



**V** Simpósio  
Nacional de  
*Olivicultura*

Santarém 2009

2011



Associação  
Portuguesa de  
Horticultura

Escola Superior  
Agrária  
[IPSantarém]



**Ficha Técnica:**

**Título:** V Simpósio Nacional de Olivicultura

**Colecção:** Actas Portuguesas de Horticultura, n.º 14

**Editor:** ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE HORTICULTURA

Rua da Junqueira, 299, 1300-338 Lisboa

**Autores:** vários

**Coordenação:** Albino Bento e Nuno Geraldês Barba

**Tiragem:** 200 exemplares

**ISBN:** 978-972-8936-06-8

# V Simpósio Nacional de Olivicultura

## Organização

Associação Portuguesa de Horticultura  
Escola Superior Agrária – Instituto Politécnico de Santarém

## Comissão Organizadora

Nuno Geraldês Barba (ESA/IPS)  
Alberto Vargues (APH/INRB, IP/INIA)  
Albino António Bento (ESA/IPB; APH)  
Ana Paula Jacob (ESA/IPS)  
Cidália Peres (INRB, IP/INIA)  
Jorge de Castro (SCAP)  
Leonilde Santos (INRB, I.P./L-INIA)  
Luís Nunes Fortunato (ESA/IPS)  
Maria de Fátima Quedas (ESA/IPS)  
Susana Sasseti (AAR)  
Teresa Zacarias (Casa do Azeite)

## Comissão Científica

Albino António Bento (ESA/IPB; APH)  
Anacleto Pinheiro (UE)  
Antero Martins (ISA)  
António Cordeiro (INRB, I.P./L-INIA)  
António Ramos (ESACB)  
Arlindo Almeida (ESA/IPB)  
Augusto Peixe (UE)  
Ivone Clara (UE)  
João Mendes (ESAS)  
José Gouveia (ISA)  
Laura Monteiro Torres (UTAD)  
Lúcio Santos (UE)  
Maria Dulce Brito (INRB, I.P./L-INIA)  
Maria Teresa Carvalho (INRB, I.P./L-INIA)  
Mariana Matos (Casa do Azeite)  
Pedro Fevereiro (ITQB/FCL)  
Pedro Jordão (INRB, I.P./L-INIA)

## Secretariado

Escola Superior Agrária – Instituto Politécnico de Santarém  
Associação Portuguesa de Horticultura

**Apoio:**

**FCT** Fundação para a Ciência e a Tecnologia  
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR

## Índice

Prefácio.....	1
<b>ECOFISIOLOGIA, RECURSOS GENÉTICOS E MELHORAMENTO</b>	
Efeito da rega parcial da raiz na eficiência do uso da água, na produtividade fotossintética e no crescimento de oliveiras jovens ( <i>Olea europaea</i> L.).....	3
<i>J.N. Semedo, C. Ribeiro, J. Balsemão, P. Campos, V. Quartin &amp; M.C. Matos</i>	
Resultados preliminares relativos à quantificação dos níveis endógenos de auxinas e à actividade das enzimas oxidativas, durante o enraizamento de dois cultivares de oliveira ( <i>Olea europaea</i> L.) ‘Galega vulgar’ e ‘Cobrançosa’ .....	13
<i>A. Peixe, A. Antunes, H. Hegewald, C. Costa &amp; A.P. Pinto</i>	
Caracterização do vingamento da azeitona em cultivares de oliveira em autopolinização.....	23
<i>A.M. Cordeiro, P.C.S. Martins, A. Ramos &amp; P. Sequeira</i>	
Estudo preliminar dos efeitos do aquecimento global sobre a floração da oliveira em Portugal .....	31
<i>J.P. Melo-Abreu, A.M. Cordeiro, B.M. Rogado, V. Cabrinha &amp; A.M. Ramos</i>	
Avaliação da viabilidade e germinação do pólen de 20 variedades de <i>Olea europaea</i> L. cultivadas em Portugal.....	39
<i>H. Ribeiro, L. Calado, M. Cunha &amp; I. Abreu</i>	
<b>SISTEMAS E TÉCNICAS CULTURAIS</b>	
Efeito da manutenção do solo na produção e crescimento das árvores em olivais de sequeiro.....	48
<i>M.A. Rodrigues, J.I. Lopes, F.M. Pavão &amp; M. Arrobas</i>	
Contribuição para definir a estratégia de poda num olival tradicional da região de Moura.....	56
<i>A.B. Dias, A. Pinheiro, I. Piçarra, M. Figueira, F. Borges &amp; J.O. Peça</i>	
Resultado preliminar da aplicação da poda mecânica num olival da variedade Arbequina conduzido em sebe.....	65
<i>A.B. Dias, A. Pinheiro &amp; J.O. Peça</i>	
Mecanização da colheita responde aos desafios dos novos e velhos olivais .....	74
<i>A. Almeida</i>	
Maneio do olival em sebe – 10 anos de experiência.....	81
<i>F. Mestre</i>	

## **PROTECÇÃO SANITÁRIA DA OLIVEIRA**

Artrópodes predadores associados à oliveira no Planalto Mirandês .....92  
*S.A.P. Santos, J.A. Pereira & A. Bento*

Estudo da entomofauna auxiliar em pomares de oliveira no Algarve .....98  
*M.A. Gonçalves & L. Andrade*

Eficácia de armadilhas Olike na captura em massa de mosca-da-azeitona (*Bactrocera oleae*) em olivais em agricultura biológica na Beira Interior Sul.. 101  
*J. Coutinho, M.C. Amaro-Silva, F. Outão, C. Gouveia, C. Vitorino, L. Henriques, J.P. Luz & F. Peres*

## **TECNOLOGIA, QUALIDADE E MERCADOS**

Azeitona de mesa em Portugal, valor nutricional e perspectivas para novas utilizações..... 109  
*A. Delgado, L. Catulo, C.M. Peres & C. Peres*

Antioxidantes em azeites 'Galega' e 'Azeiteira' provenientes de frutos obtidos em duas épocas de colheita ..... 120  
*F. Peres, A. Nunes, C. Vitorino, C. Gouveia & L. Henriques*

Valorização das águas ruças – Identificação de compostos antioxidantes ..... 127  
*S.I. Falcão, A.M. Peres, M.R.M. Domingues & S.M. Cardoso*

Valorização do bagaço de azeitona por compostagem, para utilização agrícola ..... 133  
*L. Coelho, C. Portela, A. Cravo & M. Reis*

Influência da fertilização sobre os teores de polifenóis, esteróis e ceras de azeites de seis cultivares de oliveira existentes em Portugal ..... 141  
*M.E. Marcelo, J.I. Lopes, F.M. Soares, M.S.L. Centeno, A.M. Cordeiro, P.M. Vasconcelos & P.V. Jordão*

Aplicação de microtalco natural na extracção de azeites monovarietais ..... 151  
*D. Pita, M.C. Vitorino, C. Gouveia & F. Peres*

## **ANEXO**

Lista de participantes ..... 159

Patrocinadores ..... 166

## Prefácio

O **Simpósio Nacional de Olivicultura** é um evento que reúne toda a fileira oleícola nacional e destaca-se como principal fórum de intercâmbio técnico-científico dos agentes ligados ao sector. O *V Simpósio Nacional de Olivicultura*, na sequência dos quatro anteriormente realizados em distintas regiões olivícolas portuguesas, teve como grande objectivo divulgar os últimos progressos técnico-científicos, constituindo-se como o principal fórum de discussão, a nível nacional, em que professores, investigadores, técnicos e profissionais do sector, apresentam e discutem os resultados dos seus trabalhos, o que se espera que contribua, para uma mais esclarecida e fundamentada tomada de decisão, por parte de todos os utilizadores ao longo da fileira, num contexto internacional de profundas mudanças, ao nível da olivicultura e do mercado do azeite. Os trabalhos apresentados no *V Simpósio Nacional de Olivicultura* foram repartidos pelas seguintes sessões temáticas: Ecofisiologia Recursos Genéticos e Melhoramento; Sistemas e Técnicas Culturais; Protecção Sanitária da Oliveira; Tecnologia, Qualidade e Mercados.

A Edição n.º 14 das Actas Portuguesas de Horticultura é dedicada exclusivamente ao *V Simpósio Nacional de Olivicultura*, realizado nos dias 24 a 26 de Setembro de 2009, na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico Santarém. Nela constam um total de 19 comunicações apresentadas e debatidas durante o evento, sob as formas de comunicações orais ou em panel.

A realização do *V Simpósio Nacional de Olivicultura* só foi possível graças ao empenho de uma vasta e diversificada equipa. Assim, a todos os membros da Comissão Organizadora, da Comissão Científica, palestrantes convidados, autores de todas as comunicações, às instituições que de forma directa ou indirecta apoiaram e patrocinaram a realização do *V Simpósio Nacional de Olivicultura*, endereçamos os nossos sinceros agradecimentos.

Albino Bento  
Nuno Barba

# **Ecofisiologia, Recursos Genéticos e Melhoramento**

## **Efeito da rega parcial da raiz na eficiência do uso da água, na produtividade fotossintética e no crescimento de oliveiras jovens (*Olea europaea* L.)**

J.N. Semedo<sup>1</sup>, C. Ribeiro<sup>1</sup>, J. Balsemão<sup>1</sup>, P. Campos<sup>1</sup>, V. Quartim<sup>2</sup> & M.C. Matos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Recursos Biológicos, IP / L- Instituto Nacional de Investigação Agrária. Av. da República 2784-505 Oeiras, Portugal, jose.semedo@inrb.pt

<sup>2</sup>Universidade José Eduardo dos Santos, Huambo, Angola

### **Resumo**

O presente trabalho pretende avaliar o efeito do comportamento ecofisiológico da 'Azeiteira', em diferentes condições de disponibilidade hídrica, em particular sujeita a um sistema de rega parcial da raiz (PRD). Compararam-se os efeitos ligados ao estado hídrico, à produtividade fotossintética e ao crescimento de oliveiras jovens cultivadas em estufa. No ensaio utilizaram-se plantas envasadas com três anos, cujo sistema radicular foi dividido em duas partes completamente isoladas uma da outra. Foram consideradas três modalidades de rega. A modalidade controlo (FI) foi regada com uma dotação correspondente a 90% da capacidade de campo (CC), tendo as plantas recebido igual quantidade de água nos dois lados da raiz. A modalidade PRD<sub>(50)</sub> recebeu rega correspondente a 50% da CC em cada um dos lados da raiz alternadamente, ficando entre regas um lado em seca. Por último, na modalidade DI<sub>(50)</sub>, ambos os lados foram igualmente regados com um total correspondente a 50% da CC. As determinações foram realizadas dois meses após o início do ensaio. Os tratamentos de rega reflectiram-se nos valores de potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) diurno, que foram significativamente menores nas modalidades menos regadas. No que se refere ao comportamento estomático, verificou-se que durante a primeira determinação da manhã (8:00 h) não existiram diferenças entre FI e PRD<sub>(50)</sub>. Observou-se em todas as modalidades uma redução progressiva até ao início da tarde, apresentando as menos regadas valores significativamente inferiores à modalidade FI. Encontraram-se diferenças significativas na evolução diurna das taxas de fotossíntese entre as modalidades FI e DI<sub>(50)</sub>, e FI e PRD<sub>(50)</sub> por outro, tendo estas últimas um comportamento semelhante, mostrando um decréscimo significativo até ao meio dia, seguido de uma recuperação até ao final da tarde. Do cálculo da eficiência do uso da água (WUE), verificou-se que a FI foi a mais eficiente durante a manhã sendo no entanto superada pela PRD<sub>(50)</sub> no final da tarde em que as condições atmosféricas foram mais amenas. Não se encontraram diferenças no teor de pigmentos fotossintéticos e no índice de dano, o que poderá sugerir que as alterações observadas no comportamento fotossintético possam ser atribuídas ao controlo estomático ou a algum processo reversível

de fotoinibição. Da análise de crescimento salienta-se um decréscimo significativo do número e área total das folhas nas modalidades menos regadas.

**Palavras-chave:** condutância estomática, eficiência do uso da água, fotossíntese, oliveira, rega.

## **Abstract**

### **Effect of partial root drying on water use efficiency, photosynthetic productivity and growth of young olive trees (*Olea europaea* L.)**

This work presents the effect of different water availability conditions, in particular partial root drying (PRD), on the ecophysiological behaviour of 'Azeiteira'. The effects on water status, photosynthetic productivity and growth of young olive trees, grown in greenhouse, will be evaluated. The root system of three years old potted plants was separated in two parts completely isolated from one another. Three irrigation treatments were considered. In control (FI), plants were watered frequently (90% of field capacity (FC)) with equal amount of water on both sides of the root. In PRD system (50% the FC), plants received alternate irrigation in each side of the root (leaving one side alternating without irrigation). In DI treatment (50% FC), both sides were watered only with a total of 50% of FC. Ecophysiological determinations were performed two months after the beginning of the experiment. Daily leaf water potential ( $\Psi_w$ ) of the less watered treatments showed significant lower values than control plants. As regards stomatal behaviour, in the morning (8:00 h) there were no differences between FI and PRD. A progressive reduction was observed in all treatments until the early afternoon when DI showed significantly lower values than FI. Significant differences in diurnal net photosynthesis rates were found between FI and both DI<sub>(50)</sub> and PRD<sub>(50)</sub>. A similar pattern was evident in the three treatments, showing a significant decrease throughout the day, followed by a recovery in the evening. Stomatal conductance also showed a recovery in the afternoon. Concerning water use efficiency (WUE), it was found that FI was the most efficient in the morning but was overcome by PRD<sub>(50)</sub> in the late afternoon when evaporative demand was lower. There were no differences in the content of photosynthetic pigments or membrane damage degree, which may suggest that the observed changes in photosynthetic performance can be ascribed to stomatal control or to reversible photoinhibition processes. According to growth analysis, the number and total area of leaves significantly decreased in less watered treatments.

**Keywords:** stomatal conductance, water use efficiency, photosynthesis, olive tree, irrigation.

## Introdução

Nos últimos anos, Portugal tem sido afectado por períodos de seca cada vez mais frequentes. A precipitação média anual atinge com frequência apenas 50% dos níveis habituais, tendendo a aumentar o número de dias com temperaturas iguais ou superiores a 35°C é em muitos anos elevado (Tomato News, 2003). Temperaturas elevadas associadas a longos períodos de seca são uma das principais limitações à actividade agrícola, reflectindo-se nas produções e na qualidade dos produtos. A optimização de técnicas de irrigação é um aspecto crucial para o desenvolvimento de práticas agrícolas sustentáveis. Nos sistemas agrícolas actuais, pretendem-se optimizar os diferentes recursos, bem como minimizar os impactes ambientais provocados por esta actividade, o que passa pela utilização de técnicas mais eficientes no uso da água. Esta necessidade torna-se ainda mais premente nas regiões sujeitas a escassez de água e a temperaturas elevadas, que caracterizam a grande maioria dos olivais das regiões mediterrânicas, causando forte declínio nas produções, principalmente devido ao decréscimo dos valores das taxas de fotossíntese (Lawlor, 1995). Dependendo da severidade do stress hídrico, diferentes componentes do processo fotossintético podem ser afectados. A seca causa o fecho rápido dos estomas, o que resulta na diminuição da perda de água por transpiração, mas também na redução da concentração de CO<sub>2</sub> interno da folha. Em resultado disso podem ocorrer danos nos processos foto e bioquímicos primários (Cornic & Massacci, 1996). O impacte do deficit hídrico na qualidade e quantidade de frutos tem sido largamente estudado para inúmeras espécies. Tem-se verificado que pequenas quantidades de água administradas na rega, em olivais de sequeiro de baixa densidade, produzem importantes acréscimos na produção, em especial quando são aplicados em momentos críticos ou em anos de muito baixa pluviometria (Boteta et al., 2007). Nalguns casos, podem-se encontrar também relações positivas entre uma seca ligeira e a qualidade dos frutos (Pickering et al., 2002). Actualmente, os agricultores apostam na irrigação mais eficiente, não só para garantir rendimentos favoráveis, mas também para proteger as suas empresas agrícolas dos riscos elevados que advêm da seca (Ferrerres & Evans, 2006). Nos últimos anos, a técnica da seca parcial das raízes (PRD) tem sido estudada como um meio de economizar água na agricultura em ambientes semi áridos (Souza et al., 2005, Wahbi et al., 2005, Aganchich et al., 2008). As partes temporariamente secas da raiz emitem um sinal, o ácido abscísico, que é transportado através do fluxo transpiratório para os ramos (Davies et al., 2000), alterando a sua fisiologia, induzindo uma redução na abertura dos estomas e um decréscimo na taxa de expansão foliar (Crocker et al., 1998; Sauter et al., 2001; Kang & Zhang, 2004).

A oliveira pode apresentar três estratégias de adaptação a condições de stresse hídrico: (i) baixando o teor hídrico e o potencial hídrico dos tecidos, ficando assim a planta em condições de criar um gradiente elevado de potencial entre as folhas e as raízes, levando à melhor absorção da pouca água existente; (ii) a árvore abranda o crescimento da copa, mas não a sua actividade fotossintética em condições de seca, continuando assim a produção e a

acumulação de fotoassimilados em partes distintas da planta, em especial nas raízes, levando ao aumento da área de absorção; (iii) ajuste osmótico da folha, mantendo a turgescência das células e preservando a actividade das mesmas (Xiloyannis et al., 1999). Pensa-se que o sistema de rega parcial da raiz (PRD), já testado noutras culturas, poderá permitir o gasto moderado de água sem perturbar os processos fisiológicos e conseqüentemente a produção. Na cultura da vinha, observou-se que a técnica de PRD reduziu efectivamente o vigor vegetativo da vinha e aumentou a qualidade do fruto sem ter afectado a produção, tendo ainda aumentado a eficiência do uso da água da cultura (Loveys, 1991; Loveys et al., 2000).

Este trabalho teve como objectivo estudar, com recurso a diferentes indicadores fisiológicos, o comportamento de oliveiras jovens de 'Azeiteira' em diferentes condições de disponibilidade hídrica. Esta cultivar, embora seja considerada de fraco rendimento em azeite e pobre em ácido linoleico, é de elevado interesse económico para o país, pela sua utilização em conserva industrial ou caseira.

## Material e Métodos

### *Material vegetal e Delineamento experimental:*

Foram utilizadas plantas de *Olea europaea* L., 'Azeiteira' provenientes do L-INIA (Elvas), com ano e meio de idade. O ensaio experimental decorreu em condições de estufa, no L INIA/Oeiras (ex EAN). A cultura foi instalada em 22 vasos com aproximadamente 15 L de capacidade. Utilizou-se como substrato uma mistura de turfa e areia (3:1). O sistema radicular de cada planta foi dividido em duas partes iguais e introduzido em dois sacos de plástico dispostos lado a lado dentro de um vaso (fig. 1). Utilizou-se um sistema de rega localizada do tipo aspersão. Após a intervenção nas raízes, as plantas foram deixadas a recuperar durante cerca de um mês, sendo regadas duas vezes por semana.

### *Regimes hídricos:*

Foram considerados três regimes de rega: FI, PRD e DI. Em FI (rega completa), manteve-se o nível de água no solo, acima dos 90% da capacidade de campo (água utilizável do solo), recebendo as plantas igual quantidade de água nos dois lados. Em PRD (rega parcial), o nível de rega é de 50% da capacidade de campo, sendo a rega aplicada alternadamente apenas num dos lados da raiz. Em DI (deficit hídrico), as plantas foram regadas a 50% da capacidade de campo nos dois lados da raiz.

O estado hídrico das plantas foi determinado pelo potencial hídrico foliar ( $\psi_w$ ), medido na 3.<sup>a</sup> folha de um ramo de cada planta, utilizando para o efeito a câmara de pressão de acordo com o método de Scholander et al. (1965). As determinações foram realizadas em condições de sol descoberto, tendo-se iniciado na pré-alvorada (5:00 h) e prolongando-se durante o dia até ao fim da tarde (18:00 h).

#### *Determinação da capacidade de campo:*

A capacidade de campo dos vasos (CC) foi determinada de acordo com o descrito por Matos et al. (1983), tendo consistido na pesagem dos vasos 24 horas após terem sido regados até à escorrência e deixados à sombra. Esta pesagem corresponde aos 100% de CC, ou seja, a capacidade máxima de hidratação que o substrato admite.

Determinação de trocas gasosas de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O: Foram determinados os valores de condutância estomática (g<sub>s</sub>) e as taxas de fotossíntese líquida (P<sub>n</sub>), em condições de 1100 μmoles m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de radiação fotossinteticamente activa e a 25°C, usando um analisador de gás por infra-vermelhos (IRGA, Infra Red Gas Analyser) portátil (LI-COR modelo LI-6400, Lincon, USA). As determinações foram acompanhando a monitorização do potencial hídrico foliar, mas tendo-se iniciado apenas a partir das 8:00 h.

#### *Determinação do teor de pigmentos fotossintéticos da folha:*

As clorofilas e carotenóides foram extraídas de discos foliares com metanol, a frio (4°C), durante 24 h e o seu conteúdo determinado espectrofotométricamente, de acordo com o método de Lichtenthaler (1987).

#### *Índice de dano membranar:*

O índice de dano membranar foi quantificado pelo método da fuga de electrólitos, como descrito em Campos et al. (2003). Os discos foliares retirados das plantas sujeitas aos diferentes regimes hídricos são colocados em água desionizada e a condutividade da água é monitorizada durante algumas horas com um condutímetro. O índice de dano (I%) é calculado em função da condutividade total das amostras após aquecimento a 90°C durante 2 horas.

#### *Determinação da área foliar:*

A área foliar (AF) foi determinada utilizando um medidor automático de área foliar (Mk2, Delta T Device, Inglaterra).

#### *Análise estatística:*

Os resultados foram analisados estatisticamente por meio do programa Statistix 9 (2008), da Analytical Software. Para comparação das médias foi aplicado o teste LSD, considerando um nível de confiança de 95%.

## **Resultados e Discussão**

Os tratamentos de rega reflectiram-se nos valores de potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) diurno, que foram significativamente menores nas modalidades menos regadas (fig. 2). Contudo, não houve diferenças significativas entre os tratamentos de deficit hídrico e de rega parcial das raízes. Os valores de ( $\Psi_w$ ) das plantas controlo variaram entre -0,3 MPa às 5:00 h e -1,45 MPa às 12:00 h, mantendo-se depois em valores ca. -1,0 MPa até ao final da tarde. Nos dois restantes tratamentos, os valores de  $\Psi_w$  foram significativamente inferiores àqueles e não diferiram entre si. Variaram entre -1,21 MPa às 5:00 h e -4,20 MPa às 12:00 h e -1,35 MPa na pré-alvorada e -4,28 MPa às 16:00 h, em PRD e

DI, respectivamente. A diferença da disponibilidade hídrica do solo entre os tratamentos foi evidenciada nos valores do potencial hídrico basal (medido na pré alvorada). Os valores do potencial hídrico basal das plantas do controlo foram semelhantes aos publicados por Maia et al. (2007) noutras cultivares de oliveira.

No que se refere ao comportamento estomático (fig. 2), verificou-se que durante a primeira determinação da manhã (8:00 h) não existiram diferenças entre FI e PRD<sub>(50)</sub>, sendo a condutância estomática de DI inferior à daqueles tratamentos. Observou-se em todas as modalidades uma redução progressiva, tendo PRD atingido o seu mínimo às 14:00 h, antes dos restantes tratamentos. Às 16:00 h todos os tratamentos apresentaram uma redução máxima. Mais tarde, quando as condições meteorológicas se apresentavam mais amenas observou-se um aumento na condutância estomática em todas as modalidades, sendo superior em DI e FI. O encerramento estomático, a meio do dia, em espécies lenhosas mediterrânicas tem sido referido por vários autores (Tenhunen et al., 1987; Angelopoulos et al., 1996). Encontraram-se diferenças significativas na evolução diurna das taxas de fotossíntese entre a modalidade FI e as de DI<sub>(50)</sub> e PRD<sub>(50)</sub>. DI<sub>(50)</sub>, e PRD<sub>(50)</sub> apresentam um comportamento semelhante, mostrando um decréscimo significativo ao longo do dia, até ao meio dia, seguido de uma recuperação progressiva até ao final da tarde, altura em que se aproximam ou ultrapassam os valores do início da manhã. Entre as 10:00 e as 15:00 h, a fotossíntese líquida das plantas sujeitas a estes dois tratamentos tomou valores negativos, o que indica que as taxas de fotossíntese são superadas pelas da respiração. Nas plantas do controlo, a fotossíntese líquida foi sempre positiva, apesar da redução ocorrida ao meio dia. Do cálculo da eficiência do uso da água (WUE), verificou-se que as plantas sujeitas a FI foram as mais eficientes durante toda a manhã. A partir das 14:00 h e até às 16:00 h, a WUE aumentou em todos os tratamentos, tendo o tratamento PRD<sub>(50)</sub> tomado os valores mais elevados, que se mantiveram até ao final da tarde. Verificou-se uma maior eficiência de tarde, em todos os tratamentos, que se pode atribuir às condições atmosféricas mais amenas, e ao facto dos estomas estarem parcialmente fechados, o que contribuiu para que a transpiração sofresse uma redução, não observável na fotossíntese. Também Souza et al. (2005) detectaram um aumento diurno da WUE e valores mais elevados no tratamento PRD na casta moscatel de videira quando comparados com tratamentos com rega plena e com défice hídrico. Os tratamentos de défice hídrico não afectaram o teor de pigmentos fotossintéticos nem provocaram danos membranares, já que o índice de dano foi idêntico em todos os tratamentos (fig. 3). Estes resultados poderão sugerir que as alterações observadas no comportamento fotossintético possam ser atribuídas ao controlo estomático ou a processos de fotoinibição reversíveis. Da análise de crescimento (fig. 3), salienta-se um decréscimo significativo (relativamente ao controlo) do número médio de folhas (30% em PRD e 43% em DI) e na área total média das folhas (37% em PRD e 75% em DI).

De acordo com as dotações administradas podemos concluir que se conseguiu uma economia substancial de água.

O stresse hídrico imposto pelo PRD afectou menos o número médio de folhas e área total média das folhas do que o DI.

O peso seco das folhas e o tamanho médio do primeiro ramo não sofreram alterações devido aos tratamentos PRD e DI.

O stresse hídrico imposto pelos tratamentos PRD e DI não provocou danos membranares nem reduziu os pigmentos fotossintéticos.

Os efeitos na produção serão avaliados em próximos ensaios.

Um stresse hídrico menos forte no sistema PRD poderá melhorar a eficiência do uso da água ao longo do dia.

## **Agradecimentos**

Este ensaio foi realizado no âmbito da Cooperação bi-lateral Portugal Tunísia (Programa da FCT TP/2006/27 para a Cooperação entre países).

## **Referências**

- Aganchich, B., Antari, A.E., Wahbi, S., Tahy, H., Wakrima, R. & Serraj, R. 2008. Fruit and oil quality of mature olive trees under partial rootzone drying in field conditions. *Grasas y Aceites*, 59:225-233.
- Angelopoulos, K., Dichio, B. & Xiloyannis, C. 1996. Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea* L.) during water stress and rewatering. *Journal of Experimental Botany*, 47:1093-1100.
- Campos, P.S., Quartin, V.L., Ramalho, J.C. & Nunes, M.A. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of Plant Physiology*, 160:283-292.
- Cornic, G. & Massacci, A. 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In: *Photosynthesis and the Environment*. Kluwer Academic Publishers, N.R. Baker (ed.), Dordrecht-Boston-London, 347-366.
- Crocker, J.L., Witte, W.T. & Auge, R.M. 1998. Stomatal sensitivity of six temperate, deciduous tree species to non-hydraulic root-to-shoot signalling of partial soil drying. *J. Exp. Bot.*, 49:761-774.
- Davies, W.J., Bacon, M.A., Thompson, D.S., Sobeih, W. & Rodriguez, L.G. 2000. Regulation of leaf and fruit growth in plants growing in drying soil: exploitation of the plants' chemical signalling system and hydraulic architecture to increase the efficiency of water use in agriculture. *J. Exp. Bot.*, 51:1617-1626.
- Fereres, E. & Evans, R.G. 2006. Irrigation of fruit and vines: an introduction. *Irrig Sci.*, 24:55-57.
- Kang, S. & Zhang, J. 2004. Controlled alternate partial root-zone irrigation: its physiological consequences and impact on water use efficiency. *Journal of Experimental Botany, Water-Saving Agriculture Special Issue*, 55, No. 407:2437-2446.

- Lawlor, D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. In: Environment and Plant Metabolism. Flexibility and Acclimation. Bios Scientific Publisher, N. Smirnoff (ed), Oxford, 129-160.
- Loveys, B.R. 1991. What use is knowledge of ABA physiology for crop improvement. Environmental Plant Biology. Physiology and Biochemistry of Abscisic Acid, Bios Scientific Publishers, Oxford, 245-259.
- Loveys, B.R., Dry, P.R., Stoll, M. & McCarthy, M.G. 2000. Using plant physiology to improve the water use efficiency of horticultural crops. Act Hort., 537:187-199.
- Maia, J., Boteta, L. & Guerreiro, C. 2007. Estudo da adaptabilidade ao sistema produção superintensivo em *Olea europaea* L., cvs. Galega Vulgar e Cobrançosa. Congresso nacional de rega e drenagem - Fundação, 26, 27 e 28 de Junho de 2007.
- Matos, M.C., Nunes, M.A. & Dias, J. 1983. A oportunidade da rega. Estudos sobre índices fisiológicos. Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade e Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícola.
- Matos, M.C., Campos, P.S., Ramalho, J.C., Medeira, M.C., Maia, M.I., Semedo, J.M., Marques, N.M. & Matos, A. 2002. Photosynthetic activity and cellular integrity of the Andean legume *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi under heat and water stress. Photosynthetica, 40:493-501.
- Sauter, A., Davies, W. J. & Hartung, W. 2001. The long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. J. Exp. Bot., 52:1991-1997.
- Souza, C.R., Maroco, J.M., Santos, T.P., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., Pereira, J.S. & Chaves, M.M. 2005. Impact of deficit irrigation on water use efficiency and carbon isotope composition ( $\delta^{13}C$ ) of field-grown grapevines under Mediterranean climate. Journal of Experimental Botany, 56:2163-2172.
- Tenhunen, J.D., Pearcy, R.W. & Lange, O.L. 1987. Diurnal variations in leaf conductance and gas exchange in natural environments. In: Stomatal Function (eds E. Zeiger, G. D. Farquhar & R. Cowan), Stanford University Press, Stanford, p. 323-351.
- Tomato News, 2003. Setembro 2003. [www.tomatonews.com](http://www.tomatonews.com).
- Wahbi, S., Wakrim, R., Aganchich, B., Tahi, H. & Serraj, R. 2005. Effects of partial rootzone drying (PRD) on adult olive tree (*Olea europaea*) in field conditions under arid climate - I. Physiological and agronomic responses. Agriculture Ecosystems & Environment, 106:289-301.
- Xiloyannis, C., Dichio, B., Nuzzo, V. & Celano, G. 1999. Defence strategies of olive against water stress. Acta Hort., 474:423-426.



Figura 1 - Divisão do sistema radicular de cada planta em duas partes.

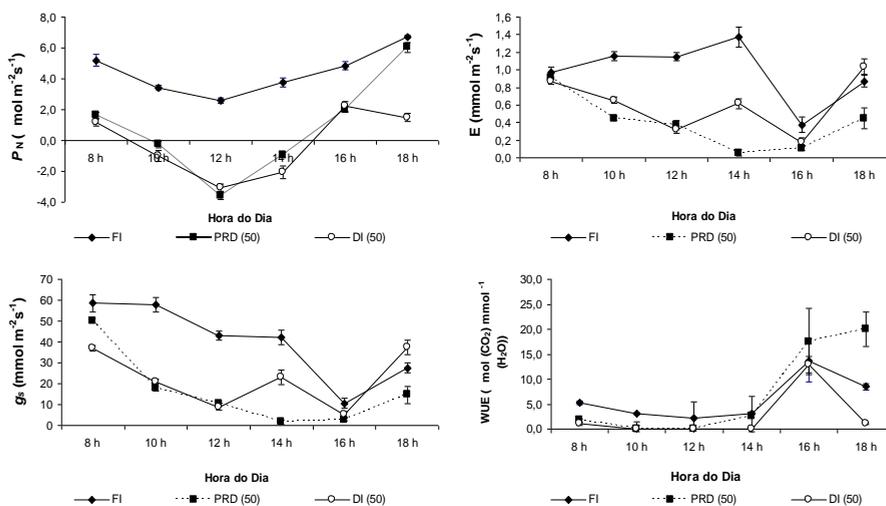


Figura 2 - Efeito de três regimes hídricos (FI, PRD e DI), nas taxas de fotossíntese aparente ( $P_n$ ), nos valores de condutância estomática ( $g_s$ ), na eficiência dos usos da água e nos valores de potencial hídrico ( $\Psi_w$ ). Médias de 9 determinações  $\pm$  SE.

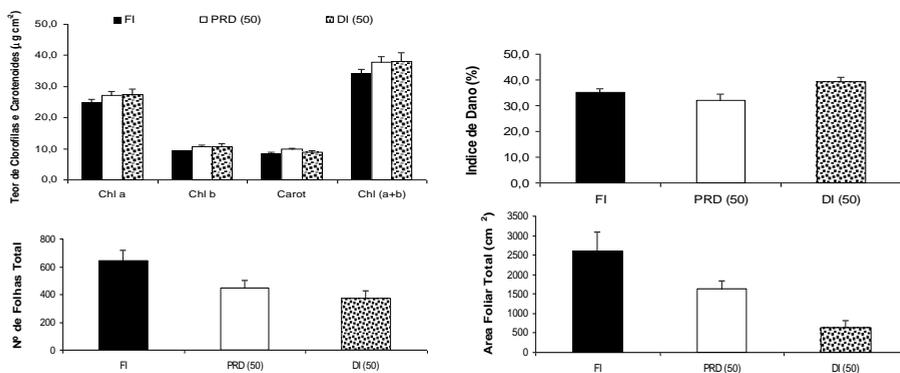


Figura 3 - Efeito de três regimes hídricos (FI, PRD e DI) nos teores de clorofilas, Índice de Dano, no número de folhas total e na área foliar total. Médias de 9 determinações  $\pm$  SE.

## Resultados preliminares relativos à quantificação dos níveis endógenos de auxinas e à actividade das enzimas oxidativas, durante o enraizamento de dois cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) 'Galega vulgar' e 'Cobrançosa'

A. Peixe<sup>1</sup>, A. Antunes<sup>2</sup>, H. Hegewald<sup>1</sup>, C. Costa<sup>3</sup> & A.P. Pinto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas da Universidade de Évora (ICAAM), Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, apeixe@uevora.pt

<sup>2</sup>Departamento de Química da Universidade de Évora, R. Romão Ramalho n.º 59, 7000 Évora, Portugal

<sup>3</sup>Centro de Química de Évora da Universidade de Évora, R. Romão Ramalho n.º 59, 7000 Évora, Portugal

### Resumo

Analisaram-se para os dois cultivares em estudo os conteúdos endógenos de Ácido-indol-3-acético (AIA) e Ácido-indol-3-butírico (AIB) e avaliou-se a actividade das polifenoloxidasas, peroxidases e AIA-oxidase em tecidos da região basal de estacas semi-lenhosas obtidas a partir da zona média de ramos do ano em fase de crescimento activo. As amostras foram recolhidas antes (Tempo 0) e após dopagem das estacas com 3500 ppm de AIB. Após dopagem as estacas foram colocadas em bancadas de enraizamento e as amostras foram recolhidas em intervalos regulares entre as 2 e as 144 horas após a sua preparação. Os resultados obtidos permitiram identificar de forma sistemática maiores concentrações de AIA livre nos tecidos do cultivar 'Cobrançosa'. Foi ainda possível verificar que após a dopagem com AIB, os níveis de AIA subiram significativamente em ambos os cultivares. Estes níveis voltam a descer a partir das 2 horas para o cultivar 'Galega vulgar' e a partir das 6 horas para o cultivar 'Cobrançosa', atingindo a partir das 72 horas valores próximos dos registados antes da dopagem. Quanto aos níveis endógenos de AIB, observou-se uma subida significativa após dopagem nos dois cultivares. No cultivar 'Galega vulgar' os níveis de AIB voltam a descer a partir das 12 horas após tratamento mas mantêm-se elevados no cultivar 'Cobrançosa'. No que respeita às enzimas oxidativas, não se observaram diferenças entre os cultivares em estudo relativamente à actividade das peroxidases, no entanto, a actividade das polifenoloxidasas e da AIA-oxidase, mostrou-se significativamente mais elevada no cultivar 'Galega vulgar' do que no cultivar 'Cobrançosa'. Os níveis naturalmente mais baixos de AIA e uma actividade significativamente mais elevada das polifenoloxidasas e da AIA-oxidase, podem ajudar a explicar a dificuldade de enraizamento do cultivar 'Galega vulgar' por estacaria semi-lenhosa.

**Palavras-chave:** auxinas, enraizamento, enzimas oxidativas, oliveira, propagação.

## Abstract

### **Preliminary results on the evaluation of auxin endogenous levels and oxidative enzymes activity, among the rooting of two olive (*Olea europaea* L.) cultivars 'Galega vulgar' and 'Cobraçosa'**

The endogenous levels of Indol-3-Acetic-Acid (IAA) and Indol-3-Butiric-Acid, as well as the activity levels of polifenoloxidases, peroxidases and IAA-oxidase, were evaluated in live tissues from the basal portions of olive cuttings. The cuttings were collected from the middle portion of one year branches in active growing phase and sample collection for analysis was made before (Time 0) and at several times (2 to 144hours) after a treatment with IBA at 3500ppm. Higher concentrations of free IAA were systematically observed in samples from the 'Cobraçosa' cultivar. After the external application of IBA, the levels of IAA significantly increased in both cultivars, but, they start drooping in cultivar 'Galega vulgar' after two hours, and after six hours in 'Cobraçosa' cultivar. For both cultivars, after 72hours, the IAA levels reached similar values to those measured before the IBA treatment. The IBA levels in tissues of both cultivars highly increased after the treatment, but, 12 hours after the treatment it dropped in 'Gelega vulgar', remaining high in 'Cobraçosa'. Concerning the activity of oxidative enzymes, the peroxidases presented no significant differences between cultivars, whereas polifenoloxidases and IAA-oxidase showed a higher activity in 'Galega vulgar'. Naturally occurring lower levels of IAA and a significantly higher activity of specific oxidative enzymes, can be a new support to explain and overcome the present difficulty of rooting the cultivar 'Galega vulgar' using semi-hardwood cuttings.

**Keywords:** auxin, oxidative enzymes, olive, propagation, rooting.

## Introdução

A capacidade de as auxinas influenciarem a formação de raízes adventícias em caules e conseqüentemente a sua importância na propagação de plantas é reconhecida de há muito (Thiman & Went, 1934). A necessidade de aplicação de auxina exógena para induzir a formação de raízes em estacas tem sido descrita para muitas espécies e.g. sequóia (Berthon et al., 1990), pinheiro (Greenwood & Weir, 1994), cipreste (Edson et al., 1996), amendoeira (Caboni et al., 1997) e eucalipto (Fett-Neto et al., 2001).

Apesar das auxinas serem largamente utilizadas na indução do enraizamento, pouco se sabe sobre a sua acção específica ou a sua interacção com outros compostos endógenos. Alterações na actividade de enzimas, as quais regulam diferentes processos bioquímicos, bem como alterações nos níveis celulares de diferentes metabolitos (e.g. compostos fenólicos) durante o processo de enraizamento em estacas têm sido investigadas (Mato et al., 1988; Das et al., 1997; Druège et al., 2000). Vários autores mostraram o envolvimento

da peroxidase, AIA-oxidase e compostos fenólicos no processo de formação de raízes em estacas (Mayer, 1987; Caboni et al., 1997; Gaspar et al., 1997).

Actualmente o ácido-indol-3-butírico (AIB) é a auxina mais utilizada para estimular o processo de enraizamento em estacas porque: i) tem elevada capacidade para promover a formação inicial de raízes (Weisman et al., 1988) e ii) possui fraca toxicidade e grande estabilidade em comparação com o ácido- $\alpha$ -naftalenoacético (ANA) e ácido-indol-3-acético (AIA) (Hartmann et al., 1990; Qaddoury & Amssa, 2004).

Estes reguladores de crescimento ocorrem nos tecidos vegetais em concentrações muito baixas ( $\text{ng g}^{-1}$ ), juntamente com outras substâncias com propriedades cromatográficas semelhantes, o que dificulta a sua determinação requerendo esta, uma extensiva purificação antes da sua quantificação final.

No presente trabalho dosearam-se os níveis de auxinas (AIA e AIB) e avaliaram-se os níveis de actividade das enzimas oxidativas, polifenoloxidasas, peroxidases e AIA-oxidase, em amostras de dois cultivares de oliveira, dopadas e não dopadas com IBA exógeno. Os dois cultivares de oliveira utilizados, 'Galega vulgar' e 'Cobrançosa', foram escolhidos por apresentarem um comportamento antagónico relativamente à formação de raízes adventícias por estacaria semi-lenhosa. Enquanto o cultivar 'Galega vulgar' se apresenta recalcitrante ao enraizamento por este processo, com taxas de formação de raízes adventícias que não ultrapassam em média os 10%, o cultivar 'Cobrançosa', tem mostrado facilidade de enraizamento, apresentando taxas médias superiores a 70%.

## Material e Métodos

### *Recolha de material para análise*

O material vegetal utilizado nestes ensaios foi recolhido no final de Janeiro nos campos de pés-mãe dos Viveiros Plansel S.A., em Montemor-o-Novo. Foram preparadas 455 estacas semi-lenhosas de cada um dos cultivares. As estacas foram mergulhadas durante 20 segundos numa solução de AIB a 3500 ppm e, após um curto período de secagem, foram colocadas numa bancada de enraizamento. Foi removido do ensaio material vegetal de cada cultivar a diferentes tempos (0,2, 4, 6, 12, 24, 72, 96, 120, 144 horas), de forma a serem quantificados os níveis de auxinas nos tecidos vivos da base das estacas. Foi também analisado um controle (sem AIB). Todo o material vegetal que constituía as amostras foi imerso em azoto líquido e colocado em ultracongelação a  $-80^{\circ}\text{C}$  até ser utilizado para análise posterior. Nos casos em que foi necessária a liofilização esta foi efectuada imediatamente antes da análise química.

### *Separação, identificação e quantificação do AIA e AIB*

A 0,5 g de material vegetal liofilizado foram adicionados 10 ml de solução de extracção -80% (v/v) de acetona (ou metanol) numa solução aquosa de BHT (butylated hydroxytoluene) 100  $\text{mg L}^{-1}$  (Zin-Huang et al., 1996; Souza et

al., 2003; Mori et al., 2005). O uso de BHT serve para impedir a degradação das auxinas durante o processo de extracção das amostras. Em seguida a mistura foi extraída a frio, no escuro e com agitação durante 1, 3 ou 5 horas e centrifugada durante 15 minutos. O sobrenadante recolhido foi evaporado no rotavapor à temperatura ambiente. Após secagem o resíduo foi recolhido em 5 ml de BHT 100 mg L<sup>-1</sup> e o pH da mistura acertado a 3 com HCl 1M. A mistura obtida foi posteriormente extraída com éter etílico (duas vezes), obtendo-se uma fase orgânica e uma fase aquosa. A fase orgânica foi então recolhida, evaporada e reconstituída em 400 µL de metanol e injectada no aparelho HPLC-DAD. As condições de análise usadas foram: coluna ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>; Fase Móvel - Água + 2,5% MeOH + 0,5% ácido fórmico (A) e MeOH (B); gradiente utilizado - 0 min., 80% A, 5 min., 70% A, 8 min., 60% A, 11 min., 50% A, 17 min., 25% A, 22 min., 10% A; fluxo - 1 mL min<sup>-1</sup>; volume de injeção - 20 µL; detecção UV a 254 nm. Tempo final de análise = 24 min. Cada amostra foi injectada 2 vezes. Para a extracção de padrões o material vegetal foi substituído por 500 µL de solução padrão de AIA e AIB (320 ng µL<sup>-1</sup>). Foram realizados 3 ensaios de extracção, quer sobre padrões quer sobre amostras vegetais dopadas com uma concentração de 400 ng mL<sup>-1</sup>. A quantificação do AIB e AIA nas amostras vegetais foi efectuada com recurso a duas rectas de calibração (R<sup>2</sup>=0,999) obtidas por injeção no HPLC-DAD de padrões de concentração conhecida. Para construir as rectas de calibração foram utilizadas seis concentrações diferentes (quatro réplicas para cada) de AIA e AIB: 10; 20; 30; 40; 50 e 60 ng µL<sup>-1</sup>. Cada solução foi injectada três vezes.

#### *Actividade enzimática de polifenoloxidases e peroxidases*

O material vegetal foi homogeneizado em azoto líquido e depois extraído com tampão acetato a pH 5,5 e 4°C durante 1 hora. Após centrifugação a 15000g, durante 30 min a 4°C, obteve-se o extracto bruto de enzima. A quantificação da proteína total no extracto foi efectuada de acordo com Bradford (1976). A actividade enzimática foi determinada segundo Dincer et al. (2002), usando como substrato o 4-metilcatecol e tendo-se efectuado leituras da absorvância a 490 nm durante 3 minutos. Para a determinação da constante de Michaelis-Menten analisou-se a velocidade de transformação do substrato para várias concentrações: 0,3; 0,6; 1,2; 2,5; 4,9; 9,8 e 19,6 mM. Em seguida construíram-se as curvas com o método clássico de Michaelis e Menten e com o método de Lineweaver-Burk, determinando-se os valores de KM graficamente. Pode-se usar o método da PPO para a determinação da actividade da peroxidase adicionando apenas H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ao teste. A actividade da peroxidase em extractos de folhas de oliveira atinge o máximo a partir de 2,5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### *Actividade da IAA-oxidase*

A avaliação da actividade da AIA-oxidase em extractos de material vegetal de oliveira exigiu a elaboração de um método inovador que se baseia na quantificação do ácido-indol-3-acético (AIA) residual após incubação de extractos de material vegetal de oliveira com AIA e com co-factores. Após incubação a 30°C dos extractos com os substratos AIA ou AIB, efectuou-se uma

quantificação do AIA ou do AIB residual através de uma separação cromatográfica das auxinas existentes no extracto. Dos co-factores de AIA-oxidases de várias plantas mencionados na literatura ( $Mn^{2+}$ , 2,4-diclorofenol, ácido cumárico,  $H_2O_2$  e outros) na oliveira apenas o ácido cumárico (p-CA) em conjunto com  $H_2O_2$  possibilitam a degradação enzimática do AIA. Os dois co-factores isolados não exercem nenhuma activação da AIA-oxidase da oliveira. As concentrações óptimas do p-CA e da  $H_2O_2$  foram de 0,1 e 0,4 mM, respectivamente. O pH óptimo foi de 4,5 a 5. Às misturas de incubação adicionam-se 0,4 volumes de butanol – ácido fórmico 15:1, v/v. Após centrifugação das misturas aplica-se 5  $\mu$ L da fase orgânica numa placa cromatográfica. Depois da cromatografia efectua-se a quantificação do AIA residual por meio de densitometria UV 254 nm.

## Resultados e Discussão

Os valores obtidos nos ensaios para quantificação dos conteúdos endógenos de auxinas nos tecidos da base das estacas relativamente aos dois cultivares em estudo apresentam-se nas figuras 1 a 4.

Foi possível identificar de forma sistemática maiores concentrações de AIA livre nos tecidos do cultivar ‘Cobrançosa’ (fig. 1 e 2). A análise das mesmas figuras permite-nos ainda constatar que após a dopagem com AIB, os níveis de AIA subiram significativamente em ambos os cultivares. Estes níveis voltam no entanto a descer, a partir das 2 horas, para o cultivar ‘Galega vulgar’ e, a partir das 6 horas, para o cultivar ‘Cobrançosa’, atingindo a partir das 72 horas valores próximos dos registados antes da dopagem.

Quanto aos níveis endógenos de AIB (fig. 3 e 4), observou-se uma subida significativa e semelhante nos dois cultivares após dopagem, atingindo-se às 2 horas valores próximos das 40ng/g de matéria vegetal. No cultivar ‘Galega vulgar’ os níveis de AIB voltam a descer a partir das 12 horas após tratamento mas mantêm-se elevados no cultivar ‘Cobrançosa’.

Os resultados relativos à actividade das enzimas oxidativas apresentam-se nas figuras 5 a 7. Relativamente à actividade das peroxidases (fig. 5), não se observaram diferenças entre os cultivares em estudo. Estas diferenças são no entanto evidentes quando se analisa a actividade tanto das polifenoloxidases como da AIA-oxidase. Quanto à actividade enzimática da polifenoloxidase, verificou-se que na fase inicial (0 e 2 horas de dopagem) ela é mais alta na Cobrançosa, enquanto a partir das 4 até as 144 horas após dopagem a actividade é constantemente mais alta em Galega (fig. 6). É no entanto relativamente à actividade da IAA-oxidase que as diferenças entre os dois cultivares é mais evidente.

Como referido, a análise da actividade enzimática da IAA-oxidase exigiu a elaboração de um novo método para a quantificação do ácido-indol-3-acético (AIA) residual. Após a optimização desta metodologia foi possível proceder-se a esta análise, tanto em estacas de ‘Cobrançosa’ como de ‘Galega vulgar’, para os mesmos tempos após dopagem com 3500 ppm de AIB, que já foram referidos, 0

a 144 horas. Os resultados obtidos apresentam-se na figura 7, sendo de destacar o facto de a actividade da AIA-oxidase ser muito mais alta em Galega do que em Cobrançosa. Esta actividade alta da AIA-oxidase da Galega mantém-se mais ou menos constante entre 0 e 144 horas após dopagem. Em Cobrançosa a actividade da AIA-oxidase está relativamente alta entre 0 a 6 h, depois atinge o valor mínimo 48 h após dopagem (fig. 7).

Face aos resultados obtidos justificar-se-ia sugerir um aumento da concentração de auxina nos tratamentos efectuados ao cultivar 'Galega vulgar', esperando que com este aumento, não fosse tão efectiva a sua degradação e que deste modo fosse possível a estimulação da rizogénese. A figura 8, cujos dados reportam a um trabalho de fim de curso de Engenharia Agrícola, realizado na Universidade de Évora em 2000 (Palhete, 2000), mostra-nos precisamente o contrário. Os tratamentos com níveis mais elevados de IBA (5000 e 7500ppm) são os que apresentam os piores resultados. Pode assim concluir-se que, o aumento da concentração de auxina como forma de compensar a elevada actividade das enzimas oxidativas não conduz aos resultados esperados, possivelmente porque que a estas concentrações a auxina começa a ser tóxica para a planta.

Ensaio realizados *in vitro* mostraram que o ácido ascórbico inibe claramente a degradação enzimática do AIA pela AIA-oxidase. Este efeito inibidor do ácido ascórbico começa a uma concentração de 13 $\mu$ M e torna-se quase completo a 133  $\mu$ M (fig. 9).

Baixos níveis de auxina endógena e uma elevada actividade das enzimas oxidativas durante o processo de reprogramação celular, são factores que podem estar na origem da dificuldade de enraizamento de estacas semi-lenhosas do cultivar 'Galega vulgar'.

O aumento da concentração de IBA não parece resolver o problema. A utilização de um anti-oxidante, concomitantemente com o tratamento auxínico, revela-se uma possibilidade que não nos foi possível testar *in vivo* mas que se justifica avaliar em ensaios futuros sobre este tema.

## Referências

- Berthon, J.Y., Boyer, N. & Gaspar, T. 1990. Phenols as regulators and markers of root formation by shoots of *Sequoiadendron giganteum* raised *in vitro*. Arch. Intern. Physiol. Biochem., 98:28-36.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72:248-254.
- Caboni, E., Tonelli, M.G., Lauri, P., Iacovacci, P., Kervers, C., Damiano, C. & Gaspar, T. 1997. Biochemical aspects of almond microcuttings related to *in vitro* rooting ability. Biologia Plant, 39:91-97.
- Dincer, B., Colak, A., Aydin, N., Kadioglu, A. & Güner, S. 2002. Characterization of polyphenoloxidase from medlar fruits (*Mespilus germanica* L., Rosaceae). Food Chemistry, 77:1-7.

- Das, P., Basak, U.C. & Das, A.B. 1997. Metabolic changes during rooting in pre-grilled stem cuttings and air layers of *Heritiera*. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 38:1-4.
- Druege, U., Zerche, K.R. & Ernst, M. 2000. Relationship between nitrogen status, carbohydrate distribution and subsequent rooting of *Chrysanthemum* cuttings as affected by nitrogen supply and cold-storage. *Ann. Bot.*, 85:687-701.
- Edson, J.L., David, L., Wenny, R., Kasten, D.R. & Leege-Brusven, A. 1996. propagation of Juniper from shoot tip cuttings. *Tree Plant. Notes*, 47:94-99.
- Fett-Neto, A.G., Fett, P.S., Goulart, L.W.V., Pasquali, G., Termignoni, R.R. & Ferreira, A.G. 2001. Distinct effect of auxin and light on adventitious root development in *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus globules*. *Tree Physiol.*, 21:457-464.
- Gaspar, T., Kevers, C. & Hausman, J.F. 1997. Indissociable chief factors in the inductive phase of adventitious rooting. In A. Altman & Y. Waisel (eds) *Biology of Root Formation and Development*, p. 55-63. Plenum Press, New York.
- Greenwood, M.S. & Weir, R.J. 1994. Genetic variation in rooting ability of loblolly pine cuttings: effects of auxin and family on rooting by hypocotyls cuttings. *Tree Physiol.*, 15:41-45.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E. & Davies, J.R. 1990. *Plant Propagation Principle and Practices*. Prentice-Hall International, Eaglewood Cliffs Editions, NJ.
- Mato, M.C., Rua, M.L. & Ferro, E. 1988. Changes in levels of peroxidase and phenolics during root formation in *Vitis* cultured in vitro. *Physiol. Plant.*, 72:84-88.
- Mayer, A.M. 1987. Polyphenoloxidases in plant: recent progress. *Phytochemistry*, 26:11-20.
- Mori, Y., Takeshi, T. & Koshiba, T. 2005. Vigor synthesis of indole-3-acetic acid in the apical very tip lead to a constant basipetal flow of the hormone in maze coleoptiles, *Plant Science*, 168:467-473.
- Palhete, J. 2000. Contribuição para a melhoria das condições de enraizamento em estacas semi-lenhosas de *Olea europaea* L. (var. Galega vulgar). Trabalho de fim de curso, Universidade de Évora.
- Qaddoury, A. & Amsa, M. 2004. Effect of exogenous indole butyric acid on root formation and peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase activities and phenolic contents in date Palm offshoots. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 45:127-131.
- Souza, B.M., Kraus, J.E., Endres, L. & Mercier, H. 2003. Relationships between endogenous hormonal levels and axillary bud development of *Ananas comosus* nodal segments. *Plant Physiol. And Biochem.*, 41:733-739.
- Thiman, K.V. & Went, F.W. 1934. On the chemical nature of the root-forming hormone. *Proc. K. Ned. Acad. Wet. Ser. C Biol. Med. Sci.*, 37:456-459.
- Weisman, Z., Riov, J. & Epstein, E. 1988. Comparison of movement and metabolism of indole-3-acetic acid in mung bean cuttings. *Physiol. Plant.*, 74:556-560.
- Zin-Huang, L., I-Chau H. & Ya-Wen P. 1996. Effect of naphthaleneacetic acid on endogenous indole-3-acetic acid, peroxidase and auxin oxidase in

hypocotyls cuttings of soybean during root formation. Bot. Bull. Acad. Sin., 37:247-253.

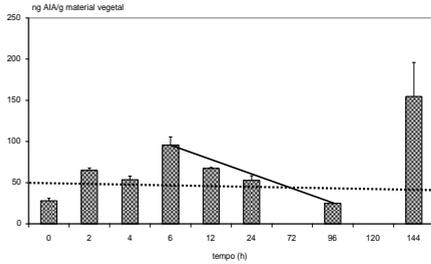


Figura 1 - Concentrações de AIA obtidas no cultivar 'Cobrançosa' para os vários tempos estudados.

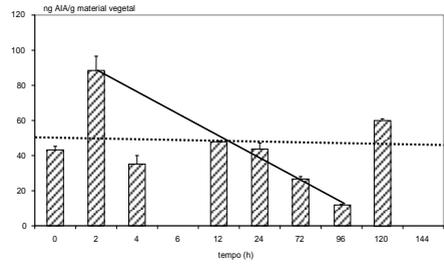


Figura 2 - Concentrações de AIA obtidas no cultivar 'Galega vulgar' para os vários tempos estudados.

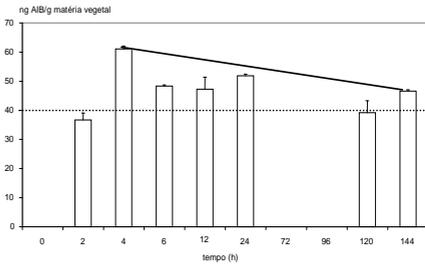


Figura 3 - Concentrações de AIB obtidas no cultivar 'Cobrançosa' para os vários tempos estudados.

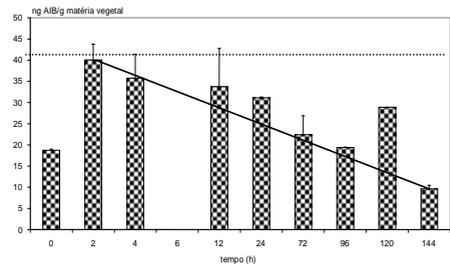


Figura 4 - Concentrações de AIB obtidas no cultivar 'Galega vulgar' para os vários tempos estudados.

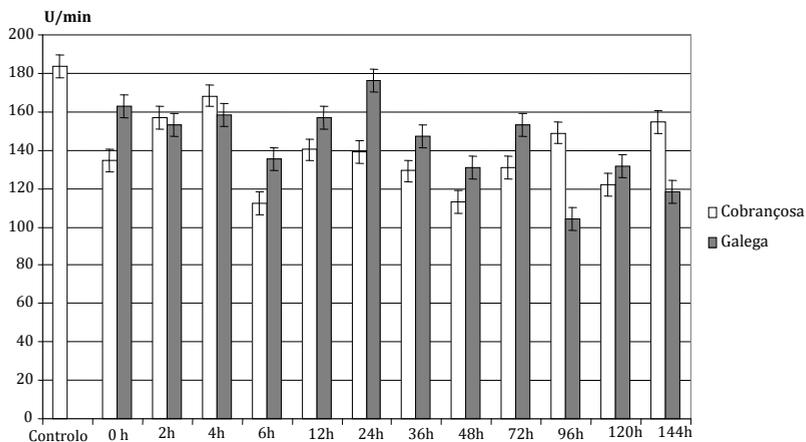


Figura 5 - Actividade enzimática da Peroxidase nos tecidos da base da estaca durante o processo de enraizamento, nos cultivares 'Galega vulgar' e 'Cobraçosa'.

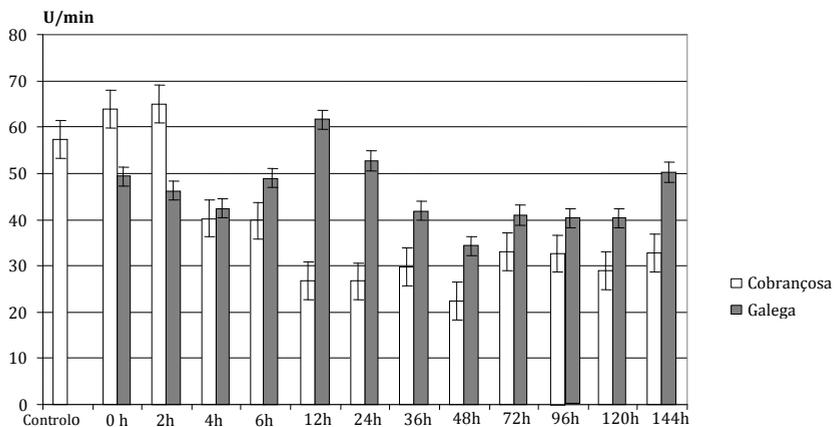


Figura 6 - Actividade enzimática da PPO nos tecidos da base da estaca durante o processo de enraizamento, nos cultivares 'Galega vulgar' e 'Cobraçosa'.

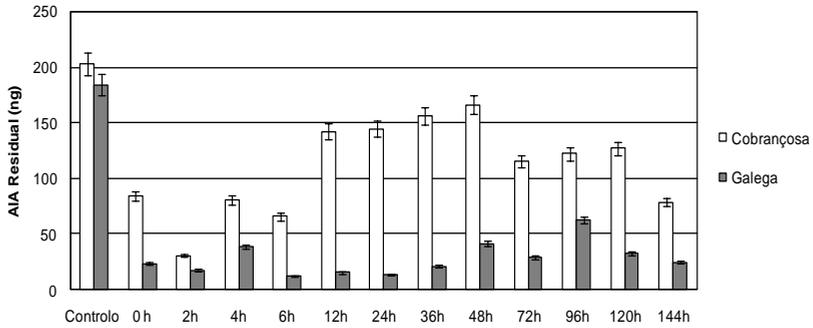


Figura 7 - Actividade da AIA-oxidase em extractos do tecido do caule em 'Galega' e em 'Cobraçosa' na presença de 0,1 mM AIA, 0,1 mM ácido cumárico e 0,5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sem dopagem (Controlo) e 0 a 144 horas após dopagem com 15 mM de AIB durante 20 segundos. Valores de AIA residual depois de 30 min de incubação *in vitro* a 30°C.

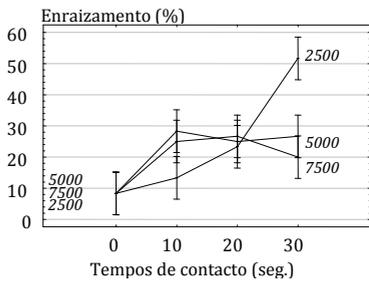


Figura 8 - Valores das percentagens de enraizamento obtidas nos tratamentos com diferentes níveis de AIB, para os vários tempos de contacto estudados. DMS=95% (Palhete, 2000)

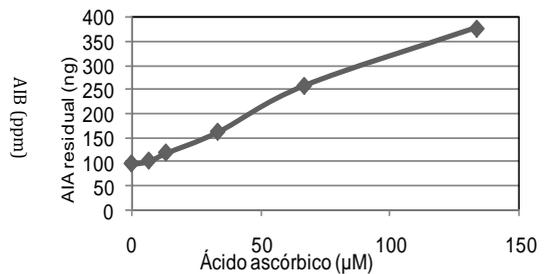


Figura 9 - Inibição *in vitro* da actividade enzimática da AIA-oxidase com ácido ascórbico. AIA residual após 30 min de incubação a 30°C sem e com várias concentrações de ácido ascórbico.

# Caracterização do vingamento da azeitona em cultivares de oliveira em autopolinização

A.M. Cordeiro<sup>1</sup>, P.C.S. Martins<sup>2</sup>, A. Ramos<sup>3</sup> & P. Sequeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRB, L – INIA Elvas, Apartado 6, 7350 -901 Elvas, Portugal, antonio.cordeiro@inrb.pt

<sup>2</sup>ELAIA, Herdade do Marmelo, Apartado 43, 7900-909 Ferreira do Alentejo, Portugal

<sup>3</sup>ESA-IPCB/CERNAS Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

## Resumo

O vingamento da azeitona é o resultado dos processos vegetativos e reprodutivos que decorrem durante o ciclo bianual da oliveira. O factor genético tem uma grande importância, mas diversos trabalhos experimentais concluíram existir uma preponderância dos factores ambientais. Neste trabalho experimental, realizado durante dois anos consecutivos com árvores adultas, em safra, de 'Cobrançosa', 'Conserva de Elvas', 'Cordovil de Castelo Branco', 'Galega Vulgar' e 'Picual' cultivadas em sequeiro, determinou-se a qualidade da flor e o vingamento de frutos em autopolinização. Em resultado dos dois anos de observação, apreciaram-se diferenças significativas entre anos e entre cultivares. Também se confirmou ser a oliveira uma espécie vegetal com uma produção excepcionalmente elevada de grãos de pólen. A variabilidade nos resultados obtidos poderá estar associada com a rusticidade da oliveira e a sua capacidade de adaptação às oscilações típicas do clima mediterrânico.

**Palavras-chave:** *Olea europaea* L., qualidade da flor, autopolinização, vingamento, cultivares.

## Abstract

### Characterization of olive cultivars fruit set in self-pollination

Fruit set is the result of the vegetative and reproductive processes occurring in the biennial cycle of the olive tree. Genetic factors have the major influence, although some experimental work also point to environmental factors. In this work, in two consecutive years on bearing adult and non-irrigated olive trees, the flower quality and the self-pollination fruit set were determinate in the 'Cobrançosa', 'Conserva de Elvas', 'Cordovil de Castelo Branco', 'Galega Vulgar' and 'Picual' olive cultivars. After the two years observations, there were significant differences between years and cultivars. Olive trees also showed to be an exceptional producer of pollen. The variability observed in the results can be related to the adaptation ability to the typical oscillations of the Mediterranean climate.

**Keywords:** *Olea europaea* L., cultivars, flower quality, self-pollination, fruit set.

## Introdução

A abundante floração da oliveira (*Olea europaea* L.) é a responsável pela produção elevada de azeitona em anos de safra, apesar de, ser pequena a proporção de flores que dá origem aos frutos que permanecem até à colheita. Com efeito, Griggs et al. (1975) referem que em anos de safra apenas 1% das flores são suficientes para a obtenção de uma boa produção. O vingamento da azeitona é o resultado dos processos vegetativos e reprodutivos que decorrem durante o ciclo bienal da oliveira. Cada fruto é consequência do processo evolutivo de uma flor e o seu número depende directamente da quantidade e da qualidade das flores. O sucesso da reprodução sexual nas plantas depende da interacção altamente específica entre o pólen e o pistilo, o gametófito masculino e o órgão reprodutor feminino, respectivamente (Knox, 1984).

De acordo com Cuevas & Rallo (1990), o nível de floração, influencia a percentagem de flores perfeitas e imperfeitas, existindo um efeito compensatório na qualidade da flor, que é maior nos anos com intensidade de floração baixa. Mafalda Rosa (2003) registou em oliveiras adultas de 'Blanqueta De Elvas' em contra-safra, uma quantidade de flores perfeitas superior a 90% do total de flores. Com efeito Lavee (2007), referem que os estudos em campo apresentam uma grande variabilidade de resultados devido à dificuldade em controlar as condições ambientais, à queda maciça de flores no período pós-antese e à percentagem de flores imperfeitas que, nesta espécie, é variável de ano para ano. A produção final de frutos da oliveira é determinada num curto, mas intenso, período de abscisão de flores e frutos que decorre durante 5 a 7 semanas após a plena floração (Lavee, 1986).

A oliveira apresenta um mecanismo de esterilidade fisiológica que se caracteriza pela não formação de zigotos como resultado de obstáculos fisiológicos que impedem a fecundação, apesar da existência de pólen e óvulos funcionais. O mecanismo de incompatibilidade opera-se no sentido de impedir a autopolinização. A incapacidade da planta para formar sementes viáveis pode ser total ou parcial (Cuevas, 1992). Numa avaliação sobre o vingamento "in vivo" Cordeiro et al. (2004) registaram, em autopolinização comparativamente à polinização livre, menor quantidade de grãos de pólen no estigma de flores de algumas cultivares de oliveira e do número de tubos polínicos em desenvolvimento no estilete.

O objectivo deste trabalho experimental foi avaliar o efeito das condições climáticas prevaletentes durante dois anos consecutivos sobre a qualidade da flor e o vingamento em autopolinização.

## Material e Métodos

O trabalho experimental foi realizado com as oliveiras 'Cobrançosa' (Trás-os-Montes), 'Conserva de Elvas' (Alto Alentejo), 'Cordovil de Castelo Branco' (Beira Interior), 'Galega Vulgar' (origem desconhecida) e 'Picual' (Andaluzia - Espanha), nos anos de 2001 e 2002. A parcela experimental está localizada na região olivícola do Alto Alentejo - Elvas (INRB, I.P./INIA - Elvas,

Herdade do Reguengo). As árvores são adultas, cultivadas em condições de sequeiro e a parcela está implantada numa mancha de solos mediterrâneos vermelhos de calcários cristalinos.

A região de Elvas, pelo seu enquadramento geográfico, apresenta um clima mediterrânico. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima caracteriza-se como mesotérmico húmido, com 70% ou mais da precipitação anual concentrada no Outono/Inverno e com o Verão quente e seco. A figura 1 apresenta os dados climatéricos registados no período de Janeiro a Maio no ano médio (1958-88) e nos anos de 2001 e 2002. Em 2001, a temperatura média das máximas foi ligeiramente superior à do ano médio nos primeiros dois meses do ano e mês de Abril, onde chegou a alcançar uma diferença de 5°C; a temperatura média das mínimas registou valores quase sempre superiores aos verificados no ano médio; a precipitação total registada de Janeiro a Março foi muito superior à do ano médio e em Abril não se registou precipitação. Em 2002, a temperatura média das máximas nos meses de Abril e Maio registou, comparativamente ao ano médio, grandes oscilações com diferenças superiores a 3°C; a temperatura média das mínimas alcançou valores próximos das verificadas no ano médio; a precipitação total registada entre o mês de Março e o primeiro decénio de Abril e entre os segundo e terceiro decénios de Abril e o mês de Maio, foi superior e inferior à registada no ano médio, respectivamente.

Em cada ano, seleccionaram-se e marcaram-se três árvores de cada cultivar de igual volume de copa e com elevada intensidade de floração. Em cada árvore e nos quatro quadrantes, marcou-se um ramo frutífero. No estado fenológico D/E (Colbrant & Fabr , 1972), contaram-se as inflorescências e ensacaram-se os ramos com sacos de papel cristal ceroso. Os ramos permaneceram ensacados até ao estado fenológico I (Colbrant & Fabr , 1972), altura em que foram cortados. Os sacos com os respectivos ramos foram então transportados para o laboratório, onde se efectuou a contagem e o registo do número de corolas, do número de cálices ociosos e do número de frutos, determinando-se o número de flores total, o número de flores perfeitas, a esterilidade floral e o número de frutos.

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente com o programa informático Statistic-SXW. Estabeleceram-se correla es lineares de Pearson entre as variáveis dependentes e realizaram-se análises de variância (ANOVA) e testes de separa o de médias (Tukey) para intervalos de confiança de 95%.

## Resultados e Discussão

A flora o/poliniza o/vingamento da azeitona decorre numa época do ano com acentuada irregularidade térmica (temperaturas máxima e mínima) e de precipita o, que condicionam a data e a dura o da flora o e favorecem a alternância na oliveira. A flora o decorreu no mês de Maio. Não houve coincidência na época de flora o, com diferenças entre anos e entre cultivares. A época de flora o foi mais tardia em 2002 e teve uma maior dura o média em 2001 (Cordeiro & Martins, 2004).

O conhecimento da qualidade da flor é importante, na medida em que apenas as flores perfeitas são capazes de dar origem a frutos. Por oposição, as flores imperfeitas ou estaminadas não originam frutos e caracterizam-se por apresentarem um ovário muito rudimentar ou, inclusive, pela sua ausência. Os sacos de papel cristal ceroso utilizados para garantir a autopolinização foram eficazes, mesmo quando as condições climatéricas foram desfavoráveis.

Os resultados da qualidade da flor (quadro I) mostram um efeito significativo do ano, da cultivar e da interacção ano x cultivar. Na análise de variância constata-se também que o factor ano manifestou maior preponderância sobre os totais de flores e de flores perfeitas/inflorescência, enquanto o factor cultivar, manifestou preponderância sobre a esterilidade floral.

As diferenças entre anos estão também representadas na figura 2. No ano 1 (2001), as cultivares apresentaram inflorescências com maior número médio total de flores e as flores registaram nesse ano, uma maior proporção de flores perfeitas. O vingamento de frutos foi também superior nesse ano. O vingamento apresentou uma correlação de Pearce com o número de flores por inflorescência positiva e muito significativa ( $r = 0,70$ ,  $P < 0,008$ ).

As diferenças entre cultivares são apresentadas nas figuras 3 e 4, por anos, atendendo à interacção significativa com este factor. Em 2001 (fig. 3), as oliveiras 'Galega Vulgar', 'Conserva de Elvas' e 'Cordovil De C. Branco' registaram o maior número total de flores / inflorescência, enquanto a 'Cobrançosa' registou o menor valor. A proporção de flores perfeitas diferiu significativamente entre cultivares: 'Cobrançosa' e 'Conserva de Elvas' registaram o maior e o menor número de flores perfeitas, respectivamente. A esterilidade floral foi maior em 'Conserva de Elvas'. Neste ano, as oliveiras 'Picual' e 'Cobrançosa' registaram as maiores vingamentos (em média, cerca de 15 frutos por cada 100 flores), enquanto 'Cordovil de C. Branco' e a 'Galega' apresentaram os menores vingamentos em autopolinização (em média, menos de 2 frutos por cada 100 flores).

Em 2002 (fig. 4), as cultivares 'Galega Vulgar' e 'Cordovil de C. Branco' registaram o maior número total de flores/inflorescência, tendo a 'Picual' registado o menor nº total de flores por inflorescência. Neste ano, a proporção de flores perfeitas também diferiu entre cultivares: 'Galega' e 'Cordovil de C. Branco' e 'Picual' registaram a maior e a menor proporção de flores perfeitas, respectivamente. Os vingamentos neste ano alcançaram valores muito baixos, tendo a 'Cobrançosa' registado os maiores vingamentos (em média cerca de 3,7 frutos por cada 100 flores).

O número total de flores por inflorescência é, de acordo com Lavee (1986), determinado geneticamente e, portanto, específico para cada cultivar. Nos resultados deste trabalho experimental, verificou-se uma preponderância do factor genético, mas apenas na esterilidade floral, uma vez que no número total de flores por inflorescência houve uma preponderância do factor ambiente (ano). Os resultados apurados de esterilidade floral, comparativamente aos valores médios apresentados por Leitão (1988)

mostraram-se inferiores, mas como o mesmo escalonamento referido por aquele autor.

O número de flores registado em 'Picual' e nos dois anos foi anormalmente pequeno e poderá estar associado com deficiências nutritivas detectadas durante o período de crescimento. Nas mesmas condições experimentais, Martins (2002) registou uma média de 15 flores por inflorescência naquela cultivar.

Na oliveira, o vingamento de frutos ocorre após a polinização/fecundação de flores perfeitas e em resultado da interacção pólen/pistilo, um factor importante para o sucesso da reprodução sexual (Knox (1984). Os resultados do vingamento foram similares aos obtidos por Leitão (1988). A bibliografia consultada refere a existência de outros factores preponderantes sobre o vingamento do fruto, os mecanismos de incompatibilidade Cuevas (1992), o nível de floração (Cuevas & Rallo, 1990), as condições climáticas, o estado nutritivo da árvore, o estado sanitário e a humidade do solo (Lavee, 1986; Pulido et al., 2005).

Nenhuma das cultivares em estudo se mostrou completamente autoincompatível, tendo a 'Cobrançosa' e a 'Cordovil de Castelo Branco' registado o maior e o menor nível de compatibilidade, respectivamente.

Em resultado das diferenças registadas no vingamento nos dois anos em estudo, pode concluir-se que a autocompatibilidade nas cultivares de oliveira varia com a cultivar (componente genética) e com o ano (componente ambiental), com um claro predomínio da segunda componente

## Referências

- Cordeiro, A.M., Martins, P.C.S., 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. & Rallo, L. 1990. Response to cross-pollination in olive tree with different levels of flowering. *Acta Horticulturae* 286:179-182.
- Cuevas, J. 1992. Incompatibilidad pólen -pistilo. Procesos gaméticos y frutificación de cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). Dissertação para obtenção do Grau de Doutor apresentada à Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias.
- Griggs, W.H., Hartman, H.T., Bradley, M.V., Iwakiri, B.T. & Whisler, J.E. 1975. Olive Pollination in California. *California Agriculture Experimental Station Bulletin*, 869:1-10.
- Knox, R.B. 1984. Pollen-pistil interactions. In: *Cellular Interactions. Encycl. Pl. Physiol.* ed: J.Heslop-Harrison & H.F. Linskens. Berlin. Springer, vol. 17:508-609.
- Lavee, S. 1986. Olive. In: *Handbook of Fruit Set and Development*. Boca Raton CRC Press Inc., p. 267-276.
- Lavee, S. 2007. Biennial bearing in olive (*Olea europaea* L.). *Annales Ser. Hist. Nat.* 17(1):101-112.

Martins, P. 2002. Aspectos de biologia floral de cinco cultivares de oliveira em três regiões olivícolas de Portugal. Trabalho de Fim de Curso. Universidade de Évora. Évora.

Rosa, M. 2003. Efeito da fertilização azotada na qualidade da flor e no vingamento da azeitona cv. Blanqueta de Elvas Relatório do Trabalho do Fim do Curso de Engenharia Agrónómica. UTL – ISA, Lisboa p. 79.

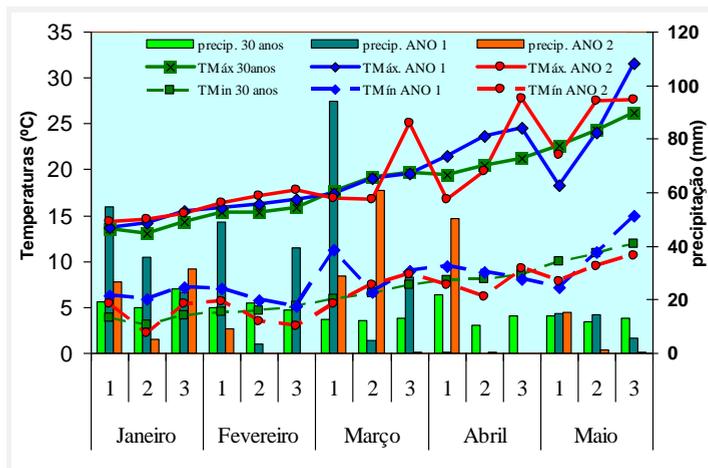


Figura 1 - Temperatura do ar (°C) média das mínimas e médias das máximas e precipitação total (mm) registadas entre Janeiro a Maio no ano médio (1958-1988) e nos anos 1 e 2 (2001 e 2002, respectivamente).

Quadro 1 - Resultados dos quadrados médios para as variáveis da qualidade da flor e do vingamento, por efeito dos factores ano e cultivar.

Fonte de variação	g.l	Quadrado Médio			
		Total Flores/Inflor	Flores Perfeitas/Inflor.	Esterilidade floral	% Frutos Vingados
Ano (A)	1	715,67 ***	622,60 ***	3.513,8 ***	1.044,51 ***
Repetição (B)					
A*B (E1)	22	21,01	14,42	210,58	35,07
Cultivar (C)	4	192,44 ***	205,68 ***	5.530,84 ***	398,75 ***
A*C	4	50,57 **	85,10 **	3.803,29 ***	243,74 **
A*B*C (E2)	85	12,83	7,998	140,40	64,31

Níveis de significância: \*\*\*altamente significativo ( $P \leq 0,001$ ); \*\*muito significativo ( $P \leq 0,01$ ).

g.l – graus de liberdade.

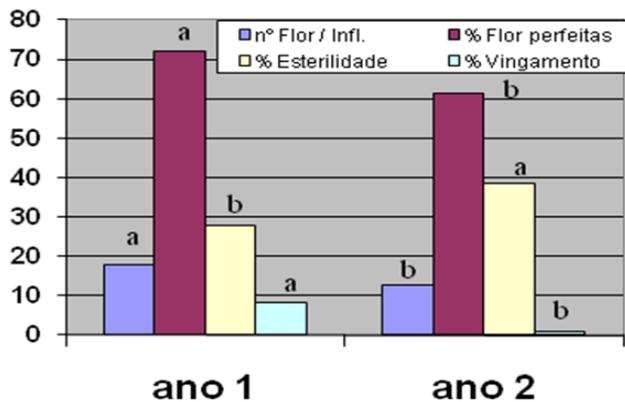


Figura 2 - Valores médios do número total de flores por inflorescência, da percentagem de flores perfeitas por inflorescência, da percentagem de esterilidade floral e da percentagem de vingamento nos anos 1 e 2 (2001 e 2002, respectivamente). Letras diferentes na mesma característica correspondem a diferenças significativas pelo teste de Tuckey ( $P < 0,05$ ).

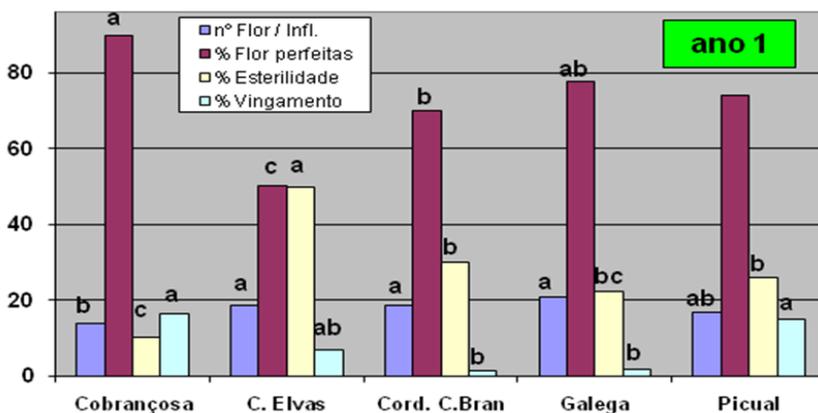


Figura 3 - Valores médios do número total de flores por inflorescência, da percentagem de flores perfeitas por inflorescência, da percentagem de esterilidade floral e da percentagem de vingamento no ano 1 (2001). Letras diferentes na mesma característica correspondem a diferenças significativas pelo teste de Tuckey ( $P < 0,05$ ).

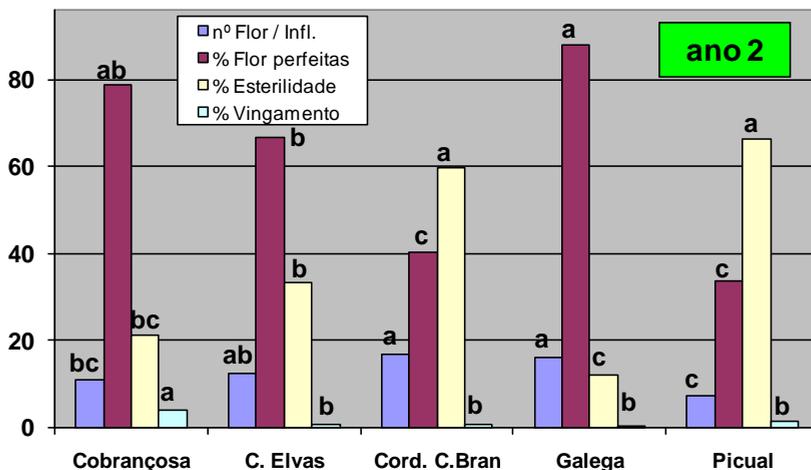


Figura 4 - Valores médios do número total de flores por inflorescência, da percentagem de flores perfeitas por inflorescência, da percentagem de esterilidade floral e da percentagem de vingamento no ano 2 (2002). Letras diferentes na mesma característica correspondem a diferenças significativas pelo teste de Tuckey ( $P < 0,05$ ).

## Estudo preliminar dos efeitos do aquecimento global sobre a floração da oliveira em Portugal

J.P. Melo-Abreu<sup>1</sup>, A.M. Cordeiro<sup>2</sup>, B.M. Rogado<sup>3</sup>, V. Cabrinha<sup>4</sup> & A.M. Ramos<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa (UTL), Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, jpabreu@isa.utl.pt

<sup>2</sup>INRB, L-INIA, Unidade de Recursos Genéticos, Ecofisiologia e Melhoramento de Plantas, Estrada de Gil Vaz s/n, Apartado 6, 7350-951 Elvas, Portugal

<sup>3</sup>DRAPLVT, Apartado 477, 2001-906 Santarém, Portugal

<sup>4</sup>Instituto de Meteorologia, Rua C do Aeroporto, 1749-077 Lisboa, Portugal

<sup>5</sup>Escola Superior Agrária de Castelo Branco, Qta. Sra de Mércules, Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

### Resumo

O desenvolvimento fenológico da oliveira é importante para estudar a sua adaptabilidade, para a gestão e para a modelação do crescimento e produção do olival. No entanto, muitos estudos que prevêem a data de floração da oliveira não consideram as necessidades de frio, que são baixas, mas que podem não ser satisfeitas, em alguns anos, em climas mais amenos ou quando o aquecimento global se faz sentir.

Em estudo anterior De Melo-Abreu et al. (2004) desenvolveu-se um modelo que permite prever a data de floração de algumas cultivares. Trata-se de um modelo em duas fases. Na primeira, acumulam-se unidades de frio segundo um modelo que tem quatro parâmetros. A segunda, simula a forçagem dos gomos florais, utilizando a soma de temperaturas acima da temperatura base. Verificou-se também que os parâmetros do modelo de acumulação de frio, excepto a soma das unidades de frio, são conservativos para todas as cultivares estudadas. Utilizou-se um algoritmo especialmente desenvolvido para determinar a soma de unidades de frio necessárias para a quebra da dormência dos gomos florais e a soma de temperatura correspondente à fase de forçagem. O modelo assim calibrado é utilizado para prever o impacto do aquecimento global nas datas de floração das oliveiras 'Arbequina', 'Gordal', 'Hojiblanca', 'Manzanilla', 'Moraiolo', 'Picual' e 'Verdial' para quatro localizações representativas das principais regiões olivícolas portuguesas.

O tempo presente foi representado por séries de 19 a 30 anos de temperaturas máximas e mínimas diárias (Cen0). Criaram-se três cenários de alteração climática consubstanciados por aumentos da temperatura em 1°C (Cen1), 2°C (Cen2) e 3°C (Cen3), tanto nas máximas como nas mínimas.

Em Vila Real, as projecções indicam avanços crescentes da data de floração, de 11 a 12 dias no Cen1 até 33 a 37 dias no Cen3. Em Castelo Branco, as projecções indicam avanços crescentes da data de floração, indo de 11 a 13 dias no Cen1 até 23 a 36 dias no Cen3. Em ambas as localizações, não se prevêem florações anormais ou inexistentes devido à falta de frio.

Em Beja, as projecções indicam que os avanços entre os Cen1 e Cen2 são modestos, que a 'Moraiolo' não tem uma floração normal no Cen2 e que todas as cultivares estudadas têm anos com florações anormais ou inexistentes no Cen3.

Em Faro, existem atrasos muito grandes na floração em todos os cenários, não havendo floração normal em muitos anos. No Cen3, as projecções indicam que as florações seriam anormais ou inexistentes em quase todos os anos.

Os resultados obtidos permitem assistir o olivicultor na decisão de incluir ou não algumas cultivares em novos olivais.

**Palavras-chave:** oliveira, *Olea europaea* L., necessidades de frio, tempo térmico, dormência, aquecimento global.

## **Abstract**

### **Preliminary study of the effects of global warming upon the flowering of the olive tree**

Phenological development of the olive tree is important for studying its adaptability, for management and simulation of growth and yield of olive orchards. Nevertheless, most studies that predict the date of flowering of the olive do not consider its chilling requirements, that are low, but may not be satisfied in some years, under mild climates or when global warming takes effect.

In a previous study De Melo-Abreu et al. (2004) a model designed to predict the date of flowering was presented along with appropriate parameters for some cultivars. It is a two phase model. In the first phase, chilling accumulation takes place using a four parameter sub-model for determination of chilling units. In the second phase, known as the forcing phase, that starts after chilling requirements were attained and bud-break was due to occur, temperature sum above a base temperature is used to simulate development. Furthermore, it was established that all the parameters for the chilling accumulation, except the required chilling units, are conservative for all cultivars that were studied.

A custom-tailored algorithm was constructed for the determination of the total sum of chilling units for bud-break and for the temperature sum necessary for the forcing phase. The resulting calibrated model is used for the prediction of the impact of global warming in the dates of flowering of the olive trees 'Arbequina', 'Gordal', 'Hojiblanca', 'Manzanilla', 'Moraiolo', 'Picual' and 'Verdial' for the four locations that are representative of the main olive producing regions in Portugal.

The present climate is represented by a series of 19 and 30 years of maximum and minimum daily temperatures (Cen0). Three scenarios of climate change were considered. Cen1, Cen2 and Cen3 correspond, respectively, to increases of 1°C, 2°C and 3°C to both maximum and minimum temperatures.

In Vila Real, projections indicate successive advances in the date of flowering, from 11 to 12 days in Cen1 until 33 to 37 days in Cen3. In Castelo Branco, the projections indicate advances of flowering date from 11 to 13 days in Cen1 until 23 to 36 days in Cen3. In both locations, no faulty or abnormal flowering were anticipated.

In Beja, the o projections indicate that advances in the date of flowering for Cen1 and Cen2 are modest, that 'Moraiolo' has a single event of faulty or abnormal flowering in Cen2 and that all cultivars that were studied have years with faulty or abnormal flowerings in Cen3.

In Faro, important delays in the date of flowering were anticipated in all scenarios, and in many years flowering is absent or abnormal. In Cen3, the projections indicate that flowering is likely to be absent or abnormal in almost all years. The results that were obtained are an indication that may help the farmer to include or reject cultivars in future olive orchards.

**Keywords:** olive, *Olea europaea* L., chilling requirements, thermal time, dormancy, global warming.

## Introdução

Os olivais ocupam 2,6 Mha na Península Ibérica e 0,5 Mha em Portugal. A olivicultura portuguesa contribui com cerca de 5% para o produto agrícola nacional (De Melo-Abreu, 2004; Pinto, 2004).

A previsão das fases fenológicas da oliveira é importante para estudar a sua adaptabilidade, no combate a pragas e doenças e outros actos de gestão do olival, na previsão das colheitas, na previsão da concentração de pólen no ar e na aplicação dos modelos de crescimento.

Os modelos de previsão da floração são ferramentas imprescindíveis para a análise das consequências das alterações climáticas no futuro da olivicultura. O fotoperíodo não tem um efeito significativo na produção de flor e seu vingamento, mas as baixas temperaturas são essenciais para uma floração normal.

A iniciação floral ocorre no fim do verão e no início do Outono, como é o caso de muitas outras fruteiras (Rallo & Martin, 1991), e a quebra da dormência dos gomos florais ocorre quando as plantas são expostas a um período suficiente de frio. Antes da quebra da dormência dos gomos florais, parte do efeito do frio pode ser anulado devido a temperaturas relativamente elevadas. Depois da quebra de dormência, o tempo para a ocorrência da floração diminui quando aumenta a temperatura.

No entanto, muitos estudos que prevêm a data de floração da oliveira não consideram as necessidades de frio, que são baixas, mas que podem não ser satisfeitas, em alguns anos, em climas mais amenos ou quando o aquecimento global se faz sentir.

Neste trabalho combinamos um novo modelo de desenvolvimento fenológico, que foi desenvolvido por esta equipa (De Melo-Abreu et al., 2004), com séries longas de temperaturas do ar e cenários de alteração da

temperatura para prever o impacto do aquecimento global nas datas de floração e eventualmente na ocorrência de florações anómalas da oliveira em Portugal.

## Material e Métodos

As simulações foram feitas para Vila Real de Trás-os-Montes, Castelo Branco, Beja e Faro, utilizando entre 19 e 30 anos de temperaturas máximas e mínimas diárias do ar para definir o tempo presente (Cen0). Criam-se 3 cenários de alteração climática aumentando simultaneamente as temperaturas máxima e mínima em 1°C (Cen 1), 2°C (Cen 2) e 3°C (Cen3).

As oliveiras estudadas foram: 'Arbequina', 'Gordal', 'Hojiblanca', 'Manzanilla', 'Moraiolo', 'Picual' e 'Verdial'. Não foram estudadas outras cultivares muito utilizadas em Portugal, visto que não existem dados em quantidade suficiente para fazer uma análise semelhante.

O modelo utilizado tem uma parte que simula a acumulação de frio e uma fase de forçagem. Utilizando as temperaturas horárias, as unidades de frio (CU) são calculadas de acordo com o modelo (De Melo-Abreu et al., 2004) (fig. 1). A equação correspondente ao modelo é apresentada na fig. 2. Como se pode verificar, o modelo tem quatro parâmetros:  $T_h$  é a temperatura horária do ar (°C),  $T_m$  é a temperatura óptima para a acumulação de frio (°C) e  $T_x$  (°C) é a temperatura a partir da qual um número constante ( $a$ ) de unidades de frio se anulam.  $T_m$ ,  $T_x$  e  $a$  são respectivamente 7,3°C; 20,7°C e -0,54 CU. O valor inferior a partir do qual começa a haver acumulação de frio foi fixado em 0°C, de acordo com os dados de calibração utilizados, para se reduzir o número de parâmetros. Os parâmetros foram calculados no trabalho citado numa extensa base de dados, que incluía informação de Portugal e de Espanha.

Quando se atinge a soma de CU, que é específica de cada cultivar, passa-se à fase de forçagem. Nesta fase, a simulação é feita pela acumulação de temperatura acima da temperatura base (9,1°C).

## Resultados e Discussão

Em Vila Real, as projecções indicam avanços crescentes da data de floração, de 11 a 12 dias no Cen1 até 33 a 37 dias no Cen3 (quadro 1). Em Castelo Branco, as projecções indicam avanços crescentes da floração, de 11 a 13 dias no Cen1 até 23 a 36 dias no Cen3 (quadro 2). Em ambas as localizações não se prevêem florações anormais ou inexistentes devidas à falta de frio.

Em Beja, as projecções indicam que os avanços na data de floração entre os cenários Cen1 e Cen2 são modestos, que a cultivar 'Moraiolo' não tem uma floração normal no Cen2, e que todas as cultivares estudadas têm anos com florações anormais ou inexistentes no Cen3 (quadro 3).

Em Faro, existem atrasos muito grandes na floração em todos os cenários, não havendo floração normal em muitos anos. No Cen3 as projecções

indicam que as florações seriam anormais ou inexistentes em quase todos os anos (quadro 4).

Os valores da data média de floração são simulados, pelo que algumas datas médias podem estar um pouco deslocadas. Ora, no caso vertente, o que interessa mais é realçar as diferenças de comportamento das cultivares relativamente às necessidades de frio. Este modelo, como todos os modelos, pode não ser perfeito ou os valores das séries longas de temperaturas máximas e mínimas que foram utilizados podem já não reflectir o clima actual. No entanto, a informação sobre as datas de floração reais é muito escassa. Alguns trabalhos, contudo, podem dar alguma orientação sobre este assunto (Cordeiro & Martins, 2002; Cordeiro et al., 2002, 2006).

Como se pode verificar nos quadros acima, quando a temperatura numa região é relativamente baixa, ligeiros aumentos de temperatura tendem a provocar avanços da floração. No entanto, nas situações em que a temperatura é elevada ab initio ou através do aquecimento global, começa-se por assistir a atrasos da floração até que as florações começam a ser anormais ou deixam de ocorrer.

No entanto, a diversidade genética é grande no tocante às necessidades de frio, o que faz prever que se podem obter cultivares menos exigentes em frio por selecção e/ou melhoramento.

O aumento da temperatura, em geral, antecipa a data de floração, mas o oposto também pode ocorrer.

Nos cenários mais severos, algumas cultivares deixam de ter florações normais.

Felizmente, existe no pool genético diversidade suficiente que poderá permitir o desenvolvimento de cultivares com menores necessidades de frio.

A oliveira, à semelhança de outras árvores e arbustos que têm necessidades de frio, não podem ser utilizadas como indicadores do aquecimento global.

## Referências

- Cordeiro, A.M. & Martins, P. 2002. Épocas de floração de variedades de oliveira na região de Elvas. *Melhoramento*, 38:205-214.
- Cordeiro, A.M., Ramos, A., Martins, P., Matias, H., Rogado, B., Silva, M. & Calado, L. 2002. Épocas de floração de variedades de oliveira em diferentes regiões olivícolas. *Melhoramento*, 38:215-222.
- Cordeiro, A.M., Ramos, A., Martins, P.C.S., Matias, H., Rogado, B. & Silva, M. 2006. "Épocas de floração de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) em Castelo Branco, Elvas e Santarém. *Actas do III Simpósio Nacional de Olivicultura*, 79-85.
- De Melo-Abreu, J.P., Barranco, D., Cordeiro, A.M., Tous, J., Rogado, B.M., & Villalobos, F. 2004. Modelling olive flowering date using chilling for dormancy release and thermal time. *Agricultural and Forest Meteorology* 125 (1-2):117-127.

Pinto, L. 2004. O Olival em Portugal. *Voz da Terra*, Abril, p. 9-16.

Rallo, L. & Martin, G.C. 1991. The role of chilling in releasing olive floral buds from dormancy. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116:1058-1062.

Quadro 1. Data média de floração (Cen0), avanços em dias para os três cenários estudados, número de anos de temperaturas máximas e mínimas, e número de anos com florações anormais ou inexistentes (Fl Def) em Vila Real.

	Data* (Cen0)	Avanço (Cen1)	Avanço (Cen2)	Avanço (Cen3)	Nº Anos	Fl Def (Cen0)	Fl Def (Cen1)	Fl Def (Cen2)	Fl Def (Cen3)
Arbequina	16-Jun	12	24	37	25	0	0	0	0
Gordal	17-Jun	12	23	35	25	0	0	0	0
Hojiblanca	19-Jun	11	23	34	25	0	0	0	0
Manzanilla	16-Jun	12	24	36	25	0	0	0	0
Moraiolo	20-Jun	11	22	33	25	0	0	0	0
Picual	17-Jun	12	24	35	25	0	0	0	0
Verdial	18-Jun	11	23	33	25	0	0	0	0

\*Valores simulados. Os valores reais podem ser um pouco diferentes.

Quadro 2. Data média de floração (Cen0), avanços em dias para os três cenários estudados, número de anos de temperaturas máximas e mínimas, e número de anos com florações anormais ou inexistentes (Fl Def) em Castelo Branco.

	Data* (Cen0)	Avanço (Cen1)	Avanço (Cen2)	Avanço (Cen3)	Nº Anos	Fl Def (Cen0)	Fl Def (Cen1)	Fl Def (Cen2)	Fl Def (Cen3)
Arbequina	27-Mai	13	26	36	19	0	0	0	0
Gordal	28-Mai	12	24	34	19	0	0	0	0
Hojiblanca	30-Mai	11	22	33	19	0	0	0	0
Manzanilla	28-Mai	12	23	23	19	0	0	0	0
Moraiolo	31-Mai	11	20	28	19	0	0	0	0
Picual	28-Mai	12	23	34	19	0	0	0	0
Verdial	30-Mai	11	21	32	19	0	0	0	0

\*Valores simulados. Os valores reais podem ser um pouco diferentes.

Quadro 3. Data média de floração (Cen0), avanços em dias para os três cenários estudados, número de anos de temperaturas máximas e mínimas, e número de anos com florações anormais ou inexistentes (Fl Def) em Beja.

	Data* (Cen0)	Avanço (Cen1)	Avanço (Cen2)	Avanço (Cen3)	Nº Anos	Fl Def (Cen0)	Fl Def (Cen1)	Fl Def (Cen2)	Fl Def (Cen3)
Arbequina	19-Mai	12	24	32	30	0	0	0	0
Gordal	25-Mai	12	19	20	30	0	0	0	5
Hojiblanca	25-Mai	13	22	24	30	0	0	0	4
Manzanilla	22-Mai	13	24	29	30	0	0	0	2
Moraiolo	27-Mai	10	15	15	30	0	0	4	14
Picual	23-Mai	13	23	27	30	0	0	0	3
Verdial	25-Mai	12	19	20	30	0	0	0	5

\*Valores simulados. Os valores reais podem ser um pouco diferentes.

Quadro 4. Data média de floração (Cen0), avanços em dias para os três cenários estudados, número de anos de temperaturas máximas e mínimas, e número de anos com florações anormais ou inexistentes (Fl Def) em Faro.

	Data* (Cen0)	Avanço (Cen1)	Avanço (Cen2)	Avanço (Cen3)	Nº Anos	Fl Def (Cen0)	Fl Def (Cen1)	Fl Def (Cen2)	Fl Def (Cen3)
Arbequina	13-Fev	4	-2	*	30	0	0	10	28
Gordal	18-Fev	1	-9	*	30	0	3	15	28
Hojiblanca	24-Fev	-1	-17	*	30	0	7	23	28
Manzanilla	17-Fev	0	-7	*	30	0	3	20	28
Moraiolo	11-Mar	-14	-68	*	30	2	18	29	28
Picual	21-Fev	-1	-10	*	30	0	6	22	28
Verdial	28-Fev	-7	-69	*	30	0	11	26	28

\*Valores simulados. Os valores reais podem ser um pouco diferentes.

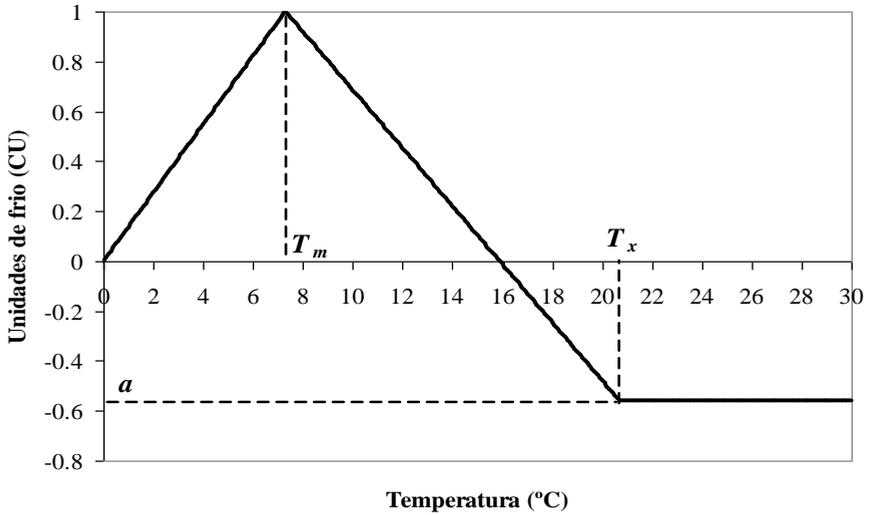


Figura 1 - Representação gráfica do modelo utilizado para o cálculo das unidades de frio (CU).

$$CU = \begin{cases} 0 & T_h \leq 0 \\ T_h/T_m & 0 < T_h \leq T_m \\ 1 - (T_h - T_m) \frac{1-a}{T_x - T_m} & T_m < T_h \leq T_x \\ a & T_h > T_x \end{cases}$$

Figura 2 - Equação do modelo utilizado.  $T_h$  é a temperatura horária do ar (°C),  $T_m$  é a temperatura ótima para a acumulação de frio (°C) e  $T_x$  (°C) é a temperatura a partir da qual um número constante ( $a$ ) de unidades de frio se anulam.

# Avaliação da viabilidade e germinação do pólen de 20 variedades de *Olea europaea* L. cultivadas em Portugal

H. Ribeiro<sup>1</sup>, L. Calado<sup>2</sup>, M. Cunha<sup>3</sup> & I. Abreu<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Geologia: Grupo de Ambiente, Sociedade e Educação, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua Campo Alegre, 1191, 4150 Porto, Portugal, helena.ribeiro@fc.up.pt

<sup>2</sup>Instituto Nacional dos Recursos Biológicos, IP, Herdade do Reguengo, Elvas, Portugal

<sup>3</sup>Secção Autónoma de Ciências Agrárias, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Monte 4485, 661 Vairão & Centro de Investigação em Ciências Geo-espaciais da Universidade do Porto, Rua Campo Alegre, 687, 4150 Porto, Portugal

<sup>4</sup>Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto

## Resumo

O objectivo do nosso estudo foi avaliar a qualidade do pólen de 20 variedades de *Olea europaea* L. cultivadas no país. Recolheram-se amostras de pólen, durante a floração de 2006, de árvores disponíveis na Herdade do Reguengo em Elvas. Para cada uma das variedades estudadas seleccionaram-se 4 árvores ao acaso, sendo colocados sacos de papel em cerca de 15 inflorescências, um por cada quadrante da árvore. A fertilidade polínica foi avaliada através de ensaios da viabilidade pelo diacetato de fluoresceína (teste FCR) e ensaios de germinação *in vitro* (meio sólido com H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; tetraciclina e sacarose). As percentagens de viabilidade e germinação foram determinadas em 5 ensaios por variedade, sendo analisados 5 campos por ensaio contabilizando um total de 100 grãos de pólen por campo. Os nossos resultados mostraram que a viabilidade variou entre 76% (Verdeal de Trás-os-Montes) e 6% (Madural) e a germinação entre 65% (Verdeal de Trás-os-Montes) e 2% (Conserva de Elvas). Genericamente, para a mesma variedade, a viabilidade foi superior à germinação em cerca de 10%. Foi efectuada uma análise de grupos de modo a discriminar as variedades com valores semelhantes de viabilidade e germinação polínica. Após análise de grupos, verificamos que as variedades se distribuíram por 3 grupos de acordo com a percentagem de germinação: baixa (5-16%), média (22-30%) e alta (40-65%).

**Palavras-chave:** fertilidade polínica, *Olea europaea* L., variedades, análise de grupos.

## Abstract

### Evaluation of pollen viability and germination from 20 varieties of *Olea europaea* L. grown in Portugal

The aim of this study was to analyse the pollen fertility of 20 olive cultivars grown in Portugal. The pollen quality was evaluated through pollen

viability and in vitro germination. Pollen sample were collected, during the olive flowering season in 2006, on olive trees grown in Herdade do Reguengo, Elvas. For each cultivar, four trees were randomly chosen. Pollen grains were collected into paper bags placed around 15 inflorescences per tree, one per each canopy quadrant. The pollen quality was evaluated through the determination of pollen viability using fluorescein diacetate (FCR test) and by in vitro germination essays (solid medium containing boric acid, tetracycline and sucrose). The viability and germination percentages were calculated from five replications per cultivar counting five fields per sample, each one containing 100 pollen grains. Our results showed that pollen viability varied between 76% (Verdeal de Trás-os-Montes) to 6% (Madural) and the germination varied between 65% (Verdeal de Trás-os-Montes) and 2% (Conserva de Elvas). Overall, for the same cultivar the pollen viability was 10% superior to germination. A cluster analysis was performed in order to group the cultivars with similar characteristics. Hierarchical cluster analysis showed for the studied cultivars an organization into three groups composed by cultivars with low percentages of in vitro germination (5-16%), medium (22-30%) and high (40-65%).

**Keywords:** pollen fertily, *Olea europaea* L., cultivars, cluster analysis.

## Introdução

A floração e a polinização são preponderantes para a frutificação das oliveiras e por conseguinte no sucesso económico da cultura. Qualquer problema que ocorra durante a época de floração reflecte-se na qualidade e/ou quantidade da colheita, podendo ser irreversível. Assim, a avaliação da fertilidade polínica é uma informação importante em vários aspectos como por exemplo para o estudo da biologia da polinização, nomeadamente a nível da capacidade de germinação e longevidade do pólen após exposição a determinados factores ambientais, no estudo da potencialidade de armazenamento dos grãos de pólen para polinização controlada; na avaliação da incompatibilidade intra e inter variedade (Dafni, 2000).

A comparação da fertilidade polínica inter-variedade permite aferir quais as variedade mais indicados para uma determinada região e quais as suas potencialidades no sentido de se proceder ao melhoramento genético ou selecção clonal.

As metodologias usualmente utilizadas para avaliar a fertilidade polínica englobam técnicas de coloração, ensaios de germinação *in vitro* ou em condições naturais, e a avaliação da percentagem de fecundação e formação de fruto (Stanley, 1974).

O estigma possui o meio óptimo para ocorrer a germinação. Laboratorialmente é necessário preparar meios de cultura de composição semelhante à do estigma de modo a que o grão de pólen germine. De um modo geral o pólen para germinar necessita de hidratação, de uma fonte de hidratos de carbono e boro. A hidratação é um pré-requisito essencial à germinação

uma vez que na altura da deiscência o pólen é libertado para atmosfera desidratado, sofrendo hidratação no estigma. Como fonte de hidratos de carbono é utilizada a sacarose, não só para manutenção da pressão osmótica do meio mas também como substrato para o metabolismo do grão de pólen, enquanto o boro desempenha um papel importante ao nível do crescimento do tubo polínico (Stanley, 1974).

Alguns trabalhos têm sido efectuados com o objectivo de caracterizar diferentes variedades de oliveira baseados em caracteres agronómicos e bioquímicos, utilizando técnicas estatísticas de análise multivariada (Taamalli, 2006; Gemas, 2004). A análise de grupos tem sido uma técnica de análise estatística multivariada amplamente utilizada na avaliação e agrupamento do germoplasma da oliveira (Gemas, 2004; Taamalli, 2006; Besnard, 2001).

O objectivo do nosso estudo foi avaliar a fertilidade do pólen de 20 variedades de *Olea europaea* L. cultivadas no país. Foi efectuada uma análise de grupos de modo a discriminar as variedades com valores semelhantes de viabilidade e germinação polínica.

## Material e Métodos

Para estudar a fertilidade dos grãos pólen de diferentes variedades nacionais e estrangeiras de *Olea europaea* L. recolheram-se amostras de pólen, durante a época da deiscência de 2006, de árvores, com cerca de 25 anos, disponíveis na Herdade do Reguengo em Elvas. Estes campos estão instalados em solos mediterrânicos de calcários e conduzidos em regime de sequeiro estando as variedades enxertados com Galega Vulgar, Zambujeiro ou Conserva de Elvas. As variedades analisadas foram: *Ascolana*; *Azeiteira*; *Blanqueta de Elvas*; *Carrasqueña de Almendralejo*; *Cobrançosa*; *Conserva de Elvas*; *Cordovil de Castelo Branco*; *Cordovil de Elvas*; *Cordovil de Serpa*; *Cornezuelo*; *Galega Vulgar*; *Manzanilla de Almendroal*; *Manzanilla de Jaén*; *Maçanilha de Tavira*; *Madural*; *Picual*; *Redondil*; *Verdeal de Serpa*; *Verdeal de Trás-os-Montes*; *Verde Verdelho*.

Os grãos de pólen foram recolhidos em sacos de papel que foram colocados em volta de cerca de 15 inflorescências, um por cada quadrante da árvore, assim que se observou o início da deiscência de cada variedade, e armazenados a -20°C.

A avaliação da fertilidade polínica foi executada recorrendo a ensaios da viabilidade, utilizando o diacetato de fluoresceína (teste FCR), e de germinação *in vitro*.

Para a análise da percentagem de viabilidade, os grãos de pólen foram colocados em FDA (1µg/ml) durante 2 minutos, seguindo-se uma lavagem com água destilada. A observação e quantificação foram efectuadas num microscópio óptico de fluorescência (Leica DM LB) equipado com uma lâmpada de 50 W de vapor de mercúrio e filtro para luz azul.

Para a determinação da percentagem de germinação *in vitro* utilizou-se um meio de germinação sólido composto por 100ppm de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 60ppm de tetraciclina, sacarose a 15% e agar a 2%. Os grãos de pólen foram colocados no

meio de germinação durante 24 horas a 25°C em condições de obscuridade. A quantificação dos grãos de pólen germinados foi efectuada ao microscópio óptico (Leica DM LB) a uma ampliação de 400X. Para a estimação das percentagens de viabilidade e germinação polínicas foram efectuados 5 ensaios por variedade. Em cada ensaio foram analisados 5 campos, contado um total de 100 grãos de pólen por campo, sendo apresentados os valores da média e desvio padrão para cada variedade. O grão de pólen foi considerado germinado quando formou tubo polínico e foi considerado viável quando apresentou fluorescência.

Efectuou-se uma análise multivariada de grupos ou clusters para agrupar as variedades em grupos homogéneos relativamente a uma ou mais características comuns. Quando o objectivo do estudo é agrupar diferentes sujeitos é prática comum e aconselhável utilizar como procedimento de cálculo uma análise hierárquica de grupos numa fase exploratória, para escolher o número de agrupamentos adequado à matriz de dados, seguida de uma análise não hierárquica de grupos para refinar e interpretar os resultados, uma vez que é mais precisa e menos sujeita a erros de classificação (Kalkstein, 1987). Neste contexto, efectuou-se, numa primeira fase, uma análise hierárquica de grupos com o objectivo de definir a melhor solução hierárquica, ou seja, o número de grupos apropriados para a solução final e que foi posteriormente utilizada numa segunda fase no agrupamento não-hierárquico. A selecção do número de grupos a reter na análise de grupos foi efectuada utilizando dois índices: a distância entre grupos e o critério do  $R^2$ .

Na análise hierárquica de grupos utilizaram-se os valores estandardizados das diferentes variáveis, de modo a reduzir efeitos de escala, o Quadrado da Distância Euclidiana como medida de dissemelhança, que mede o comprimento de recta que une duas observações num espaço  $p$ -dimensional, e como método aglomerativo de análise a Distância Média entre Grupos, cujo algoritmo avalia todas as possíveis combinações de pares de sujeitos.

## Resultados e Discussão

Os valores percentuais de viabilidade variaram entre 76%, para a variedade Verdeal de Trás-os-Montes, e 6%, para a variedade Madural, enquanto que os valores de germinação variaram entre um máximo de 65%, para a variedade Verdeal de Trás-os-Montes, e um mínimo de 2%, para a variedade Conserva de Elvas (fig. 1).

São escassos os trabalhos realizados sobre a fertilidade polínica de variedades autóctones Portugueses. No entanto, as percentagens de germinação obtidas no nosso estudo, em 2006, para a variedade Galega foram da mesma ordem de grandeza às obtidas por outros investigadores para a mesma variedade, no mesmo local de estudo, nos anos de 2004 e 2005 (Calado, 2004, Cordeiro, 2006). A obtenção de valores inter-anuais similares pode indicar que a acentuada tendência para a alternância e irregularidade da

produção típicas desta variedade (Leitão, 1986) poderão não estar relacionadas directamente com a sua capacidade polinizadora.

Tendencialmente os resultados da viabilidade obtidos pelo teste FCR foram superiores à percentagem de germinação em cerca de 10%. Esta diferença pode estar relacionada com o facto de o teste FCR avaliar a integridade do plasmalema do grão de pólen, e por conseguinte, indicando o seu potencial germinativo. No entanto, nos ensaios de germinação *in vitro* a composição do meio de germinação e as condições ambientais ensaiadas podem diferir das condições *in vivo* do estigma da oliveira, podendo, por isso, obterem-se percentagens de germinação inferiores às que eventualmente encontraríamos na natureza e mais próximas dos resultados dos ensaios de viabilidade.

Os resultados da análise hierárquica de grupos, com base nas características de fertilidade dos grãos de pólen de cada variedade, mostraram que o declive da recta que une a distância entre as diferentes soluções apresentadas é menor entre a organização das variedades em três e quatro grupos. No entanto, os maiores ganhos na percentagem da variabilidade total explicada por cada uma das soluções apresentadas (valores do critério do  $R^2$ ) foram verificados quando as variedades se organizaram entre dois e três grupos, explicando mais de 80% da variabilidade total. Assim, conjugando esta informação, o número de grupos a reter para posterior análise não hierárquica foi de três (fig. 2).

A análise não hierárquica de grupos (quadro 1) mostrou que no grupo 2 foram agregados as variedades que apresentavam os maiores valores médios de viabilidade polínica e germinação, reunindo um número menor de variedades. Em contrapartida, o grupo 3 reuniu o maior número de variedades, apresentando valores médios menores para as características analisadas.

A partir dos resultados da ANOVA foi possível identificar as variáveis que mais influenciam a separação das variedades pelos diferentes grupos (quadro 1). Um valor elevado do QMC (média dos quadrados dos grupos) significa que a variável exerce grande poder discriminatório entre os diferentes grupos, sendo o valor do QME (média dos quadrados dos erros), pelo contrário, dentro do grupo pequeno. Assim, verificou-se que a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos foi a percentagem de germinação (maior valor do QMC e o menor QME), tendo sido também a variável que apresentou maior coeficiente de variação inter- variedade.

Entre as 20 variedades de oliveira analisadas observaram-se algumas diferenças na fertilidade polínica. A viabilidade polínica variou entre 76% e 6%, e os valores de germinação variaram entre 65% e 2%, verificou-se genericamente que, para a mesma variedade, a percentagem de viabilidade foi superior à percentagem de germinação em cerca de 10%.

A análise multivariada não hierárquica de grupos permitiu agrupar as diferentes variedades em três grupos homogéneos elaborados com base na fertilidade polínica: baixa (5 a 16%), média (22 a 30%) e alta (40 a 65%).

A análise e agrupamento das diversas variedades de oliveira, de acordo com a fertilidade polínica, são um contributo importante para melhorar o conhecimento das diferenças fenotípicas existentes no germoplasma de uma região, podendo funcionar como importante ferramenta para a utilização em programas de selecção varietal.

## **Agradecimentos**

O primeiro autor agradece à Fundação para a Ciência e Tecnologia (SFRH/BD/13148/2003).

## **Referências**

- Besnard, G., Baradat, P. & Berville, A. 2001. Genetic relationships in the olive (*Olea europaea* L.) reflect multilocal selection of cultivars. *Theor App Genet*, 102:251-8.
- Calado, M.L., Cordeiro, A., Alarcón, M.V. & Salguero, J. 2004. Variabilidade da germinação do pólen da variedade de oliveira Galega Vulgar. *Melhoramento*, 39:122-7.
- Cordeiro, A., Calado, M.L., Alarcón, M.V. & Salguero, J. 2006. Análise comparativa da viabilidade e germinação do pólen da variedade "Galega Vulgar". *Melhoramento*, 41:37-41.
- Dafni, A., Firmage, D. 2000. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Syst Evol*, 222:113-32.
- Gemas, V.J.V., Almadanim, M.C., Tenreiro, R., Martins, A. & Fevereiro, P. 2004. Genetic diversity in the Olive tree (*Olea europaea* L. subsp. *europaea*) cultivated in Portugal revealed by RAPD and ISSR markers. *Genet R Crop Ev.*, 51:501-11.
- Kalkstein, L., Tan, G. & Skindlov, J. 1987. An evaluation of three clustering procedures for use in synoptic climatological classification. *Journal of Climate and Applied Meteorology*, 26:717-30.
- Leitão, F., Potes, M.F., Calado, M.L. & Almeida, F.J. 1986. Descrição de 22 variedades de oliveira em Portugal., Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação, Lisboa.
- Stanley, R.G. & Linskens, H.F. 1974. *Pollen: biology, biochemistry and management*. New York: Springer.
- Taamalli, W., Geuna, F., Banfi, R., Bassi, D., Daoud, D. & Zarrouk M. 2006. Agronomic and molecular analyses for the characterisation of accessions in Tunisian olive germplasm collections. *Electron J Biotechnol*, 9:47-481.

Quadro 1 - Resultados da análise não hierárquica em grupos elaborada com base nas características da fertilidade polínica das diferentes variedades de oliveira.

Grupos	Média das características		Variedades
	Viabilidade	Germinação	
1	44,55	26,70	Ascolana, Cobrançosa, Cornezuelos, Galega, Picual, Verde verdeelho
2	68,33	50,34	Cordovil de Elvas, Cordovil de Serpa, Manzanilla de Jaen, Verdeal de Trás-os-Montes
3	18,53	8,18	Azeiteira, Blanqueta, Carransqueña, Conserva de Elvas, Cordovil de Castelo Branco, Manzanilla de Almendral, Maçanilha de Tavira, Madural, Redondil, Verdeal de Serpa
<b>ANOVA</b>			
QMC	7,64	8,50	
QME	0,22	0,12	
F-test	34,92	72,34	
sig	0,00	0,00	

QMC: média dos quadrados entre grupos; QME: média dos quadrados dos erros; sig: significância.

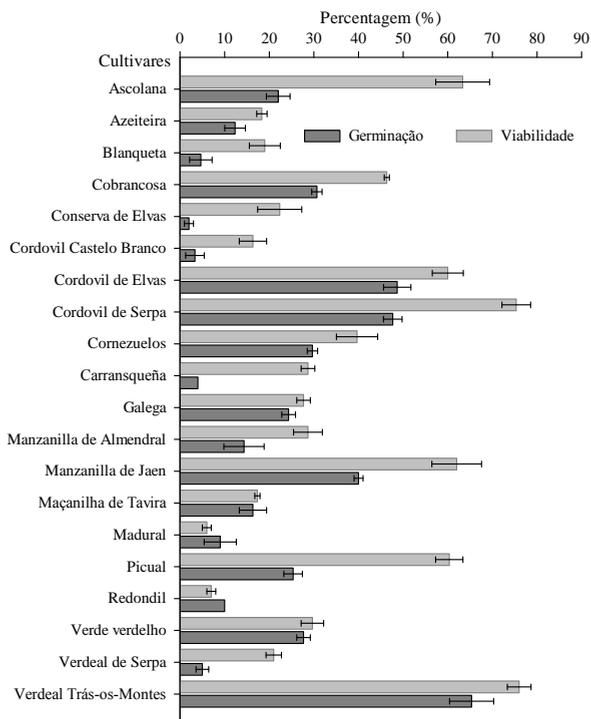


Figura 1 – Valores médios (colunas) e desvio padrão (linhas) das percentagens de viabilidade e germinação determinadas em 20 variedades de *Olea europaea* L..

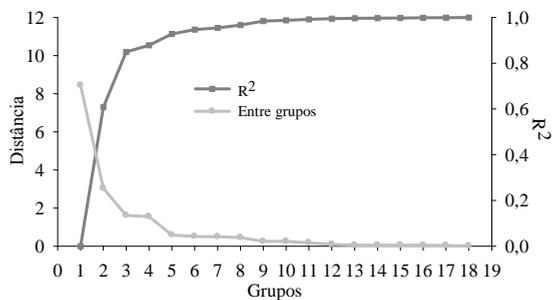


Figura 2 - Representação gráfica da análise hierárquica de grupos com base nas características de fertilidade polínica em função dos coeficientes de distância entre grupos e do critério do R<sup>2</sup>.

## **Sistemas e Técnicas Culturais**

## Efeito da manutenção do solo na produção e crescimento das árvores em olivais de sequeiro

M.A. Rodrigues<sup>1</sup>, J.I. Lopes<sup>2</sup>, F.M. Pavão<sup>3</sup> & M. Arrobas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIMO – ESA, Inst. Pol. Bragança, 5301-855 Bragança, Portugal, angelor@ipb.pt

<sup>2</sup>DRAPN, Quinta do Valongo, 5300-347 Mirandela, Portugal

<sup>3</sup>AOTAD, Rua Centro Transmontano de S. Paulo, 75, 5370-206 Mirandela, Portugal

### Resumo

Durante oito anos consecutivos estudou-se o efeito de sistemas de manutenção do solo em dois olivais de sequeiro localizados nas proximidades de Bragança e Mirandela em Trás-os-Montes. O olival de Bragança, que estava gerido com uma pastagem natural em 2001, foi dividido em três parcelas onde se implementaram os sistemas de manutenção do solo: pastagem; mobilização; e herbicida não selectivo aplicado em Abril. O olival de Mirandela, que estava gerido com mobilização em 2001 recebeu os tratamentos: mobilização; herbicida não selectivo; e herbicida com componente de acção residual aplicado no fim de Fevereiro. Foi avaliada a produção de azeitona a partir de 10 e 12 árvores marcadas por talhão, respectivamente em Bragança e Mirandela. No ensaio de Mirandela foi ainda medido o perímetro do tronco e estimado o volume da canóia. O controlo da vegetação com glifosato aplicado na primeira quinzena de Abril originou produções e indicadores de crescimento das árvores significativamente superiores aos restantes tratamentos. Os resultados da mobilização foram fracos, resultado atribuído à destruição do sistema radicular na Primavera próximo da floração. A pastagem sob-coberto originou o pior resultado, atribuído a insuficiente eliminação da vegetação pelo pastoreio durante a Primavera com excessiva competição pela água e nutrientes entre vegetação herbácea e árvores. Não foram observadas quaisquer vantagens pelo uso do herbicida com componente residual. Em olival de sequeiro, a gestão da vegetação herbácea com glifosato em aplicação única em Abril confere boa protecção ao solo com vegetação viva no Inverno e morta no Verão, favorece a infiltração da água da chuva, permite o desenvolvimento do sistema radicular à superfície e origina maiores produções. É também o sistema mais simples de implementar e mais económico.

**Palavras-chave:** sistemas de manutenção do solo, olival de sequeiro, herbicidas, mobilização.

### Abstract

**Effect of floor management systems on olive yield and tree crop growth in rainfed olive orchards**

The effect of different ground-cover systems on rainfed olive orchards were studied during eight consecutive years in two orchards located near Bragança and Mirandela in Trás-os-Montes, Portugal. The orchard of Bragança was maintained as a sheep-walk before 2001. Thereafter, it was divided into three plots to receive the ground-cover treatments: sheep-walk; tillage; and non-selective herbicide applied early in April. The olive orchard of Mirandela was tilled before 2001. Thereafter it was also divided into three plots where the ground-cover systems were implemented. They were: tillage; non-selective herbicide; and herbicide with a residual active ingredient applied late in February. During the experimental period the olive yields of groups of ten and twelve trees per plot, respectively in the orchards of Bragança and Mirandela, were recorded, as well as the trunk perimeter increase and the canopy volume in the orchard of Mirandela. The ground managed with the non-selective herbicide (glyphosate) applied early in April gave significantly higher olive yields, trunk circumference increases and canopy volumes than the other ground-cover systems tested in each orchard. The results of tillage were poor, probably due to the destruction of the root system of the trees in spring at the time of blossom and fruit set. The sheep-walk gave the worst result in the Bragança experiment, due to the deficient control of herbaceous vegetation during spring, which allows for a great competition for water and nutrients between weeds and trees. No advantages were found when the herbicide with a residual component was used in comparison with the use of glyphosate alone. In rainfed olive orchards, the ground must be managed with a non-selective herbicide applied once a time in April. The soil will keep protected during the winter with green vegetation and in summer with a mulch of dead material. The infiltration of water will increase and the root system may develop into the most fertile upper layer. Thus, in rainfed olive orchards economic and environmental benefits may arrive from the use of a non-selective herbicide as a method of floor management.

**Keywords:** ground-cover systems, rainfed olive orchards, herbicides, tillage.

## Introdução

Em grande parte da bacia mediterrânica predomina ainda o olival de sequeiro, apesar da importância crescente dos olivais de regadio conduzidos em sistemas intensivos e super-intensivos. Em Trás-os-Montes, por exemplo, o olival de sequeiro representa mais de 95% da área total de olival, estando as áreas regadas praticamente confinadas a pomares para azeitona de mesa. É também nas vastas regiões de olivicultura de sequeiro que a actividade tem maior repercussão económica e social.

O olival de sequeiro está frequentemente instalado em terrenos pobres, cuja principal limitação é a reduzida espessura efectiva do solo. Estes solos, para além de apresentarem limitações na disponibilidade natural de nutrientes para as plantas (Rodrigues et al., 2005), não armazenam água em quantidade relevante, ficando o desenvolvimento das árvores excessivamente

condicionado pelos longos períodos estivais. A falta de água é o principal factor limitante ao desenvolvimento das plantas, apesar dos diversos mecanismos de defesa de que a planta dispõe contra o stress hídrico (Bosabalidis & Kofidis, 2002; Bacelar et al., 2007).

Atendendo à forte dependência da precipitação natural, que é insuficiente e se distribui de forma irregular no período estival, o olivicultor deve tentar maximizar a eficiência de uso da água. Basicamente devem definir-se estratégias que maximizem a retenção de água no solo na estação húmida e que reduzam as perdas de água por evaporação e transpiração da vegetação herbácea na estação seca (Rodrigues & Cabanas, 2009).

A maioria dos solos dos olivais de encosta e meia encosta encontram-se fortemente erosionados, com espessura efectiva muito reduzida. Devido à sua reduzida espessura e limitada disponibilidade natural em elementos nutrientes, estes solos conferem às árvores elevada susceptibilidade a técnicas tradicionais de manutenção do solo como as mobilizações. As mobilizações de Primavera destroem o sistema radicular que se distribui maioritariamente à superfície, dificultando a absorção de água e nutrientes em momentos determinantes como a floração e o vingamento dos frutos.

Em pomares regados, o solo é habitualmente mantido com coberturas vegetais herbáceas, que protegem o solo e favorecem o desenvolvimento do sistema radicular (Tisdall, 1989; Lipecki & Berbeć, 1997). Contudo, em olival de sequeiro a introdução de coberturas vegetais não é tão simples, uma vez que a vegetação herbácea consome água, o recurso mais limitante. Assim, em olival de sequeiro o equilíbrio entre a conservação do solo e a manutenção de boas condições produtivas é mais difícil de encontrar.

Neste trabalho são apresentados resultados do efeito de diferentes sistemas de manutenção do solo em olival de sequeiro. Foi avaliada a produção de azeitona, o aumento do perímetro do tronco e o volume da canópia, em ensaios que decorreram de 2000 a 2008 nas proximidades de Bragança e Mirandela, em Trás-os-Montes.

## **Material e Métodos**

As experiências de campo decorreram próximo de Bragança e Mirandela em Trás-os-Montes. O olival de Bragança, da cv. Cobrançosa, tem mais de 60 anos de idade e uma densidade próxima das 200 árvores/ha. Está instalado num Leptossolo, com espessura efectiva que não ultrapassa os 30 cm. A parcela apresenta um declive inferior a 2%. O solo revelou teor de matéria orgânica baixo, próximo de 10,0 g kg<sup>-1</sup>, pH (H<sub>2</sub>O) de 6.0 e valores de fósforo e potássio médios e altos, respectivamente. Os registos meteorológicos da região apontam uma temperatura média anual de 11,9°C e uma precipitação média anual acumulada de 741 mm. O olival de Mirandela é da cv. Cobrançosa, com árvores de 13 anos antes do início da experiência (em 2001) e com aproximadamente 240 árvores/ha. O olival está instalado num Leptossolo com espessura efectiva não superior a 20 cm. O declive da parcela aproxima-se dos

4%. O teor de matéria orgânica inicial era de 6,4 g kg<sup>-1</sup>, o pH (H<sub>2</sub>O) de 5,5 e os valores de fósforo e potássio médios. Os registos meteorológicos para a região indicam temperatura média anual de 14,2°C e precipitação média anual acumulada de 520 mm.

O olival de Bragança foi gerido no passado como uma pastagem natural sob-coberto. Em Outubro de 2001 foi dividido em três parcelas que receberam os tratamentos: pastagem sob-coberto; mobilizado; e aplicação de herbicida não selectivo. O talhão mobilizado passou a ser escarificado duas vezes ao ano na Primavera, entre Abril e Maio. O talhão gerido com herbicida foi tratado com um produto à base de glifosato uma vez por ano na primeira quinzena de Abril.

O olival de Mirandela foi mantido até 2001 com mobilização convencional. A partir do início da experiência foi dividido em três parcelas e implementados os sistemas de manutenção do solo: mobilizado; herbicida não selectivo, e herbicida com componente de acção residual. No talhão mobilizado e no talhão gerido com herbicida não selectivo procedeu-se de acordo com o referido para o ensaio de Bragança. No talhão com herbicida com componente residual procedeu-se à aplicação do herbicida no fim do Inverno, entre o fim de Fevereiro e o início de Março. O herbicida usado, de designação comercial de Mascot 600 SC, é composto de diurão, terbutilazina e glifosato.

Previamente à aplicação dos tratamentos de manutenção do solo, em Outubro de 2001, foram seleccionadas 10 e 12 árvores em cada tratamento, respectivamente nos ensaios de Bragança e Mirandela, com base na aparente homogeneidade da canópia. A produção de azeitona no ano zero e nos anos subsequentes foi registada por árvore. No olival de Mirandela, em que as árvores jovens ainda exibiam crescimento activo, foi também registado anualmente o aumento do perímetro do tronco a 50 cm de altura e o volume da canópia no fim do ensaio, em Fevereiro de 2008. Na estimativa do volume da canópia assumiu-se que esta apresenta forma cilíndrica, tendo-se medido a altura do cilindro (da base ao topo da canópia) e o raio médio da copa (desde o tronco às extremidades laterais em todos os quadrantes). O volume foi calculado a partir da expressão  $V = \pi r^2 h$ , em que  $V$  é o volume da canópia (m<sup>3</sup>),  $r$  o raio (m) e  $h$  a altura (m).

Durante o período experimental os olivais foram fertilizados com um adubo composto 10:10:10, aplicado à razão de 1,5 kg/árvore em Bragança e 1,0 kg/árvore em Mirandela. Foi ainda aplicado boro anualmente à razão de 7,7 e 5,5 g/árvore, respectivamente em Bragança e Mirandela. Os olivais foram podados de três em três anos com podas de intensidade moderada (remoção de aproximadamente 1/3 da canópia).

## Resultados e Discussão

Em Bragança, o talhão mantido com glifosato acumulou, ao longo de sete anos, produção significativamente superior ao talhão mobilizado e este por sua vez superior ao talhão mantido com pastagem natural (fig. 1). As produções acumuladas ao fim de sete anos de registos nos três sistemas de manutenção do

solo foram de 119,4, 86,1 e 54,8 kg/árvore, respectivamente. Em Mirandela a produção acumulada foi significativamente superior no talhão gerido com glifosato (53,3 kg/árvore), seguindo-se os resultados do talhão gerido com herbicida com componente residual (43,8 kg/árvore) e por último os resultados do talhão mobilizado (31,3 kg/árvore).

Os resultados da medição do perímetro do tronco e do volume da canópia obtidos no ensaio de Mirandela revelaram um padrão similar aos resultados da produção. Foram obtidos valores significativamente mais elevados no talhão gerido com glifosato, seguindo-se o talhão com herbicida residual e por fim o talhão mobilizado (fig. 2). Os incrementos médios do perímetro do tronco registaram os valores de 5,8, 11,0 e 7,7 cm, respectivamente. Os volumes médios das canópias em Fevereiro de 2008 foram 5,6, 9,4 e 7,4 m<sup>3</sup>, respectivamente.

No ensaio de Bragança registou-se melhor desempenho do tratamento glifosato, provavelmente devido ao facto de permitir o desenvolvimento do sistema radicular à superfície, com vantagem na absorção de nutrientes e água sobretudo a partir da primavera.

A pastagem originou produções inferiores ao mobilizado. Este resultado é atribuído à reduzida capacidade do gado em reduzir a competição da vegetação herbácea pela água e nutrientes na Primavera. Em Abril e Maio, a quantidade de pasto aumenta, registando-se um excesso de vegetação herbácea debaixo das copas com consequências muito negativas para as árvores. A competição pela água e nutrientes numa fase tão determinante para a árvore como a floração e vingamento do fruto origina necessariamente quebras de produção. Em diversos trabalhos que incluíram modalidades em que não se controlou adequadamente a vegetação herbácea foram registadas perdas de produção (Anderson et al., 1992; Silvestri et al., 1999), mesmo em pomares regados (Hornig & Bünemann, 1993).

Em Mirandela, as melhores produções foram igualmente obtidas com glifosato. Esta modalidade permite o desenvolvimento de vegetação herbácea no Inverno, que protege o solo favorece a infiltração de água numa altura em que não causa competição excessiva pelos recursos. A partir de Abril a vegetação é destruída com o herbicida não selectivo, ficando um “mulching” de material vegetal morto sobre o solo que confere ainda protecção contra a erosão, favorece a infiltração e não compete com a árvore pelos recursos. Este sistema de manutenção do solo permite ainda o livre desenvolvimento do sistema radicular da árvore à superfície, contribuindo para melhorar a eficiência de uso dos nutrientes e da água, em particular das pequenas chuvadas estivais. Vantagens diversas da gestão de coberturas vegetais com herbicidas não selectivos foram registadas em muitos outros trabalhos (Pastor et al., 2001; Celette et al., 2008).

O herbicida de acção residual manteve o solo nu durante todo o ano. Este facto reduz a protecção do solo contra a erosão e não promove a infiltração (Gómez et al., 1999), embora permita o desenvolvimento do sistema radicular à superfície. Por outro lado, uma superfície excessivamente exposta o solo atinge

temperaturas mais elevadas no período primavera-verão, que podem ser negativas à actividade do sistema radicular e favorecem a perda de água por evaporação (Tisdall, 1989). De qualquer forma esta modalidade tende a originar maior produção que a modalidade convencional com mobilização (Tisdall, 1989).

Em Mirandela, o talhão mobilizado originou piores resultados que qualquer das modalidades com aplicação de herbicidas. A mobilização, para além de não conferir protecção ao solo contra a erosão, estimula a oxidação dos substratos orgânicos, originando solos com baixos teores de matéria orgânica (Arrobas & Rodrigues, 2002). Por outro lado, destrói o sistema radicular das árvores na Primavera, período de maior actividade metabólica da planta, induzindo stress hídrico e nutritivo em momentos chave do ciclo biológico como sejam a floração e o vingamento do fruto (Rodrigues & Cabanas, 2009).

Os resultados obtidos relativamente ao aumento do perímetro do tronco e ao volume da canópia reforçaram a informação recolhida sobre a importância dos sistemas de manutenção do solo no desenvolvimento vegetativo das árvores, suporte de uma produtividade mais sustentada.

Os resultados mostraram que os sistemas de manutenção do solo podem influenciar significativamente o crescimento das árvores e a produção, por interferirem com a eficiência de uso da água e dos nutrientes. O sistema de manutenção do solo mais adequado para olival de sequeiro parece consistir no uso de um herbicida não selectivo com aplicação em Abril. Desta forma é possível manter o olival com uma cobertura vegetal viva durante o Inverno e um “mulching” de material morto durante o Verão.

## Agradecimentos

Esta linha de trabalho esteve financiado pelo projecto Agro 296 (2001-2004), posteriormente pelo projecto AGRO 743 (2004-2007) e presentemente está incluída no projecto PTDC/AGR-AAM098326/2008.

## Referências

- Anderson, J.L., Bingham, G.E. & Hill, R.W. 1992. Effect of permanent cover crop competition on sour cherry tree evapotranspiration, growth and productivity. *Acta Horticulturae*, 313:135-142.
- Arrobas, M. & Rodrigues, M.A. 2002. Agricultura de conservação em culturas perenes. I Congresso Nacional de Mobilização de Conservação do Solo. APOSOLO, Évora, 149-154.
- Bacelar, E.A., Santos, D.L., Moutinho-Pereira, J.M., Lopes, J.I., Gonçalves, B.C., Ferreira, T.C., & Correia, C.M. 2007. Physiological behaviour, oxidative damage and antioxidant protection of olive trees grown under different irrigation regimes. *Plant and Soil*, 292:1-12.
- Bosabalidis, A.M. & Kofidis, G. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Science*, 163:375-397.

- Celette, F., Gaudin, R. & Gary, C. 2008. Spatial and temporal changes to the water regime of a Mediterranean vineyard due to adoption of cover cropping. *European Journal of Agronomy*, 29:153-162.
- Gómez, J.A., Giráldez, J.V., Pastor, M. & Fereres, E. 1999. Effects of tillage method on soil physical properties, infiltration and yield in an olive orchard. *Soil and Tillage Research*, 52:167-175.
- Hornig, R. & Bünemann, G. 1993. Fertigation and controlled strip cover by weeds in IP apple orchards. *Acta Horticulturae*, 335:65-71.
- Lipecki, J. & Berbeć, S. 1997. Soil management in perennial crops: orchards and hop gardens. *Soil and Tillage Research*, 43:169-184.
- Pastor, M., Castro, J., Veja, V. & Humanes, M.D. 2001. Sistemas de manejo del suelo. In: *El cultivo del olivo*. Barranco D, Fernández-Escobar R & Rallo L (eds), Mundi-Prensa and Junta de Andalucía, Madrid, 215-254.
- Rodrigues, M.A., Arrobas, M. & Bonifácio, N. 2005. Análise de terras em olivais tradicionais de sequeiro. O efeito da aplicação localizada de fertilizantes. *Revista de Ciências Agrárias*, XXVIII:167-176.
- Rodrigues, M.A. & Cabanas, J.E. 2009. Manutenção do solo. In: *Manual da Safra e contra safra do olival*. Rodrigues, M.A. & Correia, C.M. (eds), IPB, Bragança. 41-57.
- Silvestri, E., Bazzanti, N., Toma, M. & Cantini, C. 1999. Effect of training system, irrigation and ground cover on olive crop performance. *Acta Horticulturae*, 474:173-175.
- Tisdall, J.M. 1989. Soil Management. *Acta Horticulturae*, 240:161-168.

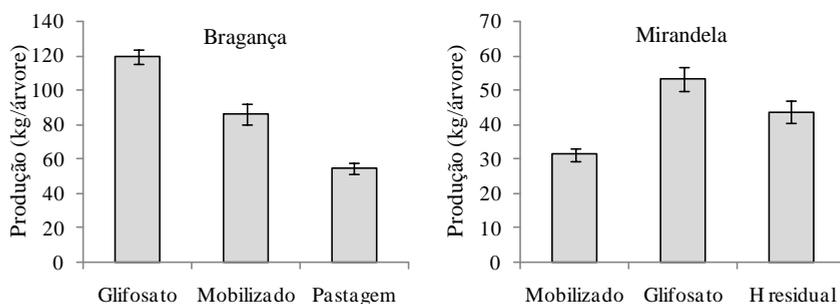


Figura 1 - Produção acumulada de azeitona nas sete colheitas seguintes à instalação dos diferentes sistemas de manutenção do solo. A linhas verticais representam o intervalo de confiança para a média ( $\alpha < 0,05$ ).

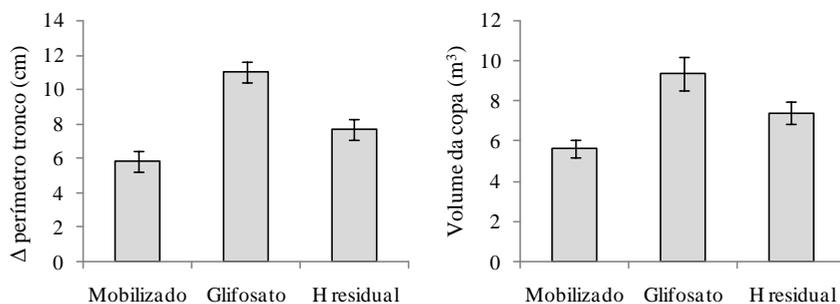


Figura 2 - Aumento médio do perímetro do tronco (esquerda) e volume médio da copa em Fevereiro de 2008 (direita) devido ao efeito dos diferentes sistemas de manutenção do solo no ensaio de Mirandela. A linhas verticais representam o intervalo de confiança para a média ( $\alpha < 0,05$ ).

# Contribuição para definir a estratégia de poda num olival tradicional da região de Moura

A.B. Dias<sup>1</sup>, A. Pinheiro<sup>1</sup>, I. Piçarra<sup>2</sup>, M. Figueira<sup>2</sup>, F. Borges<sup>2</sup> & J.O. Peça<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Rural da Universidade de Évora/ Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM), Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, adias@uevora.pt

<sup>2</sup>Direcção Regional de Agricultura do Alentejo. Quinta da Malagueira, Apartado 83, 7002-553 Évora, Portugal

## Resumo

A recente diminuição do preço do azeite levará a que os produtores tenham inevitavelmente que adoptar estratégias produtivas que permitam reduzir os custos de produção. A utilização da máquina de podar de discos é uma solução que permite reduzir os custos de poda, ao diminuir a dependência da mão-de-obra, nomeadamente nos olivais com densidades inferiores a 150 árvores por hectare (Peça et al., 2002; Dias, 2006, Dias et al., 2008).

Neste trabalho pretende-se mostrar os resultados obtidos num ensaio de aplicação de poda mecânica iniciado em 2002 na região de Moura. O ensaio foi estabelecido num olival da variedade "Cordovil de Serpa", com mais de 80 anos, cerca de 70 árvores por hectare e equipado com sistema de rega gota a gota.

Estabeleceram-se os seguintes tratamentos: T0 – sem podar; T1 – poda manual com motosserra; T2 – poda mecânica, que consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa das árvores; T3 – poda mecânica realizada de forma análoga ao tratamento T2, complementada dois anos após (2004), com poda manual efectuada com motosserra.

Os resultados obtidos mostram que, em média, a produção obtida nos diferentes tratamentos foi similar, confirmando que é possível manter as árvores a produzir sem necessidade de intervenções de poda.

Apesar deste resultado, a ausência de poda dificulta a operação de colheita devido, quer à dimensão da copa, quer aos ramos excessivamente pendentes.

**Palavras-chave:** poda mecânica, olivicultura.

## Abstract

**Definition of a pruning strategy for traditional olive orchards on Moura region (Southeast of Portugal). An approach.**

The decrease of the price of olive oil paid to olive producers leads no alternative than the reduction of production costs.

Mechanical pruning is the solution to reduce labour dependence particularly of the majority traditional olive orchards of Portugal with densities less than 150 trees per hectare (Peça et al., 2002; Dias, 2006; Dias et al., 2008).

This paper gives an account of the work started in 2002 at the important olive growing southeast region of Portugal. The olive orchard has the following characteristics: old trees (over 80 years old), "Cordovil de Serpa" cultivar, 70 trees per hectare and irrigated by a drip system.

Four treatments were introduced in the experiment: T0 - no pruning; T1 - manual pruning using chain saws; T2 - mechanical "topping" performed by a tractor mounted cutting bar (Peça et al., 2002; Dias, 2006; Dias et al., 2008); T3 - mechanical pruning, as in T2, followed two years later by a manual pruning complement performed with a chain saw.

At harvest, performed with a trunk shaker and complemented by workers, olive production was evaluated for each treatment.

Over a period of seven harvest seasons, no significant differences ( $P>0.1$ ) were found among treatments concerning olive yield in kilograms per tree. The results seem to support a less frequent pruning practice, furthermore it also suggest that a cheaper mechanized technique might be a future strategy to be taken as alternative.

**Keywords:** olive trees, mechanical pruning, yields, pruning strategy.

## Introdução

A crescente dificuldade em recrutar mão-de-obra para a execução da poda da oliveira, associada ao seu custo, levou esta equipa, a iniciar em 1997 uma linha de experimentação sobre a utilização de uma máquina de podar de discos, vulgarmente designada por poda mecânica. Os resultados obtidos e apresentados noutros trabalhos, revelaram que a poda mecânica não penaliza a produção de azeitona (Dias, 2006; Dias et al., 2008).

Para difundir a aplicação da poda mecânica noutras zonas olivícolas portuguesas, instalou-se em 2002 um ensaio num olival tradicional da região de Moura (Sudeste de Portugal).

Neste trabalho pretende-se divulgar os resultados desse ensaio, nomeadamente o efeito da aplicação de poda mecânica na produção de azeitona, nos seis anos subsequentes à intervenção de poda.

## Material e Métodos

### *Olival*

O olival localiza-se na Herdade dos Lameirões, Safara, Moura. Trata-se de um olival de sequeiro, predominantemente da cultivar Cordovil de Serpa, com cerca de 80 a 90 anos, no qual foi montado um sistema de rega gota-a-gota no ano de instalação do ensaio. O olival está implantado de forma irregular, com

as árvores alinhadas apenas numa direcção e com uma densidade média de cerca de 70 árvores por hectare.

### *Equipamentos*

As intervenções de poda mecânica foram realizadas com uma máquina de podar de discos R&O, montada no carregador frontal de um tractor com 50 kW (DIN) de potência máxima. A constituição da podadora foi anteriormente descrita por Dias et al. (1998), Santos et al. (1999) e Dias (2006).

A intervenção de poda manual foi efectuada com moto-serras Sthill 020 e na poda manual de complemento utilizaram-se moto-serras em altura Sthill HT70.

Durante o período em que decorreu o ensaio procedeu-se à colheita de azeitona com vibrador, tendo-se utilizado para recolha da azeitona, quer o apara-frutos, quer panais movimentados manualmente por pessoal auxiliar.

### *Metodologia*

O ensaio iniciou-se em Março de 2002, com a seguinte metodologia:

Tratamento 0 (T0) – sem podar; durante o período de execução do ensaio não se realizou qualquer intervenção de poda;

Tratamento 1 (T1) – poda manual efectuada por podadores utilizando moto-serra (fig. 1). A intervenção de poda consistiu na eliminação de “ramos ladrões” da parte interior da copa, bem como na eliminação de ramos pendentes que dificultavam a tarefa de colheita da azeitona, tendo sido executada em 2002 e 2008 (quadro 1);

Tratamento 2 (T2) – poda mecânica efectuada por uma máquina de podar de discos, montada no carregador frontal de um tractor agrícola (fig. 2). A intervenção de poda consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa das árvores, eliminando cerca de 1,0 m a 1,5 m; tendo sido executada no ano de instalação do ensaio e em 2008 (quadro 1);

Tratamento 3 (T3) – poda mecânica seguida de poda manual de complemento. No ano de estabelecimento do ensaio e em 2008 efectuaram-se intervenções com a máquina de podar de discos de forma análoga ao tratamento 2. A poda manual de complemento foi executada em 2004 (quadro 1) e consistiu na eliminação de “ramos ladrões” da parte interior da copa e dos ramos pendentes da sua parte inferior (fig. 3).

O ensaio foi instalado em blocos casualizados, com três repetições e com 32 árvores por talhão, num total de 384 árvores.

Em Dezembro de cada um dos anos foi feita a colheita da azeitona com um vibrador, o qual foi complementado com varejo auxiliar para quantificar a produção total de azeitona em cada um dos talhões.

Foi feita a análise de variância (ANOVA), utilizando o programa MSAT-C. Sempre que a análise de variância revelou diferenças significativas, foi feito o Teste de Separação Múltipla de Médias de Duncan para um nível de significância de 5%.

## Resultados e Discussão

O quadro 2 mostra a influência do ano na produção de azeitona. Verificaram-se diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) na produção de azeitona entre os anos, tal como se verificaram noutros ensaios (Dias, 2006; Dias et al., 2008), evidenciando a alternância de produção que caracteriza esta espécie.

De realçar que a ausência de produção no ano de execução da poda (quadro 2) estará associada, quer à intervenção de poda, que ao eliminar ramos, reduz o potencial produtivo das árvores, quer ao aspecto debilitado que as árvores mostravam, com poucos crescimentos do ano anterior.

Nos anos seguintes (2003 e 2004) obteve-se uma produção significativamente superior à do ano da poda. No entanto em 2005 a produção foi significativamente inferior ( $P \leq 0,05$ ) às obtidas em 2003 e 2004. Este resultado deve ser considerado com alguma precaução visto que se tratou de um ano em que houve uma seca extrema, o que naturalmente afectou a produção de azeitona.

Em 2006, obteve-se uma produção significativamente superior ( $P \leq 0,05$ ) à dos restantes anos. Este resultado bem como o resultado obtido em 2007, mostram a característica alternante desta espécie, já que após um ano com pouca produção se segue outro com maior nível produtivo para depois se verificar o inverso.

Em 2008, a produção voltou a ser significativamente superior à do ano anterior, embora não tenha atingido o nível produtivo de 2006, para o qual terá contribuído a realização de intervenções de poda que terão eventualmente diminuído o potencial produtivo das árvores.

Em termos de efeito médio do tratamento na produção de azeitona não se verificaram diferenças significativas ( $P > 0,1$ ), indicando-se na figura 4 as produções médias obtidas.

Estes resultados mostram que, neste tipo de olival, é perfeitamente possível manter as árvores sem podar durante seis anos sem que tal se repercuta negativamente na produção de azeitona.

Este facto é extremamente interessante visto que a ausência de poda não acarreta custos e conseqüentemente origina uma maior relação benefício-custo.

Estes resultados confirmam também os que se obtiveram nos ensaios efectuados na região de Elvas (Dias, 2006; Dias et al., 2008), ou seja, não se verificarem diferenças significativas na produção de azeitona entre a poda exclusivamente manual, a poda mecânica e a poda mecânica com poda manual de complemento.

Este ensaio mostra ainda que a execução de poda manual de complemento dois anos após a poda mecânica não se traduziu num aumento da produção de azeitona. No entanto deve referir-se que esta intervenção veio melhorar a operação de colheita, visto que o operador do vibrador passou a ter maior visibilidade do tronco da árvore, o que facilitou as manobras de aproximação e como tal contribuiu para reduzir o tempo de colheita por árvore.

Em termos de produção de azeitona, a interacção ano x tratamento foi significativa ( $P \leq 0,05$ ), apresentando-se na figura 5 as produções obtidas por cada tratamento em cada um dos anos.

Pode verificar-se que somente em 2006 se verificaram diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre os tratamentos na produção de azeitona. O facto dos tratamentos 1 (poda manual) e 3 (poda manual de complemento) terem obtido produções ligeiramente maiores que os outros tratamentos no ano da seca (2005), poderá ter contribuído para os resultados obtidos em 2006. Tal dever-se-á possivelmente a um menor potencial produtivo que estaria associado a uma menor emissão de lançamentos em 2005.

As intervenções de poda efectuadas em 2008 não se repercutiram na produção obtida em virtude de não se terem verificado diferenças significativas entre os tratamentos embora as intervenções com a máquina de podar de discos tenham registado os menores valores. Tal era expectável visto que a máquina de podar de discos não é selectiva enquanto que a poda manual é possível seleccionar os ramos que se vão eliminar, o que se traduziu numa menor intensidade de poda.

Estes resultados evidenciam que é perfeitamente possível manter as árvores a produzir sem executar intervenções de poda durante um período de tempo que pode ultrapassar os seis anos. É pertinente verificar até quando se conseguirá manter esse nível produtivo e de que modo a ausência de poda afectará a alternância de produção entre anos.

Este ensaio revelou que apesar das árvores sem podar manterem um nível produtivo semelhante ao dos outros tratamentos, a colheita da azeitona produzida tende a ser mais difícil de executar devido à maior dimensão das árvores, traduzida numa maior altura e na existência de ramos pendentes que dificultam a abordagem da árvore pelo vibrador de tronco e a sua acção.

Os resultados obtidos parecem ainda evidenciar que a realização de intervenções de poda manual de complemento após uma primeira intervenção de poda mecânica não se justifica. O maior custo de execução não se traduziu numa maior produção de azeitona por árvore, pelo que apenas a relação entre o custo de execução da colheita e a eventual maior quantidade de azeitona colhida por dia poderá justificar a sua realização.

A obtenção de produções de azeitona que mantenham o equilíbrio entre os diferentes tratamentos reforçarão a noção de que a poda mecânica é a solução para olivais deste tipo e que a poda manual de complemento apenas deverá ser realizada pontualmente visando facilitar a colheita de azeitona.

Relativamente ao tratamento sem podar, torna-se evidente que não será possível manter as árvores indefinidamente nessas condições, visto que à medida que os anos decorrem aumentam as dificuldades em colher a azeitona devido às dimensões que as mesmas atingem.

## **Agradecimentos**

Este trabalho não teria sido possível sem o financiamento do Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e das Pescas, através do programa AGRO.

De realçar também todas as facilidades concedidas pela Direcção Regional de Agricultura do Alentejo na concretização deste ensaio, bem como a acção do COTR (Centro Operativo de Tecnologias de Regadio) pela gestão da rega.

## **Referências**

- Dias, A.B., Santos, L., Peça, J.O., Pinheiro, A., Reynolds de Souza, D., Morais, N. & Pereira, A.G. 1998. Aplicação da poda mecânica na olivicultura moderna, Edição Especial da Revista de Ciências Agrárias - Simpósio Nacional de Olivicultura, vol. XXI - números 1-2-3e 4, p. 149-156, Jan - Dez.
- Dias, A.B. 2006. A mecanização da poda do olival. Contribuição da máquina de podar de discos. Tese de Doutoramento, Universidade de Évora, Évora, Portugal.
- Dias, A.B., Peça, J.O., Santos, L., Pinheiro, A., Morais, N. & Pereira, A.G. 2008. The influence of mechanical pruning on olive production and shaker efficiency, Acta Horticulturae number 791 - Proceedings of the Fifth International Symposium on Olive Growing, volume 1, p. 307-313, June.
- Peça, J.O., Dias, A.B., Pinheiro, A., Santos, L., Morais, N., Pereira, A.G. & Reynolds de Souza, D. 2002. Mechanical pruning of olive trees as an alternative to manual pruning, Acta Horticulturae number 586 - Proceedings of the Fourth International Symposium on Olive Growing, volume 1, p. 295-299.
- Santos, L., Dias, A., Peça, J., Pinheiro, A., Souza, D.R., Morais, N. & Pereira, A.G. 1999. A utilização da poda mecânica na olivicultura alentejana. VIII Congresso Nacional de Ciências, Hortícolas, 20 - 23 de Abril 1999, Murcia, Espanha.

Quadro 1 - Sequência das intervenções de poda efectuadas no ensaio da Herdade dos Lameirões

Tratamentos	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
T0	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar
T1	Poda manual	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Poda manual
T2	Poda mecânica	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Poda mecânica
T3	Poda mecânica	Sem podar	Poda manual de complemento	Sem podar	Sem podar	Sem podar	Poda mecânica

Quadro 2 - Influência do ano na produção de azeitona

Ano	Produção azeitona (kg/árvore)
Ano da poda (2002)	0,0 d
2003	26,7 b
2004	28,6 b
2005	10,4 c
2006	39,1 a
2007	4,7 cd
2008	27,0 b

Valores acompanhados de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $P \leq 0,05$ )



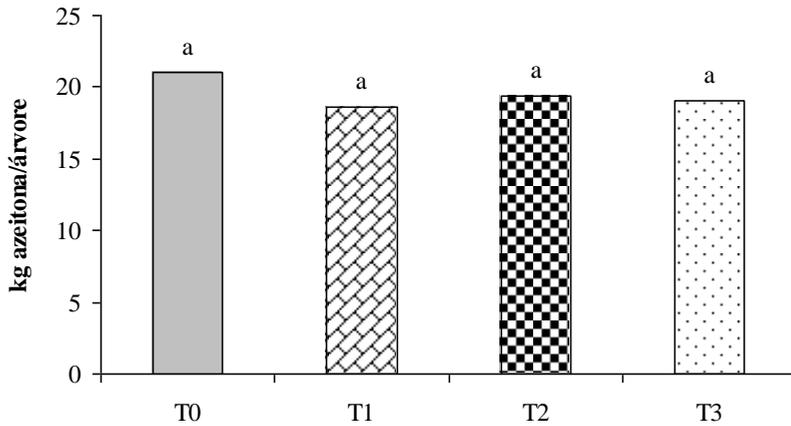
Figura 1 - Poda manual, em 2002.



Figura 2 - Corte horizontal da copa da árvore com máquina de podar de discos, em 2002.

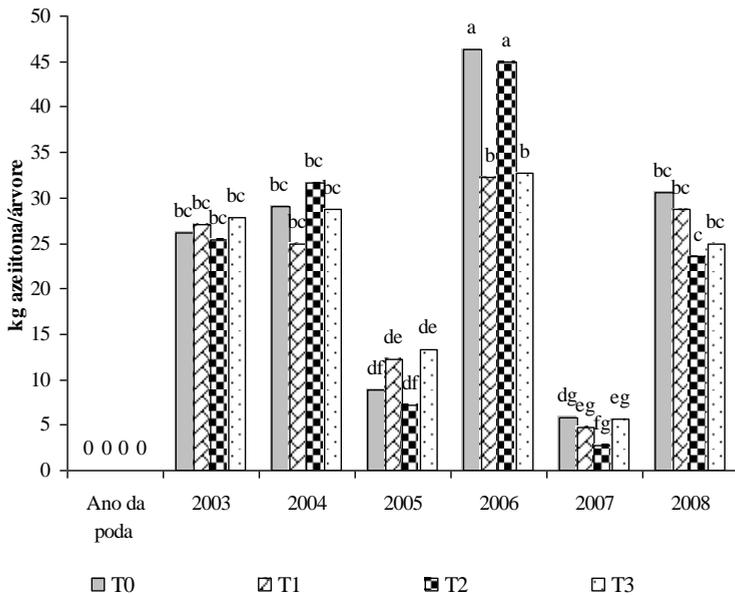


Figura 3 - Poda manual de complemento com motoserra em altura Shill HT70, em 2004.



A ANOVA não revelou diferenças significativas entre os tratamentos ( $P > 0,1$ ).

Figura 4 - Produção média de azeitona por árvore em cada tratamento, no período 2002 a 2008.



Colunas acompanhadas de letras diferentes diferem significativamente entre si, segundo o teste de separação de médias de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

Figura 5 - Produção média de azeitona por árvore para cada tratamento, em cada um dos anos, no ensaio da Herdade dos Lameirões.

## **Resultado preliminar da aplicação da poda mecânica num olival da variedade Arbequina conduzido em sebe**

A.B. Dias, A. Pinheiro & J.O. Peça

Departamento de Engenharia Rural da Universidade de Évora/ Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM) Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, adias@uevora.pt

### **Resumo**

Nos olivais de elevada densidade conduzidos em sebe, a colheita da azeitona é efectuada com uma máquina automotriz cavalgadora, pelo que é fundamental adequar a dimensão das árvores às da máquina.

A poda é a prática cultural que os olivicultores dispõem para controlar a dimensão das árvores.

O ensaio iniciou-se em 2008 num olival foi instalado em 2000, com uma entrelinha de 3,5 m e com 1,35 m de afastamento entre as árvores na linha, tendo sido conduzido em eixo central.

O ensaio foi delineado em blocos casualizados com três repetições, sendo cada talhão constituído por 3 linhas de 100 árvores cada. Foram definidos os seguintes tratamentos: T1 - poda manual efectuada por podadoras com motosserra e tesourões; T2 - poda mecânica que consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa das árvores, seguido de poda manual de complemento para controlar ramos excessivamente desenvolvidos nas faces laterais da copa das árvores; T3 - poda mecânica que consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa das árvores e de um corte vertical na face exposta a leste, seguido de poda manual complemento manual para controlar ramos excessivamente desenvolvidos na outra face lateral da copa das árvores; T4 - poda mecânica que consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa das árvores e de cortes verticais em cada uma das faces da copa das árvores.

A utilização da máquina de podar permite controlar a altura das árvores com uma maior uniformidade do que a poda manual.

Embora os resultados se refiram apenas ao primeiro ano de ensaio, as produções obtidas nos diferentes tratamentos foram similares.

Será necessário assegurar a continuidade deste trabalho durante um maior período de tempo para definir a melhor estratégia de poda para este tipo de olival.

**Palavras-chave:** poda mecânica, olival superintensivo.

## **Abstract**

### **Preliminary results of the study of mechanical pruning on a high density olive orchard (Arbequina cultivar)**

In the high density olive orchards, harvesting is usually performed using an over-the-row harvesting machine. For a good performance of this machine an adequate olive trees dimension is necessary. Manual pruning is the current practice used by farmers to control tree development.

A trial to evaluate mechanical pruning as an alternative to manual pruning in high density olive orchards was established, in the year of 2008, in a commercial orchard of Arbequina cultivar. The orchard was planted, in the year of 2000, according to 3.5 meters between rows and 1.35 meters between trees in the row. The trees were trained according to the central leader system. In this trial, in a randomised complete block with three replications, four treatments (T1; T2; T3, T4) are being compared leading to 12 plots with 100 trees per plot. The treatments under study are: T1 - manual pruning using chain saws; T2 - mechanical pruning with the pruning machine; topping the canopy parallel to the ground, followed by manual pruning complement; T3 - mechanical pruning, topping the canopy parallel to the ground and hedging on the East side of the canopy, followed by manual pruning complement on the West side of canopy; T4 - mechanical pruning, topping and hedging the two sides of the canopy.

Although results are from the first year of field trial, olive yield obtained in each plot was similar. However the canopies of trees under the manual pruning show an extensive growth, which makes more difficult the performance of the harvesting equipment. Mechanical pruning seems to be effective in the height tree control leading to a more uniform orchard when compared to manual pruning. More years of field work are essential to validate the tendencies registered in this trial.

**Keywords:** olive trees, mechanical pruning, yields, pruning strategy.

## **Introdução**

Nos olivais de elevada densidade, conduzidos em sebe, a colheita da azeitona é efectuada com máquinas automotrizes cavaladoras. Para que a colheita seja efectuada com a melhor eficiência é necessário que a dimensão das árvores não condicione o trabalho da máquina de colheita. As intervenções de poda que o olivicultor realiza todos os anos servem para controlar o desenvolvimento das árvores, quer em altura, quer em largura. Estas são realizadas por podadores com equipamentos de poda manual assistida, quer motosserras, quer tesouras.

A experiência na utilização da poda mecânica em olivais de menor densidade, levou a que em 2008 se tenha estabelecido um ensaio de avaliação da utilização da máquina de podar de discos num olival da variedade Arbequina conduzido em sebe.

Neste trabalho pretende-se mostrar os resultados obtidos no primeiro ano de ensaio.

## **Material e Métodos**

### *Olival*

O olival localiza-se na Quinta de Vale de Lobos, Santarém, Portugal. Trata-se de uma parcela de olival da variedade Arbequina, instalado em 2000, com 3,75 metros de distância entre linhas e 1,35 metros de distância entre árvores na linha. O olival foi conduzido em eixo central, tendo até à instalação do ensaio, sido podado anualmente com motosserra e tesourões.

### *Equipamentos*

As intervenções de poda mecânica foram realizadas com uma máquina de podar de discos R&O, montada num carregador frontal de um tractor com cerca de 75 kW (DIN) de potência máxima.

Trata-se de uma máquina utilizada por Dias et al. (1998), Santos et al. (1999), Peça et al. (2002), Dias (2006). No entanto o braço de corte dispõe apenas de 4 serras circulares (fig. 1). A barra de corte tem deslocamento lateral o que permite ajustar o seu posicionamento em relação à linha de árvores.

As intervenções de poda manual foram efectuadas com moto-serras Sthill 020 e tesourões OutilsWolf. A colheita de azeitona foi efectuada com uma máquina de colheita automotriz New Holland.

### *Metodologia*

O ensaio iniciou-se em Março de 2008, com a seguinte metodologia:

Tratamento 1 (T1) – poda manual; a poda foi executada podadoras utilizando moto-serra e tesourões (fig. 2). Eliminaram-se ramos bastante lenhificados que poderiam condicionar o trabalho da máquina de colheita, quer situados na vertical, quer situados horizontalmente em relação ao eixo central das árvores.

Tratamento 2 (T2) – poda mecânica + poda manual de complemento; a intervenção de poda mecânica consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa das árvores (fig. 3). Após a intervenção da máquina de podar de discos, um grupo de mulheres munidas com tesourões, efectuou uma poda manual de complemento, que serviu para eliminar os ramos muito lenhificados, inseridos na árvore perpendicularmente em relação ao eixo central.

Tratamento 3 (T3) – poda mecânica + poda manual de complemento; a intervenção de poda consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa das árvores e num corte vertical na face lateral da copa situada do lado Nascente (fig. 4). Após a intervenção da máquina de podar de discos, um grupo de mulheres munidas com tesourões, efectuou uma poda manual de complemento, que serviu para eliminar os ramos situados perpendicularmente em relação ao eixo das árvores e que dificultavam o trânsito dos equipamentos no interior do olival.

Tratamento 4 (T4) – poda mecânica; a intervenção de poda consistiu na realização de um corte horizontal na parte superior da copa e cortes verticais em cada uma das faces laterais da copa das árvores.

O ensaio foi instalado em blocos casualizados, com três repetições, sendo cada talhão é constituído por três linhas de 100 árvores cada.

Registou-se o tempo gasto na poda de cada talhão. Numa amostra de 10 árvores aleatoriamente seleccionada por talhão, procedeu-se à medição da altura e da largura das árvores antes e após as intervenções de poda.

Em Novembro de 2008 procedeu-se à colheita da azeitona produzida no ensaio, tendo-se registado a massa de azeitona colhida na linha central de cada talhão.

Foi feita a análise de variância (ANOVA), utilizando o programa MSAT-C. Sempre que a análise de variância revelou diferenças significativas, foi feito o Teste de Separação Múltipla de Médias de Duncan para um nível de significância de 5%.

## Resultados e Discussão

### *Capacidade de trabalho*

Na figura 5 mostra-se a capacidade de trabalho obtida com a máquina de podar de discos nos diferentes tratamentos. Conforme seria de esperar, à medida que aumenta o número de passagens de máquina por linha de árvores, verifica-se uma redução da capacidade de trabalho.

No entanto deve referir-se que nos cortes verticais a capacidade do tractor é ligeiramente superior visto que os ramos cortados tombam para o solo enquanto que no corte horizontal existe sempre alguma acumulação de ramos na frente dos discos de corte podendo ocasionalmente provocar algum empapamento e conseqüentemente necessidade de parar.

A capacidade de trabalho das podadoras está bastante condicionada ao número de cortes que têm que efectuar, conforme se pode verificar da figura 6. No caso do tratamento 3 a capacidade de trabalho reflecte a realização de cortes esporádicos ao longo da linha de árvores, podendo afirmar-se que as podadoras estão praticamente sempre em movimento.

### *Altura das árvores*

A altura das árvores não foi condicionada pela poda, em virtude de não se terem verificado diferenças significativas ( $P > 0,05$ ). No quadro 1 mostra-se a altura das árvores após a poda em cada um dos tratamentos.

Verificou-se que nos tratamentos com poda mecânica as árvores ficaram com altura um pouco superior ao pretendido. Tal deve-se ao facto de as oscilações do braço de corte causadas por irregularidades do terreno se repercutirem na altura a que se realiza o corte. Além disso também se verificou que por vezes alguns ramos mais flexíveis não eram cortados pela máquina,

levando a que a altura das árvores ficasse maior do que a posição onde se realizou o corte.

#### *Largura das árvores*

Em termos de largura de copa após a poda verificaram-se diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre os tratamentos. Conforme se pode verificar no quadro 1, no tratamento 3 as árvores ficaram com a copa mais larga, diferindo significativamente ( $P \leq 0,05$ ) dos tratamentos 2 e 4. Tal deve-se ao facto de numa das faces laterais da copa das árvores submetidas ao tratamento 3 as intervenções de poda terem sido muito ligeiras limitando-se a retirar ramos excessivamente salientes da copa das árvores e que preenchiam bastante espaço da entrelinha.

De referir ainda que entre o tratamento 2 e o tratamento 4 não se verificaram diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) para o qual terá contribuído o facto dos cortes realizados nas faces laterais da copa com a máquina de podar não terem sido muito intensos.

Entre o tratamento 1 e 2 não se verificaram diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) para o qual poderá ter contribuído a facto das intervenções realizadas nas faces laterais das copas terem sido ambas efectuadas manualmente pelas mesmas podadoras, as quais naturalmente que tendem a realizar o mesmo tipo de intervenção.

A ausência de selectividade da máquina de podar, cortando indiscriminadamente todos os ramos, terá contribuído para que a largura da copa no tratamento 4 fosse significativamente inferior ( $P \leq 0,05$ ) à do tratamento 1, onde apenas se eliminam ramos excessivamente salientes.

#### *Produção*

Em termos de produção de azeitona por árvore não se verificaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos (fig. 7).

No entanto os tratamentos onde houve intervenção da máquina de podar de discos registaram valores inferiores aos da poda manual. Tal verificou-se com maior intensidade nos tratamentos 2 e 4, possivelmente por terem sido aqueles onde a copa ficou com menor dimensão.

Tratando-se de resultados preliminares, será necessário assegurar a continuidade deste ensaio para verificar se a realização de intervenções com a máquina de podar de discos não compromete a produção de azeitona, em virtude de se tratar de uma solução que reduz a dependência em relação à mão-de-obra, permitindo uniformizar a dimensão das árvores.

A realização do corte horizontal na parte superior da copa das árvores com a máquina de podar de discos, permite que a capacidade de trabalho das podadoras aumente cerca de 50% comparativamente às árvores podadas de forma totalmente manual. Deste modo será possível reduzir o tempo de poda, que além da redução da dependência da mão-de-obra, possibilitará a realização da poda no momento mais oportuno.

A utilização da máquina de podar de discos permite ainda uniformizar a dimensão das copas e dimensioná-la de acordo com as características da

máquina de colheita. Serão necessários mais anos de ensaio para avaliar as repercussões que a utilização da máquina de discos originará na produção de azeitona, de modo a definir uma adequada estratégia de poda mecanizada para este tipo de olival.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a colaboração do proprietário da Quinta de Vale de Lobos, Eng. Joaquim Santos Lima, sem a qual não teria ido possível a realização deste trabalho.

## Referências

- Dias, A.B., Santos, L., Peça, J.O., Pinheiro, A., Reynolds de Souza, D., Morais, N. & Pereira, A.G. 1998. Aplicação da poda mecânica na olivicultura moderna, Revista de Ciências Agrárias, vol. XXI números 1-2-3e 4:149-156.
- Dias, A.B. 2006. A mecanização da poda do olival. Contribuição da máquina de podar de discos. Tese de Doutoramento, Universidade de Évora, Évora, Portugal.
- Peça, J.O., Dias, A.B., Pinheiro, A., Santos, L., Morais, N., Pereira, A.G. & Reynolds de Souza, D. 2002. Mechanical pruning of olive trees as an alternative to manual pruning, Acta Horticulturae number 586 - Proceedings of the Fourth International Symposium on Olive Growing, volume 1, p. 295-299.
- Santos, L., Dias, A., Peça, J., Pinheiro, A., Souza, D.R., Morais, N. & Pereira, A.G. 1999. A utilização da poda mecânica na olivicultura alentejana. VIII Congresso Nacional de Ciências, Hortícolas, 20 - 23 de Abril 1999, Murcia, Espanha.

Quadro 1 - Parâmetros biométricos após a poda

Tratamentos	Altura das árvores (m)	Largura da copa (m)
T1	3,28 a	2,04 ab
T2	3,04 a	1,95 bc
T3	2,98 a	2,15 a
T4	2,96 a	1,91 c

Valores acompanhados de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $P \leq 0,05$ )



Figura 1 - Aspecto da barra de corte da máquina de podar de discos.



Figura 2 - Podadoras a efectuarem poda manual.



Figura 3 - Máquina de podar de discos a efectuar corte horizontal.



Figura 4 - Máquina de podar de discos a efectuar corte vertical.

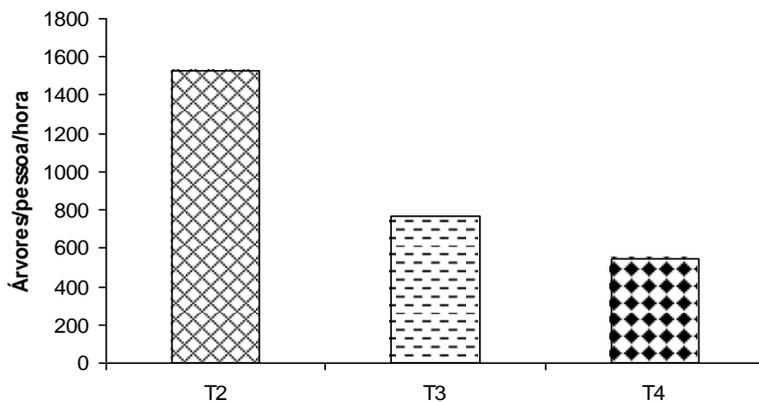


Figura 5 - Capacidade de trabalho da máquina de podar de discos.

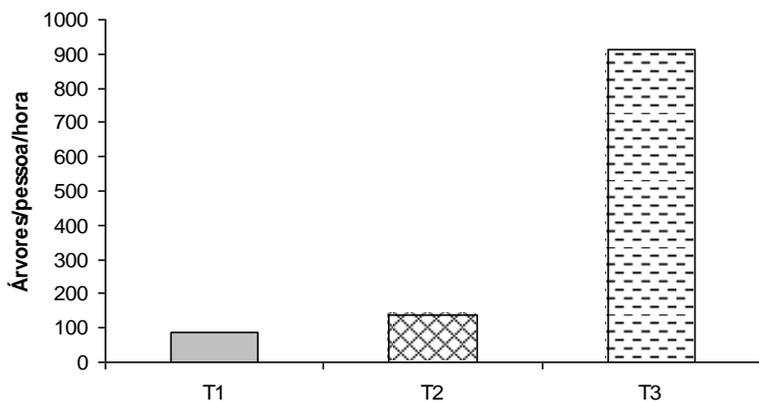
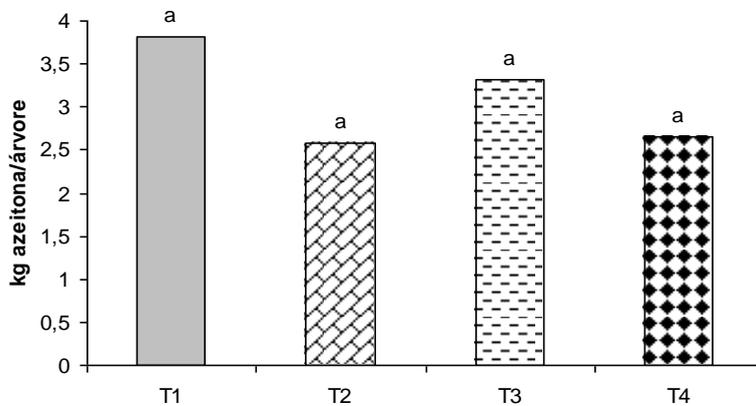


Figura 6 - Capacidade de trabalho na realização de poda manual, por tratamento.



A ANOVA não revelou diferenças significativas entre os tratamentos ( $P>0,05$ )

Figura 7 - Produção média por árvore para cada tratamento, no ensaio da Quinta de Vale de Lobos.

## Mecanização da colheita responde aos desafios dos novos e velhos olivais

A. Almeida

Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal, acfa@ipb.pt

### Resumo

A importância económica da produção de azeitona justifica a adopção de soluções mecanizadas para a colheita. Aspecto fundamental a considerar é o tipo de olival: tradicional (com cerca de 150 árvores por hectare), intensivo (com cerca de 300 a 400 árvores por hectare) e superintensivo (com 1000 a 2000 árvores por hectare).

Nos olivais tradicionais são normalmente utilizados vibradores de tronco montados em tractores agrícolas para o destaque dos frutos, sendo a recolha assegurada por lonas interceptoras movimentadas manualmente ou por dispositivos mecânicos como enroladores de panos ou apara-frutos. Estudos efectuados, têm demonstrado que a capacidade de trabalho destes sistemas têm valores médios de 40 a 70 árvores por hora. Em árvores de maior porte, em que o desempenho dos vibradores de tronco não é satisfatório ou mesmo impossível devido à dimensão da copa e tronco, a colheita pode ser efectuada por rotores mecânicos montados em tractores agrícolas. Estes rotores mecânicos têm uma capacidade de trabalho média de 12 a 25 árvores por hora. É uma capacidade de trabalho baixa quando comparada com a que se obtém com vibradores de tronco, mas permite a mecanização da colheita em olivais tradicionais, constituídos por grandes árvores, com cultivares autóctones produtoras de azeitona da qual se obtém azeite de grande qualidade. A recolha pode ser assegurada por lonas interceptoras.

Nos olivais intensivos, concebidos numa perspectiva de melhor aproveitamento da luz e conseqüente aumento de produção por unidade de área exigem a utilização de equipamento de recolha específico para estes olivais, devido ao curto compasso nas linhas de árvores. Ensaios de campo efectuados com este equipamento específico demonstram uma capacidade de trabalho que varia entre 40 e 80 árvores por hora.

Nos olivais superintensivos, concebidos numa óptica de maximização da produção, a colheita e a recolha são efectuadas em contínuo com equipamento semelhante ao utilizado para vindimar, que cavalga as linhas de árvores, destacando a azeitona com varas vibratórias, que é imediatamente recolhida e transportada para tegões de armazenamento temporário. Com este sistema de colheita é expectável uma capacidade de trabalho de 3 a 3,5 horas por hectare de olival.

**Palavras-chave:** colheita mecânica, olivais tradicionais, intensivos e superintensivos.

## **Abstract**

### **Olive mechanical harvesting meets the challenges of modern and traditional orchards**

The economic importance of olive oil justifies the mechanical harvesting. Different types of olive orchards must be considered: traditional (<150 trees per hectare), high density olive orchards (300-400 trees per hectare) and super high density olive orchards (1000-2000 trees per hectare). In the traditional olive orchards, trunk shakers are usually used to detach olives, being collected by manual or mechanical canvas. Field tests show a performance of 40 to 70 trees per hour, for these harvesting systems. In this kind of olive orchards when trees have a big crown, not suitable for trunk shakers, a spike rotor is an useful equipment, despite the lower performance – 12 to 25 trees per hour. In high density olive orchards, specific equipment has been designed to collect olives detached by trunk shakers. The performance of this system achieved 40 to 80 trees per hour. In super high density olive orchards, olives harvesting and collecting are simultaneously, using an overrow equipment. In this case, performance is 3 to 3.5 hours per hectare.

**Keywords:** olive, mechanical harvesting, traditional olive orchards, high density olive orchards.

## **Introdução**

O objectivo deste trabalho é a divulgação simples e concisa do resultado de vários trabalhos de investigação experimental e de campo, envolvendo a colheita mecânica de azeitona. É referida informação obtida em diferentes tipos de olivais: tradicionais, intensivos e superintensivos ou olivais em sebe.

### *Olivais Tradicionais*

A informação relativa à colheita mecanizada nestes olivais foi obtida em ensaios de campo realizados ao longo de três anos.

Foram utilizados onze olivais, seis em Trás-os-Montes e cinco no Alentejo, considerados representativos de cada uma destas regiões. Contêm de 90 a 240 árvores por hectare. Nos olivais situados no Alentejo predomina a 'Galega'. Nos olivais situados em Trás-os-Montes, predominam a 'Cobrançosa', a 'Verdeal Transmontana' e a 'Madural'. Todos os olivais estavam em plena produção.

Para o destaque dos frutos foi utilizado um vibrador por impacto R&O VM 07, montado no carregador frontal do tractor. Nos ensaios, este vibrador foi utilizado montado em tractores agrícolas com potências entre 46 kW DIN e 58 kW SAE.

Para a recolha dos frutos foi utilizado um enrolador de panos com transportador elevador e um apara-frutos, ambos R&O.

O enrolador de panos é um equipamento de recolha de frutos montado no tractor, ao longo do seu flanco direito, apoiado atrás no sistema de engate de três pontos e à frente num carregador frontal. Tem por objectivo recolher e movimentar para o reboque, através de um sistema de panos e tapetes transportadores, os frutos destacados das árvores por acção de vibradores. Nos ensaios, este enrolador de panos com descarga para reboque foi utilizado com tractores com potências de 50 kW DIN.

O apara-frutos é um equipamento de recolha de frutos montado debaixo do vibrador e igualmente suspenso do carregador frontal do tractor. A descarga dos frutos acumulados no fundo, numa caixa de armazenamento temporário, é feita posteriormente para um semi-reboque ou para lonas colocadas no chão.

Foram estudados três sistemas de colheita designados por Sistema I, Sistema II e Sistema III:

Sistema I (fig. 1): Tractor com vibrador + tractorista; 8 operadores para movimentação das lonas de recolha da azeitona; tractor com semi-reboque + tractorista, para armazenar e transportar a azeitona.

Sistema II (fig. 2): Tractor com vibrador + tractorista; tractor com enrolador de panos e semi-reboque + tractorista; dois operadores auxiliares; tractor com semi-reboque + tractorista, para realizar a mudança dos semi-reboques.

Sistema III (fig. 3): Tractor com vibrador e apara-frutos + tractorista; tractor com semi reboque + tractorista.

A figura 4 indica os valores de capacidade de trabalho por sistema de colheita e olival.

O Sistema I proporciona os melhores valores de capacidade de trabalho. No entanto, para que esses resultados sejam efectivos, como nos olivais 2, 6 e 9, é necessário que a mão-de-obra para a movimentação das lonas seja muito treinada e motivada.

O Sistema II tem interesse em olivais instalados em solos com declives que dificultam ou inviabilizam o trabalho do Sistema III e em locais onde não há mão-de-obra disponível para o trabalho do Sistema I.

O Sistema III, embora tenha resultados de capacidade de trabalho mais modestos, é o que proporciona custos de utilização mais baixos (Almeida et al. 2009), pelo que é, dos três sistemas, o mais interessante, embora em solos inclinados (> 15%) possa requerer cuidados na escolha das trajectórias a utilizar pelo equipamento.

O colhedor de azeitona “Oli-Picker” está disponível no mercado e trabalha escovando a copa das oliveiras com um rotor (fig. 5) montado num braço articulado hidraulicamente, tornando possível o destaque da azeitona no interior e exterior da copa.

Observações de campo, efectuadas ao longo de duas campanhas de colheita (Almeida, 2007) indicam valores de capacidade de trabalho de 10 a 25

árvores por hora (fig. 7), dependendo da metodologia de trabalho e volume da copa das árvores, o que é um resultado modesto quando comparado com as 40 a 70 árvores por hora que se obtém com sistemas de colheita que utilizam vibradores de tronco. As observações foram efectuadas em olivais tradicionais de Trás-os-Montes, de sequeiro, constituídos em parte por grandes árvores de 'Verdeal Transmontana', 'Cobrançosa' e 'Madural'.

A vantagem do "Oli-Picker" sobre os vibradores de tronco verifica-se em olivais tradicionais constituídos por grandes árvores (fig. 6) que se encontram em muitas regiões do Nordeste de Portugal, em Espanha e Itália. Nestes olivais, os vibradores de tronco são ineficientes (Peça, 2002) ou mesmo impossíveis de utilizar devido ao diâmetro dos troncos, mas para o "Oli-Picker" a dimensão da copa não é uma dificuldade. Por grandes árvores entendem-se as que têm volume de copa superior a 100 200 m<sup>3</sup> e perímetro de tronco superior a 2-3,5 m.

Considerando que o "Oli-Picker" é competitivo com outros sistemas de colheita quando usado em olivais com grandes árvores, assumem importância os resultados obtidos nos olivais n.ºs 2, 3, 8 e 9, constituídos por grandes árvores. Nestes casos a capacidade de trabalho esperada está compreendida entre 10 e 13 árvores por hora.

O "Oli-Picker", operando em conjunto com vibradores de dorso, pode ser um equipamento útil para colher azeitona em olivais com grandes árvores, considerando que colhe aproximadamente 100% dos frutos neste tipo de olivais, em que os vibradores de tronco são pouco eficientes (Almeida, 2009).

A manutenção destes olivais com grandes árvores, que pode ser justificada pela qualidade do azeite produzido, tem neste equipamento uma ajuda interessante. É, nestes casos de recomendar uma melhoria das restantes técnicas culturais, de modo a aumentar a produção por árvore.

#### *Olivais Intensivos*

Novas plantações de olival têm um número de árvores por hectare superior.

Almeida et al. (2009) constatou o potencial do apara-frutos ("guarda-chuva" invertido), funcionando simultaneamente com um vibrador de troncos, como o sistema economicamente mais vantajoso para os olivais tradicionais.

Contudo, com densidades de 300 a 400 árvores por hectare, o que significa 3,5 a 5 metros entre plantas na linha, o espaço disponível não é suficiente para abrir o apara-frutos (guarda chuva invertido) (fig. 5), pelo que Peça et al. (2008) concebeu o protótipo de um desenrolador de panos interceptor que é proposto como alternativa para um sistema de colheita em olivais mais densos (fig. 8).

Os ensaios de campo realizaram-se no Alentejo num olival de 'Cobrançosa', plantado a 7,0×3,5 m. O sistema de colheita contou com dois enroladores de panos, cada um deslocando-se ao longo da sua linha de árvores. Entre as duas linhas, o tractor com um vibrador de troncos destacava a azeitona alternadamente de cada uma das linhas de árvores. Quando a capacidade de armazenamento temporário do enrolador de panos é esgotada, a colheita é

transferida para pequenas lonas colocadas no solo. Mais tarde, com uma grua hidráulica montada em tractor com semi-reboque, toda a azeitona é recolhida (fig. 9). Foram obtidos valores de capacidade de trabalho de 40 a 80 árvores por hora.

#### *Olivais em sebe*

A densidade de plantação dos olivais em sebe (ou pomares de oliveiras) situa-se entre 1000 e 2000 árvores por hectare. São normalmente utilizadas cultivares com hábitos de crescimento e vigor adaptadas ao tipo de condução em sebe, como a 'Arbequina' e a 'Arbosana'. Um aspecto interessante destas plantações é a sua rápida entrada em produção. Aproximadamente 2,5 anos após a plantação na Primavera, pode já ter uma produção apreciável. Outro aspecto de grande interesse é a colheita com máquinas automotrizes (idênticas às utilizadas para vindimar, diferindo por pequenas adaptações) que cavalgam as linhas de árvores, destacando e recolhendo em simultâneo a azeitona. A colheita não é feita árvore a árvore, como acontece nos outros tipos de olival, mas linha a linha (fig. 11).

Observações feitas com este tipo de colheita apontam para valores de capacidade de trabalho de 3 a 3,5 horas por hectare. Considerando a necessidade de manter as qualidades e especificidades dos azeites portugueses, estão instalados olivais experimentais com cultivares portuguesas, com o objectivo de avaliar o seu desempenho nestas condições.

## **Referências**

- Almeida, A. & Peça, J. 2007. Performance of the Oli-Picker olive harvester in Trás-os-Montes region of Portugal - Proceedings of Ciosta Conference - "Advances in labour and machinery management for a profitable agriculture and forestry". Slovak University of Agriculture, p 44-51, Nitra, Slovakia.
- Almeida, A., Peça, J.O., Pinheiro, A.C., Dias, A.B., Santos, L.S., Reynolds, D. & Lopes, J. 2009. Estudo Comparativo do Desempenho de Três Sistemas de Colheita Mecânica de Azeitona. Actas Portuguesas de Horticultura, Portugal 172-178.
- Almeida, A. 2009. "Oli-Picker" a solution to detach olives from large trees? Technology and management to ensure sustainable agriculture, agro-systems, forestry and safety XXXIII CIOSTA - CIGR V Conference 2009 - Reggio Calabria (Italy) - p. 659-663.
- Peça, J., Almeida, A., Pinheiro, A., Dias, A.B., Santos, L., Oliveira, D.R. & Lopes, J. 2002. Influence of Trunk or Bough Shaking on the Performance and Costs of Mechanical Harvesting of Olives. Acta Horticulturae, 586: 357-360.
- Peça, J., Almeida, A., Pinheiro, A., Dias, A., Santos, L., Lopes, J. & Reynolds, D. 2008. Mechanical harvesting of 400 trees per hectare olive orchards based on a rolling canvas prototype. Acta Horticulture, 791: 363-367.



Figura 1 - Sistema I.



Figura 2 - Sistema II.



Figura 3 - Sistema III.

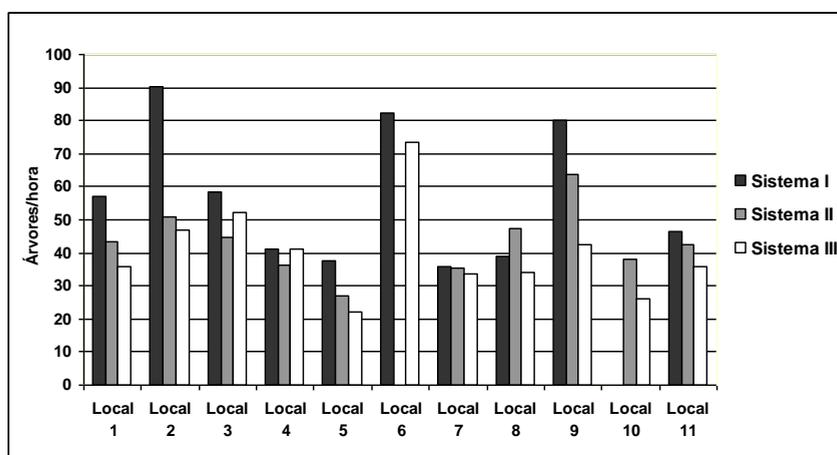


Figura 4 - Olivais tradicionais: capacidade de trabalho por sistema de colheita e olival.



Figura 5 - Colhedor "Oli-Picker".



Figura 6 - Colheita de grandes árvores.

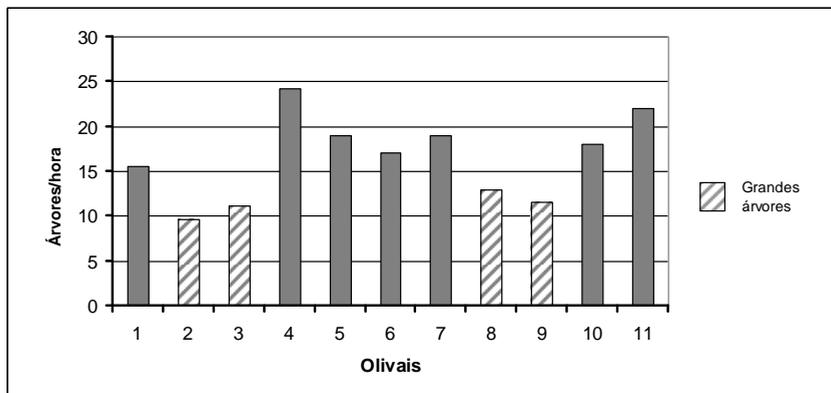


Figura 7 - Resultados de capacidade de trabalho do "Oli-Picker".



Figura 8 - Enrolador de panos.



Figura 9 - Recolha da azeitona.



Figura 10 - Olival em sebe.



Figura 11 - Colheita em olival em sebe.

## Maneio do olival em sebe – 10 anos de experiência

F. Mestre

Departamento Técnico da Todolivo, S.L., Todolivo, C/. Ingeniero Torroja y Miret, s/n, 14013-Córdoba, Espanha

### Resumo

No início dos anos 90, como reacção ao aumento do custo de mão-de-obra para a colheita assim como dificuldade em encontrar mão-de-obra qualificada e no sentido de dinamizar a cultura, um grupo de técnicos em Espanha, baseados no princípio da vinha, decide mudar a abordagem à cultura da oliveira.

O primeiro olival em sebe que conhecemos está situado em Catalunha numa terra de sequeiro. Foi concebido com um compasso de 5 m de entre-linha por 4 m na linha, o que supõe cerca de 500 oliveiras por hectare. As árvores foram guiadas com recurso a canas, assim como utilização de aramação com postes de madeira e fio de arame para a sua sustentação. Para a colheita, foram usadas máquinas de vindimar adaptadas com grande resultado.

Mais tarde, com o objectivo de otimizar o número de oliveiras numa terra de sequeiro, duplicou-se o número de oliveiras por hectare. Para tal utilizou-se um compasso de 4 x 2,5 m com um total de 1000 oliveiras por hectare.

Desde então, tendo sempre como objectivo maximizar os quilos de azeite por hectare, com a máxima qualidade e ao mais baixo custo, incorporou-se o sistema de rega. Estes olivais regados permitem altas densidades de árvores, podendo chegar a 1975 oliveiras por hectare.

Todolivo promoveu este revolucionário sistema no início dos anos 90.

**Palavras-chave:** oliveira, olival, sebe, fertilização, fitossanidade.

### Introdução

Dedicamos muito tempo e recursos na investigação e desenvolvimento deste tipo de plantações, denominadas inicialmente olival super-intensivo e, mais recentemente, olival em sebe.

Muitos anos de investigação e resultados obtidos esclareceram muitos aspectos desta técnica. Em 1999, realizou-se a nossa primeira plantação de olival em sebe em Córdoba (Espanha) com este inovador e revolucionário sistema. Desde então plantamos e assistimos tecnicamente mais de 10.000 ha de olival em sebe, transformando-nos na empresa que mais planta e assiste tecnicamente olival em sebe em todo o mundo.

Ao longo destes últimos anos a superfície plantada com este sistema aumentou rapidamente em todo o mundo (Espanha, Portugal, Marrocos, Grécia, Itália, Tunísia, Chile, Argentina, etc...). Hoje em dia estima-se em cerca de 80 000 ha de olival em sebe plantados em todo o mundo, o que nos leva a considerar que este sistema passou a fase inicial, implementou-se e encontra-se agora na fase madura de crescimento.

Assistimos ainda a dois grandes eixos de desenvolvimento: melhora de maquinaria (parceria Todolivo – New Holland) e melhora genética (Todolivo participa no Programa de Melhora Genética da Universidade de Córdoba com vista a obter novas variedades em 10 anos).

#### *Em que consiste o Sistema de Olival em Sebe?*

Basicamente consiste em criar uma estrutura de oliveiras que nos permita obter os melhores resultados da disponibilidade de água, luz e espaço.

Este sistema:

- Produz a maior quantidade de quilos de azeitona e azeite por hectare
- Conserva a máxima qualidade
- E com o mínimo custo possível

#### *Quais as principais vantagens?*

1. Colheita 100% mecanizada; permite uma colheita rápida, fácil e a baixo custo:

- Situa o preço de colheita entre 0,3 a 0,7 euro/kg (aprox.)
- Permite uma velocidade de colheita de 2,5 horas/ha

2. Primeira produção precoce: Desde o 3.<sup>o</sup> ano a produção pode situar-se entre 8.000 e 21.200 kg/ha, diminuindo o período improdutivo da oliveira.

3. Elevados e constantes ganhos, devido a:

- As variedades utilizadas (Arbequina, Arbosana, Koroneiki e Sikitita).

- O sistema de colheita: As colhedoras automatizadas não causam danos às oliveiras durante a colheita, não reduzindo a produção na campanha seguinte.

- O sistema de poda utilizado preserva a renovação da árvore, mantendo-a produtiva.

4. Produz-se azeite de elevada qualidade. 100% do azeite obtido é Virgem-Extra, devido a:

- A velocidade de colheita permite colher todas as azeitonas no ponto ótimo de maturação.

- Toda a azeitona é colhida da árvore sem tocar no chão, evitando contaminações e estragos no fruto.

5. Aumenta a exposição solar da superfície foliar. Quanto maior for a superfície foliar iluminada, maior será a produção. Com o sistema de olival em sebe é possível obter 15.500 m<sup>2</sup>/ha versus o sistema intensivo que pode alcançar de 8.000 m<sup>2</sup>/ha a 12.000 m<sup>2</sup>/ha.

6. Reduz o custo de poda. Em média situa-se em 150 €/ha.

7. O azeite obtido neste tipo de plantações é bem cotado a nível de preço.

### *Técnicas utilizadas no sistema de olival em sebe*

1. Análise de solo para descobrir limitações físico-químicas e doenças. Esta análise deve ser realizada antes da plantação e permite-nos conhecer em profundidade o solo onde vamos actuar, ajudando-nos a definir o melhor plano de fertilização a seguir, considerando sempre o factor económico. Adicionalmente, no caso de o solo ter sido previamente utilizado para outras culturas susceptíveis ao fungo *Verticillium dahliae*, é necessário realizar testes que permitam verificar que o solo se encontra livre deste tipo de fungo ou que apresenta uma quantidade tolerável para a variedade de planta a colocar. Variedades como Arbequina demonstraram uma melhor resistência a fungos de solo do que outras como Picual.

2. Coordenação dos trabalhos de preparação de solo e rega.

3. Execução da plantação com recurso a máquinas equipadas com GPS que colocam a planta, tutor de bambú e herbicida. A capacidade actual de plantação é de mais de 100.000 plantas/dia.

4. Selecção de variedades resistentes ou com razoável resistência a pragas e doenças. Arbosana e Koroneiki são resistentes a Olho-de-Pavão, enquanto outras como Picual, Hojiblanca, Cobrançosa ou Galega são mais susceptíveis. Por esta razão recomendamos as primeiras para zonas com elevada humidade relativa. Por outro lado, se o solo apresenta sinais de *Verticillium dahliae*, a eleição da variedade indicada é fundamental, sendo que, neste caso, a variedade Arbequina mostrou resultados muito interessantes sob estas circunstâncias.

5. Utilização de material vegetal geneticamente seleccionado, submetido a um exaustivo controlo sanitário e enraizado em substrato esterilizado. Todas as plantas utilizadas por Todolivo são certificadas como livres de Olho-de-Pavão, *Verticillium dahliae* e *Pseudomonas savastanoi*.

6. Utilização de LITONITA para uma fertilização ecológica. Trata-se de um mineral utilizado antes da plantação. Este fertilizante é espalhado usando um normal distribuidor centrífugo, sendo enterrado antes da plantação. O seu efeito dura os três primeiros anos de plantação estimulando a planta a atingir produção mais cedo. A sua principal característica é a capacidade para reter água e nutrientes quando fornecidos e disponibilizá-los mais tarde quando o solo começa a secar.

7. Utilização de tutor de cana de bambu. Estes tutores não prejudicam a oliveira e duram cerca de 3 anos. Ao longo deste período a sua função é a de sustentar a planta até esta ser suficientemente forte para se auto-sustentar. Depois da primeira colheita, muitas das canas partem e os seus restos são incorporados com os restos da poda quando se proceder à trituração do material vegetal. Estas resistentes canas de bambu não prejudicam as oliveiras com a incidência de ventos ou durante a apanha mecânica. As dimensões das canas utilizadas são de 2,5 m de altura e 20-22 mm de diâmetro, permitindo guiar a planta de forma piramidal. Com este sistema de tutores consegue evitar-se o "efeito vela" produzido por acção do vento sobre a sebe de oliveiras, uma

vez que os tutores encontram-se independentes uns dos outros, minimizando assim a resitência oferecida ao vento.

8. Assistência técnica. Sem ela não poderíamos chegar a produções importantes. Todolivo conta com 15 Engenheiros Agrónomos com grande experiência em olival em sebe, desenvolvendo o seu trabalho em mais de 15 países (Espanha, Portugal, Marrocos, todo o Norte de África, Itália, Croácia, Estados Unidos...).

#### COMPORTAMENTO AGRONÓMICO DE VARIEDADES DE OLIVEIRA PARA PLANTAÇÕES DE OLIVAL EM SEBE

Em colaboração com a Universidade de Córdoba, Escola Superior Agrária de Santarém e a empresa Agromillora Catalana.

Localização dos ensaios: Parcelas em Pedro Abad propriedade de Todolivo, Parcelas em Santarém, propriedade da Escola Superior Agrária de Santarém e propriedades no Alentejo plantadas e assistidas tecnicamente por Todolivo.

Varietades Ensaiaadas: Espanholas (Sikitita, Picual, Imperial Blanco, Nevado Azul, Lechín Sevillano, Hojiblanco, Lechín de Granada, Cornicabra, Cuquilli e Arroniz), Italianas (Coratina enxertada em Frantoio, Frantoio, Coratina, Maurino, Pendolino, Leccino, Moraiolo e Tosca), Portuguesas (Cobrançosa e Galega), variedades de mesa (Manzanilha Cacerena e Manzanilla Sevillana).

*Objectivo:* Determinar, entre outras medidas, a colheita, o peso do fruto, o rendimento em gordura e a sua humidade, assim como a composição acídica dos azeites de cada parcela elementar. Além disto, o ensaio é colhido por uma máquina automotriz para ver qual é o comportamento de cada uma das variedades.

*Resultados:* Actualmente estão realizadas várias colheitas, podendo observar-se distintos resultados e determinar quais são as variedades que, inicialmente, se adaptam ao sistema em sebe e que variedades são mais precoces em entrar em produção, quais são as de mais fácil condução, quais são as mais produtivas e as que têm maior rendimento em gordura e finalmente que variedades apresentam maior conteúdo em ácidos gordos.

#### DESENVOLVIMENTO DE UMA LINHA ESPECÍFICA DO PROGRAMA DE MELHORA GENÉTICA DA OLIVEIRA

Em colaboração com a Universidade de Córdoba  
Início dos ensaios: Março de 2007

Localização dos ensaios: Parcelas “ Cruz de los Huertos “ em Pedro Abad, propriedade de Todolivo.

*Objectivo:* Realização de uma nova linha do Programa de Melhora Genética da oliveira mediante a selecção de genitores de acordo com o objectivo marcado, cruzamento em floração de parentais, germinação de

sementes, condução de plantas em viveiro, novos cruzamentos, condução de plantas de semente dos cruzamentos em campo, primeiras avaliações e selecções, avaliação e propagação de pre-selecções e ensaio comparativo de pre-selecções.

*Resultados:* Quando finalizar o Programa poder-se-ão registar novas variedades de oliveira aptas para cultivo em sebe.

#### MANEIO DE PODA DE RENOVAÇÃO COMPLETA

Em colaboração com o I.F.A.P.A e Universidade de Córdoba

Início dos ensaios: Fevereiro de 2004

Localização dos ensaios: Parcelas “ Ocana “ em Pedro Abad, propriedade de Todolivo

Variedades ensaiadas: Arbequina Seleção Todolivo, Arbosana i-38 e Koroneiki i-43

*Objectivo:* Determinar a capacidade de reovação e rebentação da sebe de oliveira. Este ensaio está a ser realizado numa plantação estabelecida no ano de 1999. No ano do início do ensaio realizou-se um corte a distintas alturas (a 50 cm, a 50 cm com limpeza de ramos e a 1,70 m) e compara-se com uma plantação testemunha sem corte.

*Resultados:* Actualmente estão realizadas várias colheitas e quantificação a efectividade do tratamento comparado com metodologias tradicionais, avaliando-se a viabilidade económica (rendimento e custos operativos) em comparação com a poda tradicional.

1. Com o Sistema Todolivo Olival em Sebe produz-se azeitona de forma ecológica - fertilização com Litonita, uso de produtos de protecção vegetal naturais, uso de bambu que é um produto natural, sem uso de ferros ou cabos, o olival consome CO<sub>2</sub> e geramos um bosque perene repleto de fauna autóctone.

2. Com o Sistema Todolivo, Olival em Sebe, produz-se a uma média de 1,35 €/kg de azeite, reduzindo os custos na operação de colheita, em comparação com outros sistema de produção com custos superiores aos 2 €/kg.

3. O azeite obtido dos nossos olivais é 100% Virgem-Extra. As variedades adaptadas ao sistema podem ser comercializadas de forma independente (azeites monovarietais) ou conjunta, sendo muito apreciadas no mercado, alcançando desta forma maior preço de mercado.

4. O sistema é adequado para qualquer regime, seja de sequeiro, de regadio ou com rega de apoio. A densidade de plantação variará em função de diferentes parâmetros como clima, solo e disponibilidade de água.

5. Todolivo é a única empresa que é capaz de plantar e seguir 5 variedades de oliveira aptas para o cultivo em sebe. Com o Programa de Melhora Genética, Todolivo terá disponíveis mais variedades para cultivar a curto/médio prazo.

*OUTROS ENSAIOS DE I + D*

Novembro 2008 – Verdtech

Junho 2009 – Ajustar níveis críticos de azoto em folha

Junho 2009 – Estudo do controlo de vigor em plantações de olival em sebe mediante diferentes estratégias de rega deficitária

Junho 2009 – Tratamento térmico para o controlo de cobertura vegetal

Ano 2010 – Quantificação da quantidade de dióxido de carbono que captura uma plantação de olival em sebe

Ano 2010 – Determinação da influência da orientação nas plantações de olival em sebe

Ano 2010 – Ensaio de variedades, densidades de plantação e dotação de água

*Colaboradores/Parceiros de Todolivo*

Acordos de colaboração em estudos de investigação com:

- Universidades de Agronomia de Córdoba, Sevilha, Huelva, Escola Superior Agrária de Santarém, Escola Superior Agrária de Beja e Universidade de Meknes (Marrocos);

- I.F.A.P.A. (Instituto de Investigação e Formação Agrária e Pescas – Junta de Andaluzia);

- Direcção Geral de Produção Agrícola e Ganadera da Consejería de Agricultura e Pesca da Junta de Andaluzia;

- R.A.E.A (Rede Andaluza de Experimentação Agrária);

- I.M.I.D.R.A (Consejería de Economía e Inovação Tecnológica da Comunidade de Madrid);

- Instituto de Agricultura Sustentável de C.S.I.C.;

- Empresas privadas: Agromillora, New Holland, Kverneland Group-Gregoire, Regaber, Probelte, Mycosym, Micovitro e Repsol.

Quadro 1 - Resultados obtidos em propriedades onde se realizou aplicação de Litonita, incorporação de restos de poda e poda de manutenção.

Fincas/ Año 2.008	Tipo	Agua aportada/año	Pluviometria Anual (2.008)	Total Gastos Anuales	Kg Aceite (Neto) /ha	Coste Prod. 1kg aceite
Deux Domaines (Meknes-Marruecos)	Riego	2.100 m <sup>3</sup> /ha	630 l/m <sup>2</sup>	1.535 €/ha	1.228	<b>1,25 €</b>
El Borouj (El Borouj-Marruecos)	Riego	2.400 m <sup>3</sup> /ha	230 l/m <sup>2</sup>	1.877 €/ha	1.564	<b>1,2 €</b>
Herdade "Granja" (Montes Velhos-Aljustrel-Portugal)	Riego	1.900 m <sup>3</sup> /ha	310 l/m <sup>2</sup>	1.914 €/ha	2.401	<b>0,80 €</b>
Herdade "Valdouro" (Ferreira do Alentejo - Portugal)	Riego	1.865 m <sup>3</sup> /ha	374 l/m <sup>2</sup>	2.106 €/ha	1.581	<b>1,33 €</b>
La Almarja (Córdoba - España)	Riego	2.150 m <sup>3</sup> /ha	510 l/m <sup>2</sup>	2.468 €/ha	1.695	<b>1,46 €</b>
Agrícola del Hidalgo (Jaén- España)	Riego	1.548 m <sup>3</sup> /ha	484 l/m <sup>2</sup>	2.100 €/ha	1.519	<b>1,38 €</b>
El Llano (Sevilla - España)	Riego	1.472 m <sup>3</sup> /ha	497 l/m <sup>2</sup>	2.522 €/ha	2.762	<b>0,91 €</b>
El Cercao (Córdoba - España)	Riego	2.843 m <sup>3</sup> /ha	537 l/m <sup>2</sup>	2.265 €/ha	1.944	<b>1,16 €</b>
El Alcaide (Córdoba - España)	Riego de apoyo	480 m <sup>3</sup> /ha	495 l/m <sup>2</sup>	1.707 €/ha	1.479	<b>1,15 €</b>
El Camarero (Córdoba - España)	Secano	0	492 l/m <sup>2</sup>	1.662 €/ha	1.269	<b>1,31 €</b>
La Mantanza (Sevilla - España)	Secano	0	442 l/m <sup>2</sup>	2.063 €/ha	1.642	<b>1,25 €</b>

Quadro 2 - Resultado de uma propriedade de regadio – com 10 anos.

#### ORCHARD NAME: "EL LLANO"

- PLACE: Écija (Sevilla)
- NET AREA: 28 ha PLANTATION YEAR: April 2000
- FRAME OF PLANTATION: 1,35 x 3,75 m NUMBER OF TREES PER HA: 1.975 trees/ha
- VARIETY: Arbequina IRRIGATION SYSTEM: Drip irrigation system

DATA	2.002	2.003	2.004	2.005	2.006	2007 (*)	2008	Average/ha
kg olives/ha	17.461	14.620	20.217	12.145	10.500	7.500	13.157	13.657
kg oil/ha	2.961	1.898	3.029	2.708	1.786	1.200	2.433	2.288
Water applied (mm)	1.850	1.950	2.100	1.650	1.950	2.085	1.472	1.865
Operational cost (year's expenses) (€)	2.900	2.704	3.090	2.534	2.559	2.215	2.602	2.658
Cost per kg of oil (€/kg)	0,98	1,43	1,02	0,94	1,43	1,85	1,07	1,24
Income (€)	6.219	3.985	6.360	5.688	3.750	2.519	5.109	4.804
Profit (P=I-C) (€)	3.319	1.281	3.270	3.154	1.191	304	2.507	2.146
Oil price (€/kg)	<b>2,10</b>							

Quadro 3 - Resultado de uma propriedade com rega de apoio – com 8 anos.

**Finca "El Alcaide" (Riego apoyo)**

**Localidad:** Nueva Carteya (Córdoba)  
**Año de plantación:** Febrero 2002  
**Marco de plantación:** 1,5 x 6,5 m  
**Variedad:** Arbequina Selección Todolivo - Agromillora  
**Principal limitación:** Limitación de agua

Producción y pluviometría	2.004	2.005	2006	2007	2008	Media/ha
kg aceituna/ha	2.092	3.410	6.570	4.293	8.848	5043
kg aceite/ha	349	672	1.294	846	1.772	987
Pluviometría (mm)	350	625	475	520	495	493
Riego (mm)	675	320	520	460	480	491

Quadro 4 - Resultado de uma propriedade de sequeiro – com 11 anos.

**ORCHARD NAME: "LA MATANZA"**

- PLACE: Cerro Perea (Sevilla)
- NET AREA: 5,95 ha PLANTATION YEAR: June 1999
- FRAME OF PLANTATION: 1,35 x 7 m NUMBER OF TREES PER HA: 1.058 trees/ha
- VARIETY: Arbequina IRRIGATION SYSTEM: Non irrigation

DATA	2.001	2.002	2.003	2.004	2.005	2006	2007 (*)	2008	Average/ha
kg olives/ha	3.483	7.100	8.230	8.327	4.516	5.857	4.868	8.690	6.384
kg oil/ha	637	1.314	1.432	1.566	1.043	1.328	924	1.425	1.209
Rainfall (mm)	510	391	563	682	248	490	403	442	466
Operational cost (year's expenses) (€)	1.188	1.285	1.315	1.319	1.216	1.251	1.225	1.368	1.271
Cost per kg of oil (€/kg)	1,87	0,98	0,92	0,84	1,17	0,94	1,33	0,96	1,12
Income (€)	1.338	2.758	3.008	3.288	2.191	2.788	1.941	2.992	2.538
Profit (P-I-C) (€)	150	1.473	1.693	1.969	975	1.537	716	1.624	1.267
Oil price (€/kg)	2,10								

Quadro 5 - Evolução da produção (kg de azeitona/ha).

ENSAIO DE VARIEDADES

- LOCAL: Pedro Abad (Córdoba) ANO DE PLANTAÇÃO: MARÇO 2000
- SISTEMA DE REGA: Rega Gota-a-Gota
- PARCEIROS: Universidade de Córdoba e Governo de Andaluzia

Year	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
Harvest	1st	2nd	3rd	( <sup>1</sup> ) 4th	5th	7th	8th	Average
Variety								
"Arbequina"	14.220	14.576	17.393	4.098	8.446	10.140	10.460	11.333
"Arbequina I-18"	11.842	11.295	15.436	4.302	8.582	13.324	9.619	10.629
"Arbosana"	16.585	8.520	16.825	7.498	17.397	8.976	15.302	13.015
"FS-17"	4.466	2.103	6.440	240	10.944	4.675	7.798	5.238
"Koroneiki"	17.562	5.289	10.015	3.350	14.779	10.384	13.630	10.716

Quadro 6 - Evolução da produção (kg de azeitona/ha).

- LOCAL: Pedro Abad (Córdoba) ANO DE PLANTAÇÃO: MARÇO 2000
- SISTEMA DE REGA: Rega Gota-a-Gota
- PARCEIROS: Univesidade de Córdoba e Governo de Andaluzia

Year	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
Harvest	1st	2nd	3rd	( <sup>1</sup> ) 4th	5th	7th	8th	Average
Variety								
"Arbequina"	2.042	1.915	2.660	902	1.683	2.072	1.990	1.895
"Arbequina I-18"	2.007	1.475	2.347	907	1.789	2.783	1.851	1.880
"Arbosana"	2.653	1.698	4.013	1.632	2.942	1.811	2.629	2.483
"FS-17"	687	309	1.037	59	2.083	1.048	1.755	997
"Koroneiki"	3.153	1.007	2.206	680	2.891	2.167	2.603	2.101

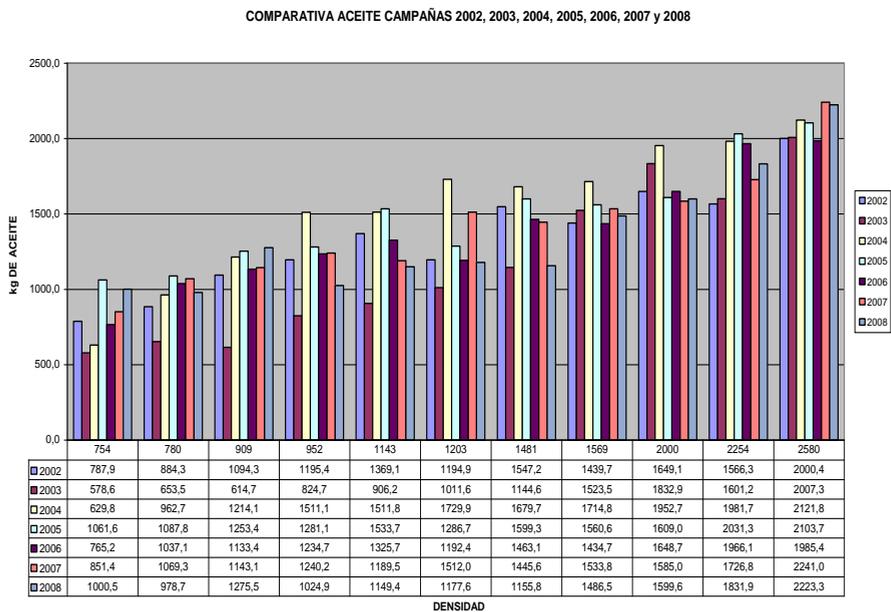


Figura 1 - Ensaio de densidades de plantação (produção de azeite).

## **Protecção Sanitária da Oliveira**

## **Artrópodes predadores associados à oliveira no Planalto Mirandês**

S.A.P. Santos, J.A. Pereira & A. Bento

Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal, saps@ipb.pt

### **Resumo**

A oliveira é atacada por mais de 250 espécies fitófagas, contudo, apenas um reduzido número apresenta importância económica. A reduzida importância da maioria das espécies deve-se principalmente à acção dos factores de limitação natural, com relevância para os predadores. Com o objectivo de contribuir para o conhecimento do complexo de artrópodes predadores associados à oliveira no Planalto Mirandês, entre Março e Outubro de 2005 a 2008, realizaram-se amostragens em dois olivais, um situado no concelho de Vimioso (Campo de Víboras) e outro no de Mogadouro (Vilarinho dos Galegos). As amostragens foram efectuadas mensalmente através da técnica de pancadas, recolhendo-se cinco amostras por olival e por data de amostragem. O material recolhido foi separado e os artrópodes predadores foram contados e identificados até à ordem ou família. Os artrópodes predadores encontrados em maior número pertencem à ordem Araneae, que representaram entre 49,6% e 82,7% do total de predadores recolhidos, dependendo da data de amostragem, olival e ano, seguidos das famílias Formicidae e Coccinellidae com representatividades entre 2,1% a 35,6% e 5,9% e 20,4%, respectivamente. Os da ordem Neuroptera foram os menos abundantes e representaram entre 3,1% e 7,8% do total das capturas. Comparando os dois olivais, verificou-se que as capturas foram, na generalidade dos casos, mais elevadas em Vilarinho dos Galegos e o maior número de indivíduos capturados ocorreu em Junho e Setembro.

**Palavras-chave:** limitação natural, fauna auxiliar, Araneae, predadores.

### **Abstract**

#### **Predator arthropods associated with the olive grove in the Planalto Mirandês**

The olive tree has more than 250 phytophagous species that potentially can attack the plant. However, only a low number of species are economically important. The reduced importance of several phytophagous species can be attributed to the action of natural control factors, with special emphasis for predators. This study aims to contribute for the knowledge of the communities of predator arthropods associated with the olive tree in Planalto Mirandês region. The experimental work took place in two olive groves that

were sampled between March and October of 2005 to 2008. One olive grove was located in Vimioso (Campo de Víboras) and the other in Mogadouro (Vilarinho dos Galegos). The arthropod community was sampled by using the beating technique on an approximately monthly basis and five samples were collected per olive grove and sampling date. All captured individuals were sorted, counted and identified till order or family under a binocular microscope. The order Araneae was the group found in higher abundance with a representatively between 49.6% e 82.7% of the total collected predators, varying with the sampling date, the olive grove and the year, followed by families Formicidae and Coccinellidae with relative abundances between 2.1% to 35.6% and 5.9% to 20.4%, respectively. The order Neuroptera was the less abundant and represented between 3.1% and 7.8% of the total captures. Comparing the two studied olive groves, the number of captures was generally higher in Vilarinho dos Galegos and the number of captured individuals occurred in July and September.

**Keywords:** natural control, auxiliary fauna, Araneae, predators.

## Introdução

As populações de inimigos naturais podem contribuir para que as espécies fitófagas se mantenham abaixo do nível económico de ataque (Civantos, 1995). A valorização destes auxiliares constitui, assim, um factor preponderante na protecção contra pragas da oliveira. O conhecimento da estrutura da comunidade dos auxiliares permite aumentar significativamente a probabilidade do sucesso da limitação natural. Estas comunidades têm sido estudadas em várias regiões de Portugal, tais como o Alentejo, a Beira Interior norte e em Trás-os-Montes (especialmente a zona de Mirandela) (Pereira et al., 2002a e b; Nave et al., 2003; Rosário et al., 2003; Rei, 2007; Santos et al., 2007). Neste contexto, com o presente trabalho pretendeu-se, à semelhança do realizados nessas regiões, contribuir para o conhecimento do complexo de artrópodes predadores associados à oliveira no Planalto Mirandês, avaliar a sua importância relativa e conhecer os seus períodos de actividade.

## Material e Métodos

Os dados apresentados obtiveram-se em dois olivais situados no Planalto Mirandês, um situado no concelho de Vimioso (Campo de Víboras) e outro no de Mogadouro (Vilarinho dos Galegos) entre os anos de 2005 a 2008.

Os olivais não são irrigados, encontram-se instalados a um compasso de cerca de 8 x 8 metros e são constituído maioritariamente pela cultivar Negrinha de Freixo.

As amostragens decorreram entre meados de Abril e meados de Setembro de 2005 e 2006 ou meados de Outubro de 2007 e 2008, a uma periodicidade aproximadamente mensal. A recolha dos artrópodes ocorreu

através da técnica de pancadas, recolhendo-se cinco amostras resultantes do batimento de um ramo por árvore, em 10 árvores seleccionadas ao acaso em cada olival e data de amostragem.

As amostras recolhidas foram observadas em laboratório à lupa binocular para separação, quantificação e identificação até à ordem ou família dos diferentes organismos.

Para a análise de dados utilizou-se o programa Statistica Statistical package, versão 7.0 (StatSoft, 2004) e recorreu-se ao teste de Mann-Whitney para comparar olivais nos diferentes anos de estudo. O nível de significância foi estabelecido em 0,05.

## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos nos quatro anos de estudo para a estrutura da comunidade de artrópodes predadores mostram uma dominância da ordem Araneae, cuja abundância relativa variou de 67,9% em 2005 a 82,5% em 2008 no olival de Campo de Víboras e de 49,6% em 2005 a 73,7% em 2007 no olival de Vilarinho dos Galegos (quadro 1). Para a comparação dos olivais, o teste de Mann-Whitney mostrou existirem diferenças estatisticamente significativas entre o número de aranhas capturadas nos anos de 2005, 2006 e 2007 ( $p < 0,05$ ). Depois das aranhas, os grupos de predadores mais abundantes foram as formigas e os coccinélídeos, respectivamente, variando a abundância relativa de cada um dos grupos com o ano de amostragem e com o olival. Assim, a abundância relativa dos coccinélídeos variou entre 5,9% em 2008 a 18,2% em 2005, no olival de Campo de Víboras e entre 7,5% em 2008 a 20,4% em 2005 no olival de Vilarinho dos Galegos (quadro 1). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as abundâncias de coccinélídeos registadas nos dois olivais nos quatro anos estudados ( $p > 0,05$ ). Para as formigas, a abundância relativa variou de 2,1% em 2007 a 7,3% em 2005 no olival de Campo de Víboras e de 8,2% em 2006 a 35,6% em 2008 no olival de Vilarinho dos Galegos (quadro 1). Ao contrário do observado para os coccinélídeos, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as abundâncias de formigas registadas nos dois olivais para todos os anos estudados ( $p < 0,05$ ). No olival de Vilarinho de Galegos, a abundância de formigas foi sempre superior à registada no olival de Campo de Víboras. Para os neurópteros, a abundância relativa variou de 4,4% em 2008 a 6,6% em 2005 em Campo de Víboras e de 3,1% em 2008 a 7,8% em 2007 em Vilarinho dos Galegos. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre a abundância de neurópteros observadas nos dois olivais ( $p > 0,05$ ).

A ordem Araneae foi também o grupo mais abundante em olivais localizados na região do Alentejo (Rei, 2007), bem como em alguns olivais da região de Andalusia (Espanha) (Morris, 1997). Pelo contrário, em olivais da região de Trás-os-Montes, Beira Interior e da Andalusia espanhola, foram os formicídeos o grupo de predadores mais abundantes, seguido dos coccinélídeos

(Pereira et al., 2002a e b; Nave et al., 2003; Ruano et al., 2004; Santos et al., 2007)

Relativamente à dinâmica estacional da comunidade de predadores verificou-se um pico de abundância da ordem Araneae no início de Julho de 2005 e 2006, no final de Julho de 2007 no olival de Vilarinho dos Galegos e em finais de Agosto de 2007 no olival de Campo de Víboras e em ambos os olivais em 2008 (fig. 1). De uma maneira geral, as formigas ocorrem nos olivais estudados sobretudo no período que vai de meados de Julho a Setembro. Para os coccinelídeos, os picos de abundância ocorreram de meados de Agosto a meados de Setembro dos quatro anos e no dois olivais em estudo (fig. 1). Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Rei (2007) em olivais Alentejanos. Em outros olivais transmontanos localizados na zona de Mirandela, os formicídeos ocorreram principalmente de meados de Maio a finais de Junho. Já os coccinelídeos são bastante abundantes de Setembro a meados de Outubro. Os neurópteros, estiveram pouco representados em quase todas as regiões (Morris, 1997; Pereira et al., 2002a e b; Nave et al., 2003; Rei, 2007; Ruano et al., 2004; Santos et al., 2007) e ocorreram quase sempre desde o início de Junho a finais de Setembro.

Neste estudo verificou-se que comunidade de artrópodes predadores associados à oliveira no Planalto Mirandês é constituída sobretudo por quatro grupos: ordens Araneae e Neuroptera e famílias Formicidae e Coccinellidae. Destes grupos, a ordem Araneae dominou a comunidade de artrópodes nos dois olivais e nos quatro anos em estudo e os picos de abundância ocorreram sobretudo de Julho a finais de Agosto. Seguiram-se, em número de capturas, os formicídeos e os coccinelídeos, respectivamente. Os picos de abundância dos formicídeos ocorreram sobretudo desde meados de Julho a Setembro, enquanto que os coccinelídeos são mais abundantes de Agosto a meados de Setembro. Os neurópteros foram o grupo menos representado, mas estão presentes no olival do Planalto Mirandês de início de Junho a finais de Setembro. Este estudo permitiu conhecer a comunidade de artrópodes predadores e estabelecer a sua dinâmica estacional, o que constitui um factor importante tanto na sua valorização como na limitação natural de pragas.

## Referências

- Civantos, M. 1995. Desarrollo del control integrado en el olivar español. *Olivae*, 59:75-81.
- Morris, T.I. 1997. Interrelaciones entre olivos, plagas y depredadores. Tese de Doutoramento, Universidad de Granada, Granada Espanha.
- Nave, A.C., Gonçalves, M., Dias, M.F., Torres, R.J., Simão, P.C., Gomes, P.S., Veiga, C.M. & Torres, L. 2003. Avaliação da entomofauna associada ao olival no interior de Portugal. VI Enc. Nac. Prot. Integr., Castelo Branco, Portugal/14-16 Maio:31-38.
- Pereira, J.A., Bento, A., Sousa, D., Campos, M. & Torres, L. 2002a. Estudo preliminar sobre as formigas (Hymenoptera: Formicidae) associadas ao

- olival da Terra Quente. Transmontana (Nordeste de Portugal). *Bol. San Veg Plagas*, 28:357-365.
- Pereira, J.A., Cabanas, J.E., Bento, A., Ruano, F., Campos, M. & Torres, L. 2002b. Diversity and abundance of ants (Hymenoptera: Formicidae) associated with the olive agroecosystem in the northeast of Portugal. VII European Congress of Entomology, Thessaloniki, Greece/October, 7-13:197-198.
- Rei, F. 2007. A artrópodofauna associada ao olival no âmbito da protecção da cultura contra pragas. Tese de Doutoramento, Universidade de Évora, Évora, Portugal.
- Rosário, F., Martins, F. & Patanita, M.I. 2003. Avaliação da entomofauna auxiliar em olivais do Alto Alentejo. VI Enc. Nac. Prot. Integr., Castelo Branco, 14-16 Maio:331-340.
- Ruano, F., Lozano, C., Garcia, P., Peña, A., Tinaut, A. & Pascual, F. 2004. Use of arthropods for the evaluation of the olive-orchard management regimes. *Agr. and Forest Entomol.*, 6:111-120.
- Santos, S.A.P., Pereira, J.A., Torres, L.M. & Nogueira, A.J.A. 2007. Evaluation of the effects, on canopy arthropods, of two agricultural management systems to control pests in olive groves from north-east of Portugal. *Chemosphere*, 67:131-139.
- StatSoft Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

Quadro 1- Grupos de artrópodes predadores identificados nos olivais de Campo de Víboras e de Vilarinho dos Galegos (Planalto Mirandês) nos anos de 2005 a 2008, número de exemplares capturados (N) e abundância relativa (%), n=número de amostras.

Grupo	Campo de Víboras								Vilarinho dos Galegos							
	2005 (n=20)		2006 (n=25)		2007 (n=35)		2008 (n=35)		2005 (n=20)		2006 (n=25)		2007 (n=35)		2008 (n=35)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Araneae	93	67.9	239	74.2	468	82.7	320	82.5	168	49.6	316	73.7	270	55.1	329	53.8
Coccinellidae	25	18.2	50	15.5	56	9.9	23	5.9	69	20.4	47	11.0	39	8.0	46	7.5
Neuroptera	9	6.6	15	4.7	30	5.3	17	4.4	18	5.3	31	7.2	38	7.8	19	3.1
Formicidae	10	7.3	18	5.6	12	2.1	28	7.2	84	24.8	35	8.2	143	29.2	218	35.6

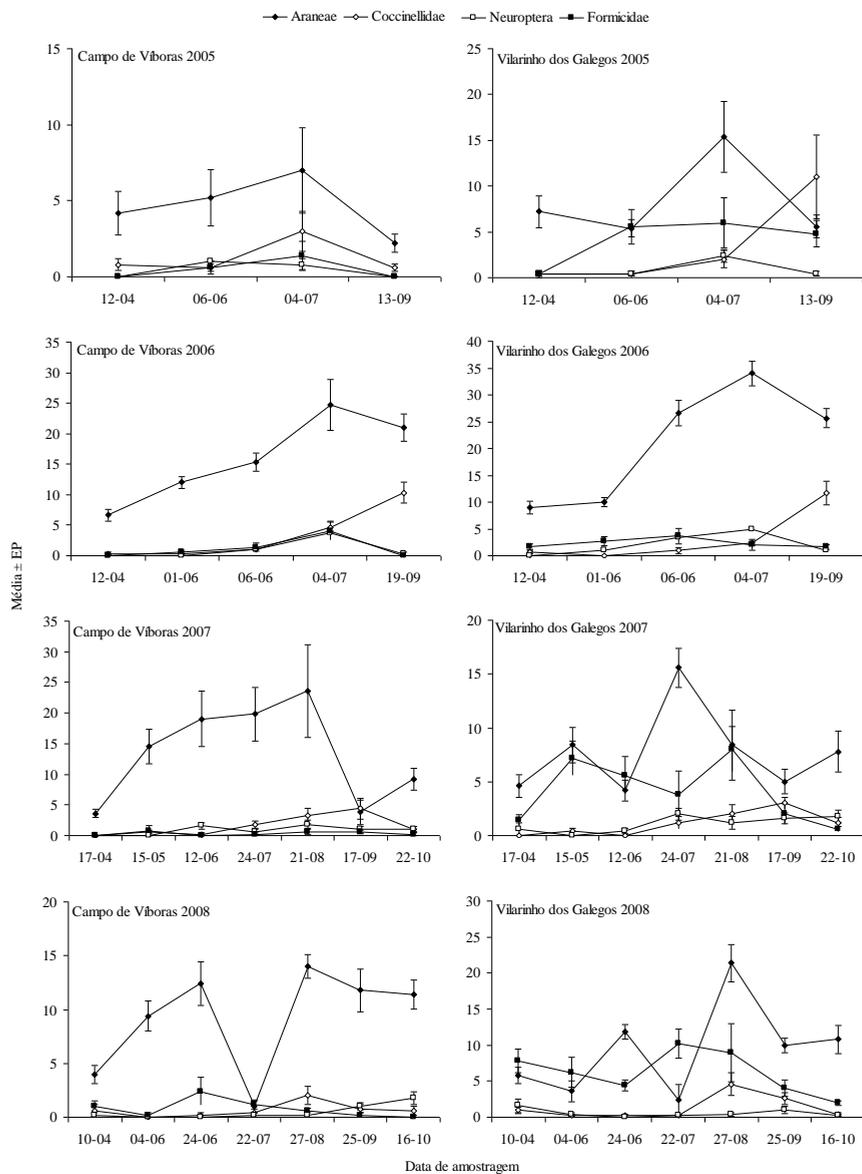


Figura 1 – Evolução do número de capturas de artrópodes predadores (média ± erro padrão – EP), nos olivais de Campo de Vêboras e de Vilarinho dos Galegos (Planalto Mirandês), nos anos de 2005 a 2008.

# Estudo da entomofauna auxiliar em pomares de oliveira no Algarve

M.A. Gonçalves & L. Andrade

FCT/Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

## Resumo

Desde 2006 temos vindo a realizar estudos na oliveira (*Olea europaea* L.) no sentido de inventariar o complexo de auxiliares associado às duas principais pragas desta cultura, a traça da oliveira, *Prays oleae* (Bernard), e a mosca da azeitona, *Bactrocera oleae* (Rossi), na região do Algarve. As nossas observações têm sido conduzidas em pomares em regime de sequeiro e sem recurso à aplicação de pesticidas, em três concelhos desta região (Loulé, Olhão e São Brás de Alportel). As capturas dos potenciais auxiliares têm sido realizadas através de armadilhas cromotrópicas amarelo-limão, armadilhas tipo Pitfall, técnica das pancadas e colecta de material vegetal (folhas, flores e frutos). As amostragens têm tido uma periodicidade quinzenal.

Os auxiliares capturados pertencem maioritariamente à classe Insecta, embora também se tenham capturado exemplares da classe Arachnida (Ordem Araneae). Relativamente à classe Insecta os auxiliares caracterizados pertencem às seguintes ordens e famílias: Diptera (*Syrphidae*), Coleoptera (*Carabidae*, *Coccinelidae* e *Staphylinidae*); Hemiptera (*Anthocoridae* e *Miridae*); Neuroptera (*Chrysopidae*) e Hymenoptera (*Encyrtidae*, *Formicidae* e *Trichogrammatidae*).

**Palavras-chave:** oliveira, *Prays oleae*, *Bactrocera oleae*, auxiliares.

## Abstract

### Study of the auxiliary insect fauna on olive orchards in Algarve

Since 2006 studies were carried out on olive orchards in Algarve to evaluate de auxiliary insects species of the main pests, olive moth, *Prays oleae* (Bernard) and olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi). The studies were conducted on olive orchards without irrigation and without pesticides treatments in three regions of Algarve (Loulé, Olhão and São Brás de Alportel). The auxiliary insects were collected by the use of several sampling methods (fruits, flowers and leaves; yellow sticky traps and pitfall traps and beating method). The observations were done biweekly.

Although we have captured some Arachnida (Order Araneae) the auxiliary fauna associated to olive crop was mostly composed by insect species from the following orders and families: Diptera (*Syrphidae*), Coleoptera (*Carabidae*, *Coccinelidae* and *Staphylinidae*); Hemiptera (*Anthocoridae* and

*Miridae*); Neuroptera (*Chrysopidae*) and Hymenoptera (*Encyrtidae*, *Formicidae* and *Trichogrammatidae*).

**Keywords:** olive crop, *Prays oleae*, *Bactrocera oleae*, auxiliary fauna.

## Introdução

A oliveira, *Olea europaea* L. (Fam.: Oleaceae), árvore robusta da região mediterrânea é uma das plantas cultivadas mais antigas nesta região (Gonçalves & Torres, 2004). O seu grande interesse reside na importância comercial dos seus frutos (azeitonas), quer para produção de azeite quer para produção de azeitona de conserva. Actualmente encontra-se amplamente difundida, sendo o seu cultivo prática corrente nas Américas, África do Sul, Austrália e Japão.

Das várias espécies de insectos que podem atacar o olival destacam-se como sendo as mais frequentes, a mosca da azeitona, *Bactrocera oleae* (Rossi) e a traça da oliveira, *Prays oleae* (Bernard) (Alvarado et al., 1999). Apesar de os tratamentos insecticidas efectuados no olival serem quase exclusivamente para estas duas pragas, em regra, são em número relativamente reduzido, pelo que é de supor que se encontra estabelecido um equilíbrio na biocenose desta cultura com um considerável desenvolvimento de populações dos principais auxiliares (Teixeira et al., 2000).

Este estudo foi realizado em olivais algarvios tradicionais de sequeiro e sem aplicação de pesticidas, com o objectivo de contribuir para o conhecimento da abundância e diversidade da entomofauna auxiliar associada às duas principais pragas de olival no sul de Portugal.

## Material e Métodos

Este estudo decorreu entre Janeiro de 2006 e Dezembro de 2008, em olivais tradicionais de sequeiro, com idades de 45 a 60 anos, com áreas de aproximadamente um hectare cada, localizados em três concelhos da região algarvia (Loulé, Olhão e São Brás de Alportel). São olivais podados cada dois a três anos e mobilizados anualmente e muito superficialmente, para controlo de infestantes. Nestes olivais não são efectuadas aplicações de pesticidas para controlar as pragas ou doenças. Os olivais são constituídos por diferentes variedades de azeitona (Picual, Cobrançosa e Maçanilha algarvia).

Os auxiliares foram colectados quinzenalmente através da utilização de várias técnicas de amostragem tais como armadilhas cromotrópicas amarelo-limão, armadilhas tipo Pitfall, técnica das pancadas e colecta de material vegetal (folhas, flores e frutos). O material vegetal foi levado para o laboratório e colocado em insectário à temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , HR =  $70 \pm 5\%$  e fotoperíodo de 16h (Dia). Os insectos capturados, quer nas armadilhas colocadas para o efeito quer pela técnica das pancadas, bem como os insectos emergidos em laboratório a partir do material vegetal, foram conservados em álcool a 70% e

posteriormente caracterizados com base nas características da sua morfologia externa.

## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos neste estudo mostram que a fauna auxiliar associada ao olival é composta, maioritariamente, por artrópodes da classe Insecta, embora também se tenham capturado alguns exemplares da classe Arachnida (Ordem Araneae). Os insectos caracterizados pertencem às seguintes ordens e famílias: Diptera (*Syrphidae*), Coleoptera (*Carabidae*, *Coccinellidae* e *Staphylinidae*); Hemiptera (*Anthocoridae* e *Miridae*); Neuroptera (*Chrysopidae*) e Hymenoptera (*Encyrtidae*, *Formicidae* e *Trichogrammatidae*). Este nosso resultado vai de encontro ao indicado por outros autores para outras regiões do nosso País (Teixeira et al., 2000).

Relativamente à técnica de amostragem utilizada podemos dizer que: artrópodes predadores das ordens Araneae, Coleoptera (*Carabidae* e *Staphylinidae*) e Hymenoptera (*Formicidae*) foram capturados nas armadilhas tipo Pitfall; através da técnica das pancadas capturaram-se exemplares de Hymenoptera (*Encyrtidae*), Coleoptera (*Coccinellidae* e *Staphylinidae*), Hemiptera (*Anthocoridae* e *Miridae*) e Neuroptera (*Chrysopidae*); com as armadilhas cromotrópicas capturaram-se Diptera (*Syrphidae*), Neuroptera (*Chrysopidae*) e Hymenoptera (*Encyrtidae* e *Trichogrammatidae*).

A partir do material vegetal recolhido e levado para o laboratório detectaram-se exemplares de Hymenoptera das famílias *Trichogrammatidae* (flores) e *Encyrtidae* (frutos). A partir das folhas não foram detectados quaisquer auxiliares.

Com o presente trabalho concluímos que a entomofauna auxiliar associada às duas principais pragas do olival, *Bactrocera oleae* (Rossi) e *Prays oleae* (Bernard), na região do Algarve, é bastante diversificada, pois é composta quer por insectos predadores quer por parasitóides, à semelhança do que é indicado em trabalhos efectuados noutras regiões do nosso País.

## Referências

- Alvarado, M., Civantos, M. & Duran, J.M. 1999. Plagas. pp. 415-475. In: El cultivo del olivo. Barranco, D., Fernandez-Escobar, R. & Rallo, L. (Eds). Ediciones Mundi-Prensa, 701pp.
- Gonçalves, M.F. & Torres, L.M. 2004. A fauna auxiliar, base da protecção contra pragas em olivicultura biológica. O segredo da terra, (7):5-7.
- Teixeira, R., Bento, A. & Gonçalves, M. 2000. Avaliação da fauna auxiliar associada ao olival em produção biológica em Trás-os-Montes. Bol. San. Veg. Plagas, 26:629-636.

## Eficácia de armadilhas Oliwe na captura em massa de mosca-da-azeitona (*Bactrocera oleae*) em olivais em agricultura biológica na Beira Interior Sul

J. Coutinho<sup>1</sup>, M.C. Amaro-Silva<sup>1</sup>, F. Outão<sup>2</sup>, C. Gouveia<sup>1</sup>, C. Vitorino<sup>1</sup>, L. Henriques<sup>1</sup>, J.P. Luz<sup>1</sup> & F. Peres<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária de Castelo Branco, Qt. Sra de Mércules 6001-909 Castelo Branco, Portugal, jpcoutinho@esa.ipcb.pt

<sup>2</sup>BIORAIA, Zona Industrial 6060-182, Idanha-a-Nova, Portugal, bioraia@iol.pt

### Resumo

Neste trabalho avalia-se a eficácia e aplicabilidade de garrafas mosqueiras Oliwe na captura em massa de mosca-da-azeitona (*Bactrocera oleae*) em olivais em agricultura biológica na Beira Interior.

Em 2004, foi instalado um ensaio em dois olivais, com a duração de três anos (2004-2006). Em cada olival instalou-se uma parcela com uma armadilha Oliwe por árvore e uma parcela sem armadilhas Oliwe (testemunha). Em todas as parcelas foram instaladas armadilhas alimentares McPhail e armadilhas cromotrópicas amarelas com feromona, para monitorização da população da mosca-da-azeitona. Semanalmente foram contadas as capturas de *B. oleae* nos três tipos de armadilhas. Para a avaliação da incidência do ataque foram colhidas amostras de azeitonas em dois momentos, durante o período de maturação.

Neste trabalho são apresentados resultados relativos aos 3 anos em que decorreu o ensaio (2004-2006) quanto à eficácia das garrafas mosqueiras Oliwe, avaliada através da incidência dos ataques de mosca-da-azeitona e do número de moscas capturadas nas armadilhas.

**Palavras-chave:** *Bactrocera oleae*, captura em massa, *Olea europaea*, olival biológico, Beira Interior.

### Abstract

#### Efficacy of Oliwe traps for olive fruit fly (*Bactrocera oleae*) mass trapping in organic olive groves in Beira Interior Region, Portugal

The efficacy and usefulness of Oliwe trap for olive fruit fly (*Bactrocera oleae*) mass trapping in organic olive groves in Beira Interior Region, Portugal, was the main objective of this study.

In 2004, two trials were set up in different olive groves, with two plots each. In one plot was installed an Oliwe trap per olive tree and in the control plot no traps were installed. For monitoring purposes, yellow sex pheromone and McPhail type traps were installed in all plots. In all traps captures of the

olive fruit flies were weekly counted. Two fruit samples were collected during fruit ripening to evaluate olive fruit fly infestations.

The efficacy of Olipe trap was evaluated by olive fruit fly present in olive fruits and in traps. Results of the three years trial (2004-2006) are presented.

**Keywords:** *Bactrocera oleae*, mass trapping, *Olea europaea*, organic olive groves.

## Introdução

A mosca-da-zeitona, *Bactrocera oleae* (Rossi), é uma praga-chave da cultura da oliveira, com incidência na quantidade e na qualidade do azeite e dazeitona de mesa (Magalhães-Silva, 1980; Michelakis, 1986; Sobreiro, 1993; Torres, 2007).

A legislação comunitária e nacional, ao longo dos últimos anos, tem vindo a restringir o uso ou a proibir os insecticidas mais eficazes contra a mosca-da-zeitona. Assim, insecticidas como o triclorfão e outros, deixaram de ser opções no combate à mosca-da-zeitona em agricultura convencional (DGADR, 2009), enquanto o dimetoato, a deltametrina e o fosmete são permitidos em produção integrada apenas temporariamente e com fortes restrições (Cavaco & Marcelo, 2009). No caso particular da agricultura biológica, para o combate à mosca-da-zeitona, não estão autorizados insecticidas de aplicação directa, podendo ser usados em armadilhas com atractivos específicos, spinosade, deltametrina e lambda-cialotrina (Comissão Europeia, 2008). Para minimizar os prejuízos causados pela mosca-da-zeitona têm vindo a ser propostos métodos alternativos de combate à aplicação de insecticidas. Neste contexto os métodos de captura em massa têm vindo a ganhar importância no combate à mosca-da-zeitona, qualquer que seja o modo de produção seguido, nomeadamente devido ao baixo impacto ambiental que têm no ecossistema. O conceito de captura em massa tem sido desenvolvido, experimentado e aplicado através de diversos tipos de armadilhas. Um dos tipos mais vulgarizado, sobretudo em Espanha, é a garrafa mosqueira Olipe. Pelo facto de ser uma armadilha barata e simples de aplicar, pode constituir um método economicamente viável (Caballero, 2001; Ecologistas en Acción de Andalucía, s/d). Encontramos referências a experimentação com este tipo de armadilhas em vários países e com vários tipos de atractivos alimentares (Caballero, 2001; Luque-López & Pereda-Cruz, 2003; Caleca & Maltese, 2007; Pavão et al., 2007; Pereira et al., 2007; Porcel et al., 2007; Vossen & Devarenne, 2007). Os atractivos alimentares são da maior importância na eficácia da armadilha Olipe e, por isso, foram experimentadas diferentes substâncias atractivas com esta armadilha (Vossen & Devarenne, 2007).

Este trabalho teve como objectivo avaliar a eficácia e a aplicabilidade de garrafas mosqueiras Olipe com o atractivo alimentar fosfato biamónio na captura em massa de mosca-da-zeitona em olivais em agricultura biológica na Beira Interior. São avaliadas as capturas de *B. oleae* em armadilhas Olipe, para

captura em massa; em armadilhas alimentares McPhail e cromotrópicas amarelas com feromona, para monitorização e o nível de ataque nas azeitonas.

## Material e Métodos

Em 2004, 2005 e 2006 foi instalado um ensaio em dois olivais em agricultura biológica – Alcains e Ladoeiro. Em cada olival instalaram-se duas parcelas, uma tratada e uma testemunha, de dimensão aproximada de 1 ha cada uma. Em cada parcela foram marcadas 80 árvores da parte central, onde foram feitas todas as observações. Em cada parcela foram colocadas 4 armadilhas cromotrópicas amarelas com feromona e 4 armadilhas McPhail para monitorização da mosca-da-zeitona, colocadas aleatoriamente no grupo de 80 árvores marcadas. Nas parcelas tratadas foram colocadas aproximadamente 200 garrafas mosqueiras Oliwe, uma por árvore, para captura em massa. As armadilhas foram colocadas nos olivais no fim de Agosto e retiradas em Novembro, depois da colheita. As garrafas Oliwe foram enchidas com aproximadamente 1 litro de solução de fosfato biamónio a 3,5% e colocadas no lado sudeste da árvore, à altura do operador. Nas parcelas testemunha não foi realizada qualquer acção contra a mosca-da-zeitona. Semanalmente foram feitas contagens das moscas-da-zeitona capturadas nas armadilhas cromotrópicas amarelas com feromona, nas armadilhas McPhail e em oito garrafas Oliwe por olival, previamente definidas, escolhidas aleatoriamente a partir das 80 garrafas das árvores marcadas do interior da parcela. Em cada parcela foram colhidas amostras de azeitonas para avaliar a incidência do ataque, em dois momentos: quando atingido o índice de maturação de 3,5 (momento 1) e 15 dias depois (momento 2) (Ramos et al., 2008). Nestes momentos foram colhidas quatro amostras de 100 azeitonas em cada parcela. Os dados foram analisados estatisticamente com o programa SPSS.

## Resultados e Discussão

Os resultados relativos à captura em massa de mosca-da-zeitona em armadilhas Oliwe e à percentagem de azeitonas infestadas com mosca-da-zeitona são apresentados nas figuras 1 a 9.

Em 2004, o número médio de moscas capturadas foi muito mais elevado que em 2005 e 2006, sendo a população de mosca-da-zeitona nestes anos muito baixa, devido às condições ambientais não terem sido propícias ao desenvolvimento da espécie. No conjunto dos três anos observados verificou-se que as capturas nas armadilhas Oliwe foram significativamente ( $P < 0,05$ ) mais baixas que nas armadilhas McPhail (figuras 1 a 3).

As capturas de mosca-da-zeitona nas armadilhas Oliwe em 2004 não foram suficientes para impedir que a percentagem de azeitonas atacadas ultrapassasse o nível económico de ataque (8-12% de azeitonas com formas vivas), referenciado em Cavaco & Marcelo (2009). Em 2005 e 2006 o nível económico de ataque da mosca-da-zeitona nunca foi atingido quer nas

parcelas tratadas quer nas parcelas testemunha, em resultado da baixa população de mosca-da-zeitona verificada nestes anos.

Nos três anos em que decorreu o ensaio não foram encontradas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) quer entre a percentagem de azeitonas atacadas nas parcelas com as armadilhas Oliwe e as parcelas testemunha, quer entre olivais.

Em 2004 a captura em massa de mosca-da-zeitona em armadilhas Oliwe não foi suficiente para manter o ataque de mosca-da-zeitona inferior ao nível económico de ataque (8-12% de azeitonas com formas vivas). Em 2005 e 2006 os ataques de mosca-da-zeitona foram baixos, não tendo sido atingido o nível económico de ataque quer nas parcelas com armadilhas Oliwe quer nas parcelas testemunha.

Os valores de azeitonas atacadas observados nas parcelas de captura em massa e nas parcelas testemunha não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $P>0,05$ ) em qualquer dos anos observados.

As capturas nas armadilhas Oliwe em todos os anos, nas duas parcelas, foram significativamente ( $P<0,05$ ) mais baixas que nas armadilhas McPhail.

Os valores observados de azeitonas atacadas nas parcelas de captura em massa e nas parcelas testemunha não permitem tirar conclusões quanto à eficácia deste método de captura em massa. Nos três anos em que decorreu o ensaio apenas em 2004 se verificaram condições propícias ao desenvolvimento da praga. Assim, os valores observados sugerem que a captura em massa da mosca-da-zeitona em armadilhas Oliwe com o atractivo fosfato biamónio a 3,5% não é suficiente para manter o ataque de mosca-da-zeitona inferior ao nível económico de ataque, estando posta em causa a eficiência do método, nas condições ensaiadas.

Dado o potencial interesse da armadilha Oliwe na captura em massa de mosca-da-zeitona, devido à simplicidade e custo do método, preconiza-se a experimentação desta armadilha nestas condições com outros atractivos potencialmente mais eficientes.

## **Agradecimentos**

O trabalho foi desenvolvido no âmbito do Projecto AGRO 463 – Qualidade e Segurança Alimentar em Produtos do Olival, desenvolvido nos anos de 2004 a 2006.

## **Referências**

- Caballero, J.A. 2001. Alternativas a tratamientos aéreos en el control de la mosca del olivo. Experiencias en los Pedroches. Cooperativa Oliverera “Los Pedroches” S.C.A. Pozoblanco. Jornadas sobre tratamientos aéreos en olivar. Montilla. Ed. Ecologistas en Acción Andalucía: 31-36.
- Calca, V. & Maltese, M. 2007. Effectiveness of mass trapping by bottle traps baited with salt sardines to control *Bactrocera oleae* (Gmelin). Programme

- and Abstract Book 3rd European Meeting of the IOBC/WPRS Working Group “Integrated Protection of Olive Crops”, Bragança, 2007: 47-48.
- Cavaco, M. & Marcelo, M. 2009. Produção integrada da oliveira. DGADR-DSPFSV-1/09. Direcção Geral de Agricultura e do Desenvolvimento Rural, Lisboa.
- Comissão Europeia 2008. Regulamento (CE) n.º 889/2008 da Comissão. Jornal Oficial da União Europeia, L 250 de 18.9.2008.
- DGADR 2009. Guia dos produtos fitofarmacêuticos. Condições de utilização autorizadas. <<http://www.dgadr.pt>>
- Ecologistas en Acción de Andalucía s/d. Métodos alternativos a los insecticidas químicos para el control de la mosca del olivo. Folheto de divulgação.
- Hamard, C., Mexia, A. & Patanita, M.I. 2001. Estudo do método de captura em massa no combate à mosca da azeitona (*Bactrocera oleae* Gmel.) em olival biológico, na região de Moura. Rev. Ciên. Agr. 24 (1 e 2):169-175.
- Luque López, E. & Pereda-Cruz, L. 2003. La selectividad de las trampas “olipe” (atrayente: cebos alimenticios) en la captura de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Gmelin). Toll Negre, 2:24-33.
- Magalhães-Silva, G.M. 1980. Dificuldades intrínsecas na avaliação de prejuízos causados por pragas entomológicas em olivicultura. Actas do I Congresso Português de Fitiatria e Fitofarmacologia, Vol. 8:141-147.
- Michelakis, MS. 1986. La mouche de l’olivier (*Dacus oleae* Gmel). In: Entomologie oleicole. Cours International d’Entomologie Oleicole. FAO, Madrid: 81-97.
- Pereira, J.A., Pavão, F. & Bento, A. 2007. Effects of different attractants used in olipe traps for olive fly mass-trapping on beneficial arthropods. Programme and Abstract Book 3rd European Meeting of the IOBC/WPRS Working Group “Integrated Protection of Olive Crops”, Bragança, 2007:93.
- Porcel, M., Ruano, F. & Campos, M. 2007. Parasitoids captured by mass-trapping with olipe traps in organic olive orchards of southern Spain. Programme and Abstract Book 3rd European Meeting of the IOBC/WPRS Working Group “Integrated Protection of Olive Crops”, Bragança, 2007:95.
- Ramos, A., Peres, M.F., Simões-Lopes, P. & Pinheiro-Alves, M.C. 2008. Olive Ripening and Harvest Time in Portuguese Cultivars of “Beira Interior” Region. Acta Hort., 791:693-696.
- Serejo, A. 2000. Captura em massa no combate à mosca-da-azeitona. Relatório do trabalho de fim de curso. Escola Superior Agrária de Castelo Branco.
- Sobreiro, J.B. 1993. Guia para a protecção fitossanitária da oliveira. Centro Nacional de Protecção da Produção Agrícola, Oeiras.
- Torres, L. 2007. A mosca-da-azeitona, *Bactrocera* (*Daculus*) *oleae* (Gmelin). In: Manual de protecção integrada do olival. Torres L (Coord.). João Azevedo Editor: 177-202.
- Vossen, P. 2006. The Spanish “OLIPE” trap for olive fruit fly. University of California, Agriculture and Natural Resources. Acedido em Julho 2009 <[http://cesonoma.ucdavis.edu/hortic/pdf/olipe\\_trap.pdf](http://cesonoma.ucdavis.edu/hortic/pdf/olipe_trap.pdf)>

Vossen, P. & Devarenne, A. 2007. Organic control of olive fruit fly in landscapes and small-scale orchards in coastal California. Jornadas Internacionais de olivar ecológico, 6, Puente de Génave, Jaén, 22-25 Mar.

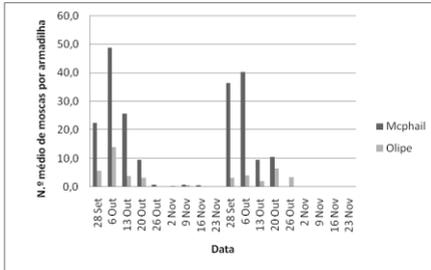


Figura 1 - Número médio de moscas-da-azeitona capturadas por armadilha, em armadilhas McPhail e Oliwe, em 2004.

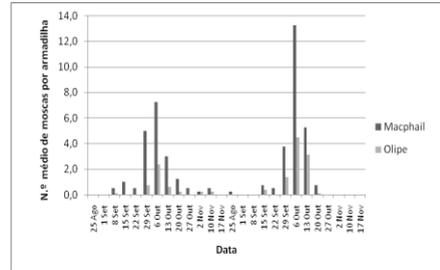


Figura 2 - Número médio de moscas-da-azeitona capturadas por armadilha, em armadilhas McPhail e Oliwe, em 2005.

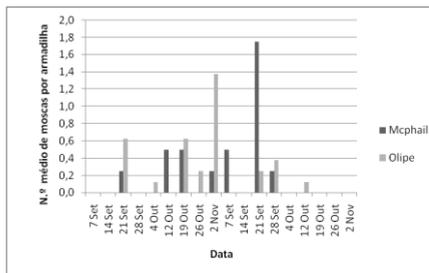


Figura 3 - Número médio de moscas-da-azeitona capturadas por armadilha, em armadilhas McPhail e Oliwe, em 2006.

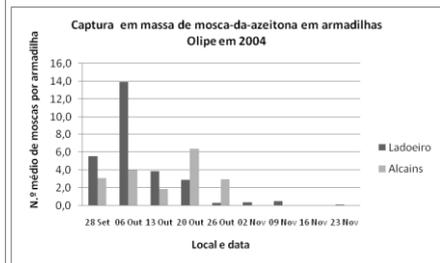


Figura 4 - Captura em massa de mosca-da-azeitona, em armadilhas Oliwe em Ladoeiro e Alcains, em 2004.

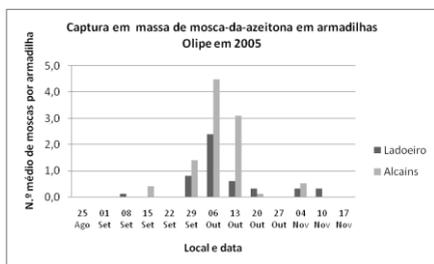


Figura 5 - Captura em massa de mosca-da-azeitona em armadilhas Olipe em Ladoeiro e Alcains, em 2005.

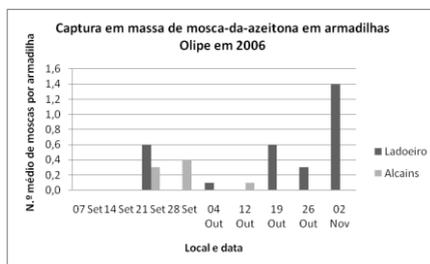


Figura 6 - Captura em massa de mosca-da-azeitona em armadilhas Olipe em Ladoeiro e Alcains, em 2006.

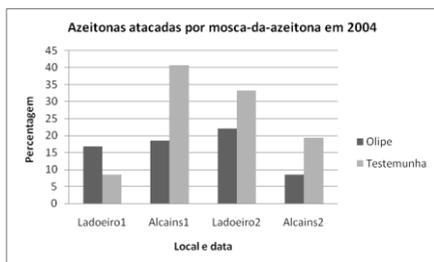


Figura 7 - Azeitonas atacadas por mosca-da-azeitona, em 2004.

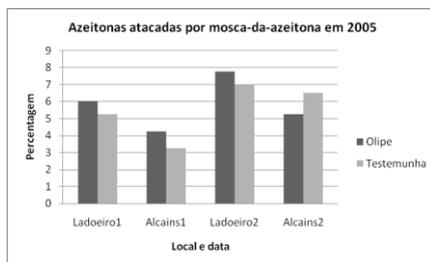


Figura 8 - Azeitonas atacadas por mosca-da-azeitona, em 2005.

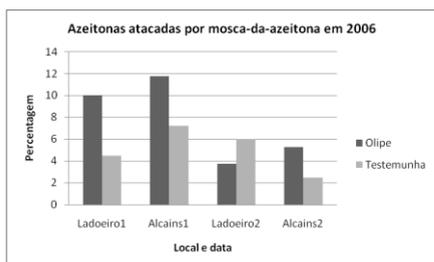


Figura 9 - Azeitonas atacadas por mosca-da-azeitona, em 2006.

# **Tecnologia, Qualidade e Mercados**

## Azeitona de mesa em Portugal, valor nutricional e perspectivas para novas utilizações

A. Delgado<sup>1</sup>, L. Catulo<sup>2</sup>, C.M. Peres<sup>1</sup> & C. Peres<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Tecnologia Química e Biológica, UNL

<sup>2</sup>Instituto Nacional dos Recursos Biológicos/L-INIA. Av. República, Quinta do Marquês, EAN 2784-505 Oeiras, Portugal

### Resumo

Em Portugal, a oliveira influencia marcadamente a paisagem agrícola. Ocupa 40% das terras aráveis, apesar da maioria dos olivais não ter ainda sido recuperada. Em 2007, apenas 23 unidades produtoras de azeitona de mesa se encontravam registadas no IFAP. São maioritariamente PME representando 1,5% da produção europeia e direccionadas, sobretudo, para o consumo interno. A azeitona de mesa Portuguesa regista uma incidência apreciável de defeitos organolépticos, com consequências negativas na sua comercialização. Apesar dos baixos níveis de controlo de qualidade, não acarreta grandes riscos sanitários devido ao elevado teor em cloreto de sódio, compostos fenólicos e outros compostos com características anti-microbianas, em particular, no caso da azeitona fermentada. Verifica-se ainda que a azeitona de mesa, com propriedades nutricionais equilibradas e de elevado valor, tem vindo gradualmente a ser substituída por snacks pouco saudáveis. Para além do seu conteúdo em azeite, com os benefícios inerentes à sua particular composição, a azeitona possui ainda elevados teores em fibra, compostos anti-oxidantes e quantidades importantes de vitaminas C, B1, E, pro-vitamina A e elementos minerais. No caso da azeitona fermentada, acrescem ainda os potenciais benefícios da presença de eventuais estirpes bacterianas com propriedades probióticas. Testes *in vitro* feitos com estirpes de *Lactobacillus*, isoladas de processos de fermentação de azeitona de mesa portuguesa, evidenciaram elevada resistência às condições do tracto gastrointestinal e mostraram eventual capacidade para aí se fixarem e inibir bactérias enteropatogénicas (*Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*). Estas propriedades, desde que devidamente exploradas, poderão posicionar a azeitona de mesa fermentada entre os novos alimentos funcionais, contribuindo para um aumento importante do seu preço de mercado, beneficiando a reabilitação deste sector.

**Palavras-chave:** azeitona de mesa, valor nutricional, novos produtos.

### Abstract

**Portuguese table olive, nutritional value and perspectives for new uses**

In Portugal, the olive tree plays a relevant role in the agricultural landscape. Olive trees are found in 40% of the agricultural lands, but this culture reflects the large number of abandoned orchards. In 2007, there were 23 industrial unities registered in IFAP. Portuguese table-olive production are mainly produced by SME's and only represents about 1.5% of total EU production, and it is mostly redirected for internal consumption. However, the variation in the quality of this kind of products and inadequate quality control are in fact enormous, as can be easily verified in local markets and restaurants does have an adverse effect on local demand for the product. This is particularly a problem for small-scale traditional production. This is particularly a problem for small-scale traditional production, which frequently commercializes products with organoleptic defects. Besides de low quality control olives are considered an health product because of their content in phenol compounds and other components with antimicrobial properties, in particular, in the case of fermented olives. Table olive with adequate and high nutritional properties is in risk of being gradually substituted by nutritionally poor and unhealthy snacks, particularly by the new generations. Besides its content in olive oil with health benefits due to their composition, table olives have high content in dietary fibers, antioxidants and important levels in C, B1, E vitamins, pro-vitamin A and minerals.

In fermented olives there are important benefits that can be due to microbial strains with potential probiotic properties. In vitro assays with *Lactobacillus* spp. strains isolated from Portuguese olive fermentations some *Lactobacillus* sp. strains may resist digestion and survive in the gut and showed an eventual capacity to adhere to gastro-intestinal mucosa and inhibit enteropathogens (*Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*). Those properties can contribute for a new functional food production improving the commercial importance and the olive sector requalification.

**Keywords:** table olives, nutritional value, new products.

## **A azeitona de mesa Portuguesa**

Em Portugal, a importância do olival na agricultura e na herança cultural do nosso país é uma realidade incontornável. No entanto o sector não é, globalmente, reconhecido como produtivo. De acordo com dados do INE (2007) o olival está implantado em cerca de 40% da área agrícola do país, ocupando apenas 8,4% do total efectivo de área cultivada, o que reflecte o grande abandono de que é vítima. Em 2001, 70% do olival português tinha acima de 50 anos (MADRP, 2002). Por outro lado, apenas cerca de 12% do total da superfície agrícola, em geral, é irrigada, encontrando-se muito abaixo da média dos países ricos.

A produção de azeitona de mesa exige frutos de qualidade de cultivares com características particulares. Das 26 cultivares descritas, apenas 23 são reconhecidas pelo Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas (IFAP)

como adequadas para a fermentação. Este figurino não está reflectido, no entanto, numa grande fatia da produção que é a do tipo familiar e que inclui pequenos negócios familiares para consumo da casa, abastecendo mesmo os restaurantes.

De acordo com o Conselho Oleícola Internacional (IOOC 2008a), as 26 cultivares de oliveira Portuguesas são de dupla aptidão, ou seja, próprias para produção de azeite e para a transformação em azeitona de mesa. Encontram-se em declínio, ou mesmo em risco de perder-se o seu património genético, devido ao cada vez mais escasso número de plantas existentes, como é o caso da 'Conserva de Elvas'. A 'Galega', cultivar tradicional mais extensivamente implantada, está insuficientemente caracterizada tal como muitas outras, pelo são necessários estudos de caracterização, a vários níveis, nomeadamente a nível molecular. Também de acordo com o COI apenas as cvs. 'Azeiteira/Azeitoneira', 'Negrinha de Freixo' e 'Santulhana' são mencionadas como especificamente vocacionadas para a preparação como azeitona de mesa. O facto de grande parte da azeitona produzida pertencer a cultivares de dupla aptidão faz ligar os mercados do azeite e da azeitona de mesa, através de um balanço dinâmico: quanto menos valorizada for a azeitona de mesa, mais acentuado será a redução do seu valor e maior a quantidade redireccionada para a produção de azeite. Essa tendência, de redução da produção de azeitona de mesa portuguesa está patente na figura 1.

O sector olivícola português está, há já uns anos a esta parte, em mudança lenta podendo esta mudança contribuir para alteração que se julga importante no subsector azeitona de mesa. Regulamentação europeia encoraja a renovação e a implantação de novos olivais. Os novos olivais, maioritariamente implantados no Alentejo, são caracterizados por se localizarem em grandes áreas, frequentemente irrigadas e com recurso a tecnologia agrónomica moderna. Uma parte importante destas novas plantações é formada por árvores importadas (cerca de 28%). São propriedade de produtores espanhóis que investem em Portugal, financeiramente suportados pelo respectivo governo. Por outro lado, verifica-se um investimento importante no olival biológico, usando cultivares tradicionais (INE, 2007).

#### *A fermentação da azeitona e o papel dos microrganismos*

Os fenómenos que envolvem a fermentação constituem um processo no qual se verificam alterações bioquímicas dos substratos orgânicos, por acção de catalisadores bioquímicos produzidos por microrganismos específicos. Consistem numa fermentação láctica que transforma os açúcares em ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, bem como noutros metabolitos com propriedades anti-microbianas, designadamente o peróxido de hidrogénio, o diacetilo, o anidrido carbónico, os ácidos gordos de cadeia longa e as bacteriocinas.

O consórcio microbiano natural é muito complexo e é responsável por reacções de adaptação fisiológica e morfológica ao ecossistema azeitona/salmoura, em complementaridade ou concorrência, para promoção do

equilíbrio das potencialidades individuais dos parâmetros envolvidos. A actividade acidificante e aromatizante da microflora responsável, bactérias lácticas e leveduras, define a estrutura e as características organolépticas do produto fermentado como consequência de factores abióticos ou influências externas, físicas, químicas e tecnológicas e de factores bióticos, como sejam a interacção entre microrganismos que actuam em complementaridade ou em concorrência. As reacções de adaptação da microflora ao ecossistema que habitam fazem alterar os factores abióticos, usando ou transformando os substratos e produzindo substâncias estimulantes ou inibidoras.

Os estudos de ecologia microbiana de processos fermentativos evidenciam uma sucessão de populações mistas (Gram-negativos, bactérias lácticas, leveduras, ...), bem como uma fonte promissora de novas estirpes de bactérias lácticas com propriedades tecnológicas únicas, como sejam, crescimento a 15°C, elevada capacidade de conversão de açúcares em ácido láctico, produção de bacteriocinas em condições extremas e a capacidade para degradação de compostos poliaromáticos. O desenvolvimento de inóculos lácticos, a partir daquelas estirpes, para produção e subsequente aplicação industrial é um aspecto promissor a ter em conta.

As consequências dos resultados já encontrados, em termos alimentares, encaminham-se para a valorização dos produtos tradicionais e conseqüente enriquecimento da dieta mediterrânea, bem como o incremento da segurança alimentar deste tipo de produto. Com base na potencialidade das novas estirpes será possível aumentar a qualidade da azeitona de mesa portuguesa nos diferentes aspectos (sensorial, nutritivo), aumentar a diversificação do produto (produtos melhorados/novos produtos) e contribuir para a preservação da biodiversidade microbiana presente nestes processos.

#### *A importância nutricional da azeitona e a saúde – aspectos gerais*

A oliveira é uma árvore da região mediterrânea, determinante na sua paisagem e à qual é associado um forte simbolismo. Os seus produtos, azeite e azeitona de mesa, são componentes importantes da dieta, à qual se associa a redução do risco de doenças. A azeitona de mesa mais do que o azeite é, sobretudo, consumida nos países produtores. É um alimento altamente nutritivo e equilibrado, apesar da sua “má reputação” devido ao correspondente teor em sal e gorduras. Este mito, largamente difundido, tem contribuído para a sua substituição, com tendência crescente, por diversos snacks industriais, com características nocivas a uma dieta saudável.

Os constituintes maioritários da polpa da azeitona são a água (70-75%) e o azeite (15-30%) (Diéz et al., 1985). O conteúdo de azeite aumenta com o estado de maturação do fruto e é função da cultivar, sendo constituído por uma mistura de triglicéridos, fosfolípidos, glicolípidos e lipoproteínas, cujos benefícios para a saúde são largamente conhecidos. Cerca de 82% do azeite é constituído por ácido oleico, 13% ácido linoleico (ómega-6) e 3% ácido linoléico (ómega-3) (Interaceituna, 2008), o que sustenta a sua inclusão no grupo dos alimentos saudáveis (Garrido-Fernández & López-López, 2008). Os benefícios para a saúde são, para além daqueles, atribuídos ao seu elevado teor

em fibra (2-3%) e vitaminas, das quais as solúveis em água são o ácido ascórbico e a tiamina e as lipossolúveis, são principalmente os tocoferóis e os carotenos. Os principais elementos minerais são o K, Ca, Mg, P, Fe, Zn, e Mn (Diéz et al., 1985). As propriedades antioxidantes são atribuídas aos fenóis livres e seus glucosídeos que constituem 1-3% do peso da polpa. O conteúdo mais relevante na sua fracção lipídica são as conhecidas antocianinas e na fracção aquosa, a oleuropeína (Bianchi, 2003).

Sendo o sal um dos conservantes mais antigos e, tradicionalmente, usado na preparação de azeitona de mesa, nalguns dos processos de preparação a sua retenção pelo fruto é mínima (ex. azeitona grega desidratada e alguns tipos de azeitona oriundos do sul de França e norte de Espanha). Apesar de tudo, mesmo os tipos de azeitona de mesa mais comuns contêm menos sal do que a maioria dos aperitivos comercializados. Relativamente ao seu valor calórico, a azeitona de mesa apresenta cerca de 250 Kcal/100g, o que corresponde a 50% do que normalmente compõe as batatas fritas (560 Kcal/100g) ou o chocolate negro (534 Kcal/100g), para não referir os snacks açucarados.

#### *Propriedades antioxidantes*

A azeitona de mesa possui compostos antioxidantes num teor mais elevado que o azeite e do que muitos outros frutos. As propriedades antioxidantes são conferidas pelos fenóis livres e seus glucosídeos. O teor e o tipo destes compostos variam com diversos factores tais como, a cultivar, o grau de maturação e o processo de preparação (Pereira et al., 2006). Os antioxidantes mais relevantes na fracção oleica são os tocoferóis, onde se inclui a vitamina E, enquanto os da fracção aquosa são as antocianinas, de pigmentação violeta, a oleuropeína e seus derivados (Bianchi, 2003).

A oleuropeína, composto responsável pelo amargor do fruto e cujo conteúdo decresce ao longo da maturação, sofre uma degradação durante o processo de fermentação, do que resulta a acumulação de derivados com capacidade antioxidante superior, tais como o hidroxitiroso e o tiroso (fig. 2). São compostos considerados importantes na protecção do tracto gastrointestinal contra danos provocados por radicais livres e outras espécies reactivas, ingeridas ou produzidas durante o processo digestivo.

Num estudo recente, Pereira et al. (2006) verificaram que nas principais cvs. portuguesas o teor em compostos fenólicos totais pode ser superior a 5 g/kg de fruto, sendo o conteúdo total em hidroxitiroso superior na cultivar 'Galega', no tipo de preparação negra natural em salmoura; o teor mais reduzido verifica-se na azeitona tipo negra oxidada. No primeiro processo os frutos conservam um forte sabor amargo e no segundo, os frutos são submetidos a uma oxidação alcalina mais ou menos drástica, do que resulta uma degradação mais acentuada dos compostos fenólicos e a eliminação, quase total, das vitaminas. Nas azeitonas submetidas ao processo de preparação tipo espanhol ou sevillano a fracção fenólica contém também uma maior quantidade de hidroxitiroso e quantidades significativas de tiroso, luteína e  $\alpha$ -tocoferol.

### *Propriedades funcionais e vantagens para a saúde*

Os processos de fermentação da azeitona envolvem, geralmente, uma fermentação espontânea, conduzida por uma sucessão de populações microbianas provenientes do fruto, dos equipamentos e do ambiente circundante, condicionando a qualidade do produto final, quer a nível organoléptico, quer a nível sanitário. No final da fermentação, em geral, predominam bactérias lácticas do género *Lactobacillus*, género a que pertencem a maioria dos probióticos comercializados. Algumas espécies de *Lactobacillus* fazem parte da flora intestinal normal, outras podem encontrar-se na cavidade gástrica (Bik et al., 2006; Roos et al., 2005).

Estudos actuais levados a cabo pelos autores incluem testes *in vitro* com base em estirpes que evidenciaram elevada resistência ao processo digestivo simulado, tolerância à bÍlis e capacidade de adesão às células epiteliais, a monocamada de Caco2. Duas dessas estirpes, ambas *Lactobacillus pentosus*, possuem uma enzima que hidrolisa os sais biliares (BSH) o que pode contribuir, indirectamente, para a redução dos níveis de colesterol no sangue. Mostraram ainda capacidade para inibir, quer estirpes de referência, quer isolados clÍnicos de *Campylobacter jejuni*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica* e *Staphylococcus aureus*. Os espectros de inibição dessas bactÍrias lácticas, embora distintos, abrangeram grande parte das bactÍrias patogénicas testadas. Ou seja, foi detectada a presença de, pelo menos dois potenciais probióticos originários de azeitona de mesa portuguesa. Recorde-se que a grande maioria dos probióticos actualmente no mercado são de origem animal e comercializados em preparações lácticas. As estirpes de *Lactobacillus* isoladas de salmouras de azeitona produzem, também, metabolitos ou conjunto de metabolitos que inibem *Helicobacter pylori*.

As estirpes probióticas de *Lactobacillus plantarum*, actualmente disponíveis, são de origem intestinal, mas Haller et al. (2001) provaram que os mesmos metabolitos e as propriedades funcionais inerentes a probióticos podem também encontrar-se nos alimentos fermentados de origem vegetal. As azeitonas podem, por isso, ser um bom veículo para estirpes probióticas existindo já uma patente comercial (Lavermicocca et al., 2007).

Alguns dos componentes do fruto podem ser considerados como prebióticos, nomeadamente os polÍmeros de hidratos de carbono, conhecidos como fibras dietéticas, ou como nutracéuticos, como parece ser o caso dos ácidos gordos essenciais (ómeegas 3, 6 e 9) e os esteróis antioxidantes e os compostos fenólicos. Recentemente, Rodríguez et al. (2006) referiram os efeitos benéficos das fibras dietéticas da azeitona na prevenção de algumas patologias humanas enquanto outros trabalhos referem a actividade anticarcinogénica de alguns ácidos gordos polinsaturados que se encontram na epiderme do fruto (Juan et al., 2006).

Por estas razões, futuros estudos deverão centrar-se no desenvolvimento de um alimento funcional com base na matriz azeitona, como forma de valorizar e potenciar as características saudáveis deste produto

tradicional da dieta mediterrânea. Por outro lado, propriedades funcionais específicas, como as propriedades antioxidantes, inerentes a alguns dos compostos que compõem as salmouras de fermentação, poderão ser delas extraídos e servir de ingrediente a incorporar na azeitona como noutros produtos alimentares.

#### *Propriedades antimicrobianas e controlo de alterações do produto*

O crescimento de fungos nas salmouras à superfície dos fermentadores provoca alterações organolépticas no produto final, bem como a subida do pH das salmouras, do que resulta crescimento de bactérias nocivas que alteram o produto. Por outro lado, a acumulação de micotoxinas de origem fúngica nas salmouras de fermentação é uma constatação com reflexos naturalmente nocivos na saúde pública.

Os fungos mais comuns na natureza pertencem aos géneros *Penicillium* e *Aspergillus* e são também os mais frequentes em salmouras de azeitona. É igualmente nestes géneros que se encontra o maior número de estirpes produtoras de micotoxinas, algumas das quais com efeito cancerígeno.

O desenvolvimento de fungos pode ser evitado favorecendo o desenvolvimento de grupos bacterianos que os inibam e promovendo condições de anaerobiose durante a fermentação. Existem referências relativamente à inibição de fungos por bactérias lácticas, quer por efeito dos ácidos orgânicos e compostos aromáticos formados, quer por outros compostos cíclicos de baixo peso molecular (Lavermicocca et al., 2007), quer ainda por compostos de natureza proteica, tais como as bacteriocinas. Resultados de estudos que envolveram a selecção de bactérias lácticas e seus metabolitos com actividade antimicrobianas indicaram que 25% das bactérias lácticas produziram compostos anti-fúngicos, entre os quais se incluem as bacteriocinas com capacidade para inibir 50% dos fungos testados. Embora as bacteriocinas sejam conhecidas pelo seu espectro de acção restrito, incluindo apenas bactérias Gram-positivas, neste estudo ficou demonstrado o seu papel na inibição do crescimento de bolores. A inoculação de salmouras com bactérias lácticas produtoras de bacteriocinas poderá, assim, evitar o desenvolvimento de fungos produtores de toxinas, frequentes em azeitona tipo preta natural.

Foi avaliada a actividade antifúngica da pimáricina, citosano e bacteriocinas produzidas por estirpes de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* e *Lactobacillus pentosus* frente a *Penicillium* spp., *Eurotium rubrum*, *Eurotium amstelodami* e *Eurotium herbariorum* isolados de processos de fermentação de azeitona. As bacteriocinas produzidas por *Lactobacillus plantarum* 37A e *Lactobacillus pentosus* B96 apresentaram uma mais elevada capacidade antifúngica. Os resultados indicam a possibilidade desta capacidade ser usada na conservação dos alimentos constituindo, assim, mais um contributo importante para estudos futuros que visem a sua utilização industrial.

Consequências da dimensão territorial do país, a predominância da pequena propriedade, para além de problemas de ordenamento do território, fazem com que a competitividade não possa ser alcançada através da produção

de grandes quantidades a baixos custos. Torna-se necessário procurar a inovação e a qualidade. No entanto, o cenário está longe de ser favorável. Por um lado, o agricultor português típico tem mais de 65 anos, detém a escolaridade básica e dedica-se a várias culturas, como forma de complementar os seus rendimentos. Acresce que, grande parte dos olivais portugueses, se encontram em plantação extensiva e não são irrigados, para além de uma grande parte estarem abandonados. Por outro lado, o país conta com escassos recursos, humanos e materiais, para assegurar o apoio técnico e a investigação necessários, para uma fileira considerada como prioritária.

## Referências

- Bianchi, G. 2003. Lipids and phenols in table olives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 105:229-242.
- Bik, E.M., Eckburg, P.B., Gill, S.R., Nelson, K.E., Purdom, E.A., Francois, F., Perez-Perez, G., Blaser, M.J. & Relman, D.A. 2006. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *PNAS.* 103:732-737.
- Consejo Oleícola Internacional - IOOC. *Enciclopedia Mundial del Olivo.* Plaza e János Ed SA. 1996. Barcelona SP.
- Diéz, M., Ramos, R., Fernández, A., Cancho, F., Pellisó, F., Vega, M., Moreno, A., Mosquera, I., Navarro, L., Quintana, M., Roldán, F., Garcia, P. & Gómez-Millán, A. 1985. *Biología de la aceituna de mesa.* Instituto de la Grasa y sus Derivados. Sevilla. Spain.
- Garrido-Fernández, A. & Lopez-Lopéz, A. 2008. Revalorización nutricional de la Aceituna de mesa. Oral communication. (II Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa. Sevilla. 26-27 Março 2008).
- Haller, D., Colbus, H., Ganzle, M.G., Scherenbacher, P., Bode, C. & Hammes, WP. 2001. Metabolic and functional properties of lactic acid bacteria in the gastro-intestinal ecosystem: A comparative in vitro study between bacteria of intestinal and fermented food origin. *Syst. Appl Microbiol.* 24:218-226.
- Instituto Nacional de Estatística. I.P., *Estatísticas Agrícolas.* 2007.
- Interaceituna: Organización Interprofesional de la Aceituna de Mesa. 2008. La Aceituna de mesa. <http://www.interaceituna.com/la-aceituna-de-mesa.html>
- International Olive Oil Council. 2007. *L'oléiculture au Portugal.* E.108/Doc. nº 4 Mise à jour nº 31 Réf: 25
- International Olive Oil Council. 2008. a. Table Olives. Autochthon varieties. Secondary characterization. [www.internationaloliveoil.org/resgen/esp/rg-var2-por.htm](http://www.internationaloliveoil.org/resgen/esp/rg-var2-por.htm)
- Juan, M.E., Wenzel, U., Ruiz-Gutiérrez, V., Daniel, H. & Planas, J.M. 2006. Olive Fruit Extracts Inhibit Proliferation and Induce Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells. *J. Nutr.* 136:2553-2557.
- Lavermicocca, P., Lonigro, S.L., Visconti, A., De Angelis, M., Valerio, F. & Morelli, L. 2007. Table olives containing probiotic microorganisms. International Patent Publication numbers WO2005053430 (A1); US2007086990 (A1); EP1843664 (A0); CA2546776 (A1).

- MADRP. 2002. Crop Production Yearbook 2002. GPPAA. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Ed. Castel. Lisboa. 2002.
- MADRP. 2007a. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Gabinete de Planeamento e políticas. Anuário Vegetal 2006. Crop Production yearbook. Ed. MADRP 2007. Olivicultura.
- MADRP. 2007b. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Guia dos Produtos de Qualidade. DOP/IGP/ETG/DOC/IPR/AB/PI. Ed. MADRP 2007.
- Pereira, J.A., Pereira, A.P.G., Ferreira, I.C.F.R., Valentão, P., Andrade, P.B., Seabra, R., Estevinho, L. & Bento, A. 2006. Table Olives from Portugal: Phenolic Compounds, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.*, 54:842-843.
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R. & Heredia, A. 2006. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci & Technol.*17:3-15.
- Roos, S., Engstrand, L. & Johnsson, H. 2005. *Lactobacillus gastricus* sp. nov., *Lactobacillus antri* sp. nov., *Lactobacillus kalixensis* sp. nov. and *Lactobacillus ultunensis* sp. nov., isolated from human stomach mucosa. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55:77-82.

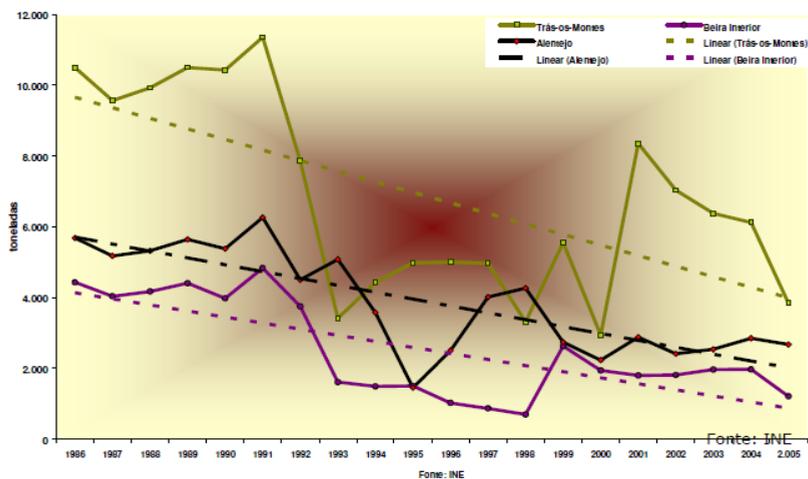


Figura 1 - Evolução da produção de azeitona de mesa nas três principais regiões portuguesas (1986-2005). Adaptado de MADRP, 2007a.

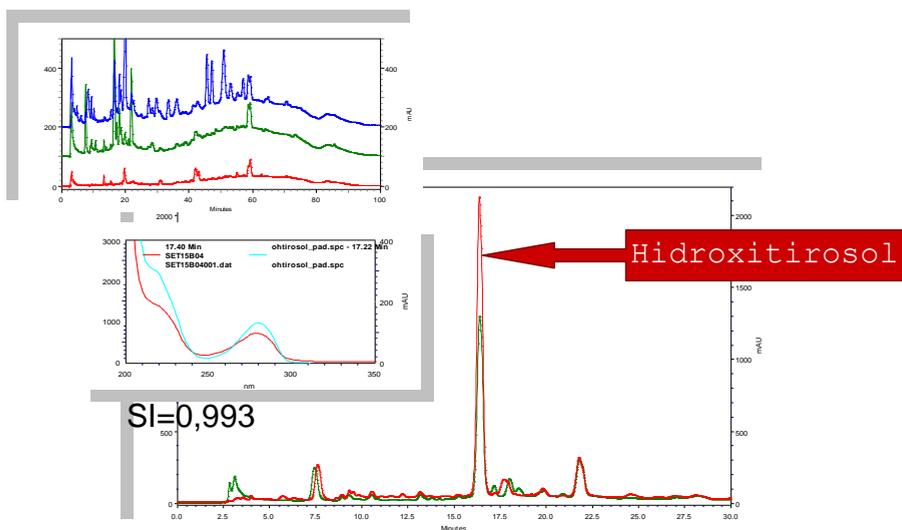


Figura 2 - Detecção de hidroxitirosol, por HPLC, em salmouras de azeitona fermentada.

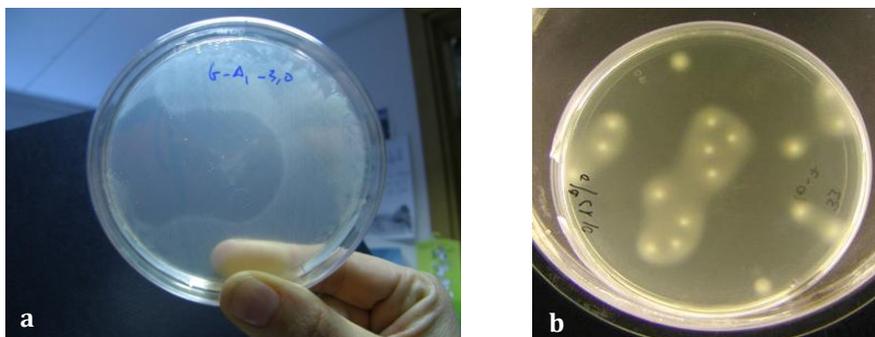


Figura 3 - Ensaio de antagonismo de BL da azeitona com actividade antimicrobiana (a) e presença da enzima BSH (b).



Figura 4 - Actividade antagonista de metabolitos excretados por bactérias lácticas da azeitona frente a fungos isolados de processos de fermentação de azeitona.

## **Antioxidantes em azeites ‘Galega’ e ‘Azeiteira’ provenientes de frutos obtidos em duas épocas de colheita**

F. Peres, A. Nunes, C. Vitorino, C. Gouveia & L. Henriques

Escola Superior Agrária de Castelo Branco, Quinta Senhora de Mércules, IPCB, Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal, fperes@esa.ipcb.pt

### **Resumo**

No presente trabalho são determinados os biofenóis em azeites ‘Galega’ e ‘Azeiteira’ obtidos em duas épocas de colheita dos frutos e olivais em produção integrada. A separação da fracção fenólica foi feita por extracção líquido-líquido (ELL) e a análise dos compostos fenólicos obtida por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) com detecção por díodos (DAD). São também determinados: os tocoferóis por HPLC e fluorescência (FLD); os biofenóis totais por espectroscopia VIS; e a intensidade do sabor amargo ( $K_{225}$ ) por espectroscopia UV.

Os azeites ‘Galega’ e ‘Azeiteira’ apresentam teores mais elevados de antioxidantes na colheita mais temporã indicando que – do ponto de vista nutricional, sensorial e da estabilidade deste alimento – não é benéfico retardar a época de colheita.

O hidroxitirosol e a luteolina decrescem acentuadamente na segunda data de colheita para os azeites de cultivar ‘Azeiteira’. Os azeites ‘Galega’ apresentam teores mais elevados de  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos, azeite virgem, maturação, tocoferóis, HPLC.

### **Abstract**

#### **Antioxidants in ‘Galega’ and ‘Azeiteira’ olive oils from fruits of two harvest times**

The present paper evaluates the content of biophenols in ‘Galega’ and ‘Azeiteira’ virgin olive oils for two harvest times, in olive groves submitted to Integrated Production. Chromatographic separation was performed by liquid-liquid extraction (LLE) and analysis carried out by high performance liquid chromatography (HPLC) and diode array detector (DAD). Tocopherols content was evaluated by HPLC and fluorescence detector (FLD); total biophenols by VIS spectroscopy; and intensity of bitter taste ( $K_{225}$ ) by UV spectroscopy.

‘Galega’ and ‘Azeiteira’ olive oils showed higher antioxidant contents for earlier stages of ripening indicating that retarding the harvest has no practical advantages on what concerns nutritional, sensory and food stability.

Hydroxytyrosol and luteolin contents decrease in the second harvest time for 'Azeiteira' olive oil. 'Galega' virgin olive oils showed higher contents of  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -tocopherol.

**Keywords:** phenol compounds, virgin olive oil, ripening, tocopherols, HPLC.

## Introdução

Os componentes menores do azeite virgem incluem diversos esteróis, alcoóis alifáticos e triterpénicos, hidrocarbonetos, compostos voláteis e antioxidantes. Os principais compostos antioxidantes do azeite virgem são fenóis. A actividade dos fenóis está relacionada com a estabilidade oxidativa do azeite e com a intensidade do seu sabor amargo (Servili et al., 2004). Os fenóis lipofílicos – os tocoferóis – ocorrem vulgarmente em outros óleos vegetais; os fenóis hidrofílicos – aqui designados por biofenóis – são específicos do azeite e constituem um grupo de metabolitos secundários com importantes propriedades sensoriais e nutricionais. De acordo com diversos estudos, a cultivar e o estado de maturação das azeitonas constituem os dois factores preponderantes do teor de biofenóis nos azeites virgens obtidos de frutos são (Aparício & Morales, 1998; Servili et al., 2004; Beltran et al., 2005).

A análise por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) para determinar fenóis em azeites e a sua separação em diversas classes de compostos fenólicos (ácidos fenólicos, alcoóis fenólicos, flavonóides, secoridóides e lignanos) tem sido objecto de numerosos estudos e revisões (Hrnčirik & Fritsche, 2004; Bendini et al., 2007).

O presente trabalho determina o teor em antioxidantes – biofenóis e tocoferóis – de azeites monovarietais produzidos a partir de frutos colhidos em duas épocas de colheita (dois estados de maturação distintos) por HPLC. Apresenta ainda os valores das absorvâncias a 225 nm, reconhecidos vulgarmente por intensidade do sabor amargo.

## Material e Métodos

Foram seleccionados para este estudo dois olivais em Produção Integrada, um localizado na região de Azeite da Beira Baixa DOP, de cultivar 'Galega Vulgar' (olival de seis anos), e um localizado na região de Azeites do Norte Alentejano DOP (olival de cerca de 40 anos) de cultivar 'Azeiteira'.

O presente estudo reporta-se a três anos de produção: 2004, 2005 e 2006. Em cada campanha procedeu-se a duas recolhas de frutos: uma no final do mês de Outubro e outra em Novembro, cerca de 15 dias após a primeira recolha. A época de colheita foi decidida de acordo com o índice de maturação das azeitonas (IM > 3,5) e a estabilização do teor em gordura (ms). A extracção de azeite foi realizada em sistema OLIOMIO 50.

As determinações analíticas seguiram diversas metodologias.

A determinação de biofenóis totais fez-se por extracção líquido-líquido (ELL) e quantificação por espectroscopia VIS, utilizando reagente de Folin Ciocalteu.

A avaliação da absorvância a 225 nm ( $K_{225}$ ) obteve-se por extracção dos compostos fenólicos em fase sólida com colunas  $C_{18}$  e leitura espectrofotométrica do extracto a 225 nm (Gutiérrez-Rosales et al., 1992).

Os tocoferóis foram determinados por HPLC (NP-HPLC), em cromatógrafo Agilent 1100 Series com detecção por fluorescência (excitação a 290 nm e emissão a 330 nm), coluna Lichrosorb Si 60 (5  $\mu$ m), volume de injeção 20  $\mu$ l, eluição isocrática com n-hexano e 2-propanol (99,5:0,5 v/v), fluxo 1,2 ml/min e quantificação por padrão externo.

Os biofenóis foram analisados por HPLC. A extracção fenólica foi feita por ELL com base no procedimento descrito por Montedoro et al. (1992), contudo com concentração das amostras em Speedvac®, modelo SPD121P (Thermo Savant). O extracto fenólico foi solubilizado com 2 ml de metanol e filtrado com filtros Acrodisc® 0,45  $\mu$ m, 25 mm (Pall Gelman Laboratory). A análise foi conduzida em cromatógrafo Agilent 1100 Series, detector de díodos (DAD),  $\lambda = 278$  nm, coluna Purospher® STAR RP-18 (Merck), 250 mm x 4 mm, volume de injeção de 20  $\mu$ l e fluxo de 1,0 ml/min. A fase móvel foi constituída por: solvente A, 0,2% de ácido acético em água (pH=3,1); solvente B, metanol; eluição com gradiente de concentração. Foram quantificados 8 compostos fenólicos por padrão externo.

No tratamento dos resultados foi utilizado o procedimento General Linear Models do programa SPSS 16 para Windows.

Em 2006, não houve produção de azeite 'Azeiteira'. As análises de biofenóis por HPLC foram efectuadas apenas para azeites da época 2005.

## Resultados e Discussão

Todos os azeites do presente estudo foram classificados como azeites virgem extra face ao Regulamento (CE) N.º1989/2003 (valores médios: acidez <0,4 g/100 g; Índice de Peróxido <13 meq  $O_2$  kg<sup>-1</sup>;  $K_{270}$  <0,150 e  $K_{232}$  <1,78; ausência de defeitos sensoriais e intensidade de frutado >3,6).

A figura 1 apresenta os resultados globais (3 campanhas) dos teores de biofenóis totais dos azeites 'Azeiteira' e 'Galega' nas colheitas de Outubro e Novembro, com índices de maturação médios de 4 e 5. Observa-se teores menores na época de Novembro e o decrescimento é maior nos azeites 'Azeiteira'.

A figura 2 apresenta os resultados da intensidade do sabor amargo ( $K_{225}$ ). Estes valores observam uma correspondência evidente com os teores de biofenóis totais: são inicialmente mais elevados nos azeites 'Azeiteira' e decrescem de Outubro para Novembro mais acentuadamente nestes azeites. Não foram atingidos valores de  $K_{225} > 0,360$ , valor referido por Gutiérrez-Rosales et al. (1992), como correspondentes a azeites extremamente amargos, preteridos pela maioria dos consumidores.

O quadro 1 revela que os azeites 'Galega' são mais ricos em tocoferóis que os azeites Azeiteira, distinguindo-se significativamente entre si ( $P < 0,001$ ) pelos teores de alfa e gama tocoferol. A evolução destes antioxidantes não depende tanto da época de colheita como dependem os teores de biofenóis, resultados também obtidos por outros autores (Gimeno et al., 2002).

As figuras 3 e 4 mostram cromatogramas HPLC de biofenóis de dois azeites 'Azeiteira' obtidos nos dois momentos distintos de maturação. Pode observar-se mais picos cromatográficos e uma maior área para a maioria dos mesmos na colheita de Outubro.

O quadro 2 apresenta os resultados relativos aos teores dos diferentes biofenóis quantificados; os teores de hidroxitirosol, tirosol e luteolina distinguem significativamente ( $P < 0,05$ ) os azeites 'Galega' e 'Azeiteira' e diminuem com o aumento da maturação; resultado oposto foi obtido por Brenes et al. (1999). Nos azeites Azeiteira verifica-se a diminuição mais acentuada de hidroxitirosol, composto fenólico de grande importância para a saúde humana (Boskou et al., 2005; Bendini et al., 2007).

O presente estudo corrobora a importância da época de colheita e consequentemente do estado de maturação da azeitona como um factor que influencia claramente as características nutricionais e sensoriais do azeite virgem. A menor quantidade de antioxidantes fenólicos para colheitas mais tardias indica que não há qualquer vantagem em protelar a época de colheita da azeitona, a partir do momento em que a biossíntese de toda a gordura foi atingida.

## Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Medida 8.1 do Programa Agro, Projecto 463: "Segurança e qualidade alimentar em produtos do olival". Os autores agradecem aos membros da equipa do projecto que colaboraram na colheita de amostras, nomeadamente J.Coutinho, C. Amaro e P. Fragoso.

## Referências

- Aparicio, R. & Morales, M.T. 1998. Characterization of olive ripeness by green aroma compounds of virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, 46:1116-1122.
- Beltrán, G., Aguilera, M., Del Riob, P.C., Sanchez, S. & Martinez, L. 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry* 89:207-215.
- Bendini, A., Cerretini, L., Carrasco-Pancorbo, A., Caravaca, A.M.G., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. & Lercker, G. 2007. Phenolic molecules in virgin olive oils: A survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12:1679-1719.
- Boskou, D., Blekas, G. & Tsimidou, M. 2005. Phenolic compounds in olive oil and olives. *Curr. Topics Nutraceutical Res.*, 3:125-136

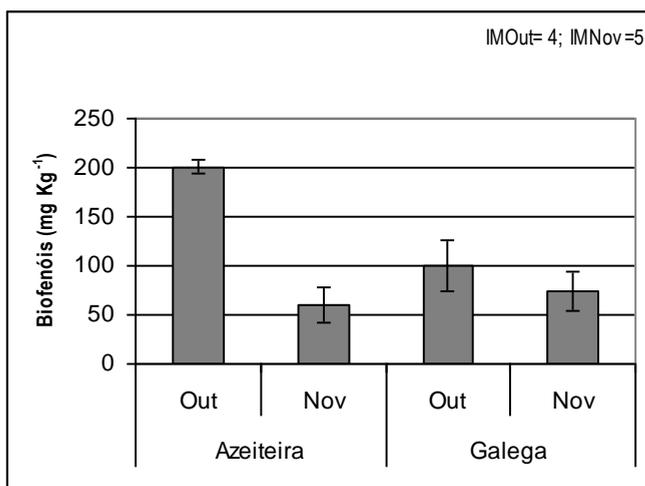
- Brenes, M., Garcia, A., Garcia, P., Rios, J.J. & Garrido, A. 1999. Phenolic compounds in spanish olive oils. *J. Agric. Food Chem.*, 47:3535-3540.
- Jimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventós, R.M., De la Torre, M.C. & López-Sabater, M.C. 2002. The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics,  $\alpha$ -tocopherol, and  $\beta$ -carotene) in virgin olive oil. *Food Chem.*, 78:207-211.
- Gutiérrez-Rosales, F., Perdiguero, S., Gutiérrez, R. & Olias, J.M. 1992. Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69:1558-9331.
- Hrnčirik, K. & Fritsche, S. 2004. Comparability and reliability of different techniques for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil. *Eur. J. of Lipid Sci. and Tech.*, 106:540-549.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M. & Miniati, E. 1992. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by hplc. *J. Agric. Food Chem.*, 40:1571-1576.
- Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G.F. & Morozzi, G. 2004. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *J. Chromatogr. A*, 1054:113-127.

Quadro 1 - Teores em tocoferóis (mg kg<sup>-1</sup>) nas 3 campanhas. (Valores médios  $\pm$  desvio padrão).

Cultivar	Época de Colheita	Alfa-Tocoferol	Beta-tocoferol	Gama-tocoferol
'Azeiteira'	Out (IM= 4)	134,4 $\pm$ 9,74	1,0 $\pm$ 0,36	1,3 $\pm$ 0,43
	Nov (IM= 5)	114,9 $\pm$ 38,73	1,7 $\pm$ 0,19	2,5 $\pm$ 1,63
'Galega'	Out (IM= 4)	147,8 $\pm$ 11,47	1,5 $\pm$ 0,60	6,7 $\pm$ 1,12
	Nov (IM= 5)	150,6 $\pm$ 16,80	2,4 $\pm$ 1,16	6,4 $\pm$ 1,88

Quadro 2 - Teores em biofenóis (mg kg<sup>-1</sup>) na campanha de 2005. (Valores médios ± desvio padrão).

	Galega Out	Galega Nov	Azeiteira Out	Azeiteira Nov
Hidroxitirosol	1,47 ± 0,058	1,22 ± 0,052	5,60 ± 0,092	2,69 ± 0,078
Tirosol	5,61 ± 0,242	5,66 ± 0,244	11,19 ± 0,305	10,38 ± 0,315
Ác. vanílico	0,26 ± 0,013	0,44 ± 0,019	0,39 ± 0,010	0,35 ± 0,015
Vanilina	0,11 ± 0,004	0,18 ± 0,005	0,09 ± 0,014	0,09 ± 0,014
Ác. <i>p</i> -cumárico	0,17 ± 0,007	0,21 ± 0,010	0,32 ± 0,005	0,77 ± 0,046
Ác. <i>o</i> -cumárico	0,23 ± 0,049	0,20 ± 0,003	0,67 ± 0,028	0,11 ± 0,012
Ác. cinâmico	0,28 ± 0,051	0,10 ± 0,009	0,04 ± 0,017	0,12 ± 0,012
Luteolina	1,49 ± 0,156	1,22 ± 0,089	5,01 ± 0,702	1,49 ± 0,147
Apigenina	0,98 ± 0,122	1,29 ± 0,182	1,36 ± 0,008	1,65 ± 0,176

Figura 1- Teores de biofenóis totais (mg kg<sup>-1</sup>) nas 3 campanhas. (Valores médios ± desvio padrão)

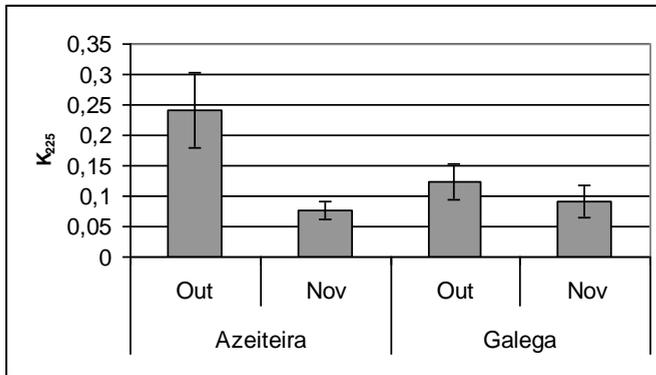


Figura 2 - Absorvâncias a 225 nm ( $K_{225}$ ) nas 3 campanhas.  
(Valores médios  $\pm$  desvio padrão)

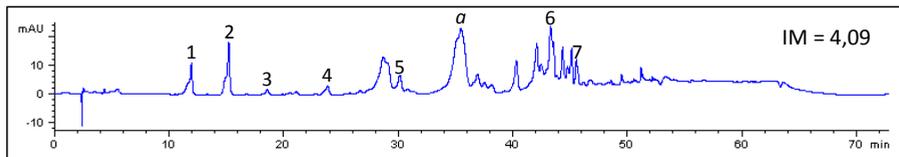


Figura 3 - Cromatograma de um azeite 'Azeiteira', Outubro de 2005,  $\lambda = 278$  nm. 1 - hidroxitirosol; 2 - tirosol; 3 - ácido vanílico; 4 - ácido p-cumárico; 5 - ácido o-cumárico; a - desconhecido; 6 - luteolina; 7 - apigenina.

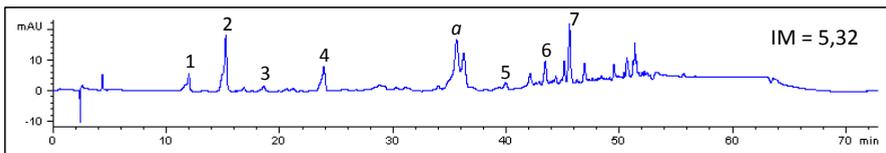


Figura 4 - Cromatograma de um azeite 'Azeiteira', Novembro de 2005,  $\lambda = 278$  nm. 1 - hidroxitirosol; 2 - tirosol; 3 - ácido vanílico; 4 - ácido p-cumárico; a - desconhecido; 5 - ácido cinâmico; 6 - luteolina; 7 - apigenina.

## Valorização das águas ruças - Identificação de compostos antioxidantes

S.I. Falcão<sup>1</sup>, A.M. Peres<sup>1,2</sup>, M.R.M. Domingues<sup>3</sup> & S.M. Cardoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIMO, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal

<sup>2</sup>LSRE - Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal

<sup>3</sup>Centro de Espectrometria de Massa, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

### Resumo

Neste trabalho pretendeu-se determinar a composição em compostos fenólicos de amostras de efluentes líquidos provenientes de diferentes lagares de azeite do Norte de Portugal (Amarante, Mirandela, Castelo Rodrigo e Frieira). Para tal, as águas ruças foram extraídas com acetato de etilo, o extracto foi fraccionado por HPLC e as fracções foram analisadas por espectrometria de massa (ESI-MS e ESI-MS<sup>n</sup>). Este procedimento permitiu verificar que o composto maioritário era o hidroxitirosol, embora em concentração variável. As amostras continham ainda outros compostos fenólicos comuns, tais como o ácido clorogénico, o ácido cafeico, o ácido p-cumárico, o tirosol; secoiridoides como o ácido elenólico, o oleosídeo, o verbascosídeo, a oleuropeína, o ligostrosídeo e alguns flavonóides como a luteolina, a quercetina e o glucosídeo da luteolina.

**Palavras-chave:** águas ruças, compostos fenólicos, hidroxitirosol, espectrometria de massa.

### Abstract

#### Olive mill wastewaters valuing - Identification of phenolic compounds

This study intended to determine the composition of phenolic compounds in different olive wastewaters collected in the North of Portugal (Amarante, Mirandela, Castelo Rodrigo and Frieira). The samples were extracted with ethyl acetate, the extract was fractionated by HPLC and the fractions were analyzed by mass spectrometry (ESI-MS and ESI-MS<sup>n</sup>). Hydroxytyrosol was the main phenolic compound, although with variable concentrations. The samples also contained other common phenolic compounds such as chlorogenic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, tyrosol; secoiridoids like elenolic acid, oleoside, verbascoside, oleuropein, ligostroside and some flavonoids like luteolin, quercetin and luteolin glycoside.

**Keywords:** olive mill wastewater, phenolic compounds, hydroxytyrosol, mass spectrometry.

## Introdução

As águas ruças produzidas em sistemas de extracção de azeite de três fases possuem uma elevada carga poluente devido à sua acentuada acidez e à sua composição, nomeadamente grande quantidade de sais de potássio, magnésio, fósforo e de moléculas orgânicas, especialmente polifenóis, açúcares, taninos, polialcoóis, pectinas, lípidos e compostos aromáticos tóxicos (Saviozzi et al., 1993). Por outro lado, alguns destes compostos, nomeadamente os compostos fenólicos, possuem actividades biológicas importantes e são por isso do interesse da indústria farmacêutica e alimentar (De Marco et al., 2007).

A quantidade de compostos fenólicos presente nas águas ruças depende da cultivar e da maturação das azeitonas, da zona de cultivo, do tempo de armazenamento e dos procedimentos de extracção (Bazoti et al., 2006). O hidroxitirosol é um dos mais abundantes e o que levanta mais interesse devido às suas propriedades farmacológicas e antioxidantes, podendo ser encontrado nos efluentes na forma livre, mas também na forma ligada como oleuropeína, verbascosídeo ou de glicosídeo (Rodríguez et al., 2009). Neste contexto, o presente estudo pretendeu contribuir para a valorização deste resíduo industrial através da identificação e quantificação dos seus principais compostos fenólicos.

## Material e Métodos

As amostras de águas ruças foram recolhidas de lagares de azeite, com laboração em sistemas de três fases, situados no Norte de Portugal (Amarante (A), Mirandela (M), Castelo Rodrigo (CR) e Frieira (F)). A colheita das amostras foi efectuada em Dezembro de 2008 e conservadas a -20°C até serem analisadas.

### *Extracção dos compostos fenólicos*

A extracção foi efectuada segundo o método descrito por De Marco et al. (2007). As amostras (10 mL) foram previamente acidificadas a pH 2 com HCl, deslipidificadas com n-hexano, e a mistura foi agitada e de seguida centrifugada a 3000 rpm durante 5 min. As fases foram separadas e o processo foi repetido duas vezes. A extracção dos compostos fenólicos foi efectuada com acetato de etilo, o solvente foi evaporado sob vácuo a 40°C e o resíduo resultante foi redissolvido em 3 mL de metanol.

### *Análise por HPLC*

As análises foram realizadas num sistema cromatográfico Knauer Smartline equipado com um auto-injector mantido a 4°C provido de um loop de 10 µL. A detecção foi feita com um detector UV/Vis a um comprimento de onda de 280 nm. A separação cromatográfica foi conseguida utilizando uma coluna RP-C18 (tamanho de partículas 5 µm, 250×4 mm d.i.) e uma pré-coluna com o mesmo enchimento. A coluna foi mantida a uma temperatura de 30°C. A eluição das amostras foi realizada a um fluxo constante de 1 mL/min. Como fase móvel utilizaram-se dois eluentes, 0,1% de ácido fórmico em água (v/v) (solvente A) e

0,1% de ácido fórmico em acetonitrilo (v/v) (solvente B), previamente desgaseificados e filtrados. A melhor resolução cromatográfica dos compostos fenólicos foi obtida nas seguintes condições: 3% de B no início, 3% a 9% de B em 4 min, 9% a 15% de B em 11 min, 15% a 16% de B em 10 min, 40% de B em 45 min, 40% a 85% de B em 10 min, 85% a 3% de B em 10 min.

Os diferentes compostos fenólicos foram quantificados utilizando curvas de calibração previamente estabelecidas pelo método do padrão externo. As curvas de calibração foram obtidas, por regressão linear, tendo em conta a área dos respectivos picos e a concentração de cada composto fenólico nas soluções padrão injectadas.

#### *Análise por ESI-MS e ESI-MS<sup>n</sup>*

As fracções foram dissolvidas em metanol e injectadas directamente na fonte de ESI por meio de uma bomba de seringa, com um fluxo de 8  $\mu\text{L min}^{-1}$ . Os estudos foram realizados em modo negativo com um aparelho LXQ Linear Ion (ThermoFinnigan, San Jose, CA, E.U.A.). As condições de ESI foram as seguintes: azoto 30 psi, tensão do spray 4,7 kV, temperatura do capilar 350°C, voltagem do capilar -7,0 V e tensão do tubo capilar -71,8 V. A energia de colisão usada nas experiências de MS<sup>n</sup> foi de 12-20 (arbitrária).

## **Resultados e Discussão**

A análise cromatográfica dos extractos fenólicos das quatro amostras permitiu verificar que, no geral, as respectivas fracções eluídas possuíam tempos de retenção semelhantes, embora com áreas distintas (resultados não mostrados). Estes resultados sugeriram que as diversas amostras de águas ruças possuíam os mesmos compostos fenólicos, embora em diferentes concentrações. Como exemplo, na figura 1 encontra-se representado um dos perfis cromatográficos obtidos por HPLC a 280 nm, no qual estão indicadas as várias fracções recolhidas.

A presença de compostos idênticos nas diferentes amostras foi confirmada por espectrometria de massa. Desta forma, a identificação dos compostos fenólicos em cada fracção foi efectuada considerando o(s) principal(ais) ião(ões) molecular(es) aí presente(s) e a interpretação das suas vias de fragmentação quando estes eram sujeitos a análise por ESI-MS<sup>n</sup>. Esta análise foi efectuada mesmo quando o tempo de retenção da fracção era coincidente com a de um composto de referência. O quadro 1 resume os resultados da análise de espectrometria de massa dos compostos identificados nas fracções analisadas.

A quantidade dos compostos fenólicos identificados nas amostras e que não eram co-eluídos encontra-se representada no quadro 2. Em relação a estes compostos, deve referir-se que, no conjunto, a amostra de Frieira continha uma menor quantidade, enquanto a amostra de Mirandela possuía uma menor variabilidade.

O hidroxitirosol foi encontrado como composto maioritário nas quatro amostras, embora em concentrações variáveis (0,249-1,91 g L<sup>-1</sup>). Este facto

deve-se com certeza a diferentes factores, incluindo a cultivar e a maturação das azeitonas usadas no processo de produção de azeite. Deve também referir-se que, à excepção da amostra de Frieira, a quantidade de hidroxitirosol obtida a partir das restantes águas ruças foi superior à obtida por De Marco et al. (2007) (aproximadamente 1 g L<sup>-1</sup>). Ainda, de acordo com os resultados de outros autores (Cardoso et al., 2005), a luteolina-7-glucosídeo foi também encontrada em concentrações consideráveis em bagaço e polpa de azeitona.

A análise dos extractos fenólicos de águas ruças recolhidas em lagares portugueses permitiu verificar que, no geral, os compostos encontrados nestas amostras correspondem aos descritos na literatura para este tipo de amostras, apesar da quantidade de compostos fenólicos nas amostras ser bastante variável. Em particular, o presente trabalho permite alertar para o facto de que a recuperação de hidroxitirosol de amostras de águas ruças poder ser bastante variável, um factor de enorme importância na exploração destas águas residuais.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação para Ciência e Tecnologia (projecto de investigação PTDC/AMB/69379/2006) pelo apoio financeiro.

## Referências

- Bazoti, F.N., Gikas, E., Skaltsounis, A.L. & Tsarbopoulos, A. 2006. Development of a liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC–ESI MS/MS) method for the quantification of bioactive substances present in olive oil mill wastewaters. *Anal. Chim. Acta*, 573:258-266.
- Cardoso, S.M., Guyot, S., Marnet, N., Lopes-da-Silva, J.A., Renard, C.M.G.C. & Coimbra, M. 2005. Characterisation of phenolic extracts from olive pulp and olive pomace by electrospray mass spectrometry. *J Sci Food Agric*, 85:21-32.
- De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A. & Sacchi, R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chem.*, 104:858-867.
- Obied, H.K., Allen, M.S., Bedgood, D.R., Prenzler, P.D., Robards, K. & Stockmann, R. 2005. Bioactivity and Analysis of Biophenols Recovered from Olive Mill Waste. *J. Agric.Food Chem*, 53:823-837.
- Rodríguez, G., Lama, A., Trujillo, M., Espartero, J.L. & Fernández-Bolaños, J. 2009. Isolation of a powerful antioxidant from *Olea europaea* fruit-mill waste:3,4- Dihydroxyphenylglycol. *LWT*, 42:483–490.
- Saviozzi, A., Riffaldi, R., Levi-Minzi, R., Scagnozzi, A. & Vanni, G. 1993. *Biores Technol*, 44:223-228.

Quadro 1 - Identificação das fracções eluídas no HPLC do extracto de compostos fenólicos das águas ruças e a correspondência com os resultados da espectrometria de massa

Número da Fracção	Tempo retenção (min)	[M-H]	ESI-MS <sup>n,*</sup>	Composto
1	13,6	153	123	Hidroxitirosol
2	18,5	137	95, 109	Tirosol
3	26,3	353	191, 179	Ác. clorogénico
4	28,2	179	135	Ác. cafeíco
5	35,3	163	119	Ác. <i>p</i> -cumárico
5	35,3	241	139, 209, 223	Ác. elenólico
6	46,0	623	461	Verbascosídeo
7	49,1	447	285	Luteolina-7-glucosídeo
8	53,8	539	377, 307, 469, 507	Oleuropeína
9	52,4	447	285	Luteolina glucosídeo
10	64,3	301	179, 151	Quercetina
11	65,1	285	241, 175, 151	Luteolina

\* Ordenados por ordem decrescente

Quadro 2 - Quantificação dos principais compostos identificados nos extractos fenólicos das diferentes amostras.

Composto	Amostras de águas ruças			
	A (g L <sup>-1</sup> )	M (g L <sup>-1</sup> )	CR (g L <sup>-1</sup> )	F (g L <sup>-1</sup> )
Hidroxitirosol	1,57	0,704	1,91	0,249
Tirosol	0,111	v	0,349	0,078
Ác. clorogénico	0,087	-	0,078	0,080
Ác. cafeíco	0,043	-	0,023	v
Verbascosídeo	1,37	v	0,088	0,034
Luteolina-7-glucosídeo	0,751	0,078	1,09	0,332
Oleuropeína	0,019	0,810	0,106	0,233
Quercetina	0,142	-	0,248	-
Luteolina	0,114	0,099	0,057	-

v, quantidades vestigiais

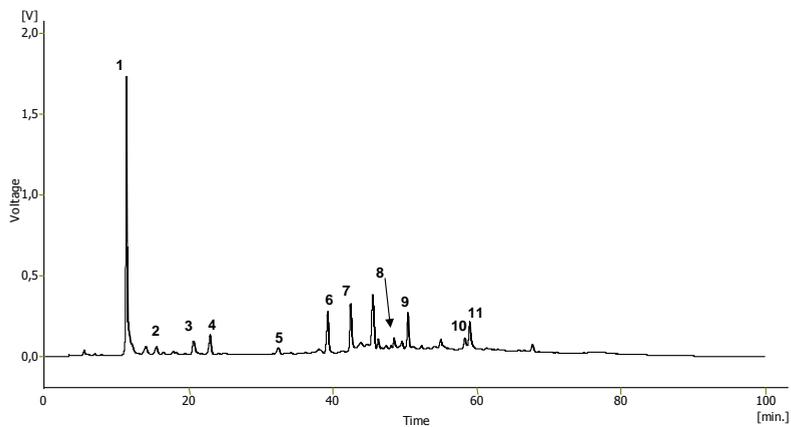


Figura 1 - Exemplo de perfil cromatográfico de um extracto fenólico de águas ruças, evidenciando as fracções recolhidas e que foram posteriormente analisadas por ESI-MS.

# Valorização do bagaço de azeitona por compostagem, para utilização agrícola

L. Coelho, C. Portela, A. Cravo & M. Reis

Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal, l\_coelho@hotmail.com

## Resumo

Resíduos agro-industriais, como o bagaço de azeitona (BA), podem ser valorizados através de compostagem, obtendo-se produtos com interesse agrícola, sobretudo para emprego como fertilizantes ou como componentes de substratos hortícolas. Neste trabalho apresentam-se os resultados do teste de compostos de bagaço de azeitona, obtidos com o bagaço estreme e em misturas com outros resíduos agrícolas. Os compostos estudados, aqui designados pelas letras A a G, foram obtidos a partir da mistura de bagaço de azeitona (BA) com os seguintes resíduos, nas proporções indicadas em volume: composto A, com resíduos agrícolas (0,2:1); compostos B, C e D, com resíduos agrícolas (0,25:1); compostos E e F, com laranjas de refugo e aparas de relva (1:2:1) e o composto G foi obtido a partir de bagaço de azeitona compostado sem qualquer mistura.

O volume inicial dos materiais reduziu-se durante a compostagem, obtendo-se um rendimento de transformação em composto entre 45% e 84% em volume. As propriedades físico-químicas dos compostos obtidos apresentaram algumas diferenças. O pH variou entre 6,4 e 7,7. A condutividade eléctrica apresentou maior dispersão de valores, variando entre 0,3 dSm<sup>-1</sup> no composto F e 5,2 dS m<sup>-1</sup> no composto B. Os compostos E e F destacaram-se pelo seu elevado teor em matéria orgânica, superior a 80 g 100g<sup>-1</sup>, e em azoto Kjeldhal, superior a 2 g 100g<sup>-1</sup>. Estes dois compostos, E e F, mostraram também adequadas propriedades físicas para uso como substratos, apesar de apresentarem uma capacidade de arejamento relativamente reduzida.

Os resultados apresentados demonstram que é possível obter compostos interessantes para uso agrícola a partir de bagaço de azeitona, em função do tipo dos resíduos empregues e da sua proporção nas misturas. Estes compostos poderão ser utilizados como correctivos orgânicos, componentes de substratos hortícolas ou com outros fins, contribuindo para uma maior sustentabilidade da actividade agrícola.

**Palavras-chave:** pilha com revolvimento mecânico, pilha ventilada, caixa, composto, resíduos, fertilização orgânica, substrato hortícola.

## Abstract

**Olive pomace valorization through composting, for agricultural use**

Residues from agro-industries such as olive marc (BA) can be transformed through composting into valuable products for agriculture, mainly as fertilizers or plant growing media components. This work shows the results from composts obtained with olive marc, traditionally obtained by fruit pressing, composted in mixes with other residues. The studied composts, designated from A to G, were obtained after composting BA with other residues, on the following proportions in volume: compost A, with agricultural residues (0.2:1); composts B, C and D, with agricultural residues (0.25:1); composts E and F, with oranges and grass clippings (1:2:1) and compost G was obtained from olive marc composted alone.

Composting reduced the volume of the initial material, achieving a conversion rate into compost from 45.2 to 84.0%. Compost properties showed some variation. pH ranged from 6.4 to 7.7. Electrical conductivity showed a higher variation, from 0.30 in compost F to 5.2 dS m<sup>-1</sup> in compost B. Composts E and F showed a higher than 80 g 100 g<sup>-1</sup> volatile solids content and a Kjeldhal nitrogen higher to 2 g 100 g<sup>-1</sup>.

Compost E and F showed suitable properties to be used as substrate components, although a relatively low aeration capacity.

Results show that it is possible to prepare interesting composts from olive marc varying as a result of the initial mixture composition and olive marc proportion. These composts can be used as organic fertilizers or growing mixes components enabling agriculture sustainability increase.

**Keywords:** windrow, aerated static pile, box, compost, agricultural residues, organic fertilization, plant growing media.

## Introdução

A acumulação de resíduos provenientes da actividade agrícola pode-se tornar um problema ambiental pelo que a sua reutilização em agricultura, sobretudo depois de compostagem prévia, se pode tornar uma solução (Gavilán & Sanjuán, 2004). A transformação dos produtos agrícolas, como o caso da extração do azeite, origina subprodutos cujo aproveitamento e valorização nem sempre é o mais adequado. O bagaço de azeitona, pode ser valorizado através do processo de compostagem, obtendo-se compostos com interesse agrícola, por exemplo, como fertilizantes (Albuquerque et al., 2009), como componentes de substratos hortícolas (Reis, 1997), como agentes de controlo biológico contra doenças como *Fusarium oxysporum lycopersici*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* (Segarra et al., 2004; Trillas et al., 2005) ou ainda em processos de bioremediação de solos contaminados (Moreno et al., 2008). Neste trabalho apresentam-se os resultados da compostagem de bagaço de azeitona e de diferentes misturas de resíduos vegetais com bagaço de azeitona em proporção de 20 a 25% em volume.

## Material e Métodos

Neste trabalho apresentam-se os resultados da caracterização de compostos obtidos com bagaço de azeitona (BA), resultante da extracção descontínua de azeite, estreme e em misturas com outros resíduos agrícolas. Os compostos foram preparados seguindo diferentes tecnologias, produzindo-se sete compostos diferenciados (quadro 1), aqui designados pelas letras A a G. O bagaço de azeitona foi misturado e compostado com outros resíduos agrícolas segundo as proporções em volume e tecnologias seguintes:

- composto A, com resíduos agrícolas (0,2:1) em pilha com revolvimento mecânico;
- composto B, com resíduos agrícolas (0,25:1) em pilha com ventilação forçada;
- composto C, com resíduos agrícolas (0,25:1) em pilha com revolvimento mecânico;
- composto D, com resíduos agrícolas (0,25:1) em caixa com revolvimento mecânico;
- compostos E, com laranjas de refugo e aparas de relva (1:2:1) em pilha com ventilação forçada;
- composto F, com laranjas de refugo e aparas de relva (1:2:1), em pilha com revolvimento mecânico;
- composto G, apenas bagaço de azeitona, compostado em caixa com revolvimento mecânico.

As misturas usadas para preparar os compostos A, B, C e D foram suplementadas inicialmente com um fertilizante fosfatado (Fertigafsa, ADP), nas quantidades ( $\text{kg m}^{-3}$ ) respectivas de: 6,0; 9,2; 10,6 e 10,0. Para obter o composto G, o bagaço foi suplementado com azoto através da mistura de 3,3 kg de ureia por  $\text{m}^{-3}$ . Os períodos de compostagem variaram entre 4 e 5 meses, e os diferentes processos de compostagem foram realizados no período entre 1993 e 2005.

Determinaram-se algumas propriedades físico-químicas dos compostos obtidos: pH, condutividade eléctrica, matéria seca, matéria orgânica e nutrientes. O pH foi determinado em extracto aquoso (1:2 v/v) (Gabriels & Verdonck, 1991), a condutividade eléctrica foi determinado no extracto aquoso para o pH, após filtração por papel de filtro e o teor de matéria seca foi determinado após secagem a  $105^{\circ}\text{C}$  (Martinez, 1992). O teor de matéria orgânica foi determinado por gravimetria após calcinação a  $560^{\circ}\text{C}$  (Ramos et al., 1987). Dos macronutrientes principais determinou-se o azoto (método de Kjeldhal), o fósforo (colorimetria), o cálcio, o potássio e o magnésio (espectrofotometria de absorção atómica), e ainda o micronutriente ferro (espectrofotometria de absorção atómica). Calculou-se a relação C/N a partir do teor em matéria orgânica e do azoto Kjeldhal. Das propriedades físicas determinou-se a densidade real (Martinez, 1992), a densidade aparente (De Boodt et al., 1974), o espaço poroso total (De Boodt et al., 1974), a contracção do volume (De Boodt et al., 1974) e a curva de retenção que permitiu

determinar a capacidade de arejamento, a água facilmente utilizável, a água de reserva e a água dificilmente utilizável (De Boodt et al., 1974).

## Resultados e Discussão

Durante a compostagem o volume inicial do material reduziu-se, obtendo-se um rendimento de transformação em composto que variou entre 45,2 e 84,0% em volume (quadro 2). Esta redução de volume constituiu um dos aspectos positivos da compostagem pois proporciona uma redução do volume de resíduo produzido.

O pH dos compostos obtidos não apresentou valores elevados como por vezes sucede em alguns compostos, tendo variado entre 6,4 e 7,7 isto é, entre neutro a ligeiramente alcalino (quadro 3).

A condutividade eléctrica variou num intervalo amplo, entre 0,30 dS m<sup>-1</sup> no composto F e 5,2 dS m<sup>-1</sup> no composto B. A matéria orgânica variou entre aproximadamente 40 e 82 g 100g<sup>-1</sup> (quadro 3). Os compostos apresentaram mais de 1 g 100g<sup>-1</sup> de azoto Kjeldhal, destacando-se os compostos E e F com teores de azoto superiores a 2 g 100g<sup>-1</sup> (quadro 4). Estes valores tornam os compostos interessantes com fertilizantes do solo.

Os compostos apresentaram também adequadas propriedades físicas próximas dos valores recomendados para uso como substratos (quadro 5), apesar de, pontualmente, alguns como o composto de BA estreme - composto G - ter apresentado um desequilíbrio ar-água, isto é, uma elevada capacidade de arejamento e uma reduzida capacidade de água facilmente utilizável. Ainda assim, este composto G, em ensaios em viveiros de tomate, proporcionou crescimentos aceitáveis quando incorporado em misturas com turfa até uma quantidade máxima de 25% (v/v) (Reis, 1997). Em viveiros de tomate e melão os compostos E e F usados estremes como substratos permitiram obter plantas do mesmo tamanho das do controlo (mistura comercial para viveiros em modo de produção biológico) mas aumentando o tempo de viveiro relativamente entre 14 e 117%, em função da espécie e da época do ano (dados não publicados). Estes dois compostos manifestaram também capacidade supressiva para *Rhizoctonia solani* em pimento (Coelho et al., 2008).

Demonstrou-se que a compostagem de bagaço de azeitona obtido por prensagem, estreme ou incluído em misturas com outros resíduos vegetais, e seguindo tecnologias de compostagem relativamente simples, não só reduz o volume destes resíduos como proporciona compostos com interesse agrícola. A sua aplicação pode ser efectuada como fertilizantes dos solos ou mesmo como componente de misturas na preparação de substratos hortícolas, contribuindo deste modo para uma maior sustentabilidade da actividade agrícola.

## Agradecimentos

Os resultados mencionados foram obtidos no âmbito do desenvolvimento do projecto financiado pelo Programa AGRO n.º 282 – Hortofruticultura em Agricultura Biológica.

## Referências

- Albuquerque, J.A., González, J., Tortosa, G., Baddi, G.A. & Cegarra, J. 2009. Evaluation of “alperujo” composting based on organic matter degradation, humification and compost quality. *Biodegradation* 20:257–270.
- Berjón, M., Murray, P. & Benedito, C. 2004. Los substratos en los cultivos sin suelo. In: M.U. Gavilán (ed.). *Tratado de cultivo sin suelo*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Coelho, L., Dionísio, L. & Reis, M. 2008. Valorização de Laranja de Refugio Por Compostagem. Livro de resumos do 2.º Congresso Nacional de Citricultura. Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais da Universidade do Algarve, 24 a 26 de Janeiro.
- De Boodt, M., Verdonck, O. & Cappaert, I. 1974. Method for measuring the water release curve of organic substrates. *Acta Hort.* 37:2054-2062.
- Gabriels, R. & Verdonck, O. 1991. Physical and chemical characterization of plant substrates: towards a European standardization. *Acta Horticulturae* 294:249-259.
- Gavilán, M.U. & Sanjuán, M.C.S. 2004. Cultivos en substratos alternativos. In: Gavilán, M.U. Gavilán (ed.). *Tratado de cultivo sin suelo*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Martinez, F.X. 1992. Propuesta de metodología para la determinación de las propiedades físicas de los substratos. *Actas de las I Jornadas de Substratos de la SECH* 294:55-65.
- Ramos, J.C.M., Vilaseca, J.S. & Ramon, A.C. 1987. Control analític de la qualitat del compost i estudi de la seva maduració. In: *Servei del Medi Ambient, Diputació de Barcelona* (eds). *Experiències amb el compost*. Estudis I monografies, 12.
- Raviv, M., Chen, Y. & Inbar, Y. 1986. Peat and peat substitutes as growth media for container-grown plants. In: Y. Chen and Y. Avnimelech (eds.), *The role of organic matter in modern agriculture*. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, Holanda. p. 257-287.
- Reis, M. 1997. Compostagem e caracterização de resíduos vegetais para utilização como substratos hortícolas. Tese de Doutoramento. Universidade do Algarve. Faro.
- Reis, M., Fernandes, M., Rosa, A., Oliveira, P., Rodrigues, A., Brito, J.C., Dionísio, L., Guerrero, C., Faleiro, M.L., Coelho, L. & Portela, C. 2006. Preparação de compostos para agricultura biológica. Actividade experimental desenvolvida no Algarve no âmbito do Projecto AGRO Medida 8 – Desenvolvimento Tecnológico e Demonstração, Acção 8.1 – Desenvolvimento Experimental e

- Demonstração (DE&D) n.º 282 “Hortofruticultura em Agricultura Biológica”. Universidade do Algarve (ed.). ISBN: 978-972-9341-53-3.
- Segarra, G., Reis, M., Avilés, M. & Trillas, M.I. 2004. Composts resistance induction against *Botrytis cinerea* in cucumber plants (painel). “I Conferencia Internacional sobre Eco-Biología de Suelos y Compost”. 15 a 17 Setembro, Leon, Espanha.
- Trillas, M.I., Reis, M., Casanova, E., Segarra, G., Martínez, F.X., Ordovás, J., Borrero, C. & Avilés, M. 2005. Evaluación de la Supresividad frente a *Rhizoctonia solani* en Composts de Resíduos Agroindustriales. Actas do “V Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas”, 3:482-488.

Quadro 1 - Compostos analisados: materiais e métodos de compostagem usados na sua preparação.

Designação do composto	Relação bagaço de azeitona: outros componentes	Outros componentes da mistura	Aditivos	Método de compostagem	Duração do período de compostagem
A	0,2:1	resíduos agrícolas <sup>1</sup>	adubo fosfatado	Pilha, revolvimento mecânico	4 meses
B	0,25:1	resíduos agrícolas <sup>1</sup>	adubo fosfatado	Pilha, ventilação forçada	4 meses
C	0,25:1	resíduos agrícolas <sup>1</sup>	adubo fosfatado	Pilha, revolvimento mecânico	4 meses
D	0,25:1	resíduos agrícolas	adubo fosfatado	Caixa, revolvimento mecânico	4 meses
E	1:2:1	laranjas: relva	não	Pilha, ventilação forçada	5 meses
F	1:2:1	laranjas: relva	não	Pilha, revolvimento mecânico	5 meses
G	-	-	suplemento azotado	Caixa, revolvimento mecânico	5 meses

<sup>1</sup> Resultantes de actividade agrícola, constituídos pelos restos de culturas e de produtos hortícolas e pelas infestantes recolhidas nas mondas.

Quadro 2 - Variação do volume de material e rendimento de conversão em composto durante a compostagem de misturas com bagaço de azeitona<sup>1</sup>.

		Composto <sup>2</sup>						
		A	B	C	D	E	F	G
Volume (m <sup>3</sup> )	Início	12,6	8,1	7,1	0,7	9,2	7,4	1,2
	Final	5,7	6,8	4,9	0,5	4,3	3,5	1,0
Redução de volume (%)		54,8	16,0	31,0	28,6	52,6	52,8	16,0
Rendimento em composto (%)		45,2	84,0	69,0	71,4	47,4	47,2	84,0

<sup>1</sup> Fonte: Reis, 1997; Reis et al., 2006; Coelho et al., 2008.

<sup>2</sup> Compostos obtidos segundo as condições no quadro 1.

Quadro 3 - Algumas propriedades físico-químicas<sup>1</sup> das misturas iniciais com bagaço de azeitona (Início) e dos respectivos compostos obtidos (Final).

Composto <sup>2</sup>		MS (g 100g <sup>-1</sup> )	MO (g 100g <sup>-1</sup> )	Relação C/N	pH	CE dS m <sup>-1</sup>
A	Início	80,9	51,6	27	-	-
	Final	54,7	54,9	22	7,37	2,88
B	Início	64,0	81,1	39,9	7,02	3,28
	Final	65,6	41,9	20,9	7,71	5,15
C	Início	64,0	81,1	46,8	7,02	3,28
	Final	52,2	38,5	18,7	7,66	3,25
D	Início	64,0	81,1	-	7,02	3,28
	Final	49,1	51,9	19,1	7,54	0,88
E	Início	21,9	92,7	46,7	4,19	1,50
	Final	51,2	81,6	21,6	7,53	0,41
F	Início	18,9	91,2	43,7	4,02	1,41
	Final	46,7	81,8	23,8	7,22	0,30
G	Início	73,8	97,6	40,0	5,09	1,13
	Final	65,8	97,0	31,0	6,44	0,64

<sup>1</sup>Fonte: Reis, 1997; Reis et al., 2006; Coelho et al., 2008.

<sup>2</sup> Compostos obtidos segundo as condições no quadro 1.

Quadro 4 - Teor em nutrientes (g 100g<sup>-1</sup>) de alguns compostos com bagaço de azeitona<sup>1</sup>.

Composto <sup>2</sup>		N <sub>k</sub>	P	K	Ca	Mg	Fe
A	Início	1,07	-	-	-	-	-
	Final	1,42	0,58	0,23	2,62	0,23	0,16
B	Início	1,42	0,79	0,01	7,28	0,85	-
	Final	1,16	0,25	0,04	2,01	0,28	0,44
C	Início	1,21	1,72	0,01	5,50	0,70	-
	Final	1,19	0,28	0,03	2,61	0,27	0,65
D	Início	-	-	-	-	-	-
	Final	1,57	0,23	0,02	2,08	0,23	0,80
E	Início	1,15	0,02	0,02	0,04	0,18	0,16
	Final	2,00	0,13	0,08	1,43	0,13	0,36
F	Início	1,21	0,02	0,08	0,04	0,13	0,11
	Final	2,19	0,10	0,05	1,43	0,10	0,10
G	Início	0,70	-	-	-	-	-
	Final	1,51	-	-	-	-	-

<sup>1</sup>Fonte: Reis, 1997; Reis et al., 2006; Coelho et al., 2008.

<sup>2</sup> Segundo o quadro 1.

Quadro 5 - Propriedades físicas de compostos com bagaço de azeitona<sup>1</sup> e comparação com os valores aconselhados<sup>2</sup>.

Composto <sup>2</sup>	Densidade aparente	Espaço poroso total (% v/v)	Contração (% v/v)	Capacidade de arejamento (% v/v)	Água facilmente utilizável (% v/v)	Água de reserva (% v/v)	Água dificilmente utilizável (% v/v)
B	0,389	80,2	14,1	37,8	9,4	1,3	31,8
C	0,360	82,1	22,2	22,4	12,8	2,3	44,6
D	0,368	80,2	32,3	4,4	17,5	8,5	49,7
E	0,274	82,7	34,3	12,4	29,5	4,1	35,3
F	0,255	83,9	34,0	15,3	32,1	3,8	32,7
G	0,736	72,7	-	38,6	3,7	0,5	30,0
Aconselhado <sup>2</sup>	<0,4	>85	<30	10 - 45	20 - 30	4 - 10	-

<sup>1</sup> Compostos obtidos segundo as condições no quadro 1.

<sup>2</sup> Valores aconselhados por De Boedt & Verdonck (1972), Raviv et al. (1986) e Berjon et al. (2004).

# Influência da fertilização sobre os teores de polifenóis, esteróis e ceras de azeites de seis cultivares de oliveira existentes em Portugal

M.E. Marcelo<sup>1</sup>, J.I. Lopes<sup>2</sup>, F.M. Soares<sup>3</sup>, M.S.L. Centeno<sup>4</sup>, A.M. Cordeiro<sup>5</sup>, P.M. Vasconcelos<sup>6</sup> & P.V. Jordão<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRB / L-INIA / UARN / ex-Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, Apartado 3228, 1301-903 Lisboa, Portugal, encarnacao.marcelo@inrb.pt

<sup>2</sup>DRAPN - Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Norte, Rua da República, 133, Apartado 24, 5370-347 Mirandela, Portugal

<sup>3</sup>DRAPC - Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro, Rua Amato Lusitano, Estrada da Circunvalação, Lote 3, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

<sup>4</sup>DRAPLVT - Direcção Regional de Agricultura e Pescas de Lisboa e Vale do Tejo, Quinta das Oliveiras, Apartado 477, 2001-906 Santarém, Portugal

<sup>5</sup>INRB / L-INIA / URGEMP / ex-Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, Estrada de Gil Vaz, Apartado 6, 7350-951 Elvas, Portugal

<sup>6</sup>ISA / DAIAT / Laboratório de Estudos Técnicos, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

## Resumo

Nos estudos efectuados em olival assume cada vez maior importância a avaliação do efeito das diferentes práticas culturais sobre a qualidade do azeite. Desde 1990 que os ensaios de fertilização levados a cabo pelo ex-LQARS (INRB/L-INIA/UARN), em estreita colaboração com as Direcções Regionais de Agricultura e alguns organismos de ensino superior e/ou de investigação, contemplam a avaliação de vários parâmetros de qualidade dos azeites. Neste trabalho apresentam-se os teores de polifenóis, esteróis e ceras dos azeites de seis cultivares (Verdeal Transmontana, Cobrançosa, Galega Vulgar, Picual, Blanqueta e Carrasquenha) sujeitas à aplicação de diferentes níveis de nutrientes como o azoto, o fósforo, o potássio, o magnésio e o boro, bem como da calagem. Os resultados obtidos durante quatro anos, nas principais regiões olivícolas do País (Trás-os-Montes, Beira Interior, Ribatejo e Alentejo), mostram a ausência de efeitos significativos das fertilizações efectuadas sobre os teores de polifenóis e de ceras. No que respeita aos esteróis, verificou-se, em alguns casos, a influência da fertilização sobre os teores de campesterol e de esteróis totais.

**Palavras-chave:** azoto, calagem, *Olea europaea* L., potássio, qualidade do azeite.

## Abstract

**Effect of fertilization on polyphenols, sterols and waxes contents of the olive oil from six cultivars in Portugal**

In the studies carried out on olive groves, it is clear that it is becoming increasingly important to assess the effects of different cultural practices on the quality of the olive oil. The fertilization trials conducted by the former LQARS (INRB/L-INIA/UARN), which have been carried out since 1990 in close collaboration with the Regional Agricultural Departments and some higher education bodies and/or research institutions, have been contemplating the assessment of several quality parameters of the olive oils. In this work are shown the contents of polyphenols, sterols and the waxes of the olive oil from six cultivars (Verdeal Transmontana, Cobrançosa, Galega Vulgar, Picual, Blanqueta and Carrasquenha) that are subjected to the application of different levels of nutrients such as nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium and boron, as well as liming. The results obtained during a period of four years, in the main regions of olive oil producers (Trás-os-Montes, Beira Interior, Ribatejo and Alentejo), show no significant effects of the fertilization on the contents of polyphenols and waxes. With regards to the sterols, there was, in some cases, the influence of fertilization on the contents of campesterol and total sterols.

**Keywords:** liming, nitrogen, *Olea europaea* L., olive oil quality, potassium.

## Introdução

A competitividade do sector olivícola assenta, essencialmente, nas boas produções dos olivais e na obtenção de azeites de qualidade. Esta é influenciada por múltiplos factores como a cultivar, as condições pedoclimáticas, as práticas culturais, o estado de maturação, o sistema de colheita, o transporte da azeitona e seu modo de conservação, bem como as condições de extracção e de armazenamento do azeite (Ryan et al., 1998). Existe, pois, uma relação estreita entre as condições de produção do olival e a qualidade do azeite, sendo importante conhecer a forma como as práticas culturais realizadas regularmente - mobilização do solo, poda, rega, fertilização e o controlo de pragas e doenças - podem interferir na referida qualidade. No que respeita à fertilização, existem alguns estudos em que é avaliado o seu efeito sobre a qualidade do azeite, sendo de referir, por exemplo, os de Uceda (1986), Frega et al. (1995), Soveral-Dias (2000) e Fernández-Escobar et al. (2006).

No presente trabalho divulgam-se os resultados relativos aos polifenóis totais, esteróis e ceras dos azeites, obtidos em sete ensaios de fertilização integrados em estudos em que se avaliou o efeito da aplicação de diferentes fertilizantes à plantação (veiculando fósforo e potássio) e em olivais em produção (com azoto, fósforo, potássio, magnésio, boro e calcário), contemplando seis cultivares nas principais regiões olivícolas do País.

## Material e Métodos

Entre 1986 e 1998 foram instalados, nas regiões de Trás-os-Montes (Mirandela), Beira Interior (Castelo Branco), Ribatejo (Santarém) e Alentejo

(Elvas), ensaios de fertilização em olivais das cultivares Verdeal Transmontana, Cobrançosa, Galega, Blanqueta, Picual e Carrasquenha.

Os sete olivais ora considerados foram plantados entre 1960 e 1990 em diferentes tipos de solos (quadros 1a e 1b). Nestes quadros apresentam-se, também, os tratamentos experimentais, os níveis de nutrientes e os fertilizantes utilizados.

Os ensaios foram delineados em blocos completos casualizados, com três repetições (excepto o ensaio com a cv. Cobrançosa, com seis), sendo cada talhão experimental constituído por quatro árvores úteis, com excepção do ensaio com a cv. Verdeal Transmontana (duas) e os ensaios com as cultivares Carrasquenha e Galega Vulgar (três).

As aplicações anuais dos nutrientes ao solo foram realizadas no fim do Inverno - início da Primavera, excepto no caso da cv. Blanqueta em Elvas (quadro 1a).

Na altura da colheita da azeitona, procedeu-se à amostragem de frutos nas árvores úteis dos diferentes ensaios de fertilização. Formaram-se amostras compósitas, com aproximadamente 4 kg por cada talhão experimental, que foram enviadas para o Núcleo de Tecnologia dos Produtos Agrários de Elvas (NTPAE) da ex-Estação Nacional de Melhoramento de Plantas onde, após congelação das azeitonas, se efectuou a extracção do azeite. Para o efeito usou-se um sistema Abencor, de acordo com o procedimento descrito por Alves (1989). O azeite assim obtido foi filtrado e guardado em frascos de vidro escuro, tendo sido objecto de várias determinações analíticas. As determinações abaixo indicadas foram efectuadas no Laboratório de Estudos Técnicos do Instituto Superior de Agronomia.

Os polifenóis totais foram determinados por espectrofotometria no UV/VIS num aparelho Perkin-Elmer Lambda3 UV/VIS, após extracção líquido-líquido (metanol/água) e desenvolvimento de cor pelo reagente de Folin-Ciocalteu, sendo a leitura efectuada a 725 nm (Procedimento Interno IT065 do LET).

As ceras foram determinadas por cromatografia de gás-líquido num cromatógrafo Perkin-Elmer 8600 com injector "on column", detector FID e coluna capilar SGE 12 QC3/HT 5 0,1, nas seguintes condições de trabalho: temperatura inicial no forno de 80°C, com um gradiente de 30°C por minuto, temperatura no forno de 120°C, com um gradiente de 5°C por minuto, temperatura final no forno de 340°C, durante 20 minutos, temperatura no detector de 360°C e quantidade de amostra injectada de 2 µl (CEE, 1991).

A determinação dos esteróis foi realizada por cromatografia de gás-líquido, tendo-se usado um cromatógrafo Perkin-Elmer 8600 com injector Split/Splitless, detector FID e coluna capilar de sílica fundida Permabond SE52-DF com 25 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro interno, nas seguintes condições de trabalho: temperatura no forno de 270°C, temperatura no injector de 300°C, temperatura no detector de 320°C, usando como gás de arraste o hélio, pressão do gás de arraste de 0,06 MPa e quantidade de amostra injectada de 1 µl (CEE, 1991).

No tratamento estatístico dos dados utilizou-se a análise de variância (ANOVA tipo II) para avaliar o efeito dos tratamentos experimentais sobre as variáveis consideradas. A análise foi efectuada sobre os dados apurados no conjunto dos anos, sendo este período distinto consoante o ensaio e a variável em estudo, como se pode observar nos quadros 2 a 4. Na comparação *a posteriori* das médias correspondentes aos diversos tratamentos experimentais usou-se o teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

## Resultados e Discussão

### *Polifenóis totais*

Os resultados da análise de variância evidenciam que, no conjunto dos anos, as diferentes fertilizações realizadas não influenciaram de forma significativa ( $p>0,05$ ) os teores de polifenóis totais dos azeites. Pelo contrário, nos ensaios envolvendo as cultivares Verdeal Transmontana, Carrasquenha e Cobrançossa os valores variaram significativamente ( $p\leq 0,05$ ) de ano para ano (quadro 2).

Os teores de polifenóis mais elevados foram obtidos na cv. Blanqueta (Elvas), enquanto que o teor médio mais baixo se registou no azeite da cv. Verdeal Transmontana em 1997. A cv. Galega Vulgar apresentou dos teores mais baixos. Note-se que a azeitona deste ensaio foi colhida num estado mais avançado de maturação, avaliado através do índice de maturação, o que poderá ter contribuído para os valores encontrados, dado que, em geral, estes aumentam a partir da cor verde, alcançando um máximo nos frutos em viragem de cor e diminuem a partir daí (El Antari et al., 2000). Todavia, no caso da cv. Carrasquenha, em que o estado de maturação da azeitona foi idêntico nos três anos em estudo (resultados não apresentados), observaram-se teores de polifenóis muito diferentes nesse período. De salientar a importância das substâncias fenólicas, uma vez que conferem resistência à oxidação e são responsáveis por determinados atributos organolépticos únicos do azeite (Gouveia, 1995).

Segundo Alcubilla et al. (2002), o teor de polifenóis totais do azeite poderá estar relacionado, para além do estado de maturação da azeitona, com as condições edafoclimáticas, as técnicas culturais, a própria cultivar, etc. A interferência dos vários factores poderá justificar os diferentes resultados ora encontrados, bem como os obtidos por outros autores. No que diz respeito à adubação azotada, Alcubilla et al. (2002) não observaram, tal como aconteceu no presente estudo, qualquer influência da aplicação de doses crescentes de azoto sobre o teor de polifenóis do azeite (cv. Empeltre), enquanto que Cimato et al. (1994) verificaram que os teores totais de polifenóis dos azeites das cultivares Frantoio e Moraiolo aumentaram com aplicações foliares de soluções de 1,5% de ureia, efectuadas entre Abril e Outubro. Por outro lado, Fernández-Escobar et al. (2006) obtiveram uma diminuição no teor de polifenóis com a aplicação de 1 kg/árvore de N ao solo e por via foliar a um olival da cv. Picual.

### *Ceras*

Os teores de ceras não foram, igualmente, afectados de forma significativa ( $p > 0,05$ ) pela fertilização. No ensaio com a cv. Cobrançosa, os valores médios mostraram-se significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ) nos dois anos considerados, sendo o teor mais elevado obtido em 1996 (quadro 3).

Os teores médios de ceras observados nos azeites são inferiores a 250 mg kg<sup>-1</sup>, podendo assim classificar-se como azeites virgem extra, segundo o Regulamento da CE n.º 1989/2003 (CE, 2003). Os teores mais baixos foram registados no azeite da cv. Verdeal Transmontana e os mais altos foram observados em Santarém, nas cultivares Blanqueta e Cobrançosa, em 1996.

### *Esteróis*

No que se refere aos compostos da fracção esterólica em estudo, que se apresentam no quadro 4, os teores de estigmaesterol, de betasitosterol (o mais abundante) e de delta-7-estigmaesterol dos azeites não foram afectados de forma significativa ( $p > 0,05$ ) pela fertilização realizada nos diferentes ensaios.

Os teores de campesterol foram, pelo contrário, influenciados significativamente ( $p \leq 0,05$ ) pelos tratamentos experimentais nos ensaios com as cultivares Verdeal Transmontana, Blanqueta (Elvas) e Picual. A aplicação de calcário provocou, no primeiro ensaio, um pequeno decréscimo nos teores médios de campesterol (C0=2,5% e C1=2,4%), enquanto que a adubação azotada conduziu a um aumento desses teores nos ensaios com as cultivares Blanqueta e Picual, o mesmo acontecendo com a aplicação de magnésio no ensaio envolvendo esta última cultivar. Na cv. Blanqueta os valores oscilaram entre 3,5% (N0 - T1) e 3,8% (N2 - T8 e T9); na cv. Picual obtiveram-se os seguintes resultados: N0=2,7%; N1=2,9%; N2=2,9% e, ainda, Mg0=2,8%; Mg1=2,9%; Mg2=2,9%. Estas alterações, apesar de significativas a nível estatístico, não têm expressão a nível de qualidade do azeite.

No que diz respeito aos teores médios de esteróis totais, apenas os observados no ensaio envolvendo a cv. Carrasquenha foram influenciados significativamente ( $p \leq 0,05$ ) pela fertilização. Neste caso, a aplicação anual da dose mais elevada de potássio ao solo (200 kg/ha de K), bem como a ausência de aplicação deste nutriente, conduziu aos teores mais altos de esteróis totais (respectivamente 1728 mg kg<sup>-1</sup> e 1778 mg kg<sup>-1</sup>), enquanto que o nível K2 (133 kg/ha de K), na presença de 130 kg/ha de N, originou o teor médio mais baixo (1624 mg kg<sup>-1</sup>).

Os compostos cujos teores médios variaram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) nos diversos anos do período experimental foram os seguintes: campesterol (Blanqueta - Elvas, Cobrançosa e Galega Vulgar), estigmaesterol (Verdeal Transmontana, Carrasquenha, Blanqueta - Elvas, Cobrançosa e Galega Vulgar), betasitosterol (Verdeal Transmontana, Cobrançosa e Galega Vulgar), delta-7-estigmaesterol (Carrasquenha, Blanqueta - Elvas e Galega Vulgar) e esteróis totais (cultivares Verdeal Transmontana, Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar).

Caselli et al. (1993) referiram que os compostos esteróicos totais diminuem ao longo da maturação do fruto e que a sua evolução depende, também, da influência de factores diversos já que varia de ano para ano.

Segundo o Regulamento da CE n.º 1989/2003 (CE, 2003), os teores de esteróis totais dos azeites devem ser iguais ou superiores a 1000 mg kg<sup>-1</sup>, o que apenas não aconteceu nos azeites do ensaio envolvendo a cv. Blanqueta situada em Santarém. Estes azeites apresentaram também um teor médio de campesterol de 4% e um teor médio de betasitosterol inferior a 93%, ao contrário dos azeites dos restantes ensaios, deixando assim de poder classificar-se como azeite ou óleo de bagaço de azeitona. Estas categorias também exigem que os teores médios de estigmaesterol sejam inferiores aos de campesterol, situação que apenas não aconteceu nos azeites da cv. Cobrançosa localizada em Santarém.

Os teores médios de delta-7-estigmaesterol deverão ser iguais ou inferiores a 0,5%, o que se verificou nos azeites de todos ensaios, embora no caso da cv. Blanqueta - Santarém sejam idênticos a este valor.

De notar que as variações induzidas pela fertilização não alteraram a categoria onde se inserem os azeites do ponto vista legal.

Nas condições experimentais consideradas, a fertilização não influencia os teores de polifenóis e de ceras dos azeites, nem afecta de forma apreciável os seus teores de esteróis.

## Agradecimentos

O presente estudo foi financiado pelos projectos PIDDAC n.º 085/87 e 181/94, PAMAF n.º 6032 e PARIPIPI - Projecto F.

## Referências

- Alcubilla, M., Gracia, M.S., Romero, M.A., Espada, J.L., Betran, J. & Monge, E. 2002. Fertilización nitrogenada en olivo cv. Empeltre. II - Composición polifenólica de hojas y frutos y calidad del aceite. Proc. IX Simp. Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas, Zaragoza, Espanha, 243-246.
- Alves, M.C.P. 1989. Diagnóstico de situações determinantes da alteração da qualidade do azeite em lagares da região do Alto Alentejo. Provas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar. INIA, ENTPA-NTAE, Elvas, Portugal.
- Caselli, S., Modi, G., Nizzi Grifi, F. & Fiorino, P. 1993. Variabilidad de la composición en ácidos grasos, en esteroides y en alcoholes del aceite de oliva de cultivares de Toscana. *Olivae*, 47:46-51.
- CE. 2003. Commission Regulation (EC) nº 1989/2003 of 6 November 2003 amending Regulation (EEC) nº 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-pomace oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal L* 295:57-77.

- CEE. 1991. Commission Regulation (EEC) n° 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. Official Journal L 248:1-83.
- Cimato, A., Sani, G., Marzi, L. & Marranci, M. 1994. Eficacia y calidad de la producción en el olivo: incidencia del abonado foliar con urea. *Olivae*, 54:48-55.
- El Antari, A., Hilal, A., Boulouha, B. & El Moudni, A. 2000. Estudio de la influencia de la variedad, los factores ambientales y las técnicas de cultivo en las características de los frutos y la composición química del aceite de oliva virgen extra de Marruecos. *Olivae*, 80:29-36.
- FAO. 1998. World Reference Base for Soil Resources. World Soil Resources Report 84. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- Fernández-Escobar, R., Beltrán, G., Sánchez-Zamora, M.A., García-Novelo, J., Aguilera, M.P. & Uceda, M. 2006. Olive oil quality decreases with nitrogen over-fertilization. *HortScience*, 41:215-219.
- Frega, N., Garzi, R., Mancuso, S. & Rinaldelli, E. 1995. The effect of foliar nutrition on olive fruit-set and on the quality and yield of oil: further testing. *Adv. Hort. Sci.*, 9:148-152.
- Gouveia, J.M.N.B. 1995. Azeites virgens do Alto Alentejo - Comportamentos químico, tecnológico e sensorial. Tese de Doutoramento, UTL/Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.
- Ryan, D., Robards, K. & Lavee, S. 1998. Evaluación de la calidad del aceite de oliva. *Olivae*, 72:23-41.
- Soveral-Dias, J.C. 2000. Relatório final do projecto PAMAF n.º 6032. INIA, LQARS, Lisboa, Portugal.
- Uceda, M. 1986. Influencia de la fertilización en la cantidad y calidad del aceite obtenido. *Olea*, 17:171-182.

Quadro 1a - Tratamentos experimentais, níveis de nutrientes e fertilizantes utilizados nos ensaios.

<i>Mirandela</i> (Quinta de S. Pedro)			<i>Elvas</i> (Herdade do Reguengo)			
Verdeal Transmontana			Carrasquenha		Blanqueta	
1960 <sup>1</sup> / 156 árv./ha			1967 (enxertia) / 172 árv./ha		1988 <sup>1</sup> / 250 árv./ha	
Tratamentos	Níveis (kg/ha)		Tratamentos	Níveis (kg/ha)	Tratamentos	Níveis (kg/ha)
	1987 a 94	≥ 1995				
T1 - N <sub>1</sub> P <sub>0</sub> C <sub>0</sub>	N - 94	N - 0	T1 - N <sub>0</sub> K <sub>2</sub>	N - 0	T1 - N <sub>0</sub>	N - 0
	P - 0	P - 0		K - 133		
	C - 0	C - 0				
T2 - N <sub>1</sub> P <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	N - 94	N - 0	T2 - N <sub>1</sub> K <sub>2</sub>	N - 65	T2 - N <sub>1</sub> (Pr+0) a	N - 30+15
	P - 0	P - 0		K - 133		
	C - *	C - 0				
T3 - N <sub>1</sub> P <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	N - 94	N - 0	T3 - N <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	N - 130	T3 - N <sub>1</sub> (Pr+0) b	N - 30+15
	P - 34	P - 0		K - 133		
	C - 0	C - 0				
T4 - N <sub>1</sub> P <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	N - 94	N - 0	T4 - N <sub>3</sub> K <sub>2</sub>	N - 195	T4 - N <sub>1</sub> (Pr) a	N - 45
	P - 34	P - 0		K - 133		
	C - *	C - 0				
T5 - N <sub>2</sub> P <sub>0</sub> C <sub>0</sub>	N - 188	N - 78	T5 - N <sub>2</sub> K <sub>0</sub>	N - 130	T5 - N <sub>1</sub> (Pr) b	N - 45
	P - 0	P - 0		K - 0		
	C - 0	C - 0				
T6 - N <sub>2</sub> P <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	N - 188	N - 78	T6 - N <sub>2</sub> K <sub>1</sub>	N - 130	T6 - N <sub>2</sub> (Pr+0) a	N - 60+30
	P - 0	P - 0		K - 67		
	C - *	C - 0				
T7 - N <sub>2</sub> P <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	N - 188	N - 78	T7 - N <sub>2</sub> K <sub>3</sub>	N - 130	T7 - N <sub>2</sub> (Pr+0) b	N - 60+30
	P - 34	P - 0		K - 200		
	C - 0	C - 0				
T8 - N <sub>2</sub> P <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	N - 188	N - 78			T8 - N <sub>2</sub> (Pr) a	N - 90
	P - 34	P - 0				
	C - *	C - 0				
					T9 - N <sub>2</sub> (Pr) b	N - 90
<b>Fertilizantes</b>						
1986 <sup>2</sup>			1989 <sup>2</sup>		1998 <sup>2</sup>	
N - Nitrato de amónio a 20,5% de N			N - Ureia a 46% de N		a - Sulfato de amónio a 20,5% de N	
P - Superfosfato de cálcio a 18% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>			K - Cloreto de potássio a 60% de K <sub>2</sub> O		b - Nitrato de amónio a 20,5% de N	
C - Calcário calcítico (* 10 000 kg/ha aplicado à instalação do ensaio, em 1986)						
<b>Solo (FAO, 1998)</b>						
Cambissolo			Cambissolo calcárico		Luvissole crómico	
			Cambissolo cromo-calcárico		Luvissole cromo-cálcico	

<sup>1</sup> Data de plantação; <sup>2</sup> Início da fertilização diferenciada; N - azoto; P - fósforo; K - potássio; Pr - Primavera; O - Outono.

Quadro 1b - Tratamentos experimentais, níveis de nutrientes e fertilizantes utilizados nos ensaios.

Santarém (Herdade dos Soidos)						Castelo Branco (Monte da Barroca do Beirão)	
Picual		Cobrançosa		Blanqueta		Galega Vulgar	
1987 <sup>1</sup> / 250 ár.v./ha		1987 <sup>1</sup> / 250 ár.v./ha		1990 <sup>1</sup> / 250 ár.v./ha		1960 <sup>1</sup> / 156 ár.v./ha	
Tratamentos	Níveis (kg/ha)	Tratamentos	Níveis (kg/ha)	Tratamentos	Níveis (kg/ha)	Tratamentos	Níveis (kg/ha)
T1 - N <sub>0</sub> Mg <sub>0</sub>	N - 0 Mg - 0	T1 - P <sub>4</sub> K <sub>4</sub>	P - 600 K - 600	T1 - P <sub>0</sub> K <sub>0</sub>	P - 0 K - 0	T1 - N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	N - 0 B - 0
T2 - N <sub>0</sub> Mg <sub>1</sub>	N - 0 Mg - 30	T2 - P <sub>3</sub> K <sub>3</sub>	P - 450 K - 450	T2 - P <sub>0</sub> K <sub>1</sub>	P - 0 K - 667	T2 - N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	N - 0 B - 3,8
T3 - N <sub>0</sub> Mg <sub>2</sub>	N - 0 Mg - 60	T3 - P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	P - 300 K - 300	T3 - P <sub>0</sub> K <sub>2</sub>	P - 0 K - 1 333	T3 - N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	N - 30 B - 0
T4 - N <sub>1</sub> Mg <sub>0</sub>	N - 60 Mg - 0	T4 - P <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	P - 150 K - 150	T4 - P <sub>1</sub> K <sub>0</sub>	P - 109 K - 0	T4 - N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	N - 30 B - 3,8
T5 - N <sub>1</sub> Mg <sub>1</sub>	N - 60 Mg - 30	T5 - P <sub>0</sub> K <sub>0</sub>	P - 0 K - 0	T5 - P <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	P - 109 K - 667	T5 - N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	N - 60 B - 0
T6 - N <sub>1</sub> Mg <sub>2</sub>	N - 60 Mg - 60			T6 - P <sub>1</sub> K <sub>2</sub>	P - 109 K - 1 333	T6 - N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	N - 60 B - 3,8
T7 - N <sub>2</sub> Mg <sub>0</sub>	N - 120 Mg - 0			T7 - P <sub>2</sub> K <sub>0</sub>	P - 218 K - 0	T7 - N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	N - 120 B - 0
T8 - N <sub>2</sub> Mg <sub>1</sub>	N - 120 Mg - 30			T8 - P <sub>2</sub> K <sub>1</sub>	P - 218 K - 667	T8 - N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	N - 120 B - 3,8
T9 - N <sub>2</sub> Mg <sub>2</sub>	N - 120 Mg - 60			T9 - P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	P - 218 K - 1 333		
T10 - N <sub>1</sub> Mg <sub>1</sub> P	N - 60 Mg - 30 P - 20						
Fertilizantes							
1995 <sup>2</sup> N - Sulfato de amónio a 20,5% de N Mg - Sulfato de magnésio a 16% MgO P - Superfosfato de cálcio a 18% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (3 em 3 anos)		Antes da plantação (Out. 1987) <sup>2</sup> P e K - Adubo 0-20-20		Antes da plantação (Out. 1989) <sup>2</sup> P - Superfosfato de cálcio a 18% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> K - Cloreto de potássio a 50% de K <sub>2</sub> O		1998 <sup>2</sup> N - Nitrato de amónio a 20,5% de N B - Bórxax a 11% de B (B - 2 primeiros anos experimentais)	
Solo (FAO, 1998)							
Calcissolo háplico Regossolo calcário Vertissolo éútrico		Vertissolo éútrico Regossolo calcário		Regossolo éútrico Vertissolo éútrico Regossolo calcário		Luvisso	

<sup>1</sup> Data de plantação; <sup>2</sup> Início da fertilização diferenciada; N - azoto; Mg - magnésio; P - fósforo; K - potássio; B - boro.

Quadro 2 - Valores médios dos teores de polifenóis totais dos azeites (mg kg<sup>-1</sup>).

Cultivar	Verdeal T.	Carrasquenha	Blanqueta E	Picual	Cobrançosa	Blanqueta S	Galega V.
Média ± sm	61 ± 9,8	152 ± 12,2	381 ± 38,5	247 ± 19,0	104 ± 9,1	195 ± 29,6	59 ± 2,7
Ano	1996	104 a	67 c	-	-	51 b	195
	1997	17 b	-	-	-	156 a	-
	1998	-	117 b	394	-	-	55
	1999	-	270 a	369	247	-	63

E - Elvas; S - Santarém; sm - Desvio padrão da média; Em cada coluna relativa ao ano, valores seguidos de letras diferentes diferem significativamente entre si (p≤0,05).

Quadro 3 - Valores médios dos teores de ceras dos azeites (mg kg<sup>-1</sup>).

Cultivar	Verdeal T.	Carrasquenha	Cobrançosa	Blanqueta S	Galega V.*
Média ± sm	111 ± 5,5	173 ± 11,3	178 ± 9,9	214 ± 11,6	155 ± 6,6
Ano	1996	115	173	234 a	214
	1997	108	-	123 b	-
	1998	-	-	-	155

S - Santarém; sm - Desvio padrão da média; \* Não foi possível efectuar a ANOVA; Em cada coluna relativa ao ano, valores seguidos de letras diferentes diferem significativamente entre si (p≤0,05).

Quadro 4 - Valores médios dos teores da fracção esterólica (%) e de esteróis totais (mg kg<sup>-1</sup>).

Cultivar	Verdeal T.	Carrasquenha	Blanqueta E	Picual	Cobrançosa	Blanqueta S	Galega V.
Campesterol	2,4 ± 0,04	2,8 ± 0,03	3,7 ± 0,04	2,8 ± 0,03	2,3 ± 0,02	4,0 ± 0,10	2,9 ± 0,04
Stigmaesterol	0,7 ± 0,02	2,1 ± 0,11	0,9 ± 0,04	0,4 ± 0,01	2,3 ± 0,13	2,9 ± 0,13	0,8 ± 0,05
Betasitosterol	95,7 ± 0,06	93,6 ± 0,49	94,3 ± 0,05	95,5 ± 0,06	93,8 ± 0,15	90,7 ± 0,20	95,1 ± 0,11
Delta-7-estigmaesterol	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,5 ± 0,03	0,2 ± 0,02
Esteróis totais	1197 ± 31,3	1656 ± 20,8	1118 ± 23,2	1301 ± 17,3	1366 ± 26,1	797 ± 37,0	1706 ± 34,7
Ano	1996	1044 b	1636 b	-	-	1231 b	797
(Esteróis totais)	1997	1084 b	-	-	-	1502 a	-
	1998	-	1822 a	1088	-	-	1836 a
	1999	1463 a	1510 c	1147	1301	-	1575 b

E - Elvas; S - Santarém; sm - Desvio padrão da média; Em cada coluna relativa ao ano, valores seguidos de letras diferentes diferem significativamente entre si (p≤0,05).

# Aplicação de microtalco natural na extracção de azeites monovarietais

D. Pita, M.C. Vitorino, C. Gouveia & F. Peres

Escola Superior Agrária de Castelo Branco, IPCB, Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal, fperes@esa.ipcb.pt

## Resumo

O objectivo do presente trabalho foi estudar a influência de microtalco natural no rendimento e na qualidade do azeite virgem. Efectuaram-se ensaios em sistema laboratorial Abencor e em lagar industrial. Vários parâmetros foram estudados na azeitona e nos azeites virgens.

A adição de microtalco, independentemente da dose utilizada, aumentou a quantidade de azeite extraído. Em sistema Abencor verificou-se maior extractabilidade quando se adicionou 1,5% de microtalco. Os azeites extraídos nos ensaios em lagar industrial com aplicação de microtalco apresentaram critérios de qualidade muito idênticos ao controlo. A adição de microtalco no início da termobatedura favoreceu o aumento de biofenóis totais.

**Palavras-chave:** azeite virgem, sistema Abencor, lagar, extractabilidade, biofenóis.

## Abstract

### Extraction of monovarietal olive oils with natural microtalc

The aim of the present work was to study the effect of microtalc in oil extraction yield and in virgin olive oil quality.

Virgin olive oils were obtained by an Abencor System and by Industrial mill. Several parameters of olives and of virgin olive oils were studied.

The addition of microtalc, independently of the concentration used, increased oil extraction yields. In Abencor system higher extractability was obtained with 1.5% microtalc.

Microtalc addition does not affect the quality criteria of the oils and when added at the beginning of malaxation improved biophenol content.

**Keywords:** virgin olive oil, Abencor, industrial mill, extractability, biophenols.

## Introdução

Actualmente grande parte da extracção de azeite virgem é efectuada por processos tecnológicos por centrifugação, embora persista a necessidade de otimizar a qualidade e a quantidade de azeite obtido, de forma a minimizar as perdas económicas no sector oleícola, sobretudo quando se processa pastas

de difícil extractabilidade, vulgarmente designadas por “pastas difíceis”. Uma possibilidade de resolver este problema é através da utilização de adjuvantes tecnológicos. O adjuvante tecnológico mais utilizado é o microtalco natural (MTN). O microtalco, silicato hidratado de magnésio  $\text{Si}_8\text{O}_{20}\text{Mg}_6(\text{OH})_4$ , é um material quimicamente inerte que é adicionado nas pastas em doses compreendidas entre 0,5-4% (m/m) (Fernández et al., 1995; Cert et al., 1996; Civantos, 1999; Uceda et al., 2006; Valdivia et al., 2008). Doses excessivas de microtalco podem, no entanto, ter um efeito negativo na extracção final (Civantos, 1999; Uceda et al., 2006).

A acção deste adjuvante consiste no aumento da consistência e da porosidade das pastas, favorecendo a separação das fases líquidas durante a centrifugação, com o conseqüente aumento do rendimento, tendo um efeito puramente físico (Valdivia et al., 2008). No que se refere à influência na qualidade do azeite, diversos estudos concluem que a aplicação de microtalco não altera as suas características químicas (Cert et al., 1996; Cruz et al., 2007).

O presente trabalho estuda o efeito da influência da adição de microtalco natural no rendimento e na qualidade de azeites monovarietais ‘Galega’ e ‘Cobrançosa’.

## Material e Métodos

Este trabalho tem duas componentes experimentais: a extracção laboratorial em sistema Abencor e em Lagar Industrial. O ensaio decorreu durante a campanha 2007/08 e nos ensaios em Abencor utilizou-se azeitona ‘Galega Vulgar’ (Índice de maturação (IM)=3,8) e ‘Cobrançosa’ (IM=3,0) e ainda um lote ‘Galega/Cobrançosa’ (1:1); nos ensaios em lagar industrial utilizou-se azeitona ‘Galega Vulgar’ (IM=4,5); toda a azeitona era proveniente de olival situado em Castelo Branco. O microtalco (16  $\mu\text{m}$  de  $\phi$ ) foi oferecido pela Luzenac. As doses de microtalco (%) testadas em equipamento Abencor foram: 1, 1,5 e 2% e os ensaios efectuados em duplicado. Em lagar industrial utilizou-se a dose que obteve melhores resultados em equipamento Abencor e testou-se o momento de aplicação de talco: início e após 30 min de termobatedura. A colheita de amostras (8 por ensaio) foi efectuada na centrifugadora vertical a intervalos regulares.

A metodologia de extracção em sistema Abencor foi realizada de acordo com Suárez et al. (1975) e Artajo et al. (2006). A extracção industrial foi efectuada num sistema Alfa Laval de 3 fases.

Na azeitona foi determinada a % de humidade (NP-1304, 1976) e a % de gordura (NP-856, 1985).

O rendimento Abencor foi calculado de acordo com Suárez et al. (1975):

$$\% \text{ de azeite} = \left( \frac{\text{ml de azeite obtido} \times 0,915}{\text{peso de pasta original}} \right) \times 100$$

A extractabilidade, por sua vez, foi calculada de acordo Fernandez et al. (1995):

$$\text{Extractabilidade} = \left( \frac{\% \text{ de azeite}}{\% \text{ Gordura (m.o.)}} \right) \times 100$$

As determinações analíticas efectuadas aos azeites virgens e os respectivos métodos foram os seguintes:

- acidez, índice de peróxido (IP), absorvâncias no UV, Reg. (CEE) N.º 2568/91;
- exame organoléptico, Reg. (CE) N.º 796/02;
- estabilidade oxidativa - Rancimat 679 da Metrohm; volume de amostra 4 ml; temperatura de 100°C; fluxo de ar de 20 dcm<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>;
- absorvância a 225 nm (K<sub>225</sub>) (Gutiérrez Rosales et al., 1992);
- biofenóis totais (método Folin Ciocalteu);
- cor e características cromáticas (NP 937 de 1987).

A análise estatística dos resultados foi efectuada pelo programa SPSS 16.0 para Windows.

## Resultados e Discussão

As azeitonas 'Galega' (IM=3,8) e 'Cobrançosa' (IM=3,0) dos ensaios em equipamento Abencor apresentaram um teor médio de humidade de 59,4 e 57,8%, respectivamente; por sua vez, o teor em gordura (m.s.) da primeira foi de 38,5% e da segunda de 36,2%.

A cultivar 'Galega' apresentou a menor extractabilidade, melhorando o seu rendimento com a adição da cultivar 'Cobrançosa' (1:1). A adição de microtalco melhorou sempre a extractabilidade das pastas, apresentando a adição de 1,5% de microtalco o melhor resultado, embora sem se verificarem diferenças significativas entre as doses de microtalco aplicadas (quadro 1).

Pretendia-se ainda avaliar com este estudo preliminar se a adição de microtalco influenciava o sabor amargo do azeite (medido pela absorvância a 225 nm). Confirmou-se que o azeite da cultivar 'Galega Vular' possui menor intensidade de sabor amargo (K<sub>225</sub>) comparativamente com o azeite 'Cobrançosa', tal como encontrado por outros autores (Pinheiro-Alves et al., 2002). O azeite 'Cobrançosa', por sua vez, diminui a intensidade do seu sabor amargo com a adição de microtalco, resultado que no entanto, deverá ser confirmado com mais ensaios e para outros estados de maturação da azeitona (quadro 2). Os valores de K<sub>225</sub> obtidos encontram-se muito abaixo do limite (0,360) referido por Gutierrez-Rosales et al. (1992), para azeites extremamente amargos.

Nos ensaios realizados em lagar industrial, com a dose de 1,5% e talco, obteve-se maior quantidade de azeite quando se adicionou microtalco após 30

min de termobatedura (quadro 3). As características dos azeites extraídos em lagar industrial (quadro 4) conduz à sua categorização como 'azeite virgem extra' (Reg. (CEE) N.º 2568/91 e posteriores actualizações nomeadamente Reg. (CE) N.º 702/07 e 640/08) e conseqüentemente a adição de microtalc não alterou a classificação final do azeite. Também os resultados obtidos das coordenadas cromáticas e comprimento de onda dominante (quadro 5) se encontram dentro dos limites estabelecidos pela NP 972 de 1987. Os ensaios com e sem adição de microtalc parecem ter alguma influência na cor dos azeites pois distinguem-se significativamente ( $\alpha < 0,05$ ) do controlo.

Em relação aos biofenóis totais (quadro 6) constata-se que a aplicação de microtalc aumenta a sua concentração nos azeites, sobretudo quando esta se efectua no início da termobatedura. Os valores da estabilidade oxidativa são também mais elevados para os azeites resultantes da adição de microtalc no início da termobatedura, distinguindo-se significativamente ( $\alpha < 0,05$ ) os ensaios entre si. Também Cert et al. (1996) e Cruz et al. (2007) verificaram aumentos de biofenóis aquando da adição de microtalc. Os azeites extraídos possuem valores baixos de  $K_{225}$ , tal como se tinha verificado nos azeites obtidos em sistema Abencor. Com a adição de microtalc verifica-se um pequeno acréscimo do  $K_{225}$  e há diferenças significativas ( $\alpha < 0,05$ ), entre os ensaios com adição de microtalc e o controlo, tal como outros autores tinham já concluído (Fernández et al., 1995; Cert et al., 1996).

Neste estudo a adição de microtalc no processo de extracção de azeite, em sistema Abencor, das cultivares Cobrançosa, Galega Vulgar e do lote Galega/Cobrançosa (1:1) conduziu sempre a uma melhoria do rendimento, para qualquer das doses aplicadas (1, 1,5 ou 2%). Em lagar industrial a utilização de doses de 1,5% de microtalc também melhorou o rendimento da cultivar Galega Vulgar.

Em lagar industrial obteve-se um ligeiro aumento do rendimento quando se adiciona microtalc após 30 minutos de termobatedura. No entanto, do ponto de vista das características dos azeites a aplicação de microtalc no início da termobatedura origina azeites com maior concentração de biofenóis totais e conseqüentemente maior estabilidade oxidativa.

## Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Medida 8.1 do Programa Agro, Projecto 463: "Segurança e qualidade alimentar em produtos do olival".

## Referências

- Artajo, L.S., Romero, M.P., Tovar, M.J. & Moltiva, M.J. 2006. Effect of irrigation applied to olive trees (*Olea europaea* L.) on phenolic compound transfer during olive oil extraction. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 108:19-27.
- Cert, A., Alba, J., Leon-Camacho, M., Moreda, W. & Pérez-Camino, M.C. 1996. Effects of talc and operating mode on the quality and oxidative stability of

- virgin olive oils obtained by centrifugation. *J. Agric. Food Chem.*, 44:3930-3934.
- Civantos, L. 1999. *Obtencion del Aceite de Oliva Virgen*. 2ª Edicion. Editorial Agrícola Española, S. A. Madrid.
- Cruz, S., Yousfi, K., Pérez, A.G., Mariscal, C. & Garcia, J.M. 2007. Salt improves physical extraction of olive oil. *Eur. Food. Res. Technol.*, 225:359-365.
- Fernández, M.H., Delgado, J.G., Ojeda, M.U., Rodríguez, A.G.O., Bernardino, J.M., Ruiz, L.F. & García, A.F. 1995. *Elaboracion de aceite de oliva de calidad. Obtención por el sistema de dos fases*. Apuntes 11/94. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Sevilla.
- Gutiérrez-Rosales, F., Perdiguero, S., Gutiérrez, R. & Olias, J.M. 1992. Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 4:394-395.
- Norma Portuguesa (NP) 937. 1987. *Determinação da cor dos óleos e suas características cromáticas*.
- Norma Portuguesa (NP) 1304. 1976. *Determinação do teor de água e matéria voláteis*.
- Norma Portuguesa (NP) 856. 1985. *Oleaginosas. Determinação do teor de gordura*.
- Pinheiro-Alves, M.C., Lopes, P.S., Peres, M.F. & Henriques, L.R. 2002. *Loteamento de Azeites virgens produzidos no Norte Alentejano*. *Melhoramento*, 38:259-265.
- Regulamento (CEE) n.º 2568/91 da Comissão de 11 de Julho de 1991. *Relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitonas, bem como aos métodos de análise relacionados*.
- Suárez, J.M.M., Aranda, E.M., Mendoza, J.A. & Rey, A.L. 1975. *Informe sobre utilización del Analizador de Rendimientos «Abencor»*. *Grasas y Aceites*. 26, 6:379-385.
- Uceda, M., Jiménez, A. & Beltrán, G. 2006. *Olive oil extraction and quality*. *Grasas y Aceites*, 57, 1:25-31.
- Valdivia, D.F., Lozano, F.E. & Vilar, M.M. 2008. *Influencia de diferentes coadyuvantes tecnológicos en la calidad y rendimiento del aceite de oliva virgen utilizando la metodologia de superficies de respuesta*. *Grasas y Aceites*, 59, 1:39-44.

Quadro 1 - Extractabilidade dos ensaios com e sem aplicação de microtalco, sistema Abencor. Média  $\pm$  desvio padrão.

Cultivar	Extractabilidade (%)			
	Controlo	1% Microtalco	1,5% Microtalco	2% Microtalco
Galega	8,88 $\pm$ 2,83 a	27,97 $\pm$ 2,62 b	30,60 $\pm$ 2,27 b	30,60 $\pm$ 1,85 b
Cobrançosa	35,67 $\pm$ 1,01 a	50,99 $\pm$ 1,01 b	52,42 $\pm$ 3,04 b	50,99 $\pm$ 1,01 b
Gal/Cob (1:1)	30,47 $\pm$ 0,89 a	44,67 $\pm$ 1,09 b	46,48 $\pm$ 1,46 b	44,93 $\pm$ 3,65 b

Na mesma linha, letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ).

Gal/Cob (1:1) - Galega/Cobrançosa (1:1).

Quadro 2 - K<sub>225</sub> dos azeites obtidos com 1,5% de microtalco, relativamente ao controlo, sistema Abencor. Média  $\pm$  desvio padrão.

Cultivar	Controlo	1,5% Microtalco
Galega	-----	0,065 $\pm$ 0,002
Cobrançosa	0,095 $\pm$ 0,010	0,073 $\pm$ 0,002
Gal/Cob (1:1)	0,082 $\pm$ 0,004	0,086 $\pm$ 0,009

Gal/Cob (1:1) - Galega/Cobrançosa (1:1)

Quadro 3 - Rendimento (kg de azeite/100kg de azeitona) dos ensaios realizados em lagar industrial, cultivar 'Galega Vulgar', índice de maturação médio (IM) de 4,5.

	Controlo	1,5% Talco, T <sub>0</sub>	1,5% Talco, T <sub>30</sub>
Rendimento	7,96	10,11	10,71

T<sub>0</sub> - Adição de microalco no início de termobatedura; T<sub>30</sub> - Adição de microtalco após 30 min de termobatedura.

Quadro 4 - Critérios de qualidade, acidez, índice de peróxidos (I.P.), absorvâncias no ultravioleta e exame organoléptico dos azeites extraídos em lagar industrial, cultivar 'Galega Vulgar' (IM= 4,5). (média  $\pm$  desvio padrão).

Ensaio	Acidez (% ác.oleico)	I.P. (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Md	Mf
Controlo	0,5 $\pm$ 0,00 a	11 $\pm$ 0,0 b	0,089 $\pm$ 0,000 a	1,607 $\pm$ 0,000 b	0 a	1,40 a
T <sub>0</sub>	0,7 $\pm$ 0,02 a	8 $\pm$ 0,5 a	0,104 $\pm$ 0,007 a	1,115 $\pm$ 0,013 a	0 a	4,46 b
T <sub>30</sub>	0,6 $\pm$ 0,17 ab	8 $\pm$ 1,1 a	0,089 $\pm$ 0,014 a	1,163 $\pm$ 0,045 a	0 a	3,73 b

Na mesma coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ).

S/T - Controlo (sem microtalcó); T<sub>0</sub> - Adição de microtalcó no início de termobatedura; T<sub>30</sub> - Adição de microtalcó após 30 min de termobatedura. Md - Exame organoléptico, mediana dos defeitos, Mf - Exame organoléptico, mediana do frutado.

Quadro 5 - Coordenadas cromáticas, comprimento de onda dominante (C.O.) e pureza dos azeites provenientes de Lagar industrial, cultivar 'Galega Vulgar' (IM=4,5) (média  $\pm$  desvio padrão).

Ensaio	X	Y	C.O.	Pureza
Controlo	0,45 $\pm$ 0,00 a	0,46 $\pm$ 0,00 a	577 $\pm$ 0 a	75 $\pm$ 0,0 a
T <sub>0</sub>	0,46 $\pm$ 0,01 b	0,47 $\pm$ 0,01 b	578 $\pm$ 0 b	80 $\pm$ 1,1 b
T <sub>30</sub>	0,47 $\pm$ 0,01 b	0,47 $\pm$ 0,01 b	578 $\pm$ 0 b	84 $\pm$ 1,4 c

Letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ).

S/T - Controlo (sem microtalcó); T<sub>0</sub> - Adição de microtalcó no início da termobatedura; T<sub>30</sub> - Adição de microtalcó após 30 min de termobatedura.

Quadro 6 - Concentração de biofenóis totais, estabilidade oxidativa (EO) e absorvância a 225 nm (K<sub>225</sub>) dos azeites provenientes de lagar industrial, cultivar 'Galega Vulgar' (IM=4,5) (média  $\pm$  desvio padrão).

Ensaio	Biofenóis Totais (mg de ácido cafeico kg <sup>-1</sup> )	EO (h)	K <sub>225</sub>
Controlo	17,0 $\pm$ 1,16 a	23,7 $\pm$ 0,49 a	0,054 $\pm$ 0,004 a
T <sub>0</sub>	38,4 $\pm$ 5,72 c	58,4 $\pm$ 4,06 c	0,088 $\pm$ 0,011 b
T <sub>30</sub>	26,6 $\pm$ 4,50 b	50,7 $\pm$ 4,01 b	0,090 $\pm$ 0,013 b

Letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ).

T<sub>0</sub> - Adição de microtalcó no início da termobatedura; T<sub>30</sub> - Adição de microtalcó após 30 min de termobatedura

## **Anexo**

## Lista de participantes

### A

Abílio Amadeu Alves

Soc. Agr. do Barracão do Duque, Qt.<sup>a</sup> Lagoalva de Cima, 2090-222  
Alpiarça, 243559070, geral@lagoalva.pt

Alberto Correia Vargues

INRB, I.P./L-INIA; APH, Av. da República, Nova Oeiras, 2784-505  
Oeiras, 965394361, alberto.vargues@gmail.com

Albino António Bento

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, bento@ipb.pt

Ana Paula Calvão Moreira da Silva

UTAD, Apartado 1013, Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real,  
259350450, asilva@utad.pt

Ana Paula Jacob

IPS/ESA, Quinta do Galinheiro, Apartado 310, 2001-904 Santarém,  
ana.jacob@esa.ipsantarem.pt

Ana Paula Rodrigues Pereira

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança

Anabela Afonso Fernandes Silva

CITAB-UTAD, Apartado 1013, Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real,  
anaaf@utad.pt

Anabela Cristina M. Nave Rodrigues

CITAB-UTAD, Apartado 1013, Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real,  
919962602, ana.nave@hotmail.com

Anabela da Conceição Sousa

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança

António Bento Dias

Universidade de Évora, ICAAM, Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-  
554 Évora, adias@uevora.pt

António Coelho

SAPEC Agro, Apartado 11 - E.C. Bonfim, 2901-852 Setúbal

António Fino

SAPEC Agro, Apartado 11 - E.C. Bonfim, 2901-852 Setúbal

António José Caetano

Agroquisa, Rua dos Navegantes, n.º 53 - 2.º Lapa, 1200-730 Lisboa,  
21392 83 00, geral@agroquisa.pt

António Manuel Cordeiro

INRB, I.P./L-INIA, Elvas, Apartado 6, 7350-901 Elvas,  
antonio.cordeiro@inrb.pt

António Maria Santos Ramos

ESACB, Quinta da Senhora de Mércules, Apartado 119, 6001-909  
Castelo Branco, aramos@ipcb.pt

António Marques Mexia

ISA, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, 213653100, amexia@isa.utl.pt

Arlindo Castro Ferreira Almeida

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, 961340365,  
acfa@ipb.pt

Augusto Peixe

Universidade de Évora, ICAAM, Apartado 94, 7002-554 Évora,  
apeixe@uevora.pt

Avelino Balsinhas

Bayer CropScience Portugal, Lda., Rua Quinta do Pinheiro, 5, 2794-003  
Carnaxide, avelino.balsinhas@bayercropscience.com

## **B**

Bruno Oliveira

Jornal O Ribatejo, CNEMA – Centro Nacional de Exposições, Quinta das  
Cegonhas, Apartado 355, 2000-471 Santarém, 243309600,  
info@oribatejo.pt

## **C**

Cecília Marcelo Silva Gouveia

IPCB, Qt.<sup>a</sup> da Senhora de Mércules, 6000-900 Castelo Branco,  
272339900, cgouveia@esa.ipcb.pt

Cidália Peres

INRB, I.P./L-INIA, Av. da República, Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras,  
cidaliaperes@gmail.com

Cristina Maria Moniz Simões Oliveira

ISA, Tapada Ajuda, 1349-097 Lisboa, 213653454, crismoniz@isa.utl.pt

## **D**

Dina Sofia Bento Pita

Vale Formoso, 2230-015 Alcaravela, 967699049, dinapita@sapo.pt

## **E**

Elisabete Viegas

SAPEC Agro, Apartado 11 - E.C. Bonfim, 2901-852 Setúbal

Elísio Cardoso Matos

Mata Rural, Qt.<sup>a</sup> da Mata Sobral, 2000-699 S V. Paul, 918205813,  
tiago\_petulante@hotmail.com

## **F**

Fátima Quedas

IPS/ESA, Quinta do Galinheiro, Apartado 310, 2001-904 Santarém

Felisbela Nogueira Mendes

DGADR/DABSV, Edif. Quinta do Marquês/DGADR, 2780-155 Oeiras,  
214464000, felisbelamendes@dgadr.pt

Filipe José

Lusosem - produtos para agricultura, S.A., Rua General Ferreira  
Martins, n.º 10-9.º A, 1495-137 Algés

Filipe Mestre

Todolivo SL., C/. Ingeniero Torroja y Miret, s/n, 14013-Córdoba,  
Espanha

Francisco Barradas

Hubel Verde, Parque Hubel Pechão, 8700-179 Olhão, 289710515,  
hv@hubel.pt

Francisco José Bastos Gomes

LG & Filhos Lda., Av. Badajoz, Parque Residencial Aqueduto L5 Edif.  
Lena 1.º D, G4, 7350-325 Elvas, 268636693, lgfilhoslda@sapo.pt

Francisco L. Santos

Universidade de Évora, ICAAM, Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-  
554 Évora, fls@uevora.pt

Francisco Pavão

AOTAD, Rua Centro Transmontano de S. Paulo, 75, 5370-381 Mirandela

## **G**

Gabriela Silveira

Nanovitalis, Rua José Florindo, 44, Apt 1B, 2750-400 Cascais,  
918802966, gabriela.ibs@gmail.com

## **I**

Ivo Vaz Oliveira

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança

Ivone Oliveira

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança

## **J**

Joana Lopes Aleixo

Soc. Agr. Quinta dos Veados, Rua José Ricardo, 3-2.º eq., 1900-285  
Lisboa, 914689482, jlopesaleixocumbre@gmail.com

João Farraia Pessoa

SAPEC Agro, Apartado 11 - E.C. Bonfim, 2901-852 Setúbal

João Ilídio Lopes

DRAP-N, Rua St.º António 187, 5370-087 Vila Nova das Patas,  
278260996

João Mendes

IPS/ESA, Quinta do Galinheiro, Apartado 310, 2001-904 Santarém

- João Paulo Freitas  
Hubel Verde, Parque Hubel Pechão, 8700-179 Olhão, 289710517,  
hv@hubel.pt
- João Paulo Pereira  
SAPEC Agro, Apartado 11 - E.C. Bonfim, 2901-852 Setúbal
- João Pinto
- Joaquim Reis Pereira Isabel  
Santuário de Fátima, Apartado 31, 2496-908 Fátima, 249539600,  
seaq@fatima.pt
- Jorge Alexandre Rocha Pinto  
Recoabita Lda., Rua Poeta Bocage n.º 2-3.º G Telheiras, 1600-233  
Lisboa, recoabitalisboa@gmail.com
- Jorge Grilo  
Hubel Verde, Parque Hubel Pechão, 8700-179 Olhão, 289710517,  
hv@hubel.pt
- Jorge Leão Ponce de Castro  
SCAP, Rua da Junqueira n.º 299, 1300-338 Lisboa
- Jorge Maia  
COTR - Centro Operativo e de Tecnologia de Regadio, Quinta da Saúde,  
Apartado 354, 7801-904 Beja, 284321582, jorge.maia@cotr.pt
- José Alberto Cardoso Pereira  
Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança,  
jpereira@ipb.pt
- José António de Sousa Canha  
DRAP-LVT, Quinta das Oliveiras - Estrada Nacional 3, 2001-906  
Santarém, 243377500, info@draplvt.min-agricultura.pt
- José Domingos Negreiros Velez  
ESABeja, Rua Pedro Soares, Campus IP, 7801-295 Beja, 284314378,  
esa.secretariado@ipbeja.pt
- José Manuel Ferreira Nobre Semedo  
INRB, I.P./L-INIA, Av. da República, Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras,  
jose.semedo@inrb.pt
- José Maria Bettencourt  
Rua Dr. António Ribeiro dos Santos, AF 1.º Esq.º, 1300-206 Lisboa
- José Paulo Mourão de Melo e Abreu  
ISA, Tapada Ajuda, 1349-097 Lisboa, 213653454, jpabreu@isa.utl.pt
- Josué Marques Rosa  
Rua 25 de Abril, n.º 22, 2050-317 Azambuja, 968043885

## **L**

- Luís Fortunado  
IPS/ESA, Quinta do Galinheiro, Apartado 310, 2001-904 Santarém
- Luís Neto  
SAPEC Agro, Apartado 11 - E.C. Bonfim, 2901-852 Setúbal

## **M**

Manuel Ângelo Rosa Rodrigues

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, angelor@ipb.pt

Manuel Augusto Soares

SCAP, Rua da Junqueira n.º 299, 1300-338 Lisboa

Manuela Fernandes

ADP, Estrada Nacional 10, Apartado 88, 2616-907 Alverca do Ribatejo

Maria Albertina Cercas Gonçalves

Universidade do Algarve, Campus Gambelas, 8005-139 Faro, 962497609, magoncal@ualg.pt

Maria Conceição Santos Vitorino

IPCB, Qt.ª da Senhora de Mércules, 6000-900 Castelo Branco, 272339900, mcvitorino@ipcb.pt

Maria da Conceição Marçalo Barros Maia

DRAP LVT, Praceta Dr. Francisco Pereira Viegas, n.º 1-3.º Dirt, 2005-257 Santarém, saobarros.maia@sapo.pt

Maria da Encarnação Ferreira Marcelo

INRB, I.P./INIA/UARN/LQARS, Tapada Ajuda, Apartado 3228, 1301-903 Lisboa, 213617740, encarnacao.marcelo@inrb.pt

Maria Elvira Ferreira

INRB, I.P./L-INIA/APH, Av. da República, Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras, elvira.ferreira@inrb.pt

Maria Fátima Magalhães Gonçalves

UTAD, Rua da Escola, 5, Folhadela, 5000-103 Vila Real, 966339350, mariafg@utad.pt

Maria Fernanda Correia Vargues

INRB, I.P./L-INIA, Av. da República, Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras, fvargues@gmail.com

Maria João Soares

Azal - Azeites Ribatejo, R. Serpa Pinto, 6-1.º Edif. Alcácer, 2765-286 Estoril, 218870978, maria.joao@azal.pt

Maria Júlia Taborda Pinto Afonso

DGADR/DSPFSV, Qt.ª do Marquês, 2780-155 Oeiras, 214464000, juliaafonso@dgadr.pt

Maria Leonilde Santos

INRB, I.P./L-INIA, Elvas, Apartado 6, 7350-901 Elvas, leonilde.santos@inrb.pt

Maria Teresa Carvalho

INRB, I.P./L-INIA, Elvas, Apartado 6, 7350-901 Elvas, teresa.carvalho@inrb.pt

Mariana Matos

Casa do Azeite - Associação do Azeite de Portugal, Rua Castilho n.º 69-R/C Esq., 1250-068 Lisboa, 213841810, site@casadoazeite.pt

Mariana da Silva Gomes Mota

ISA, Tapada Ajuda, 1349-097 Lisboa, 213653454, mariana@isa.utl.pt

Mário Celestino Canaverde Figueira

DRAPAlentejo, Qt.ª Malagueira, Apartado 83, 7002-553 Évora,  
266757800, geral@drupal.min.agricultura.pt

Mário Reis

UALG, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Campo de Gambelas, 8005-  
139 Faro, mreis@ualg.pt

Marta Alexandre Cardoso Sobral

LG & Filhos Lda., Av. Badajoz, Parque Residencial Aqueduto L5 Edif.  
Lena 1.º D, G4, 7350-325 Elvas, 268636693, lgfilhoslda@sapo.pt

## **N**

Nélia Silva

Frutas, Legumes & Flores, Rua Álvaro de Campos, n.º 20-1.º Dt.º, 2675-  
225 Odivelas, neliasilva@flfrevista.pt

Nuno Gerales Barba

IPS/ESA, Quinta do Galinheiro, Apartado 310, 2001-904 Santarém,  
nuno.barba@esa.ipsantarem.pt

Nuno Rodrigues

SAPEC Agro, Apartado 11 - E.C. Bonfim, 2901-852 Setúbal

Nuno Vieira dos Santos Francisco

BMS-Micronutrientes, Rua da Escola n.º 21, 2665-006 Barras,  
963578269, nuno.francisco@chelac.com

## **O**

Olga Caixinha

ADP, Estrada Nacional 10, Apartado 88, 2616-907 Alverca do Ribatejo

## **P**

Paulo Morgado

APPITAD, Rua Centro Transmontano de S. Paulo, 75, 5370-381  
Mirandela

Pedro Fevereiro

ITQB/UNL, Av. da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157  
Oeiras, psalema@itqb.unl.pt

Pedro Jordão

INRB, I.P./INIA/UARN/LQARS, Tapada Ajuda, Apartado 3228, 1301-  
903 Lisboa, 213617740, pedro.jordao@inrb.pt

## **R**

Rogério Manuel Santos Sismeiro

DRAP-N, Rua Joaquim Teófilo Braga, 622-3D, 5370-198 Mirandela,  
278260900

## **S**

Sebastian Ruano

Todolivo SL, C/. Ingeniero Torroja y Miret, s/n, 14013-Córdoba,  
Espanha

Soraia Isabel Domingos Marcos Falcão

Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Campus  
de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança

Susana Oliveira

ADP, Estrada Nacional 10, Apartado 88, 2616-907 Alverca do Ribatejo

Susana Sassetti

AAR, Rua de Santa Margarida, 1 A, 2000-144 Santarém, 243323794,  
geral@aaribatejo.pt

## **T**

Teresa Zacarias

Casa do Azeite - Associação do Azeite de Portugal, Rua Castilho n.º 69,  
R/C Esq., 1250-068 Lisboa, 213841810, t.zacarias@casadoazeite.pt

Tiago Manuel CardosoTavares

Rua Eng Santos Simões, Zona RTB5, Lote 2.2-5D, 1900-459 Lisboa,  
968382738, tiagomtavares@gmail.com

Tiago Miguel Costa Petulante

Mata Rural, Qt.ª da Mata Sobral, 2000-699 S V. Paul, 918205813,  
tiago\_petulante@hotmail.com

## **V**

Vasco Sevinate Pinto

Lusosem - produtos para agricultura, S.A., Rua General Ferreira  
Martins, n.º 10 – 9.º A, 1495-137 Algés

## Patrocinadores

FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia  
COI – Conselho Oleícola Internacional

ADP Fertilizantes  
Bayer CropScience  
CGD – Caixa Geral de Depósitos  
Gallo Worldwide, Lda.  
Lusoseme - produtos para agricultura, S.A.  
Sapex Agro  
Selectis  
Sovena Group  
Todolivo Portugal - Actividades Agrícolas, Lda.

A Bolsamania  
Frutas, Legumes e Flores  
Vida Rural  
Voz do Campo

Nescafé Dolce Gusto



## **Patrocinadores**

**FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia**

**COI – Conselho Oleícola Internacional**

**ADP Fertilizantes**

**Bayer CropScience**

**CGD – Caixa Geral de Depósitos**

**Gallo Worldwide, Lda.**

**Lusoseme - produtos para agricultura, S.A.**

**Sapex Agro**

**Selectis**

**Sovena Group**

**Todolivo Portugal - Actividades Agrícolas, Lda.**

**A Bolsamania**

**Frutas, Legumes e Flores**

**Vida Rural**

**Voz do Campo**

**Nescafé Dolce Gusto**

**ISBN: 978-972-8936-06-8**