cultivar domesticada a partir do germoplasma de zambujeiro autóctone ou que, eventualmente, resultou do cruzamento de variedades trazidas do norte de África – provavelmente por fenícios ou cartagineses – que, por cruzamento com os zambujeiros autóctones teria originado a variedade Galega. Esta cultivar apresenta uma domesticação policlonal, ou seja, não resulta da propagação vegetativa de uma só árvore, mas antes provém da domesticação de várias árvores germinadas de semente, em diferentes

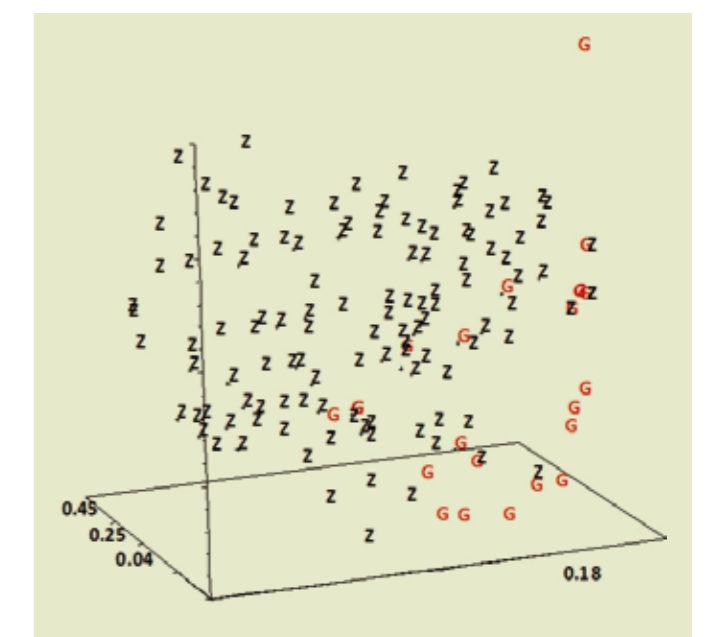


Figura 9 - Análise de coordenadas principais da genotipagem com seis microssatélites de 38 árvores galega e de 120 zambujeiros pertencentes a cinco populações naturais portuguesas. Z- zambujeiro; G - Galega. As três dimensões explicam um total de 52% da variabilidade existente. (Fevereiro et al 2011)

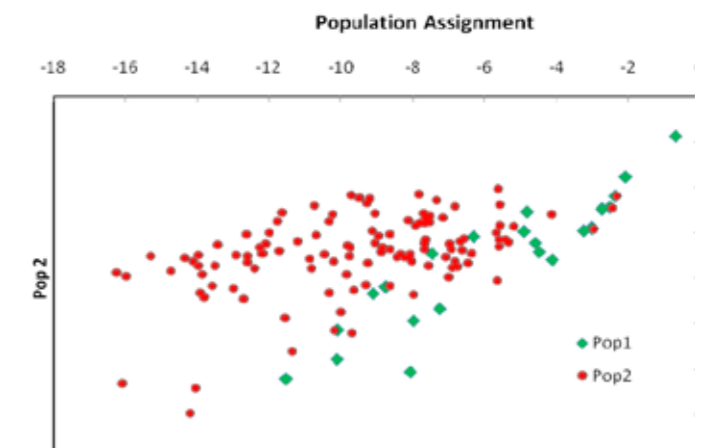


Figura 10 – Análise de identidade das árvores de Galega e de Zambujeiro genotipadas, utilizando o programa GenALEx6. Assumiram-se duas populações, uma de Zambujeiros (círculos vermelhos) e uma de Galega (losangos verdes) (Fevereiro et al 2011)

momentos, que partilham características semelhantes.

A utilização de marcadores moleculares permite sugerir a ocorrência, após o último evento glacial, de uma recolonização da variedade *sylvestris* quer na zona este quer na zona oeste da Europa, (Breton et al. 2006). Assim é de supor que algumas das cultivares da zona oeste, (incluindo as da península Ibérica) terão sido originadas a partir de zambujeiros locais, o que é suportado pela existência de uma maior diversidade molecular nesta região comparativamente com a zona este do mediterrâneo. Este é muito provavelmente o caso da variedade portuguesa “Galega vulgar”.

Conclusão

Os marcadores moleculares são, actualmente, considerados ferramentas essenciais para compreender a diversidade e riqueza do património genético das diferentes culturas. No caso da oliveira, a sua aplicação tem permitido o estudo detalhado das relações genéticas entre cultivares e entre estas e a variedade selvagem, bem como a percepção das características do material preservado nas colecções nacionais. A análise dos resultados da aplicação destes marcadores permite ainda perspectivar estratégias futuras para o melhoramento da oliveira.

A cultivar Galega vulgar é característica de Portugal, não se encontrando nenhum paralelo com mais nenhuma cultivar existente no mundo. Tudo indica que esta cultivar, que caracteriza a qualidade dos azeites portugueses, foi domesticada no território nacional, provavelmente na região do Ribatejo, e que resultou da selecção de descendentes de zambujeiros autóctones ou do cruzamento destes com alguma cultivar trazida do norte de África. A existência de policlonalidade parece indicar que sucederam vários eventos de selecção múltipla

Algumas das mais utilizadas cultivares portuguesas de oliveira apresentam diversidade genotípica intra-cultivar, verificável com o recurso a marcadores moleculares. Esta verificação demonstra a existência de um problema para a cultura destas variedades, pois se reflecte num possível grau de heterogeneidade nos olivais e numa correspondente variabilidade da produtividade e qualidade do produto final. No entanto, tal constitui uma oportunidade para melhorar as cultivares portuguesas com recurso a métodos de selecção.

A variabilidade não é a mesma para as diferentes cultivares pelo que deve ser realizado um estudo detalhado para identificar o grau de variabilidade genotípica existente. Em particular, deve ser feita uma revisão cuidada do material existente nas colecções portuguesas, não só para

preservar a variabilidade existente, mas também para o estabelecimento de um genótipo de referência para cada cultivar e para a identificação de sinonímias e homonímias. Deverá ser levada a cabo uma análise comparativa entre as cultivares internacionais, em particular com as cultivares da restante espanholas!! e as do norte de África, com recurso a marcadores moleculares.

Mesmo no caso de “Cobrançosa”, uma cultivar local, ainda é possível encontrar alguma diversidade intra-cultivar. Mas, neste caso, não foi encontrada qualquer relação com os zambujeiros portugueses.

A caracterização simultânea do fundo genético das cultivares e a sua correlação com características fenotípicas desejáveis, é um passo essencial para o estabelecimento de um programa de melhoramento genético com consistência científica. A caracterização genética das cultivares regionais, a identificação dos recursos genéticos utilizados na domesticação da oliveira e o reconhecimento de que em outros habitats prosperam outras subespécies de *Olea europaea*, que podem cruzar-se com as variedades cultivadas, permite reconhecer a utilidade destes recursos genéticos. Estes conhecimentos poderão ser utilizados, no futuro, para o melhoramento de cultivares actuais com vista à transferência de resistência a pragas e doenças e adaptação às alterações climáticas previsíveis (Zilhão et al. 2003). O estabelecimento de um programa de melhoramento da oliveira em Portugal, poderia potenciar a produtividade e a qualidade dos produtos da olivicultura, em particular do azeite português.

Bibliografia referida

- Almeida, F.J. (1955) “A propósito dos cromossomas da Oliveira, algumas considerações sobre a selecção e melhoramento desta espécie” Boletim da Junta Nacional do Azeite 38: 27-40
- Almeida, F.J. (1982) “O problema das cultivares de Oliveira” Boletim do IAPO 2:1-30
- Alves, M. (2007) “Caracterização e Estrutura Genéticas da Cultivar de Oliveira ‘Cobrançosa’ e sua Relação com o Zambujeiro” Tese de Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
- Breton, C., Tersac, M., and Bervillé, A. (2006) Genetic diversity and gene flow between the wild olive (oleaster, *Olea europaea* L.) and the olive: several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis *Journal of Biogeography* 33, 1916–1928
- Coutinho, L. L. A. (1955) “Algumas projecções das características Hereditárias da Oliveira” *Vida Rural* 126:14-15
- Coutinho, L.A. (1956) “Subsídios para o estudo cariológico da *Olea europaea* L.” *Genética Ibérica* 8: 1-40
- Dalla-Bella, J.A. (1786) “Memoria sobre a cultura das oliveiras em Portugal” Coimbra, Real Officina Typografica da Universidade
- De Casas, R.R., Besnard, G., Schönswetter, P., Balaguer, L. and

- Vargas, P. (2006) Extensive gene flow blur phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. *Theoretical and Applied Genetics* 113: 575-83
- Fevereiro, P., Leitão, F., Potes, F., Gemas, V., Alves, M. and Favoretto, P. 2011. The Portuguese Olive (*Olea europaea* subsp. *europaea*) Germplasm. *Acta Horticulturae*. (ISHS) 924: 291-298
- Gemas, V., Almadanim, M.C., Tenreiro, R., Martins, A., Fevereiro, P. (2004) “Genetic diversity in the Olive tree (*Olea europaea* subsp. *europaea* L.) Cultivated in Portugal revealed by RAPD and ISSR markers” *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 501–511
- Leitão, F., Potes, M.F., Calado, M.L., e Almeida, F.J. (1986) “Descrição de 22 variedades de Oliveira cultivadas em Portugal” Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação
- MADRP (2007) Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. “Olivicultura – Diagnóstico Sectorial”. Gabinete de Planeamento e Políticas. Lisboa, Portugal.
- Martins A, Santos L, Lopes J e Gouveia J (1998). Primeiros resultados da selecção da variedade de oliveira Cobrançosa. *Revista de Ciências Agrárias* 21:35-46.
- Zilhão, I., Tenreiro, R. and Fevereiro, P. (2003) Olive and Olea. Current Status, new avenues In *Recent Research Developments in Plant Biology* 3:115-153 Edited by Research Signpost ISBN:81-271-

ENGENHARIA GENÉTICA DA OLIVEIRA (OLEA EUROPAEA)

MARIA SALOME PAIS

Laboratório de Biologia de Sistemas Vegetais (Centro de Biodiversidade e Genómica Funcional e Integrativa – BioFIG) & Academia das Ciências de Lisboa

R. da Academia das Ciências, nº19, 1276- Lisboa, Portugal

A Oliveira no Mediterrâneo

A oliveira (*Olea europaea* L.) é a maior cultivar agrícola na Bacia do Mediterrâneo. A sua cultura teve origem, provavelmente, no leste desta região há mais de 6000 anos. Nas diferentes áreas de produção na orla mediterrânica, têm sido envidados esforços no sentido de melhorar quer a oliveira quer a produção e a qualidade do azeite. Embora, historicamente, a oliveira seja considerada um árvore bem adaptada a climas secos, como o mediterrânico, a fisiologia da oliveira bem como a produção de azeitona a qualidade e quantidade de óleo são afectadas por situações de seca intensa, o que tem levado a que a cultura da oliveira e a consequente melhoria da produção e da qualidade do azeite sejam hoje melhoradas com recurso à irrigação com água reciclada. Reconhecidas as propriedades nutricionais do azeite, a oliveira (*Olea europaea* L.), tornou-se na sexta mais importante cultivar produtora de óleo a nível mundial, com elevado valor acrescentado, ao que se deve a sua expansão da sua região de origem - bacia do mediterrâneo - onde a área tradicional de cultivo atinge cerca de 95% das plantações mundiais de oliveira, para novas regiões, nomeadamente da Austrália Américas do Norte e do Sul (Argentina, Chile e Estados Unidos) e África do Sul.

O elevado valor económico da oliveira pode ser altamente comprometido devido a diversas doenças e pragas que afectam quer a planta quer os frutos. Dentre as mais severas contam-se as causadas por :- a bactéria *Pseudomonas savastanoi* cuja infecção produz tumores que interrompem a circulação da seiva para a zona apical dos ramos; o fungo *Cycloconium oleaginum* causador de esfoliação e *Verticillium dahliae* destruidor do sistema radicular que, em consequência, afecta o crescimento da planta. O fungo *Capnodium elaeophilum*, crescendo sobre a página superior das folhas, inibe a formação de clorofila o que, por seu turno, reduz a produção de frutos. O

fungo *Macrophoma dalmatica* desenvolve-se sobre os frutos, provocando a sua desidratação com consequente perda de peso do fruto e aumento da acidez do azeite. Quanto ao fungo *Gloeosporium olivarum* ele infecta, de maneira generalizada, o lenho, as folhas e os frutos. A oliveira é sensível a uma panóplia de insectos e outras pragas. Nos Países do Mediterrâneo, a mosca da oliveira (*Dacus oleae*) e a traça da oliveira (*Prays eleaellus*) são os insectos mais comuns que afectam severamente a oliveira na maior parte dos Países produtores de azeitona. Dentre os fitófagos mais importantes citam-se a traça da oliveira (*Prays oleae*), a cochonilha negra (*Saissetia oleae*) e a mosca da azeitona (*Bactrocera olea*). A mosca da azeitona é a maior praga, causando prejuízos muito avultados na produção de azeitona afectando não só a extração e a qualidade do azeite mas também a qualidade da azeitona de mesa com elevadas perdas económicas.

A oliveira é também afectada por factores abióticos tais como geadas tardias, encharcamento, secura ou alterações significativas na humidade e temperatura do ar causadoras de desidratação da extremidade do fruto.

Melhoramento da Oliveira

Ao longo do tempo, foram obtidas novas variedades de oliveira como resultado de cruzamentos espontâneos e dispersão natural dos frutos ou sementes, inter-cruzamentos, mutações genéticas, ou variação somaclonal (para uma revisão ver Rugini *et al.*, 2011). Segundo Peyvandi *et al.* (2010), na cultura *in vitro* da oliveira, a variação somaclonal é superior a 25%. Em 2006 Breton *et al.* desenvolveram variedades específicas locais cruzando populações de *Olea* com genótipos seleccionados segundo o critério dos produtores.

A indústria da oliveira procura novas cultivares mais adequadas às modernas técnicas de cultivo, com produções mais elevadas e com resistências a stresses bióticos e abióticos. Apesar de, na oliveira, o sucesso das hibridações ser condicionado pelas características filogenéticas, morfológicas, cariológicas e fisiológicas desta espécie, novas cultivares têm sido obtidas em Israel e na Itália (Bellini *et al.*, 2008). Dentre as características com maior interesse contam-se:- elevada produção, auto-fertilização, hábito adequado às modernas práticas culturais, resistência a pragas e doenças por fungos e bactérias mais comuns, bem como características organoléticas, facilidade de processamento. No caso de azeitona de mesa, refere-se como exemplo:- baixo teor em óleo, elevada quantidade de açúcares redutores, boa firmeza do mesocarpo (polpa), elevada resistência do epicarpo (pele), cor estável e uniforme,

entre outras. Uma boa cultivar de oliveira deverá produzir frutos grandes, de boa qualidade e facilmente destacáveis, hábito erecto e compacto, ramos fortes, que facilitem a poda e a colheita. Quando está em causa a propagação vegetativa da oliveira, é indispensável que exista uma capacidade de enraizamento elevada seja das cultivares em causa, seja do porta enxertos, quer se trate de oliveiras para produção de azeitona de mesa quer para produção de azeite. A adaptabilidade da oliveira a diferentes tipos de clima e de solos é uma preocupação, quando estão em jogo programas de hibridação da oliveira, visto que as condições ambientais condicionam fortemente a expressão do fenótipo.

Ao pretender implementar programas de hibridação da oliveira há que ter em conta constrangimentos importantes:- (1) A oliveira é uma planta lenhosa perenifolia de ciclo longo; (2) O crescimento dos tubos polínicos só se processa correctamente se a temperatura do ar for adequada - com temperaturas mais baixas os tubos polínicos crescem lentamente e podem não atingir os óvulos ou atingi-los após a sua degenerescência; (3) Temperaturas elevadas inibem a germinação do pólen e retardam ou param o crescimento do tubo polínico (Bartolini e Guerriero, 1995); (4) Condições de secura e temperaturas elevadas diminuem o período de receptividade do estigma (Martin *et al.*, 2005); (5) A maioria dos tubos polínicos, quando no estigma, são inibidos antes de penetrarem o tecido transmissivo do estilete (Ateyyeh *et al.*, 2000); (6) As descendências da oliveira têm um grande período de juvenilidade com a consequente retardamento da expressão das características em avaliação (Rugini *et al.*, 2011).

Engenharia Genética da Oliveira

Quando comparada com os métodos de melhoramento genético tradicionais, a engenharia genética constitui uma ferramenta de eleição para o melhoramento de plantas de plantas. A engenharia genética permite acelerar o desenvolvimento de novos genótipos, por exemplo, com hábito desejado, resistência a pragas e doenças ou com melhores características organoléticas quando se trate de azeitona de mesa (Rugini e Pesce, 2006). A investigação levada a cabo por Rugini (1984) levou ao desenvolvimento de um meio de cultura apropriado para a micropropagação de genótipos de oliveira, etapa crucial para toda a investigação que se lhe sucedeu, em particular nos diferentes países em que a cultura da oliveira tem particular impacto. Dominada a técnica de cultura *in vitro*, rapidamente se seguiu o desenvolvimento de metodologias para a obtenção de protocolos adequados para a obtenção de

embriões somáticos a partir de tecidos jovens de algumas cultivares. Um sem número de dados foram publicados tendo em vista a definição de um protocolo reprodutível para obtenção de embriões somáticos a partir de tecidos jovens de plantas de oliveira (Rugini e Tarini, 1986), (Rugini, 1988), (Grinos e Mitrakos, 1991), (Mitrakos *et al.*, 1992), (Leva *et al.*, 1995) (Rugini e Caricato, 1995), (Lambardi *et al.*, 1999), Peyvandi *et al.* (2001). Só recentemente, Capello *et al.* (2010) desenvolveram um protocolo reprodutível para obtenção de embriões somáticos a partir de tecidos adultos.

A capacidade de obtenção de embriões somáticos é um pré-requisito para a manipulação genética da oliveira. A existência de protocolos reprodutíveis de regeneração a partir de tecidos jovens e adultos são o garante da possibilidade de utilização da manipulação genética no melhoramento da oliveira.

As primeiras tentativas de transformação genética da oliveira por transferência de genes de interesse para embriões zigóticos imaturos da cultivar Moraiolo, mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, datam dos anos 80 (em Rugini e Fedeli, 1990). Nos anos 90 do século XX foi noticiada, em Itália, a obtenção da primeira oliveira transgénica obtida a partir de embriões zigóticos imaturos da cultivar Moraiolo transformados por transferência de genes mediada por *Agrobacterium*.

Embriões somáticos da cultivar Canino foram transformados com os genes heterólogos *rolABC* e *osmotin*, isolados de outras espécies de plantas. As plantas transgénicas obtidas encontram-se em avaliação em ensaios de campo em Itália, tendo em vista a expressão dos genes integrados. No caso do gene *rolABC* está em avaliação o seu efeito na capacidade de enraizamento de estacas, no desenvolvimento do sistema radicular, na estrutura vegetativa e na redução do número de flores por planta (Rugini e Pece, 2006). As oliveiras transgénicas obtidas após transferência do gene *osmotin* (Rugini, 2000) revelaram o papel deste gene na morte celular programada (PCD) associada à aclimação, no bloqueio de mecanismos de sinalização do cálcio induzidos pelo frio, e nas alterações do citoesqueleto relacionadas com a resposta ao frio (D'Angeli e Altamura 2007). As plantas transgénicas nas quais foi integrado o gene *osmotin* que codifica a proteína PR5, relacionada com a patogenicidade estão sendo objecto de estudo para avaliação do efeito da expressão deste gene na tolerância a fungos (D'Angeli e Altamura, 2007).

Continuando as tentativas para obtenção de um protocolo reprodutível de transformação genética da oliveira, Rugini *et al.* (2010) transformaram *calli* embriogénicos

de oliveira, utilizando diferentes estirpes de *Agrobacterium tumefaciens* contendo os plasmídeos binários pBI-NubiGUSint ou pGUSINT para transferência de genes de interesse. Segundo estes autores, de acordo com o protocolo utilizado, foi possível obter frequências de transformação da ordem de 20 a 45% de que resultaram 100 linhas transgênicas independentes, das quais 16 deram origem a plantas. As plantas transgênicas obtidas, após aclimação e crescimento na estufa, mostraram-se fenotipicamente idênticas às plantas mãe a partir das quais foram obtidos os embriões somáticos.

Recentemente, Jafarzadeh-Bajestani *et al.* (2011) numa tentativa de desenvolvimento de um método reprodutível de transformação genética de *Olea europaea* cv. Zard, transformou embriões somáticos desta cultivar com *Agrobacterium tumefaciens* contendo o plasmídeo pBI-P5CS, em que P5CS é um cDNA de *Arabidopsis thaliana*. A transformação e expressão do gene P5CS foram confirmadas pelo teste histoquímico da β -glucuronidase e por análise de PCR (reação de polimerase em cadeia) e de transcrição reversa (RT-PCR). A sobreexpressão do gene P5CS (um gene envolvido na biossíntese da prolina) aumentou 5,9 vezes o conteúdo em prolina livre, comparativamente com as plantas não transformadas, sugerindo que as plantas transformadas com este gene serão mais tolerantes a stresses e apresentarão melhor crescimento em condições osmóticas desfavoráveis. De acordo com os autores, a etapa seguinte é a avaliação da eficiência desta transformação na tolerância a stresses abióticos e na *performance* das oliveiras transgênicas em condições de stress osmótico.

A maioria da experimentação de engenharia genética da oliveira teve como base a transferência de genes mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Contudo Perez-Barranco (2009) desenvolveu um protocolo de transformação utilizando o bombardeamento de partículas para transferência de genes.

O facto de: - o genoma da oliveira não estar sequenciado; de o conhecimento sobre o germoplasma das cultivares de oliveira e das espécies / variedades espontâneas estar longe de estar terminado; de a base genética das características a ser melhoradas ser complexa (Rugini *et al.*, 2011); a informação disponível sobre o genoma, baseada na identificação de ESTs (*expressed sequence tags*) dizer respeito maioritariamente à identificação e caracterização funcional de genes relacionados com alérgenos do pólen (Villalva *et al.*, 2007) e com características da azeitona; uma grande quantidade de genes depositados no banco de genes são genes cloroplastidiais ou mitocondriais, muitos deles codificando enzimas chave do metabolismo

secundário a nível do fruto, nomeadamente, *enoyl-Acyl carrier protein reductase (ear)*, *stearoyl-ACP desaturase*, *6 plastid desaturase (fad6)*, *plastid denaturase (fad7)*, *cytochrome b5 (cyt b5)*, *cytoplasm desaturases (fad2)*, *(fad3)*, *acyl CoA diacylglycerol acyltransferase (DGAT)*, e *oleosin* (Giannoulia *et al.* 2007) constituem obstáculos para a obtenção de genótipos superiores de oliveira. Nos últimos 2 anos, foi analisado um grande número de transcritos utilizando a tecnologia de hibridação subtractiva (SSH) tendo em vista a identificação de genes diferencialmente expressos em diferentes situações e/ou em diferentes cultivares e espécies/variedades espontâneas. O recurso à tecnologia de piro-sequenciação 454 tem permitido a descoberta de diferentes genes e a avaliação do seu padrão de expressão na azeitona (Alagna *et al.* 2009).

As plantas transgênicas existentes foram obtidas por transformação utilizando vectores contendo sequências de genes de uma variedade de espécies vegetais, em particular de *Arabidopsis*. A caracterização de genótipos importantes de oliveira como é o caso da cultivar resistente Bianca de Tirana ou de outras com características de interesse, deverá continuar a ser implementada tendo em vista o isolamento e a caracterização de genes responsáveis por características importantes da oliveira capazes de serem utilizados em programas de melhoramento genético desta importante espécie tendo em vista a obtenção de genótipos melhorados no que se refere a características tais como o hábito vegetativo, a compatibilidade sexual, a tolerância a baixas temperaturas, a resistência a stresses bióticos e abióticos, capazes de acelerar os programas de melhoramento tradicional.

References

- Alagna, F.; D'Agostino, N.; Torchia, L.; Servili, M.; Rao, R.; Pietrella, M.; Giuliano, G.; Chiusano, M.L.; Baldoni, L. and Perrotta, G. (2009) Comparative 454 pyrosequencing of transcripts from two olive genotypes during fruit development. *BMC Genomics*, 10:99-114
- Ateyyeh, A.F.; Stosser, R., and Qrunfleh, M. (2000) Reproductive biology of the olive (*Olea europaea* L.) cultivar 'Nabali Bala-di'. *J. of Appl. Bot. - Angewandte Botanik*. 74: 255-270.
- Bartolini S. and Guerriero, R. (1995) Self-compatibility in several clones of oil olive cv. Leccino. - *Adv. Hort. Sci.*, 9(2): 71-74.
- Bellini, E. Giordani, E. and Rosati, A. (2008) Genetic improvement of olive from clonal selection to cross-breeding programs. *Adv. Hort. Sci.*, 22(2): 73-86
- Breton, C.; Tersi, M. and Berville, A. (2006) Genetic diversity and gene flow between the wild olive (oleaster, *Olea europaea* L.) and the olive: several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats 2713 analysis. *J. Biogeogr* 33:1916-1928
- Capelo, A.; Silva S.; Brito, G. and Santos, C. (2010) Somatic embryo- genesis induction in leaves and petioles of a mature wild olive. *Plant Cell Tiss Org Cult.* Vol.103 (2), 237-242,
- D'Angeli, S. and Altamura, M. M. (2007) Osmotin induces cold protection in olive trees by affecting programmed cell death and cytoskeleton organization. *Planta* 225:1147-1163
- Galla, G.; Barcaccia, G.; Ramina, A.; Alagna, F.; Baldoni, L.; Cultrera, N.G.M.; Martinelli, F. Sebastiani, L.; Tonutti P (2009) Computational annotation of genes differentially expressed along olive fruit development. *BMC Plant Biol* 9:128
- Giannoulia, K.; Haralampidis, K.; Poghosyan Z.; Murphy, D.J. and Hatzopoulos, P. (2000) Differential expression of diacylglycerol acyltransferase (DGAT) genes in olive tissues. *Biochem Soc Trans* 28:695-697
- Jafarzadeh-Bajestani, M.; Khodai-Kalaki, M.; Motamed, N. and Noorayin, O. (2011) Genetic transformation of olive somatic embryos through *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of transgenic plants *African J. of Biotech.*, 10(28) : 5468-5475
- Lambardi, M.; Amorosi, S.; Caricato, G.; Benelli C.; Branca, C. and Rugini, E. (1999) Microprojectile-DNA delivery in somatic embryos of olive (*Olea europaea* L.). *Acta Hort* 474:505-509
- Leva AR, Muleo R, Petrucci R (1995) Long-term somatic embryogenesis from immature olive cotyledons. *J Hort* 70:417-421
- Mitrakos K.; Alexaki, A. and Papadimitriou, P. (1992) Dependence of olive morphogenesis on callus origin and age. *J Plant Physiol* 139:269-273
- Pérez-Barranco, G.; Torreblanca, R.; Padilla, I. M.G.; Sánchez-Romero, C.; Pliego-Alfaro, F. and Mercado, J.A. (2009) Studies on genetic transformation of olive (*Olea europaea* L.) somatic embryos: I. Evaluation of different aminoglycoside antibiotics for nptII select ion; II. Transient transformation via particle bombardment, *Plant Cell Tissue Org. Culture*, 97: 243-251
- Peyvandi M.; Dadashian, A.; Ebrahimzadeh, H. and Majd, A. (2001) Embryogenesis and Rhizogenesis in mature zygotic embryos of olive (*Olea europaea* L.) cultivar: mission and kroneiki. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran.*, 12(1): 9-15
- Peyvandi, M.; Farahzadi, H.N.; Arbabian, S.; Noormohammadi, Z. and Hosseini-Mazinani, M. (2010) Somaclonal Variation Among Somatic-Embryo Derived Plants of *Olea europaea* L "cv. Kroneiki" *Adv. Hort. Sci.*, 2008 22(2): 73-86,
- Rugini, E., (1984) In vitro propagation of some olive cultivars with different root-ability and medium development using analytical data from developing shoots and embryos. *Scientia Horticulture* 24:123-134.
- Rugini, E., (1988) Somatic embryogenesis and plant regeneration in Olive (*Olea europaea* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 14, 207-214.
- Rugini E.; Biasi, R.; Muleo, R. (2000), Olive (*Olea europaea* var. *sativa*) Transformation. In: *Molecular Biology of Woody Plants* Vol. 2. S.M. Jain and S.C. Minocha (eds), Kluwer Academic Publishers, pp 245-279
- Rugini, E. and Caricato G., (1995), Somatic embryogenesis and plant 3306 recovery from mature tissues of olive cultivars (*Olea europaea* L.) "Canino" and "Moraiolo". *Plant Cell Rep* 14: 257-260
- Rugini, E. ; De Pace, C.; Gutiérrez-Pesce, P. and Muleo, R., (2011) Olea, C. Kole (ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Temperate Fruits*, Chap. 5, DOI 10.1007/978-3-642-16057-8_5, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Rugini E. and Fedeli E. (1990) Legumes and oilseed crops I. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 10. Springer, Y.P.S. Bajaj (ed) Berlin Heidelberg New York, pp. 593-641.
- Rugini E.; Gutiérrez-Pesce P, Muleo R (2008) Olive. In: Kole C, Hall TC (eds) *Compendium of transgenic crop plants, Transgenic temperate fruits and nuts*, vol 4, pp 233-258, Blackwell, Oxford, UK,
- Rugini, E. and Gutiérrez Pesce P. (2006) Genetic improvement of olive, *Pomologia Croatia*, Vol. 12: 43-74
- Rugini E., Mencuccini M., Biasi R., Altamura M. M. (2005) Olive (*Olea europea* L.), In *Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants*, pp 345-360. (S. Mohan Jain and Pramod K. Gupta eds) vol 77. Springer printed in the Netherlands (Berlin, Heidelberg, New York).
- Rugini, E. and Tarini, P., (1986), Somatic embryogenesis in olive (*Olea europaea* L.). In: Moet Hennessy (Ed.), *Proceedings Conference Fruit Tree Biotechnology - Paris (France)*. p.62.
- Torreblanca, R.; Cerezo, S.; Palomo-Rios, E.; Meracdo, J.A. and Pliego-Alfaro, F., (2010) Development of a high throughput system for genetic transformation of olive (*Olea europaea* L.) plants, *Plant Cell Tissue Org. Culture*, 103:61-69