

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

Influência da aplicação de ácido salicílico no comportamento fisiológico de oliveiras submetidas a défice hídrico

-Versão Definitiva -

Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica

Ana da Lomba Afonso

Orientadores: Professor Doutor Carlos Manuel Correia

Professor Doutor José Manuel Moutinho Pereira



Vila Real, 2017

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

Influência da aplicação de Ácido Salicílico no comportamento fisiológico de oliveiras submetidas a défice hídrico

-Versão Definitiva -

Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica

Ana da Lomba Afonso

Orientadores: Professor Doutor Carlos Manuel Correia

Professor Doutor José Manuel Moutinho Pereira

Composição do Júri

Aureliano Natálio Coelho Malheiro

Alexandre Fradeira Gonçalves

Carlos Manuel Correia

Vila Real 2017

Dissertação apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro para obtenção
do grau de Mestre em Engenharia Agrónómica.

“As doutrinas apresentadas neste trabalho são da exclusiva responsabilidade do autor.”

Agradecimentos

Neste trabalho, que é um grande marco no meu percurso acadêmico e pessoal, manifesto a minha imensa gratidão a todas as pessoas que contribuíram para a sua concretização;

Ao Professor Doutor Carlos Manuel Correia por me ter aceitado como orientanda, por todo o apoio, paciência, material e tempo disponibilizados e conhecimento transmitido;

Ao Professor Doutor José Moutinho Pereira por ter sido determinante na minha ingressão neste estudo, bem como por toda a ajuda prestada no decorrer dos ensaios e redação;

À Doutora Cátia Brito por toda a ajuda, paciência, acompanhamento e disponibilização de material;

À Doutora Lia Tânia Dinis e à Mestre Helena Ferreira por toda a ajuda prestada e boa disposição;

A todos os restantes e igualmente importantes técnicos e auxiliares dos laboratórios que me apoiaram e me ajudaram na realização deste trabalho;

A todos os meus amigos, aos que me acompanharam nesta etapa lado a lado primando na entreajuda, motivação e partilha de conhecimentos e de bons momentos, e aos que manifestaram um caridoso interesse na temática do estudo, partilhando sempre sugestões importantes na redação do mesmo;

Aos meus pais, avós e irmãos, por acreditarem mais em mim do que eu mesma.

Obrigada a todos, de coração.

Resumo

A cultura da oliveira apresenta uma elevada relevância económica, social, cultural e ecológica em Portugal, sobretudo nas regiões do interior, como Trás-os-Montes, onde é uma das culturas dominantes. Nestes territórios predominam as explorações olivícolas de sequeiro, pelo que há uma elevada dependência da produção face às condições climatológicas, normalmente bastante adversas nas estações de primavera e verão. No contexto das mudanças climáticas à escala global é esperado um decréscimo da disponibilidade de água e um aumento da temperatura nos períodos de maior desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da oliveira, com importantes consequências negativas na fisiologia, no crescimento, na produção e na qualidade, o que poderá inviabilizar economicamente esta cultura e contribuir para o êxodo das populações que vivem nestas regiões. Surge assim a necessidade de implementar medidas de adaptação que possam minimizar aqueles efeitos. Uma das práticas culturais possíveis seria o recurso à rega, mas que se apresenta pouco sustentável e dispendiosa em muitas zonas de Trás-os-Montes devido à orografia acidentada da região, às suas limitações naturais em recursos hídricos e à necessidade de uma distribuição hídrica em larga escala. Pelo exposto, torna-se crucial a adoção de práticas culturais alternativas que permitam a adaptação das oliveiras a um ambiente em mudança, de modo a preservar a sustentabilidade da cultura. Neste contexto, propusemo-nos avaliar o efeito da aplicação foliar de ácido salicílico (SA; 100 μM), uma hormona com uma grande diversidade de funções no metabolismo vegetal, como forma de minimizar os danos em plantas de 3 anos de idade da cultivar Cobrançosa sujeitas a 3 ciclos de défice hídrico e reidratação. No estudo foram utilizadas metodologias centradas na avaliação da fisiologia da oliveira, incluindo o estado hídrico, as trocas gasosas, a fluorescência da clorofila *a* e a acumulação de biomassa. Os resultados permitiram constatar que a aplicação de SA conduziu a uma melhoria de vários indicadores fisiológicos no período mais crítico do stresse, incluindo aumentos do conteúdo relativo em água e grau de succulência das folhas, taxa de transpiração, condutância estomática, taxa de transporte de eletrões, eficiência quântica efetiva do PSII e taxa de fotossíntese e diminuição da densidade das folhas, fluorescência basal e coeficiente de dissipação não fotoquímica. Foi também visível que alguns daqueles efeitos positivos permaneciam ativos 7 dias após o início da reidratação. Como corolário, o SA contribuiu para o aumento da acumulação de biomassa e da eficiência do uso da água ao nível da planta inteira, pelo que a aplicação de ácido salicílico poderá ser

uma prática eficaz na redução dos efeitos negativos do défice hídrico nos olivais de sequeiro no contexto das alterações climáticas.

Palavras-chave: *Ácido salicílico, alterações climáticas, défice hídrico, Olea europaea L..*

Abstract

Olive tree has a high economic, social, cultural and ecological relevance in Portugal, especially in the inland regions, such as Trás-os-Montes, where it is one of the dominant crops. Olive rainfed orchards predominate in these territories, so there is a high dependence on the climatic conditions, which are usually quite adverse in the spring and summer seasons. In the context of global climate change, a decrease in the availability of water and an increase in temperature during periods of greater vegetative and reproductive development of the olive tree are expected, with significant negative consequences on physiology, growth, production and quality, which could economically cripple this crop and contribute to the exodus of the populations living in these regions. This raises the need to implement adaptation measures that can minimize these effects. One of the possible management practices would be the use of irrigation, but it is not very sustainable and it is expensive in many areas of Trás-os-Montes due to the rugged landscape of the region, its natural limitations on water resources and the need for a water distribution in large scale. Therefore, it is crucial to adopt alternative practices that allow the adaptation of olive trees to a changing environment, in order to preserve the sustainability of the crop. In this context, we proposed to evaluate the effect of the foliar application of salicylic acid (SA; 100 μ M), a hormone with a great diversity of functions in plant metabolism, as a way of minimizing damage in 3-year-old plants of Cobrançosa cultivar subjected to 3 cycles of drought and rehydration. In the study, methodologies focused on the evaluation of olive tree physiology, including water status, gas exchange, chlorophyll a fluorescence and biomass accumulation were used. The results showed that the application of SA led to an improvement in several physiological indicators in the most critical period of stress, including increases in relative water content and leaf succulence, transpiration rate, stomatal conductance, electron transport rate, effective quantum efficiency of PSII and photosynthetic rate and decreases of leaf density, initial fluorescence and non-photochemical quenching. It was also seen that some of these positive effects remained active 7 days after the initiation of rehydration. As a corollary, SA contributed to the increase of biomass and of water use efficiency at the whole-plant level, so the application of salicylic acid could be an effective practice in reducing the negative effects of water stress on rainfed olive groves in the context of climate change.

Key-words: *Climate change, Olea europaea L., salicylic acid, water stress.*

Índice Geral

Agradecimentos.....	V
Resumo.....	VI
Abstract.....	VIII
Índice de figura.....	X
Índice de quadros.....	XII
Abreviaturas, siglas, símbolos e acrónimos.....	XIII
Capítulo I – Introdução geral e objetivos.....	1
Capítulo II – Revisão bibliográfica.....	3
1. Caracterização da espécie <i>Olea europaea l.</i>	3
1.1. Enquadramento taxonómico.....	3
1.2. Origem e história da espécie.....	4
1.3. Situação mundial e nacional.....	5
1.4. Desenvolvimento e descrição morfológica.....	5
2. As alterações climáticas.....	6
2.1. Aspetos gerais.....	6
2.2. Mecanismos de resistência da oliveira ao stresse hídrico.....	8
2.3. Efeitos fisiológicos da falta de água na oliveira.....	9
2.4. Uso de substâncias exógenas para aumentar a resistência da oliveira ao stresse hídrico: o ácido salicílico.....	11
Capítulo III - Material e métodos.....	14
Localização geográfica, material vegetal e condições experimentais.....	14
Avaliação da produção de biomassa e índices de crescimento.....	15
Capítulo IV - resultados e discussão.....	18
Capítulo V – conclusões.....	37
Bibliografia.....	38

Índice de figura

Figura 1. Biomassa total média por planta sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	19
Figura 2. Área total média por planta sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: ns - não significativo.	19
Figura 3. Taxa de assimilação aparente das plantas sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	20
Figura 4. Área média por folha de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: ns - não significativo.	20
Figura 5. Número médio de folhas por planta sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: ns - não significativo.	21
Figura 6. Taxa de fotossíntese líquida durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: + - Estatisticamente significativo para $0,05 < P < 0,1$; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$; ** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,01$	22
Figura 7. Condutância estomática durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$; ** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,01$; *** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,001$	24
Figura 8. Massa foliar por unidade de área (LMA) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: ns - não significativo.	25
Figura 9 Taxa de transpiração foliar durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$; ** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,01$	26
Figura 10. Eficiência intrínseca do uso da água durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	27
Figura 11 Razão entre a concentração intercelular de dióxido de carbono e a concentração atmosférica durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias	

(1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	28
Figura 12 Eficiência fotoquímica efetiva do PSII em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	30
Figura 13 Taxa de transporte de elétrons ($\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/ recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	31
Figura 14 Coeficiente de dissipação não fotoquímica em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/ recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	32
Figura 15 Eficiência fotoquímica máxima do PSII em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; + - Estatisticamente significativo para $0,05 < P < 0,1$	33
Figura 16 Fluorescência basal durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; + - Estatisticamente significativo para $0,05 < P < 0,1$	34
Figura 17 Coeficiente de dissipação fotoquímica (qP) em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo.....	35
Figura 18 . Eficiência do uso da água de oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$	36

Índice de quadros

Quadro 1. Classificação botânica da cultura	3
Quadro 2 Conteúdo relativo em água (RWC), conteúdo em água com as folhas saturadas (H ₂ O sat.), succulência e densidade das folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 e 21 dias após a exclusão da rega e 7 dias após a recuperação. Médias com letras diferentes, em cada data, são significativamente diferentes a $P < 0,05$	25

Abreviaturas, siglas, símbolos e acrónimos

A	Taxa de assimilação de CO ₂
a. C.	Antes de Cristo
°C	Graus Celsius
CAT	Catalase
C _i	Concentração intercelular de CO ₂
CQNUAC	Conferência Quadro das Nações Unidas para as Alterações Climáticas
C _i /C _a	Razão entre a concentração intercelular de dióxido de carbono e a concentração externa
CH ₄	Metano
CO ₂	Dióxido de carbono
DOP	Denominação de Origem Protegida
E	Taxa de transpiração
ET ₀	Evapotranspiração potencial
E _c	Evapotranspiração da cultura
°F	Graus Fahrenheit
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
F _v /F _m	Eficiência fotoquímica máxima do PSII
GHG	Gases com efeito de estufa
GR	Glutiatona reductase
g _s	Condutância estomática
INE	Instituto Nacional de Estatística
IOC	Concelho Internacional da Oliveira
IPCC	Painel Intergovernamental das Mudanças Climáticas
LPN	Liga para a Proteção da Natureza
MADRP	Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas
N	Azoto
NUE	Eficiência do uso de azoto
N ₂ O	Óxido nitroso
POX	Peroxidase
PSI	Fotossistema I
PSII	Fotossistema II
ROS	Espécies reativas de oxigénio
RSA	Resistência sistémica adquirida
SA	Ácido salicílico
UNFCCC	Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre a Mudança Climática
UV	Radiação ultravioleta
UV-C	Radiação ultravioleta C

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

Nos últimos anos, a preocupação sobre a seca e a possibilidade desta estar a aumentar em frequência, severidade e duração, bem como o seu impacto na agricultura, tem crescido a nível mundial em consequência da mudança climática (IPCC, 2012; Sivakumar, 2012; Peterson et al., 2013).

A seca já tem sido caracterizada como estando inserida na categoria de efeito progressivo, mas de longo-prazo e cumulativa nas alterações climáticas. A seca tem problemas associados, tais como processos de degradação do solo e de desertificação, mudanças nos ecossistemas e fragmentação dos habitats, excesso de azoto, erosão costeira, entre outros (Glantz, 2004).

A região mediterrânica indicia ser uma região particularmente sensível às alterações climáticas. Estima-se que o aumento da temperatura, associado a uma redução considerável da precipitação e um aumento da sua variabilidade interanual, será superior à média global (Giorgi, 2006). O decréscimo da precipitação é justificado pelo aumento da circulação anticiclónica nesta região (Giorgi e Lionello, 2008).

O crescimento e o desenvolvimento das culturas dependem fortemente das condições climáticas locais. Cada cultura tem requisitos climáticos e ambientais diferentes para potenciar o seu crescimento normal (por exemplo, temperatura, luz, orientação da inclinação, fertilidade do solo, disponibilidade de água, nutrientes). Essas variáveis podem ser afetadas pelas mudanças climáticas, especialmente a temperatura, devido ao seu impacto no desenvolvimento da planta (Galán et al., 2001).

O aumento da temperatura leva, na maioria das áreas, a uma mudança no período ótimo de crescimento e no padrão de cultivo das principais espécies agrícolas e florestais (Galán et al., 2005; Avolio et al., 2008). Espera-se que o aquecimento global afete as datas de fenologia das plantas, particularmente das oliveiras (Galán et al., 2005; Bonfiglio et al., 2008; García-Mozo et al., 2010; Oteros et al., 2013). Existe uma tendência geral de ocorrência precoce de eventos fenológicos chave, como a floração e consequentemente o encurtamento das fases de crescimento da cultura (Osborne et al., 2000; Giannakopoulos et al., 2009; Moriondo et al., 2008, 2010; García-Mozo et al., 2010). Este avanço das fases fenológicas é mais evidente nas culturas arbóreas do que nas culturas herbáceas (García-Mozo et al., 2010), resultando em menor tempo para a acumulação de biomassa e para a obtenção de rendimento (Bindiet et al., 1996).

Um estudo de Gutierrez et al. (2009) mostrou que, em Itália, as áreas aptas para o cultivo de azeitonas deverão expandir-se e incluir novas zonas em altitudes mais elevadas no centro de Itália e no norte do país, mais especificamente no Vale do Pó. O aquecimento do clima pode também aumentar a gama de mosca verde-oliva para o norte. Conclusões semelhantes foram relatadas para a região do Mediterrâneo por Ponti et al. (2013). A oliveira (*Olea europaea L.*) é uma espécie sensível a longos períodos de geada e, embora seja resistente à escassez de água, obtém melhores valores de produtividade com a ocorrência de precipitação ou irrigação (Palomo et al., 2002; Moriana et al., 2003; Iniesta et al., 2009; Palese et al., 2010; Martinez-Cob e Faci, 2010). Deste modo, podemos assumir que no futuro a produção olivícola exigirá uma maior disponibilidade de água, no entanto é muito provável que a disponibilidade desta última seja cada vez mais reduzida (García-Ruiz et al., 2011; Milano et al., 2012).

No mundo vegetal, o ácido salicílico (SA) é um composto fenólico que influencia uma ampla gama de processos fisiológicos, em geral muito semelhantes à ação das hormonas clássicas de plantas (Raskin, 1992; Vicente and Plasencia, 2011). A ativação da resposta de defesa contra agentes patogénicos e a indução de resistência adquirida são as funções mais estudadas do SA em plantas (Durner et al., 1997). O papel do SA não se cinge às respostas ao stresse biótico. Este composto também tem um papel ativo na adaptação de plantas a várias condições ambientais desfavoráveis, incluindo elevado teor de salinidade (Sun et al., 2010), frio (Kang e Saltveit, 2002), défice hídrico (Sun et al., 2009) e o excesso de metais pesados (Horváth et al., 2007; Hayat et al., 2010).

O presente estudo pretende avaliar a possível influência que a aplicação de ácido salicílico tem no comportamento fisiológico das oliveiras sujeitas a stresse hídrico. Este trabalho versa sobre parâmetros de análise da fisiologia vegetal da oliveira, tais como anatomia foliar, biomassa, teor de água, trocas gasosas, fluorescência e seus descritivos.

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Caracterização da espécie *Olea europaea* L.

1.1. Enquadramento taxonómico

A espécie utilizada no presente estudo, *Olea europaea* L. pertence à classe *Magnoliopsida*. Dentro desta classe, a *Olea europaea* L. insere-se na subclasse *Asteridae* e, subsequentemente na ordem *Scrophulariales* (Böhm et al., 2013). No que à família diz respeito, a oliveira pertence à *Oleaceae* cujas espécies se caracterizam por serem lenhosas, possuírem folhas isentas de estípulas, simples ou compostas, por terem flores de pequenas dimensões, hermafroditas, com dois estames e ovários súperos com um estilete e por terem frutos carnosos com uma a quatro sementes (Lidon et al., 2005). Dentro da família *Oleaceae* inclui-se na subfamília *Oleoideae*, cuja tribo se designa *Oleaceae/Oleae* que agrega 30 géneros dentro dos quais está integrado o género *Olea* L. que agrupa 600 espécies sendo, portanto, uma delas a *Olea europaea* L. Por sua vez, a *Olea europaea* L. divide-se na *Olea europaea sylvestris*, comumente designada por zambujeiro e que traduz a oliveira no seu estado selvagem e na *Olea europaea* sativa que corresponde à oliveira na sua forma cultivada ou, se preferirmos, domesticada. Esta última possui 46 cromossomas na forma diplóide, tendo em termos reprodutivos de intra e inter fertilidade (Böhm et al., 2013).

Quadro 1. Classificação botânica da cultura

Reino	<i>Plantae</i>
Sub-reino	<i>Tracheobionta</i>
Super-divisão	<i>Spermatophyta</i>
Divisão	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Subclasse	<i>Asteridae</i>
Ordem	<i>Scrophulariales</i>
Família	<i>Oleaceae</i>
Tribo	<i>Oleaceae</i>
Género	<i>Olea</i> L.
Espécie	<i>Olea europaea</i> L.
Subespécie	<i>Olea europaea</i> L. ssp. Sativa Hoffm. Et Link (= <i>Olea europaea</i> L. ssp. Europaea)

(Fonte: Adaptado de USDA – Plants database, 2014 e G. Bartolini & R. Petruccelli - 2002)

1.2. Origem e história da espécie

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta perene (FAO Report, 2012), é de crescimento lento, tolerante ao stress hídrico e de grande durabilidade, normalmente com uma esperança média de vida superior a 500 anos (Moazzo, 1992; Zohary and Hopf, 2000; Riley, 2002).

O cultivo da oliveira é originário da zona do vale do rio Jordão na área do Mediterrâneo Oriental (Zohary and Spiegel-Roy, 1975) e a sua história tão longa quanto a história da civilização ocidental (Forbes and Foxhall, 1978; Oliveira et al., 2002), sendo, provavelmente, a planta nativa mais antiga cultivada nessa região (Connor, 2005) e uma das culturas mais antigas existentes na atualidade (Böhm et al., 2013).

Os vestígios mais antigos da oliveira são folhas fossilizadas encontradas na ilha de Santorini no arquipélago Argean, que datam de há 50000-60000 anos (Valavanis, 2004; Velitzelos and Velitzelos, 2005). Os registos arqueológicos da existência da espécie olivícola remontam a 37000 anos antes de Cristo, na Era do Paleolítico e do Neolítico, localizados nas ilhas Santorini na Grécia (Therios, 2005b).

A bibliografia concede dados distintos acerca da dispersão e domesticação da espécie da oliveira, sendo que Connor e Fereres (2005) defendem que desde 4000 - 3000 anos a.C. até à atualidade, a exploração olivícola foi introduzida no Sul de África, Austrália, Japão e China (IOC, 2015). Já por si, Bordman (1976) e Terral et al. (2004) sustentaram que, de acordo com registos arqueológicos, a espécie *Olea europaea* foi inicialmente cultivada em 2500 anos a.C. na Síria e na Creta, tendo o seu cultivo expandindo-se para muitas outras regiões do globo, destacando-se o Egipto, França, Península Ibérica, Israel, Itália, Líbano, Marrocos, Tunísia, Chile, Caraíbas, Peru, Argentina, Brasil, México, Califórnia, China, Austrália e África.

Acredita-se que o antecessor botânico da *Olea europaea* L. seja um grupo de oliveiras selvagens, tradicionalmente intituladas de oliveiras *oleaster*. Em vastas áreas da província mediterrânica, as *oleasters* prosperaram enquanto constituintes das formações do maquis, numa região climática que foi definida por Koppen (Koppen, 1923) como o clima da oliveira (Specht and Moll, 1983).

A oliveira é atualmente reconhecida pela qualidade fitoquímica dos seus frutos e do azeite que deles se produz. Na verdade, o azeite contém apenas cerca de 14,8% de gorduras saturadas e 85,2% de gorduras não saturadas (Vaughan and Geissler, 1999), sendo por isto um extraordinário elemento da dieta mediterrânica (Roche, et al., 2000).

1.3. Situação mundial e nacional

Verificou-se uma expansão mundial do sector do azeite a partir de meados da década de noventa do século XX. Com efeito, a produção média aumentou cerca de 4,6%/ano entre as campanhas de 1994/95 a 2004/05, enquanto a procura internacional de azeite registou no mesmo período um crescimento de 3,5% por ano (MADRP, 2007). O ressurgimento do interesse do mercado na produção oleícola foca-se na procura de produtos de elevada qualidade alimentar e na garantia da sustentabilidade económica de produção (IOC, 2007).

No contexto nacional, em 2014 a produção de azeite registou 67 mil toneladas, apresentando um decréscimo de 21,2% em relação a 2013. Em 2014 o consumo de azeite foi de 75 mil toneladas, o que terá correspondido a um consumo *per capita* de azeite de 7,2 kg por habitante (INE, 2015). Em 2015 a produção de azeite atingiu um máximo histórico, o terceiro maior registo nacional dos últimos 100 anos, atingindo 1,19 milhões de hectolitros. Para este excelente resultado é indubitável a contribuição dos novos olivais em modo de produção intensivo e superintensivos, instalados maioritariamente no Alentejo, com sistemas de rega instalados e com variedades mais produtivas e de maior qualidade (INE, 2015).

1.4. Desenvolvimento e descrição morfológica

A *Olea europaea* L. é a única espécie da família *Oleaceae*, cujo fruto é comestível (García, 2005). A planta caracteriza-se pelo seu porte arbóreo, tem folha persistente e coreácia na página superior e esbranquiçada na página inferior. A polinização é anemófila e muitas variedades são autofertéis. As flores são brancas e os frutos são negros (Lidon et al., 2005).

A oliveira, enquanto exemplar na longevidade com registos de árvores cultivadas e ainda em produção com 300 a 400 anos de vida, demonstra uma rusticidade que lhe permite sobreviver em condições de baixa fertilidade e aridez extrema, no entanto, quando lhe são proporcionadas ótimas condições de água e nutrientes, a produtividade é significativamente incrementada (García, 2005). Esta rusticidade deveu-se ao desenvolvimento de um conjunto de mecanismos de adaptação para sobreviver sob as condições extremas de aridez comuns na região Mediterrânica (Moreno et al, 1996, Gucci et al, 1997). As suas folhas expandem-se durante três meses, no decorrer da Primavera e são substituídas após um período de vida de dois anos (Diamantoglou and Mitrakos, 1981;

Benavente-Garcia et al., 2002); um segundo período de crescimento ocorre no Outono (Rhizopoulou et al., 1991).

A capacidade da oliveira para suportar a desidratação é limitada por uma elevada resistência interna difusa que se deve ao denso aglomerar de células do mesófilo (Giono et al., 1999; Bacelar et al., 2004). Uma camada de escamas peltadas na página abaxial foliar pode proteger as folhas da radiação excessiva e limitar as trocas gasosas das folhas. Relativamente à perda de água, estas escamas criam uma barreira rica em vapor de água que acaba por limitar a transpiração (Fahn, A., 1986; Rhizopoulou and Mitrakos, 1990; Karabourniotis et al., 1994; Proietti et al., 1997).

A *Olea europaea* L. inclui mais de 2600 variedades (I. Therios, 2009) das quais destacamos a Cobrançosa por ter sido objeto do nosso estudo.

Variedade Cobrançosa

A Cobrançosa esta disseminada por Trás-os-Montes, Ribatejo, Beira Alta e Alentejo, é uma variedade incluída nas DOP “Azeites de Trás-os-Montes”, “Azeites da Beira Alta”, “Azeites do Norte Alentejano” e “Azeites do Alentejo Interior”. Atualmente é utilizada para a produção de azeite e para conserva em verde.

A variedade Cobrançosa é, em termos morfológicos, uma árvore vigorosa e de porte aberto. As suas folhas caracterizam-se pela largura e comprimento medianos, pela forma elíptico-lanceolada e pela curvatura do limbo plana. Possui normalmente 18 a 25 flores por inflorescência e o comprimento destas últimas é curto. A forma do fruto é, por norma, ovoide e assimétrica. Esta cultivar distingue-se pela sua produtividade regular a elevada e pela sua tolerância ao frio e aos solos calcários (Cordeiro et al., 2009).

2. AS ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS

2.1. Aspetos gerais

As alterações climáticas entendem-se por mudanças do clima nas quais se verifica uma alteração anormal da composição da atmosfera global sendo esta superior à variabilidade climática natural registada em períodos de tempo comparáveis. A origem desta mudança é atribuída directa ou indirectamente à atividade humana, de acordo com a UNFCCC (Cáceres, 2017).

As alterações climáticas são assim uma realidade que já está a afetar o nosso planeta, especialmente a região Mediterrânica (Giorgi, 2006). As preocupações

debruçadas sobre o tema das alterações climáticas já nos acompanham desde o século passado, questionando-se as atividades humanas que inadvertidamente contribuem para a mudança do clima da Terra. Com efeito, a emissão crescente de gases com efeito de estufa, sobretudo de dióxido de carbono, têm contribuído para o aumento global da temperatura do planeta (Houghton et al., 1990). O IPCC relatou um aumento esperado da temperatura média global de 0,3 °C por década e pode atingir aproximadamente 1 e 3 °C acima do valor presente em 2025 e 2100, respetivamente (IPCC, 2014).

É esperado que as mudanças climáticas, juntamente com a crescente concentração de CO₂, tenham impactos extensivos nos ecossistemas e na produção agrícola, com consequências associadas à disponibilidade e distribuição de água, à ocorrência de pragas e doenças e ao desenvolvimento socioeconómico geral. Provavelmente, as variáveis mais afetadas serão a duração dos estados fenológicos, a evapotranspiração das culturas, as necessidades de irrigação e o crescimento e produção de biomassa (Osborne et al., 2000; Pereira e De Melo-Abreu, 2009; Quiroga e Iglesias, 2009).

As previsões realizadas sobre as alterações climáticas na Europa exibem uma notável maior probabilidade de aumento de fenómenos climáticos extremos com capacidade disruptiva. O aumento das cheias e da erosão costeira será fruto da subida do nível médio das águas do mar e do aumento da precipitação extrema. No sector agrícola, mais seguramente para o Sul da Europa, estão previstos o aumento da temperatura e do período de elevadas temperaturas, a redução da humidade e do período seco, o que fará disparar o risco dos incêndios florestais. A água, em perda crescente, irá existir em cada vez menos quantidade e qualidade, o que afetará o regadio agrícola, tornando-o mais caro e de pior qualidade (LPN, 2014). A seca tem suscitado uma preocupação crescente a nível mundial, estando previsto o seu aumento na periodicidade, severidade e durabilidade, o que retrata um panorama de ocorrências climáticas extremas (Sivakumar, 2012; Peterson et al., 2013). A temperatura é também um fator afetado pelas alterações climáticas, resultado do forçamento radiativo climático estimulado pelo aumento da concentração atmosférica de dióxido de carbono (Schimel et al., 1996). Prevê-se que este aumento da concentração de dióxido de carbono na atmosfera resulte num expressivo impacto direto na fisiologia e estrutura da vegetação da região Mediterrânica (Osborne et al., 2000).

2.2. Mecanismos de resistência da oliveira ao stresse hídrico

A oliveira pode sobreviver a períodos prolongados de seca através de diversos mecanismos de adaptação morfológica, fisiológica e bioquímica presentes em toda a estrutura da planta, desde as folhas até ao sistema radicular (Orgaz e Fereres, 1997; Moriana et al., 2003; Jorge Böhm et al, 2013).

É possível cultivar a oliveira em sequeiro a valores pluviométricos nunca inferiores a 400 ou 500 mm anuais (García, 2005). Dependendo da localização e das características do olival, têm-se registado valores da evapotranspiração da cultura (E_t) na ordem dos 560 a 1020 mm por ano. Estes valores dizem respeito à bacia Mediterrânica onde a evapotranspiração potencial (E_{T_0}) está na ordem dos 1000 a 1400 mm por ano (Fernández e Moreno, 1999, Testi et al., 2006).

A oliveira é uma espécie muito eficiente no uso da água. A título demonstrativo pode afirmar-se que, ao contrário de outras espécies perenes como as *Citrus* e as *Prunus*, a oliveira necessita apenas de 312 g de água para produzir 1 g de matéria seca, enquanto que as restantes necessitam de 400 e 500 g de água respetivamente para produzir a mesma quantidade de matéria seca (Therios, 2009). Aparte desta peculiaridade da oliveira, acresce-se o facto desta cultura, quando sujeita a situações severas, se adaptar através dum controlo estomático muito eficiente (Giorio et al., 1999), garantindo um estado hídrico das plantas adequado e essencial para o crescimento contínuo (Bosabalidis e Kofidis 2002; Athar e Ashraf, 2005; Ben Ahmed et al.2007).

Enquanto espécie tipicamente mediterrânica, a oliveira possui um nível elevado de resistência à seca e a outros stresses ambientais (Bongi e Long, 1987; Connor e Fereres, 2005; Bacelar et al, 2007). No entanto, em algumas condições extremas, a redução artificial dos fatores abióticos “stressantes”, como por exemplo a redução da radiação excessiva pode aliviar as limitações não estomáticas da fotossíntese em plantas em stresse hídrico, confirmando a hipótese da sombra atenuar os efeitos do défice hídrico e da radiação excessiva (Sofo et al., 2009).

As oliveiras mantêm uma elevada taxa de fotossíntese durante longos períodos de stresse (Dichio et al., 2004). Uma taxa fotossintética mais elevada sob o efeito do défice hídrico é um fator decisivo para uma melhor tolerância ao défice hídrico em cultivares de oliveira (Bacelar et al., 2007). A menor expansão foliar é também determinante na capacidade fotossintética, na medida em que contribui para menor superfície foliar exposta a perder água por transpiração (Marchi et al., 2007). Além de variáveis

fisiológicas e ambientais, diversos fatores endógenos (sinais hidráulicos e químicos) parecem contribuir para um controle mais apertado da condutância estomática em oliveiras (Jones, 1998; Moriana et al., 2002). Para além dos efeitos estomáticos, a fixação fotossintética de CO₂ pode ser limitada de forma mais direta por fatores não estomáticos, como restrições bioquímicas (Lawlor e Cornic, 2002, Munns e Tester, 2008). Esta limitação provoca a sobre redução da cadeia de electrões fotossintéticos. O dano gerado no aparelho fotossintético deve-se principalmente a um desequilíbrio entre a captura de luz e o respetivo uso. As medições de fluorescência de clorofila podem fornecer informações úteis sobre a integridade do aparelho fotossintético e revelar danos potencialmente induzidos pelo stresse hídrico no PSII (Genty et al. 1989; Angelopoulos et al. 1996; Maxwell and Johnson 2000).

2.3. Efeitos fisiológicos da falta de água na oliveira

Os efeitos fisiológicos do stresse hídrico na oliveira levam desde logo a mudanças no estado hídrico das folhas e no metabolismo da assimilação de carbono (Wang et al., 2003). Especificamente, o ajustamento osmótico (Dichio et al, 2006), a redução de trocas gasosas (Moriana et al, 2002), a regulação de algumas enzimas antioxidantes (Sofa et al, 2005), o surgimento de alterações anatómicas na folha (Chartzoulakis et al, 1999) e ainda a capacidade de extração de água do solo graças a um sistema radicular profundo e a um gradiente potencial hídrico elevado (Fernandez et al, 1997) são alguns dos mecanismos de resistência que as plantas desencadeiam para se adaptarem a essa condição. Porém, a regulação apertada do controlo estomático implica redução da taxa fotossintética líquida e conseqüentemente do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da planta (Chartzoulakis et al, 1999).

Estudos em oliveiras submetidas à *secura* revelam ainda que este stresse provoca nas plantas taxas de crescimento relativamente mais baixas. Em geral, as relações hídricas são debilitadas. Conseqüentemente, os principais parâmetros de trocas gasosas foliares (g_s e E), bem como o conteúdo em pigmentos fotossintéticos (clorofila a+b e carotenoides) decrescem significativamente. Boussadia et al. (2008) estudaram a resposta de duas cultivares de oliveira, cv. Koroneki e Meski, ao défice hídrico, verificando que a redução da condição hídrica da planta foi seguida da redução da condutância estomática e, por sua vez, da taxa de assimilação líquida de CO₂. Boyer et al. (1987), para além dessas limitações, ditas não estomáticas, realçaram também as limitações que ocorrem

nos próprios cloroplastos, como a inibição da fotoquímica primária e a perda de eficácia do transporte de elétrons nos tilacoides, como as principais causas da inativação da atividade fotossintética.

A oliveira tem sido apontada como um indicador sensível das alterações climáticas, quer em termos fenológicos, quer em termos fisiológicos e morfológicos (Osborne et al., 2000). A folha é o órgão vegetal que, comparativamente ao caule e às raízes, mais reage às condições ambientais (Nevo et al., 2000). Estudos desenvolvidos por Bacelar et al. (2004) enaltecem que as variedades de oliveiras que revelam maior esclerofilia, nomeadamente maior densidade de tecido foliar e cutículas e camadas de tricomas mais espessas, são as que estão melhor adaptadas às condições de maior restrição hídrica. Ao mesmo tempo, as mudanças na elasticidade da parede celular podem também contribuir para a manutenção da turgescência sob condições de seca (Patakas e Noitsakis, 1999). As alterações das características anatómicas das folhas modificam positivamente os componentes de difusão do CO₂ desde os espaços intercelulares até ao estroma dos cloroplastos, contribuindo para a manutenção das taxas fotossintéticas apesar da baixa condutância estomática (Chartzoulakis et al., 1999; Evans e Loreto, 2000). Boughalleb e Hajlaoui (2011) verificaram em duas variedades de oliveiras, cv Zalmati e Chemlali, que o stresse hídrico causou um declínio acentuado na capacidade fotossintética e na fluorescência da clorofila. A taxa fotossintética líquida, a condutância estomática, a taxa de transpiração e a eficiência fotoquímica máxima de PSII (F_v/F_m) diminuíram à medida que o stresse hídrico aumentava. Além disso, as condições de défice hídrico reduziram a clorofila foliar e o conteúdo de carotenoides especialmente em condições de stresse hídrico severo.

A disponibilidade de água afeta também o desenvolvimento geral e a composição das azeitonas induzindo ligeiras alterações no sabor do azeite resultante (d'Andria et al., 2009, Gomez-Rico et al., 2009, Martinelli et al., 2012a, b). Tem sido dada particular atenção às mudanças nos nutracêuticos, tais como os fenóis, que estão presentes como uma mistura complexa nas azeitonas e no azeite (Patumi et al., 2002, de Gomez-Rico et al., Martinelli e Tonutti, 2012) e caracterizada por propriedades antioxidantes, anti-aterogénicas e anti-cancerígenas (Hashim et al., 2008; Llorente-Cortes et al., 2010). Embora o teor fenólico nas azeitonas possa variar de acordo com o genótipo, as azeitonas colhidas de oliveiras irrigadas em geral manifestam uma menor acumulação de fenóis totais (Tovar et al., 2001, Martinelli et al., 2012a, b).

2.4. Uso de substâncias exógenas para aumentar a resistência da oliveira ao stresse hídrico: o ácido salicílico

O ácido salicílico (SA) ou ácido 2-hidroxibenzóico (Dempsey et al., 2011) é uma hormona natural de natureza fenólica. Em geral, atua como molécula sinalizadora, induzindo na planta várias respostas de defesa contra stresses bióticos e abióticos, tais como radiação ultravioleta, seca, temperaturas extremas, metais pesados e patogénicos (Senaratna et al. 2000, Ananieva et al. 2004, Mahdavian et al. 2008, Wen et al. 2008, Guo et al. 2009, Mutlu et al. 2009a, Fu et al. 2011, Hao et al. 2011, Kadioglu et al. 2011, Mutlu and Atici 2013, Saruhan et al. 2012, Song et al. 2012).

O ácido salicílico além de atuar como molécula sinalizadora, também regula a biogénese dos cloroplastos (Uzunova e Popova, 2000), atividade fotossintética (Fariduddin et al., 2003), gravitropismo (Medvedev e Markova, 1991) e inibição da maturação do fruto (Srivastava e Dwivedi, 2000). Naturalmente as plantas, quando sujeitas a condições de stresse, induzem a biossíntese de um nível elevado de SA, contribuindo para a ativação de vários outros compostos de defesa (Davies, 2004). No que aos efeitos do aumento da biomassa e da maior capacidade de reprodução de várias espécies diz respeito, estes devem-se à ação de concentrações mais baixas de SA. Dessas espécies podem enumerar-se como exemplos a cenoura (Eraslan et al., 2007; Hayat and Ahmad, 2007), o trigo (Arfan et al., 2007), o milho (Amin et al., 2013), a papaia (Hayat and Ahmad, 2007), a pimenta verde (Elwan and El-Hamahmy, 2009), a cevada (Hayat et al., 2010) e o manjeriço e manjerona (Gharib, 2013). A indução de uma melhor taxa fotossintética registou-se nas espécies de feijão e tomate (Senaratna et al., 2000; Szepesi et al., 2009).

De acordo com Kissoudis et al. (2014), a maior parte das respostas das plantas ao SA são reguladas por hormonas vegetais que nunca atuam isoladamente. Wang e Irving (2011) constataram que esta interação sinérgica ou antagónica leva a alterações nas respostas biológicas, visando a manutenção ou incremento da tolerância da planta ao stresse hídrico. Quantificar e monitorizar o efeito acumulado das interações hormonais da planta pode, assim, elucidar sobre as vias de indução do ácido salicílico e decifrar seu papel no desempenho da planta. Além disso, nem sempre as respostas das plantas são correlacionadas com sucesso com o conteúdo hormonal total dos tecidos e o conhecimento da localização precisa das fito hormonas dentro dos compartimentos

celulares aumentaria a compreensão acerca do seu modo de ação e do seu envolvimento nas respostas das plantas (Pastor et al. 1999).

A aplicação exógena de SA tem sido considerada uma solução de curto prazo para melhorar os efeitos adversos do déficit hídrico nas plantas (Singh e Usha 2003). Porém, o modo preciso de ação deste regulador permanece incerto (Hayat et al., 2010), sobretudo em culturas arbóreas como a oliveira. Existem vários registos científicos que associam o papel do ácido salicílico nas plantas à resposta a stresses abióticos, como a seca a título de exemplo (Singh and Usha 2003; Bandurska and Stroinski 2005; Hayat et al. 2008). No desempenho deste papel, ocorre uma “modelação” dos principais processos metabólicos e fisiológicos da planta pela mesma, em resposta à complexa rede de sinalização do ácido salicílico (Jesus et al., 2015).

Em geral, este composto exerce influência sobre a fotossíntese, sendo capaz de aumentar a taxa de assimilação líquida de CO₂ e a área foliar da planta (Khan et al., 2003) e de promover o crescimento e o rendimento das plantas (Arfan et al., 2007). Quando sujeitas a um pré-tratamento com ácido salicílico, as plantas sujeitas a stresse hídrico apresentam um melhor conteúdo relativo de água, bem como um melhor potencial hídrico foliar, uma menor perda de eletrólitos e um menor nível de peroxidação lipídica (Hayat et al., 2008; Yazdanpanah et al. 2011). A acumulação de ácido salicílico pode influenciar vários antioxidantes enzimáticos, as quantidades e o estado redox do ascorbato e da glutathione em plantas expostas a vários stresses bióticos e abióticos (Chen et al. 1997; Fodor et al. 1997; Rao et al. 1997; Dat et al. 1998a). Estudos prévios indicam que o ácido salicílico provoca a inibição da atividade do CAT (Sanchez-Casas and Klessig, 1994) e da melhoria dos níveis de H₂O (Rao et al. 1997), e assim resulta numa peroxidação lipídica pesada e num dano oxidativo (Rao et al. 1997). É sugerido num estudo realizado com folhas de cevada cv. Hulless Tibetano que um maior teor de H₂O₂ após o tratamento com ácido salicílico pode induzir a produção de mais radicais hidroxilo sob stresse hídrico e níveis baixos de proteínas (Sun et al., 2005).

Os registos de Borsani et al. (2001) demonstraram que o ácido salicílico não é capaz de induzir a tolerância aos stresses abióticos em todos os tipos de plantas e que a eficácia do ácido salicílico em induzir tolerância ao stresse depende do tipo da espécie da planta. Um aspeto importante que foi possível relatar prende-se com a relação entre a maioria dos stresses abióticos regulados pelo ácido salicílico nas plantas e as respostas anti oxidativas, o que sugere que o ácido salicílico, enquanto uma molécula interna sinalizadora, interage com a via do sinal ROS. O ácido salicílico induz a síntese de

proteínas cinases, que desempenham um papel importante na regulação da divisão celular, diferenciação e morfogénese (Zang e Liu, 2001; El-Tayeb 2005).

CAPÍTULO III - MATERIAL E MÉTODOS

Localização geográfica, material vegetal e condições experimentais

A parte experimental foi realizada no Campus da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (latitude 41°17'17.65"N, longitude 7°44'12.53"W e altitude 449m), situado no concelho de Vila Real. A experiência decorreu durante 67 dias, com início em Julho e término no final do primeiro decanato de Setembro. A temperatura média mensal no período do ensaio foi inferior à temperatura média do período 1981-2010 em 0,9, 1,0 e 1,6 °C nos meses de julho, agosto e setembro, respetivamente. A precipitação acumulada durante o período experimental foi de 29,7 mm, praticamente concentrada durante o mês de Julho (29,3 mm), um valor bastante superior ao da normal climatológica (17,1 mm).

Utilizou-se como material vegetal plantas de oliveira (*Olea europaea* L. cv. Cobrançosa), com três anos de idade, cultivadas em vasos de 20 dm³. Os vasos foram revestidos com filme de plástico e papel de alumínio para diminuir a evaporação da superfície do solo e reduzir a temperatura dentro do mesmo, bem como para evitar a entrada de água de precipitação.

As plantas, com características idênticas de altura e área foliar, foram divididas em dois grupos de 12 indivíduos: o primeiro grupo foi pulverizado com água destilada e foi submetido a 3 ciclos sucessivos de défice hídrico, por exclusão de rega, seguido por um período de recuperação. A duração do período de défice hídrico nos 2 primeiros ciclos foi imposta pelas condições climáticas (eventos de precipitação), enquanto que o terceiro ciclo de défice hídrico terminou quando a condutância estomática para o vapor de água (g_s) ao meio-dia solar desceu abaixo de 50 mmol m⁻² s⁻¹ (WS); O segundo grupo de plantas foi pulverizado com 0,1 mM de ácido salicílico e mantido nas mesmas condições de WS (SA2). Entre cada ciclo de défice hídrico, as plantas WS e SA2 foram regadas diariamente, até à capacidade de campo, até a fotossíntese líquida (A) ter sido restaurada para valores próximos dos encontrados em plantas continuamente colocadas à capacidade de campo (plantas não inseridas no presente trabalho). O volume de água necessário para atingir a capacidade do campo foi determinado gravimetricamente em cada vaso. O 1º ciclo de défice hídrico/recuperação teve a duração de 12-6 dias, o 2º 9-3 dias e o 3º 21-16 dias. A disposição espacial dos vasos foi alterada semanalmente para minimizar os efeitos decorrentes da variação das condições experimentais.

Cada grupo de 12 indivíduos foi dividido em dois subgrupos de 6 plantas, (i) um foi destinado para análises fisiológicas periódicas e o segundo (ii) manteve-se intacto ao

longo da experiência, sendo destinado à análise de acumulação de biomassa e avaliação de indicadores de crescimento. Todas as medidas fisiológicas, detalhadas em baixo, foram realizadas em 6 folhas adultas de cada tratamento. Os dados apresentados foram obtidos em 3 períodos do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 e 21 dias após a exclusão da rega, e 7 dias após a recuperação com rega diária até à capacidade de campo.

Avaliação da produção de biomassa e índices de crescimento

No presente estudo procedeu-se à análise da acumulação de biomassa por amostragem destrutiva das plantas no fim do período experimental e posterior determinação do respetivo peso seco. O peso seco foi determinado numa balança de precisão, após secagem do material em estufa com extração forçada de ar, a 70 °C, até peso constante. A área foliar das plantas foi avaliada com o sistema de análise de imagem WinDIAS (Delta-T Devices Ltd., Inglaterra). No início da experiência foi efetuada uma análise destrutiva de 6 plantas para permitir o cálculo da taxa média de assimilação aparente (NAR).

A partir dos elementos primários (biomassa e área foliar) foi calculada a NAR que define a eficiência da produção líquida do aparelho assimilatório, ou seja, a taxa de aumento de peso seco em função da área foliar, mediante a expressão:

$$\text{NAR (gm}^{-2}\text{dia}^{-1}) = (W_{t2}-W_{t1})/(t_2-t_1).(1/\overline{AF})$$

em que:

(W_{t1} , W_{t2} = peso seco total da planta no início e no fim do período experimental, respetivamente; (t_2-t_1) = número de dias do período experimental; \overline{AF} = área foliar média no período de tempo considerado).

Índices de esclerofilia e estado hídrico

Para o estudo dos parâmetros de esclerofilia e estado hídrico, as amostras foliares, retiradas de uma posição similar nas árvores, foram imediatamente colocadas em copos hermeticamente fechados de modo a evitar perdas por transpiração. No laboratório foram examinados os seguintes parâmetros: área foliar (LA, cm²), utilizando um medidor de área foliar de bancada ligado a um computador com o sistema de análise de imagem WinDIAS (Delta-T Devices Ltd., Inglaterra); peso fresco (FM; g); peso turgido (TM; g), medido depois da imersão dos pecíolos foliares em água destilada por 48 horas, às escuras a uma temperatura de 4 °C; e peso seco (DM; g), medido depois das folhas serem

desidratadas numa estufa a 70 °C até atingirem um peso constante. Posteriormente, foram calculados os índices de esclerofilia: massa por unidade de superfície foliar ($LMA = DM/LA$; $g\ m^{-2}$) e densidade do tecido foliar ($D = (DM/FM) \times 1000$; $g\ kg^{-1}$). Para as mesmas folhas foram também calculados os índices de estado hídrico: conteúdo relativo em água ($RWC = (FM - DM)/(TM - DM) \times 100$; %), conteúdo em água com as folhas saturadas ($H_2O\ sat. = (TM - FM)/DM$; $g\ H_2O\ g^{-1}\ DM$) e succulência ($S = (FM - DM)/LA$; $mg\ H_2O\ cm^{-2}$).

Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

A medição das trocas gasosas foi feita usando um analisador de gás por infravermelhos (IRGA LCpro+, Hoddesdon, UK), em modo diferencial e em circuito aberto. As medições foram efetuadas em dois períodos do dia (manhã e meio-dia solar), em dias de céu limpo sob condições ambientais e de irradiância natural, em folhas adultas e bem expostas. O cálculo da taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E) e a razão da concentração do CO_2 intercelular e atmosférico (C_i/C_a), foi feito a partir das equações desenvolvidas por von Caemmerer e Farquhar (1981). A eficiência intrínseca do uso da água foi calculada a partir da razão A/g_s .

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram medidos *in situ*, nas mesmas folhadas usadas para a determinação das trocas gasosas, com um fluorímetro PAM (FMS 2, Hansatech Instruments, Norfolk, England), como descrito por Öquist e Wass (1988). Em folhas expostas à luz, aumentou-se a luz actínica de um fluxo de fótons de 300 para 1500 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$. Depois de 20 segundos de exposição a cada irradiância, foi medida a fluorescência no equilíbrio (F_s) por 2,5 segundos, seguindo-se uma exposição a luz saturada (15000 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$) por 0,7 segundos para calcular o F'_m . Para determinar o F'_0 ensombrou-se a amostra de folhas por 5 segundos com uma fonte de luz vermelho-longínquo. Estes parâmetros foram usados para determinar o “quenching” fotoquímico ($qP = (F'_m - F_s)/(F'_m - F'_0)$), o “quenching” não-fotoquímico ($qN = 1 - F'_v/F_v$), e o rendimento quântico efectivo do PSII ($\Phi_{PSII} = \Delta F/F'_m = (F'_m - F_s)/F'_m$) (Bilger e Schreiber, 1986; Genty *et al.* 1989). A taxa de transferência de eletrões ($ETR = (\Delta F/F'_m) \times PPFD \times 0.5 \times 0.84$) foi calculada de acordo com Krall e Edwards (1993). Para a determinação da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (PSII; F_v/F_m), uma parte das folhas foi adaptada ao escuro durante 30 minutos. Depois deste período, mediu-se a fluorescência basal (F_0) quando todos os centros de reação do PSII estavam abertos, usando um pulso de luz de

baixa intensidade. A fluorescência máxima (F_m) foi medida quando todos os centros de reação do PSII estavam fechados durante um pulso de luz saturada (pulso de 0,7 s de $15000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz branca). A diferença entre estes dois níveis ($F_m - F_0$), dá-nos a fluorescência variável (F_v).

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi feita usando a análise de variância a um fator no programa SuperANOVA (Abacus Concepts Inc., USA). Para a comparação de médias utilizou-se o teste de Tukey ($P < 0,05$).

CAPÍTULO IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando a Figura 1, verifica-se que a biomassa média total acumulada por planta foi consideravelmente superior nas oliveiras sujeitas a tratamento com ácido salicílico do que nas plantas usadas como testemunha. Estes efeitos positivos do SA foram também verificados em outras espécies e condições ambientais (Singh e Usha, 2003; Esteves, 2011; Martel e Qaderi, 2016).

A produção primária está dependente da radiação interceptada pelos órgãos fotossintéticos durante a estação cultural, sendo esta função da área foliar e da duração da área foliar, e do balanço entre a eficiência da conversão dessa radiação em biomassa e as perdas respiratórias, o qual pode ser inferido, com alguma aproximação, pela NAR, uma medida da eficiência da produção líquida do aparelho assimilatório (Correia, 2000). No presente estudo, a maior acumulação de biomassa nas plantas sujeitas a ácido salicílico esteve relacionada com o incremento ligeiro, ainda que não significativo ($P=0,147$) da área foliar (Figura 2), o que conduziu a uma menor capacidade de absorção de radiação solar durante o período experimental, e fundamentalmente com o incremento de NAR (Figura 3), mostrando que a aplicação de SA melhorou o balanço entre os ganhos obtidos no processo fotossintético e as perdas verificadas nos processos respiratórios. Um maior efeito do SA em NAR no que na dimensão da área foliar foi também verificado em sobreiros sob déficit hídrico (Esteves, 2011). Por outro lado, não houve diferenças significativas na duração da área foliar (resultados não apresentados).

Sendo a área foliar total por planta uma variável de extrema importância na intercepção de radiação fotossinteticamente ativa, é de referir que a tendência para o seu aumento nas plantas SA esteve associada com a tendência ($P=0,09$) para o aumento da área de cada folha (Figura 4), e não à influência do SA no número de folhas (Figura 5). A maior dependência da área foliar em relação à área por folha foi também verificada em outros estudos (Correia, 2000).

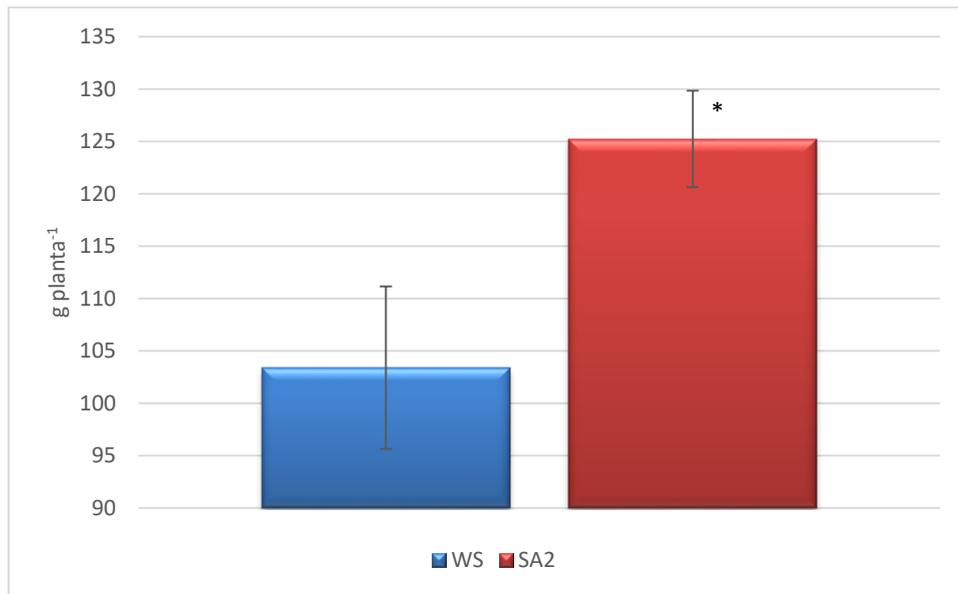


Figura 1. Biomassa total média por planta sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

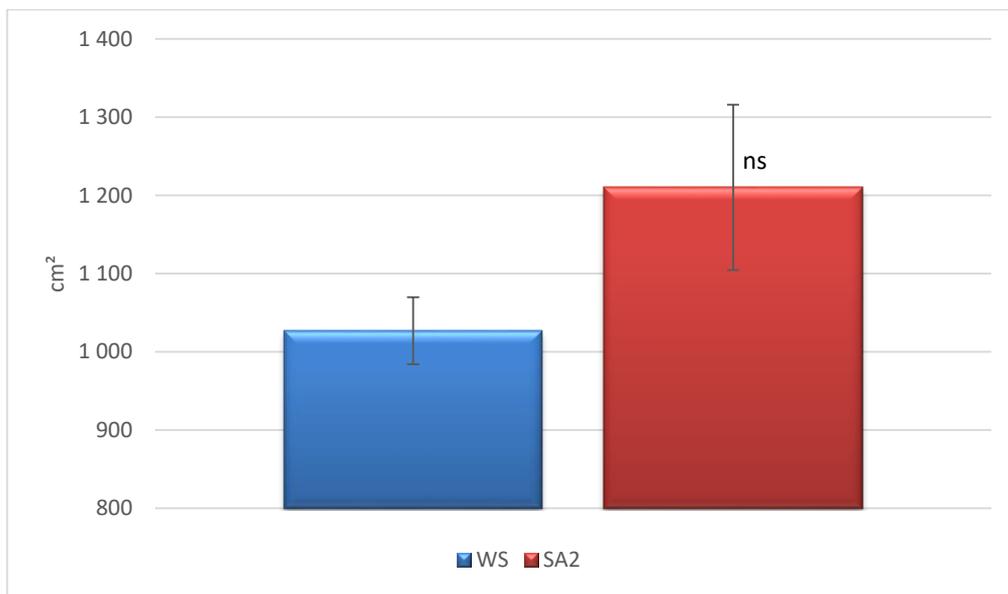


Figura 2. Área total média por planta sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: ns - não significativo.

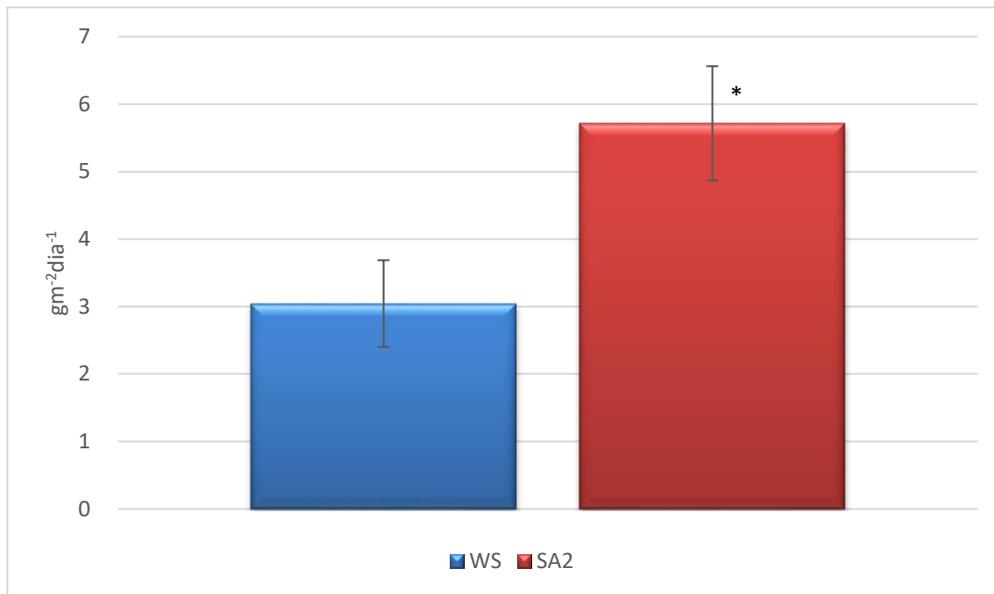


Figura 3. Taxa de assimilação aparente das plantas sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

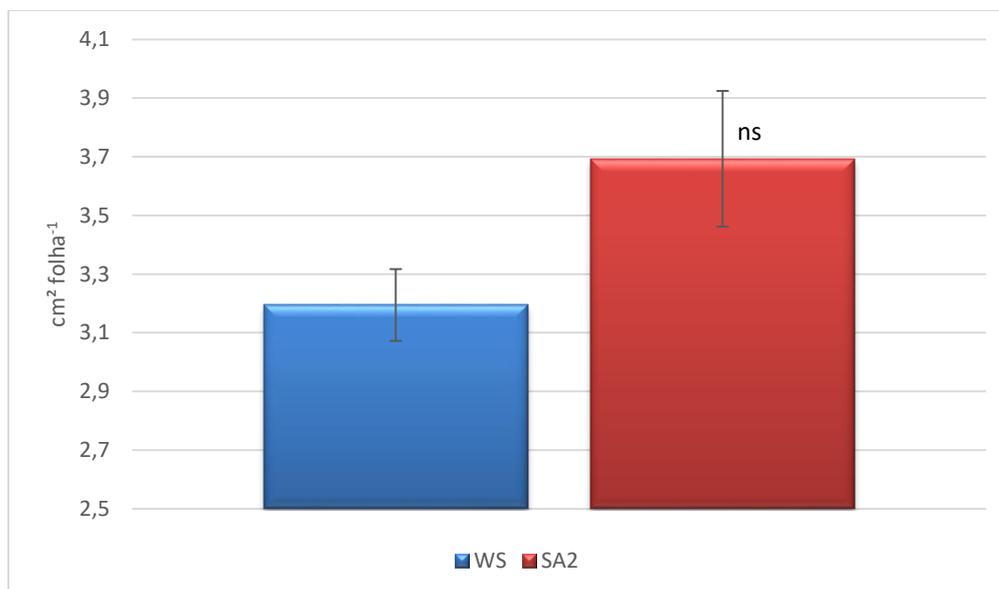


Figura 4. Área média por folha de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: ns - não significativo.

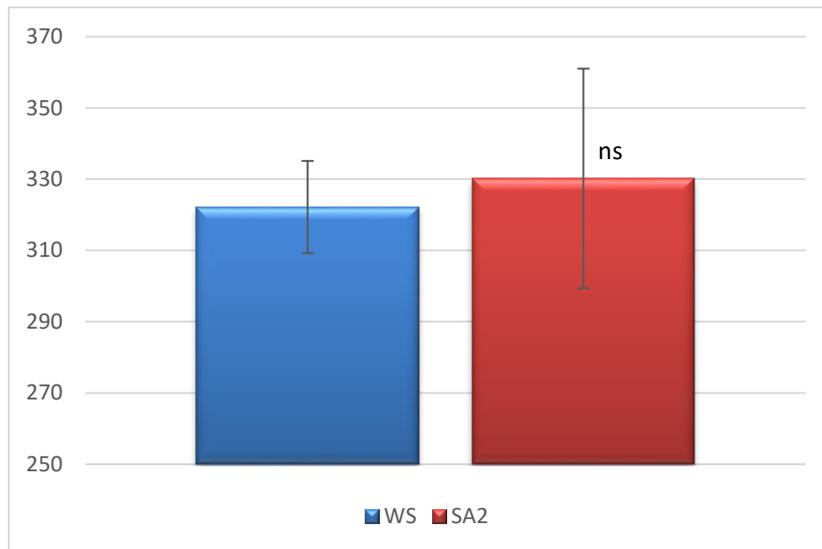


Figura 5. Número médio de folhas por planta sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2).
Nível de significância: ns - não significativo.

O aumento de NAR nas plantas que receberam a aplicação de SA sugere que o SA contribui para a melhoria da atividade fotossintética das plantas em condições de déficit hídrico. De facto, pela observação da Figura 6 é possível constatar que as plantas do tratamento SA apresentam valores de A superiores, particularmente no pico do stresse, em 25 de agosto, e em especial durante o período mais crítico do dia para a atividade fotossintética da oliveira nestas condições ambientais, o meio-dia solar. Assim, podemos constatar que a aplicação de SA contribui para a redução da “depressão” da atividade fotossintética durante o período de máxima irradiância solar. Resultados positivos da aplicação de AS na taxa de fotossíntese líquida foram também obtidos por outros autores (Khan *et al.*, 2003; Martin-Mex *et al.*, 2003; Shakirova, 2007; Wang *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2011). Por outro lado, é ainda evidente que a taxa de fotossíntese das plantas SA permanece superior às plantas controlo uma semana após o início da reidratação. A fraca recuperação da atividade fotossintética após os 7 dias de recuperação demonstra que a recuperação de A foi claramente afetada pela duração e intensidade do período de stresse a que as plantas estiveram previamente sujeitas, embora as condições climáticas no dia da avaliação das trocas gasosas, nomeadamente a baixa intensidade luminosa, também tenha contribuído (dados não apresentados).

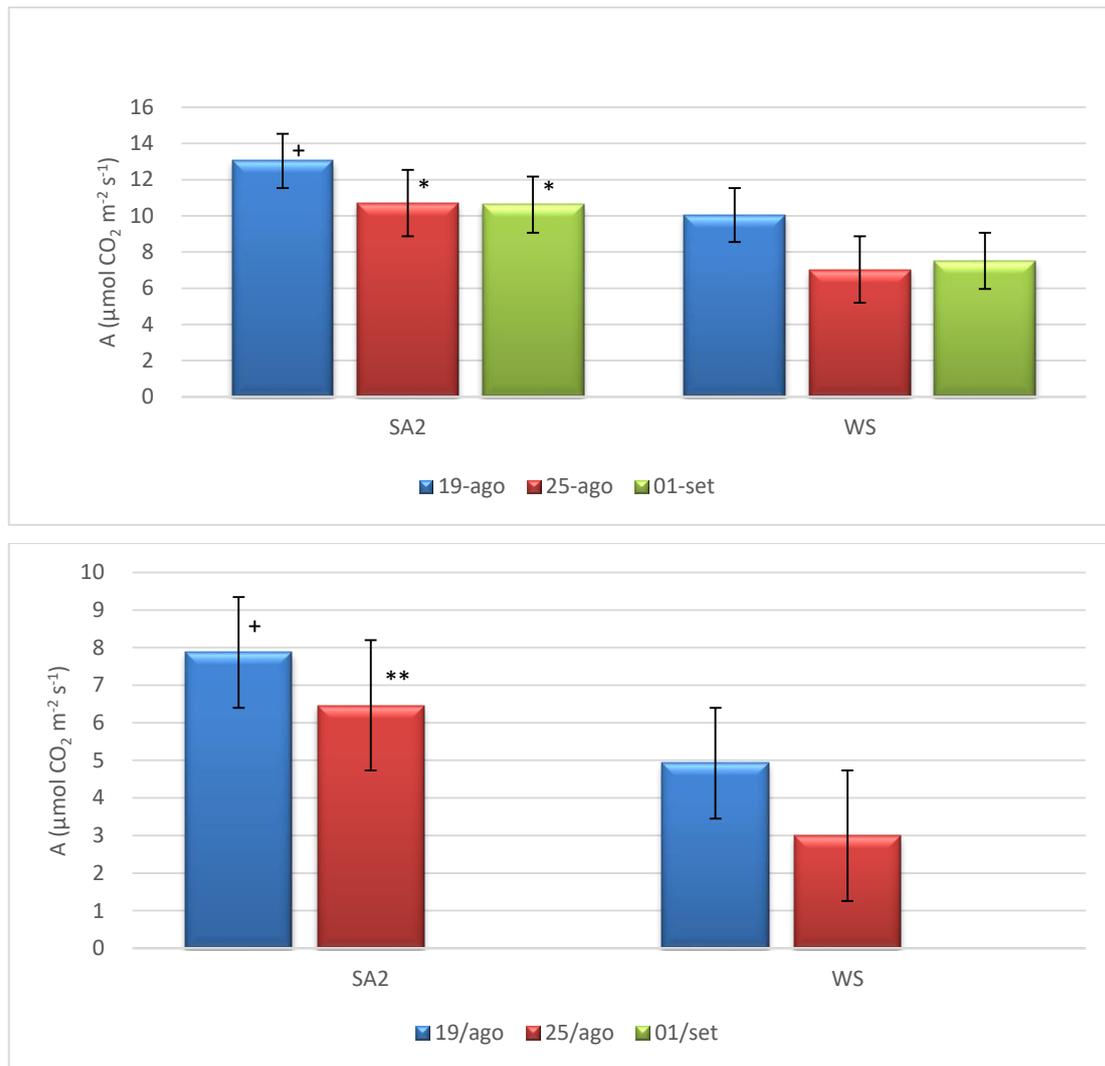


Figura 6. Taxa de fotossíntese líquida durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: + - Estatisticamente significativo para $0,05 < P < 0,1$; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$; ** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,01$.

A melhoria do comportamento fotossintético das plantas tratadas com SA, apresentado anteriormente, está fortemente associada com a diminuição das limitações estomáticas, a atestar pelo aumento da condutância estomática (Figura 7). Esta resposta encontra-se em concordância com a melhoria do estado hídrico nas plantas SA, a atestar pelos valores superiores de RWC e grau de suculência das folhas, particularmente notória no pico do 3º ciclo de stress (Quadro 2). Não tendo existido modificações relevantes na estrutura das folhas no final da experiência, atendendo à semelhança dos valores de LMA (Figura 8), podemos levantar como hipóteses para o melhor estado hídrico das plantas SA

a maior capacidade de absorção/transporte de água e/ou a maior capacidade de ajustamento osmótico. Estudos posteriores poderão dar resposta a estas hipóteses. Em qualquer caso, foi evidente uma modificação estrutural das folhas das plantas testemunha ao longo da experiência como se demonstra pela variação da densidade das folhas (Quadro 2). Com efeito, verificou-se um claro aumento da densidade no pico do défice hídrico que foi posteriormente revertido com a reidratação. De acordo com Witkowski e Lamont (1991), as variações na densidade foliar podem ser o resultado de diferenças na espessura e densidade da cutícula e paredes celulares, inclusões nas células (grãos de amido, cristais), na proporção de espaços intercelulares, no número e arranjo de células do mesófilo clorofilino, na presença de escleritos e dimensão dos feixes vasculares. As folhas com maior densidade estão mais aptas a sobreviver a um período de seca severa devido a uma maior resistência aos danos físicos causados pela dessecação (Mediavilla *et al.*, 2001). As folhas com alta densidade são ainda mecanicamente mais estáveis do que as folhas de baixa densidade, e isso pode ser decisivo para o seu maior período de vida (Niinemets, 2001). Portanto, a ausência de variações na densidade das folhas nas plantas SA ao longo do período de défice hídrico pode ser entendido como o resultado de essas plantas se encontrarem em melhor estado fisiológico, não necessitando de investir tanto em mecanismos protetores. Acrescente-se que o investimento em mecanismos protetores implica o desvio de importantes recursos energéticos que poderiam estar a ser canalizados para o crescimento/acumulação de biomassa.

A ligação entre a componente estrutural e o estado hídrico foi também aferida pelo conteúdo de água com as folhas saturadas (Quadro 2). Abd-El-Rahman e colaboradores (1966) encontraram, em condições mediterrânicas, valores de $1,59 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ DM}$ em oliveira e valores bem superiores em figueira e videira ($5,77$ e $5,85 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ DM}$, respetivamente). Neste estudo encontramos valores ainda inferiores, nomeadamente nas plantas controlo no pico do stresse, o que traduz uma boa capacidade da oliveira para sobreviver em ambientes áridos. O maior valor nas plantas SA no período experimental mais crítico demonstra, mais uma vez, que essas plantas se encontravam em melhor estado funcional.

Os efeitos da maior condutância estomática nas plantas SA fez-se também sentir no aumento da taxa de transpiração (Figura 9), apesar de essa associação não apresentar uma correspondência perfeita, atendendo a que apenas se verificaram diferenças

significativas na taxa de transpiração no pico do período de stresse e durante o período do meio-dia solar, quando o VPD atinge valores mais elevados que durante a manhã.

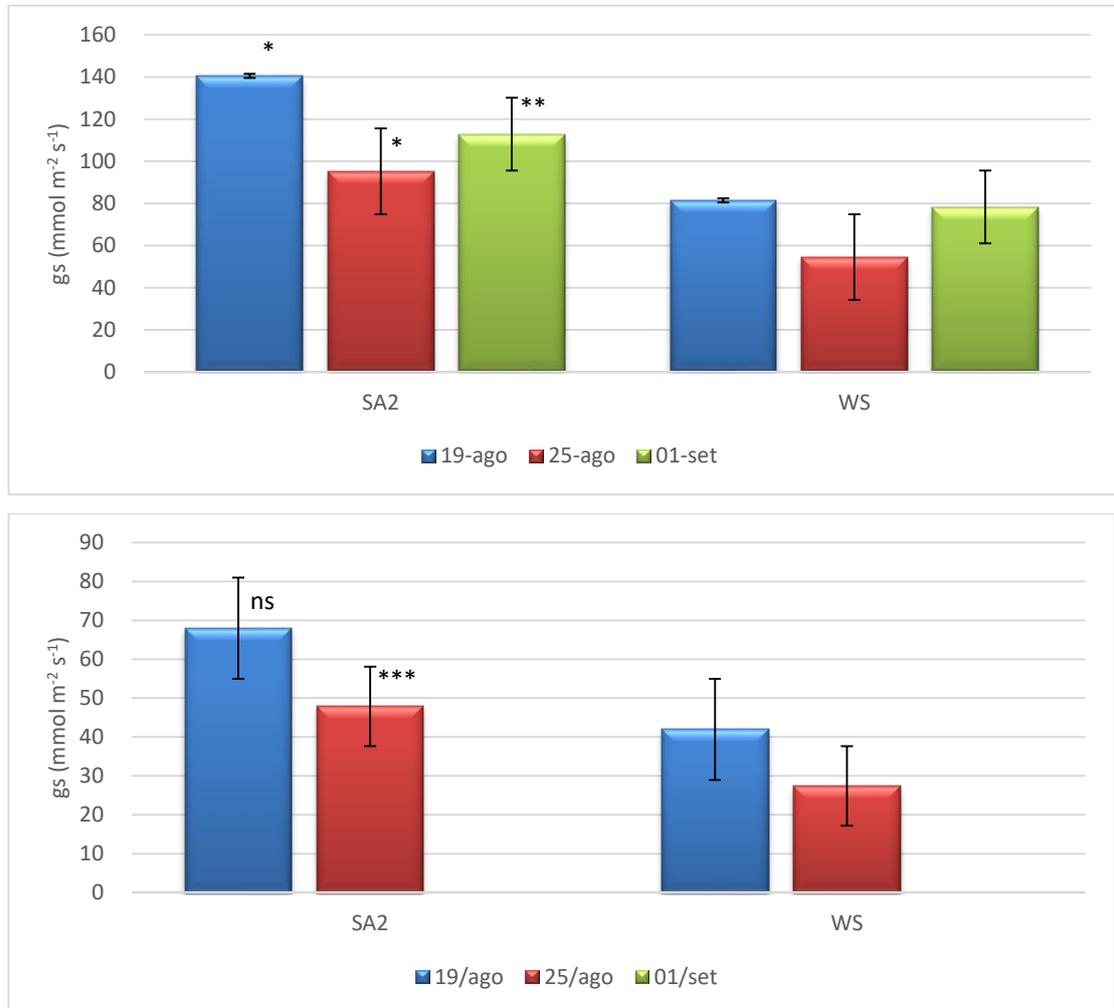


Figura 7. Condutância estomática durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$; ** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,01$; *** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,001$.

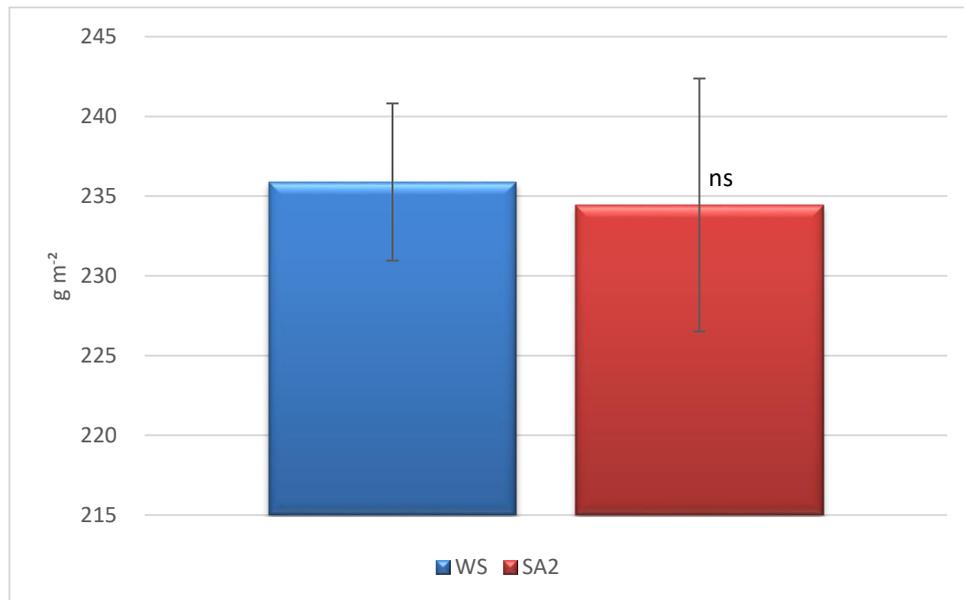


Figura 8. Massa foliar por unidade de área (LMA) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2). Nível de significância: ns - não significativo.

Quadro 2 Conteúdo relativo em água (RWC), conteúdo em água com as folhas saturadas (H₂O sat.), suculência e densidade das folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 e 21 dias após a exclusão da rega e 7 dias após a recuperação. Médias com letras diferentes, em cada data, são significativamente diferentes a $P < 0,05$.

		15 dias	21 dias	7 dias
RWC (%)	SA2	91,0	87,0 a	96,8
	WS	84,9	64,7 b	93,7
H₂O sat. (g g⁻¹ DW)	SA2	1,334	1,350 a	1,221
	WS	1,385	1,269 b	1,236
Suculência (mg cm⁻²)	SA2	27,9	27,4 a	26,3 a
	WS	25,5	18,1 b	24,0 b
Densidade (g kg⁻¹)	SA2	451,8	461,6 b	458,7
	WS	460,2	549,2 a	464,0

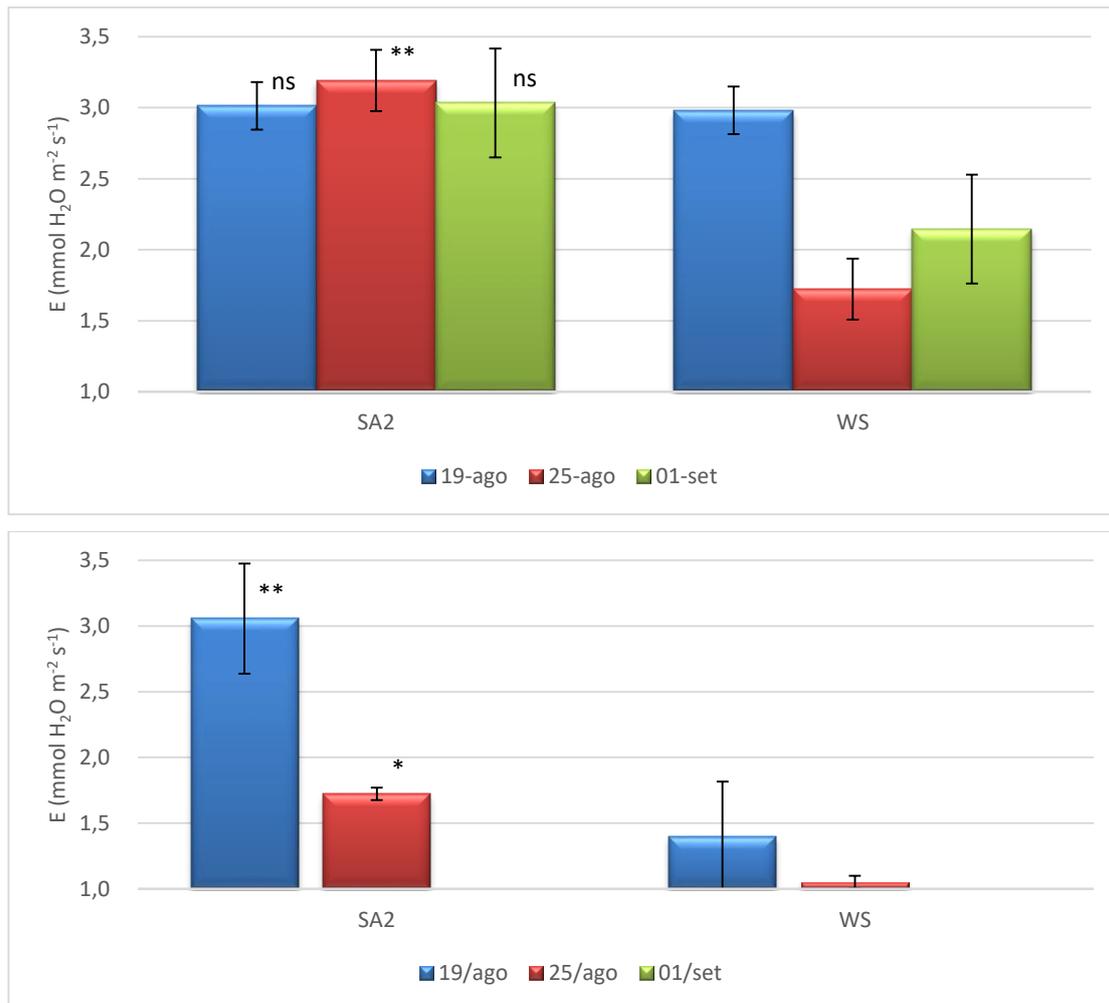


Figura 9 Taxa de transpiração foliar durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$; ** - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,01$.

A análise conjunta da taxa de fotossíntese líquida e da condutância estomática permite inferir que a eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) diminuiu nas plantas SA na 1ª data de amostragem apresentada, durante o período da manhã (Figura 10), mas não se alterou significativamente nas outras datas e períodos do dia. Estes resultados dão pleno suporte à existência de limitações estomáticas durante a fase inicial do stresse e durante a manhã, o período menos crítico para a fotossíntese da oliveira. Normalmente, em condições de déficit hídrico suave a moderado, a eficiência intrínseca do uso da água tende a aumentar (Bacelar *et al.*, 2012). Por outro lado, os resultados de A/g_s nos outros períodos configuram a existência de outras limitações para a atividade fotossintética, particularmente mais evidentes nas plantas testemunha durante o período do meio dia-

solar. Com efeito, é notória a clara tendência para a diminuição de A/g_s da manhã para a tarde nas plantas testemunha, enquanto nas plantas SA a tendência é de sinal contrário, denotando que as plantas SA se encontram num estado de stresse menos severo. Diminuição de A/g_s em condições de stresse severo foram igualmente verificados por Bacelar *et al.* (2012).

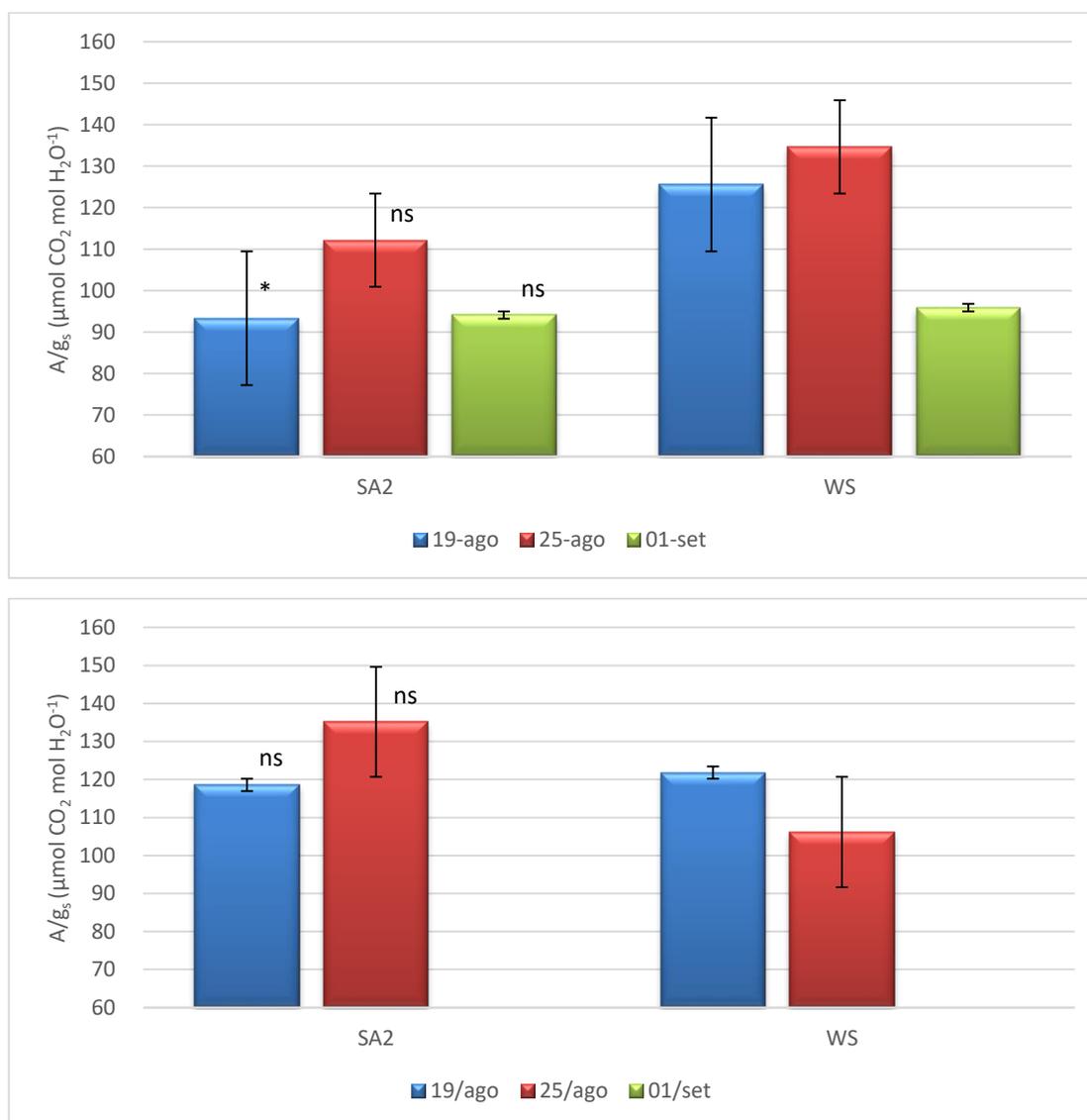


Figura 10. Eficiência intrínseca do uso da água durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

A redução na condutância estomática associada ao padrão comportamental da razão C_i/C_a apresentada na Figura 11 comprova que os componentes não estomáticos desempenham um papel importante na limitação da fotossíntese quando as plantas são submetidas a condições de déficit de água prolongado, nomeadamente durante o pico do stresse e com maior evidência durante o período do meio-dia solar. No entanto, com a comportamento daquelas variáveis é possível admitir que as plantas SA estão também sujeitas a menores limitações não estomáticas. Dentre as limitações mesofílicas possivelmente envolvidas destacam-se as alterações nas reações fotoquímicas do PSII, no transporte de eletrões e nas reações de carboxilação (Bacelar, 2007).

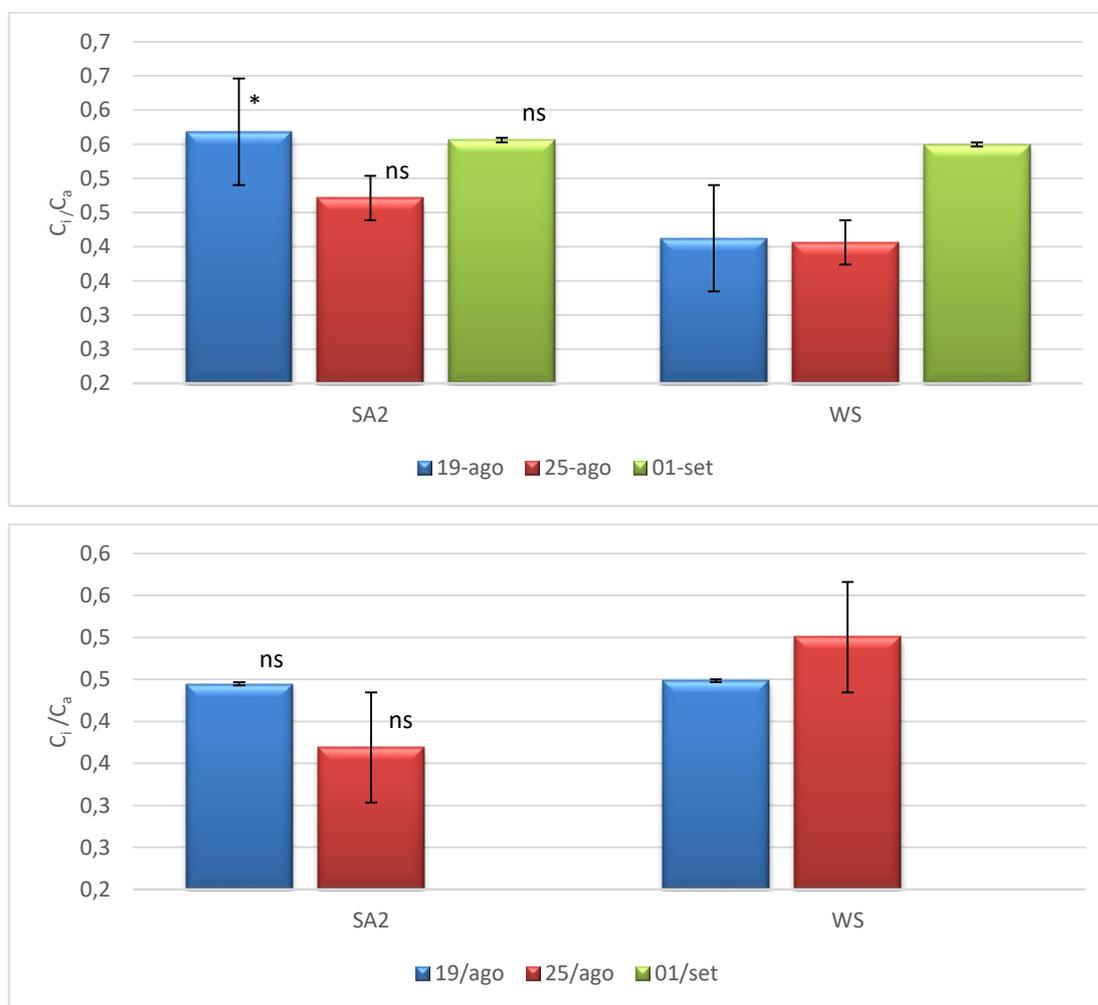


Figura 11 Razão entre a concentração intercelular de dióxido de carbono e a concentração atmosférica durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos durante o 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 15 (19 agosto) e 21 dias (25 agosto) após a exclusão da rega e 7 dias (1 setembro) após a recuperação. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

A existência de maiores limitações não estomáticas nas plantas testemunha é confirmada pela análise da fluorescência da clorofila. Apesar de não serem detetadas diferenças nas reações fotoquímicas da fotossíntese no 1º dia de amostragem reportado neste trabalho, nem no período pós reidratação (resultados não apresentados), no período mais crítico de déficit hídrico são visíveis efeitos em algumas das variáveis da fluorescência da clorofila. Com efeito, as plantas testemunha apresentavam, num dos períodos amostrados, reduções significativas dos valores de Φ_{PSII} (Figura 12) e na taxa de transporte de elétrons (Figura 13) e aumento substancial de qN (Figura 14) em relação às plantas SA. Por outro lado, há uma tendência para a diminuição de F_v/F_m (Figura 15) e aumento da fluorescência basal (Figura 16), não se alterando o coeficiente de dissipação fotoquímica (Figura 17). Torna-se, assim, claro que as plantas SA apresentarão mecanismos de defesa mais eficientes contra o déficit hídrico, possibilitando uma melhor performance do fotossistema II e um menor grau de fotoinibição.

A tendência para a diminuição de F_v/F_m esteve associada a um aumento da fluorescência mínima (F_0). O nível da fluorescência mínima é afetado por stresses ambientais que causam alterações estruturais nos níveis de pigmentos e na estrutura no PSII ou quando a transferência dos pigmentos antena para os centros de reação é impedida (Bolharnordenkampe *et al.*, 1989). Também Varone *et al.* (2012) referem que a taxa de transporte de elétrons sofre uma diminuição durante o stresse hídrico. Do mesmo modo, Baquedano e Castillo (2006) chegaram a resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, salientando que a queda na eficiência quântica efetiva do PSII (Φ_{PSII}) foi explicada pelo decréscimo simultâneo da dissipação fotoquímica (qP) e da eficiência fotoquímica dos centros de reação abertos do PSII (F'_v/F'_m), estando também associado com o aumento da eficiência não fotoquímica (qN). No presente caso, apesar de não haver alterações significativas em qP e em F'_v/F'_m (resultados não apresentados), a diminuição significativa de Φ_{PSII} resulta do somatório de efeitos negativos ligeiros em ambas as variáveis. Por sua vez, o aumento de qN nas plantas testemunha, conjugado com a variação das outras variáveis apresentadas, mostra que o aumento da dissipação de energia na forma térmica, mecanismo protetor envolvendo o ciclo das xantofilas, não foi suficiente para evitar a existência de problemas no funcionamento do fotossistema II.

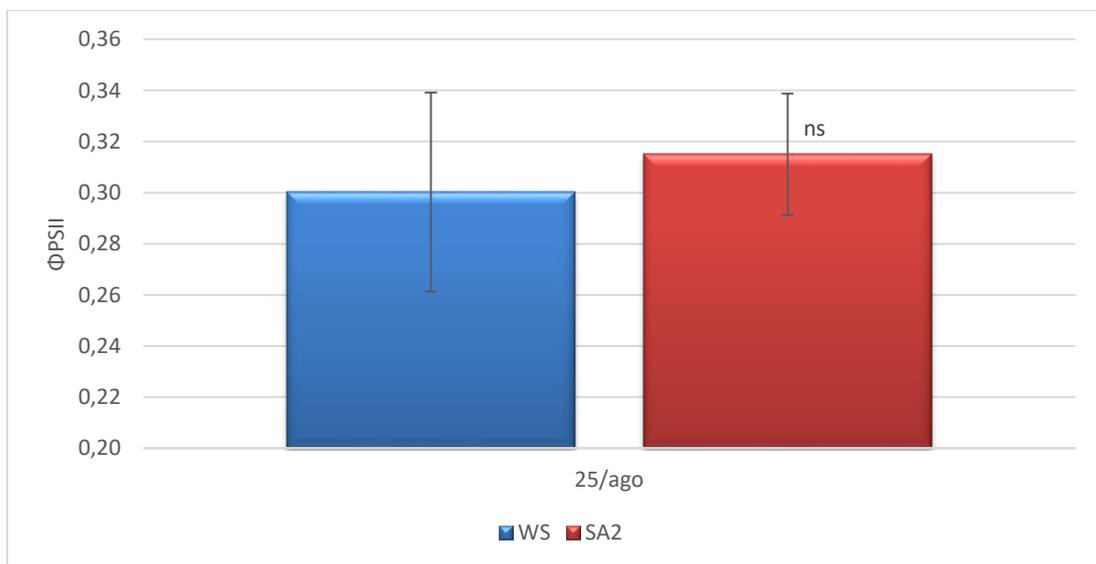
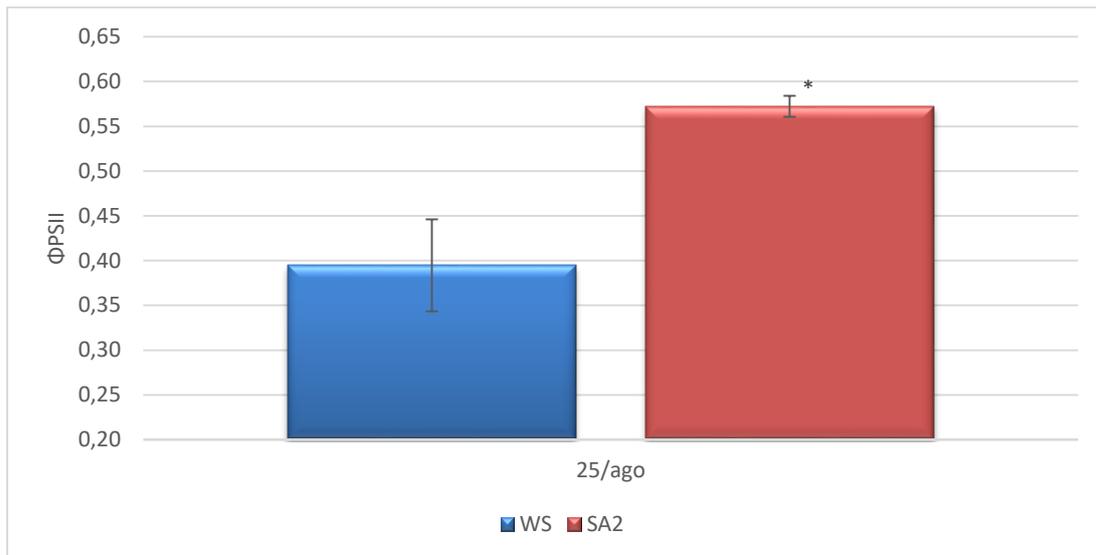


Figura 12 Eficiência fotoquímica efetiva do PSII em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

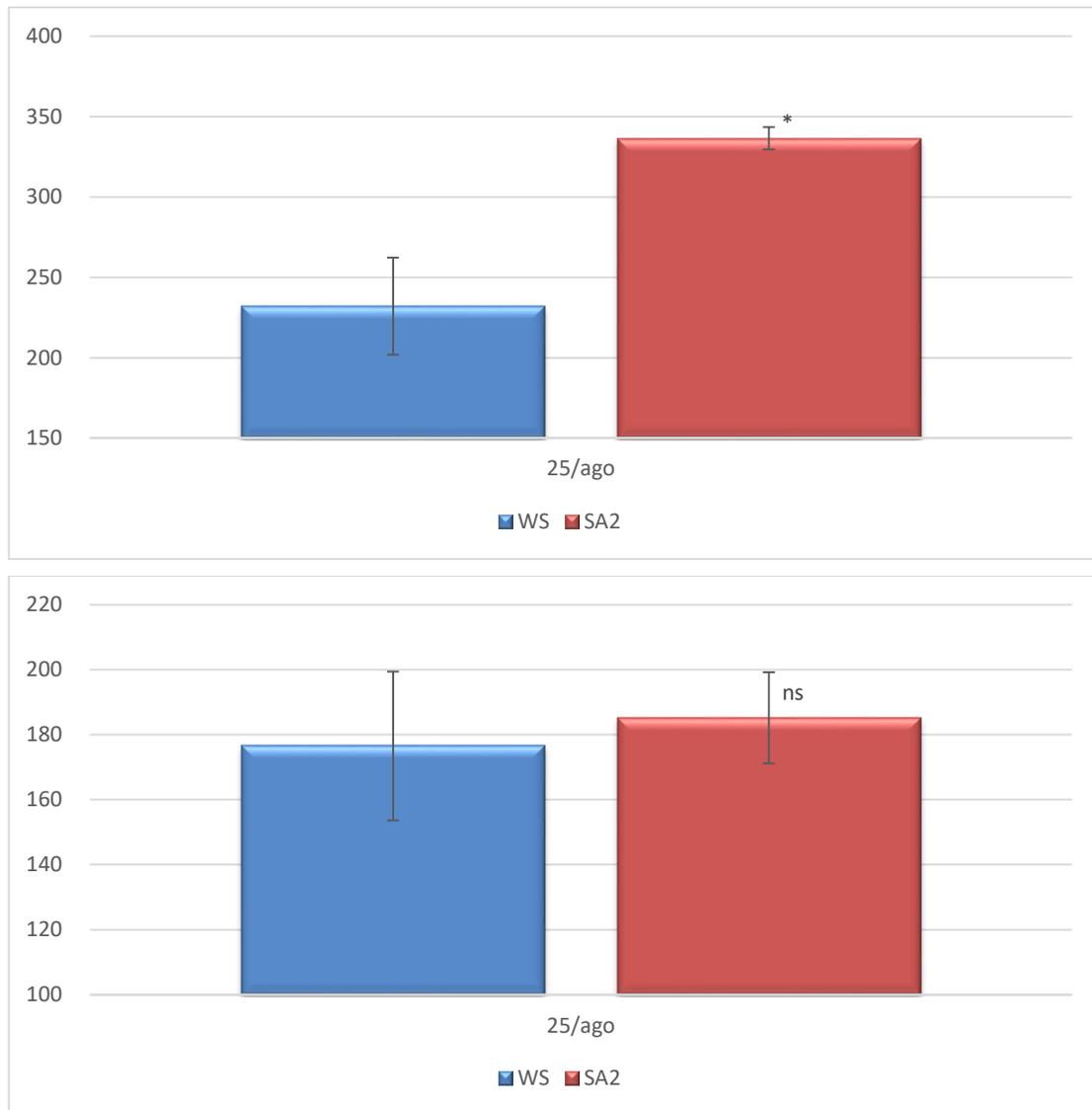


Figura 13 Taxa de transporte de elétrons ($\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/ recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

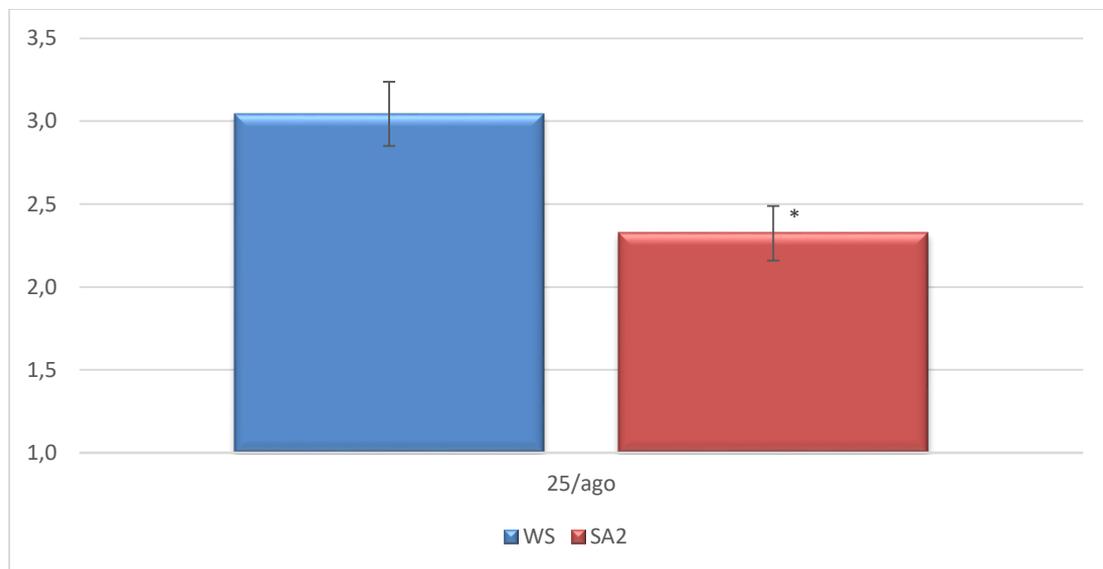
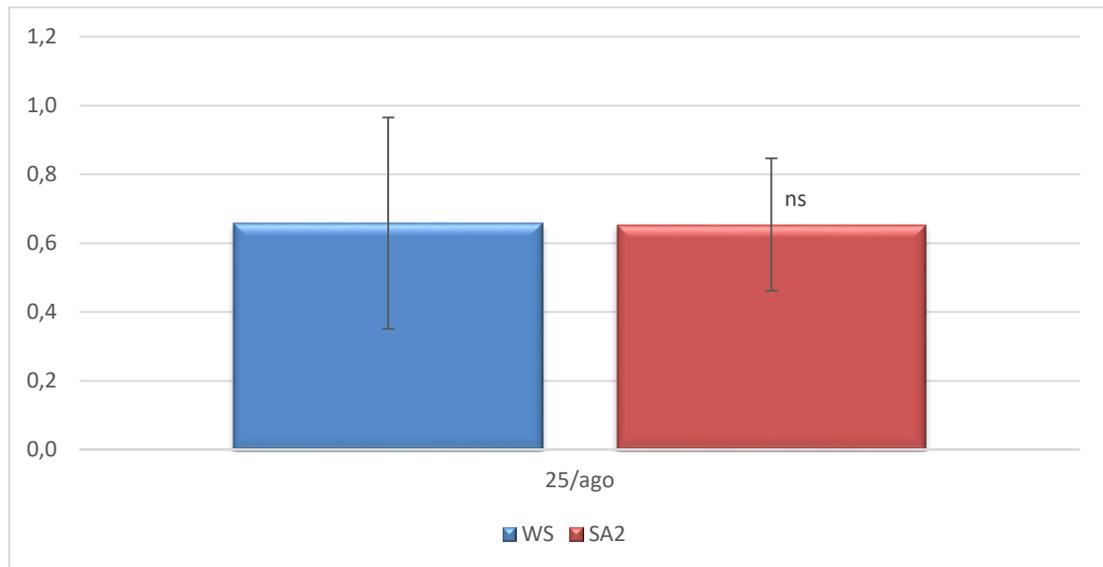


Figura 14 Coeficiente de dissipação não fotoquímica em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/ recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

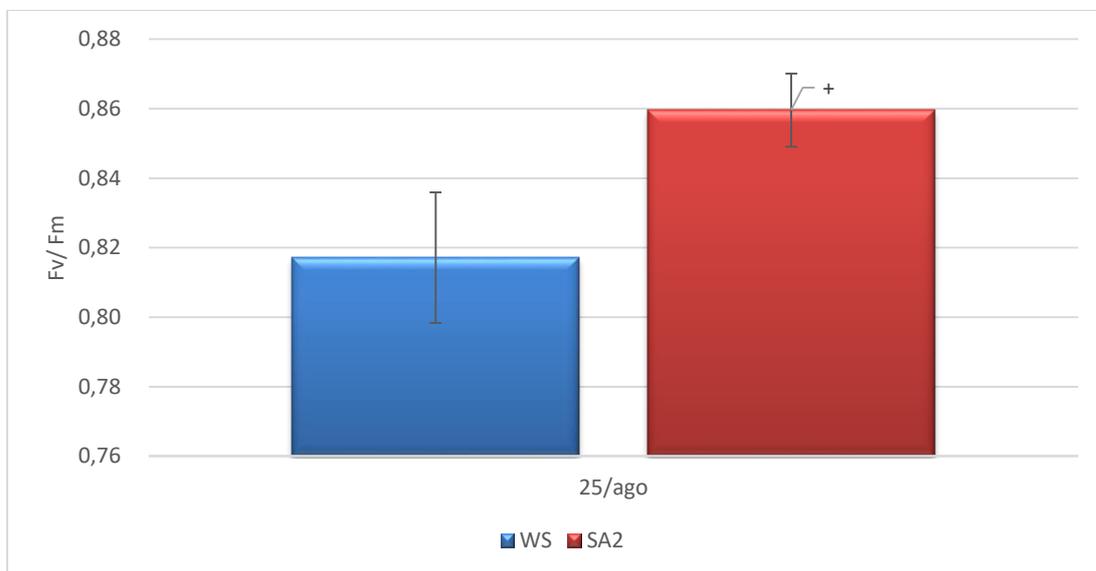
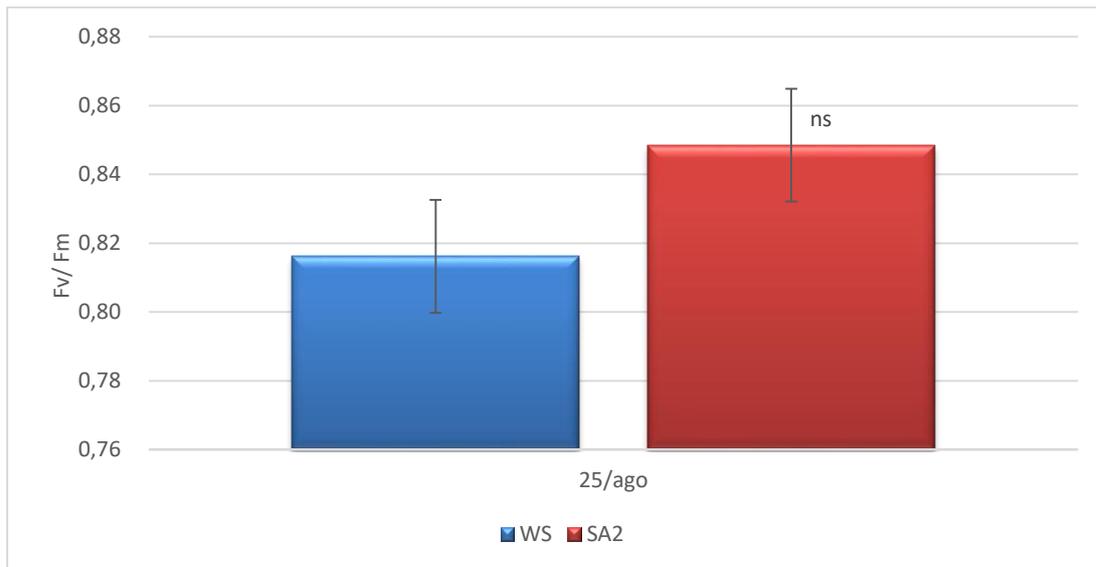


Figura 15 Eficiência fotoquímica máxima do PSII em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; + - Estatisticamente significativo para $0,05 < P < 0,1$.

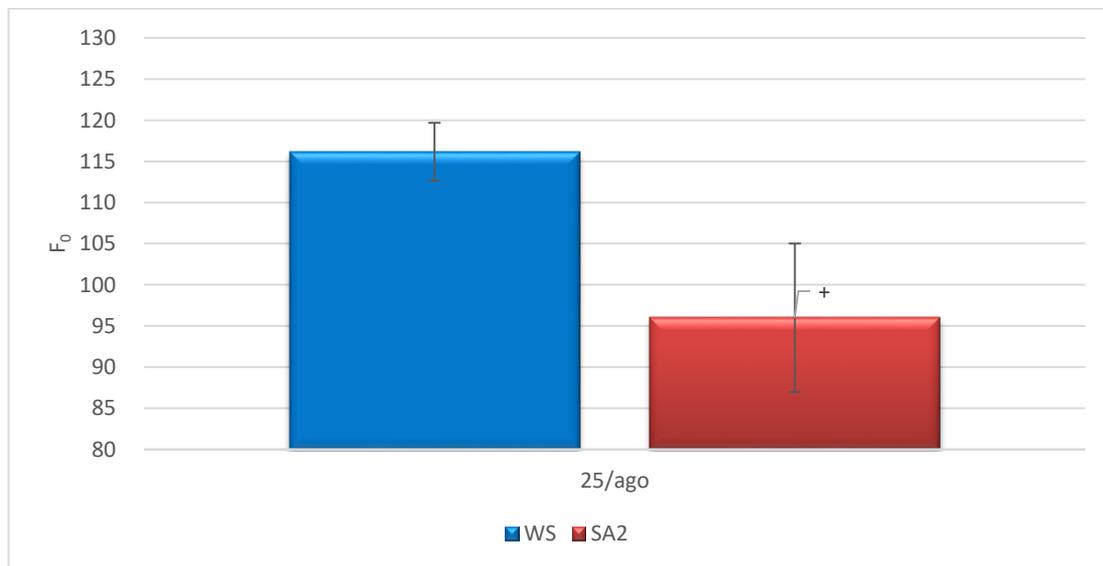
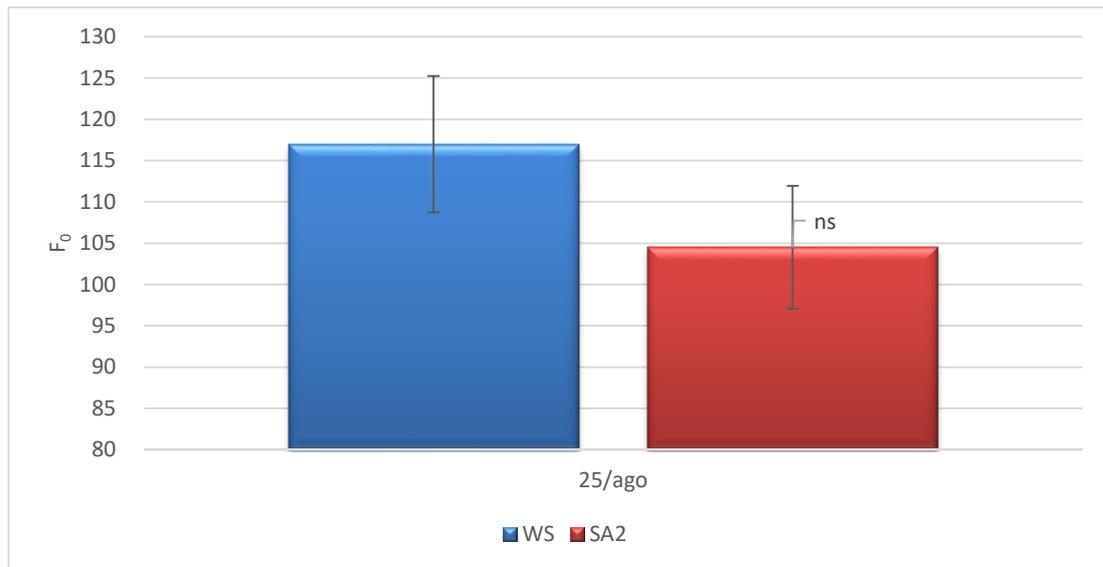


Figura 16 Fluorescência basal durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em folhas de oliveira sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância: ns - não significativo; + - Estatisticamente significativo para $0,05 < P < 0,1$.

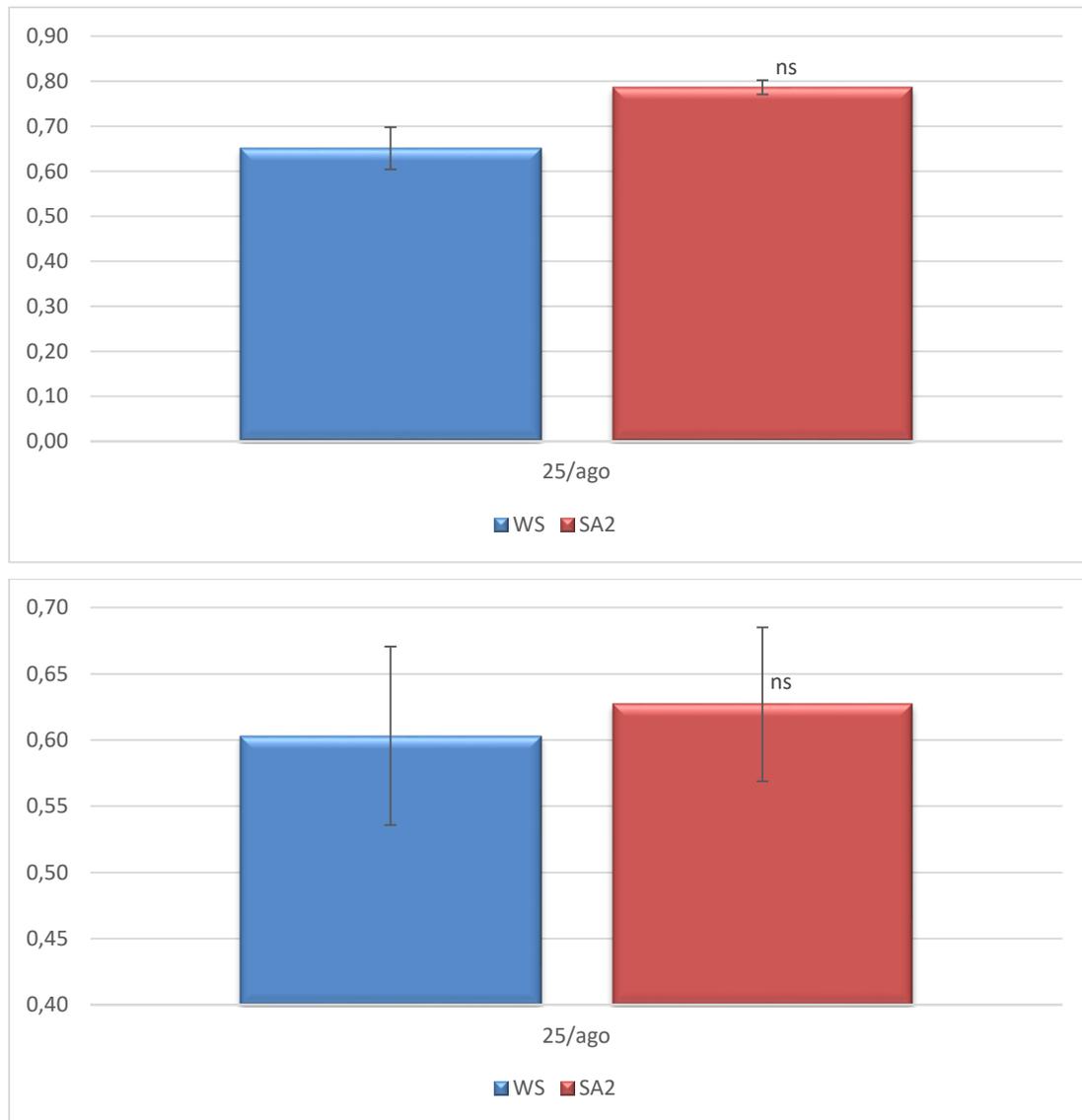


Figura 17 Coeficiente de dissipação fotoquímica (qP) em folhas de oliveira durante a manhã (em cima) e ao meio-dia solar (em baixo) em oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2) obtidos no último dia do 3º ciclo de déficit hídrico/recuperação: 25 agosto após a exclusão da rega durante 21 dias. Níveis de significância.: ns - não significativo.

No presente trabalho, para além da eficiência intrínseca do uso da água, uma variável fisiológica caracterizadora da eficiência ao nível da folha avaliada, avaliamos também a eficiência do uso da água ao nível da planta inteira, uma variável mais ampla, com profundo impacto agronómico, que representa a biomassa acumulada em função da água utilizada no processo. Como se pode constatar na Figura 18, a aplicação de SA promoveu um aumento substancial (2x) da eficiência do uso da água, o que se reveste de inegável interesse prático em agronomia. Como não se detetaram reduções das perdas de

água por transpiração, aquele aumento poderá ter estado relacionado com menores gastos respiratórios em crescimento e manutenção e, decididamente, com a maior atividade fotossintética, em resultado de maior área foliar e de maior capacidade fotossintética por unidade de área foliar.

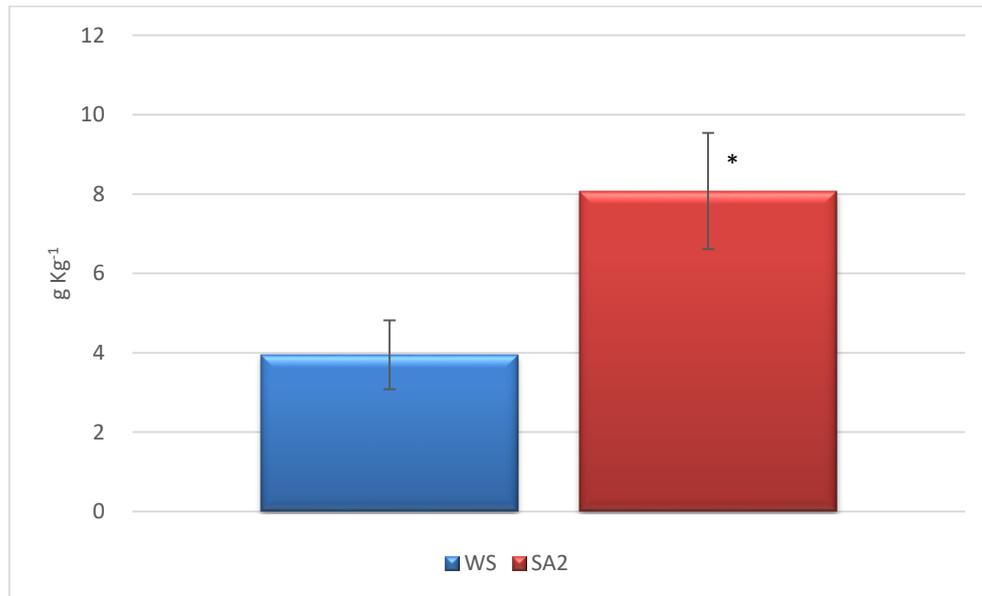


Figura 18 . Eficiência do uso da água de oliveiras sob déficit hídrico (WS) e com tratamento com ácido salicílico (SA2).
Nível de significância: * - Estatisticamente significativo para um nível de probabilidade de $P < 0,05$.

CAPÍTULO V – CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos neste estudo com oliveiras jovens cultivadas em vasos podem extrair-se as seguintes conclusões:

A aplicação de ácido salicílico 100 μM contribuiu para a diminuição da sensibilidade da oliveira ao déficit hídrico imposto em 3 ciclos de déficit hídrico, tendo sido mediada pela melhoria de vários indicadores fisiológicos, incluindo aumentos do conteúdo relativo em água e grau de suculência das folhas, taxa de transpiração, condutância estomática, taxa de transporte de elétrons, eficiência quântica efetiva do PSII e taxa de fotossíntese e diminuição da densidade das folhas, fluorescência basal e coeficiente de dissipação não fotoquímica.

Os efeitos positivos da aplicação de SA permaneceram visíveis 7 dias após o início da reidratação.

A aplicação de SA contribuiu para o aumento da acumulação de biomassa e da eficiência do uso da água ao nível da planta inteira, pelo que a sua aplicação poderá ser uma prática eficaz na redução dos efeitos negativos do déficit hídrico nos olivais de sequeiro no contexto das alterações climáticas.

Fica em aberto a possibilidade de induzir maior proteção da oliveira através da seleção da concentração, do número e do momento mais adequado para a aplicação de ácido salicílico.

BIBLIOGRAFIA

Abd-El-Rahman, A.A., Shalaby, A.F. and Balegh, M., 1966. Water economy of olive under desert conditions. *Flora*. 156: 202–219.

Abd El-Razek, E., Hassan, H.S.A. e Gamal El-Din, K. M., 2013. Effect of foliar application with salicylic acid, benzyladenine and gibberellic acid on flowering, yield and fruit quality of olive trees (*Olea europaea L.*). *Middle-East Journal of Scientific Research*. 14 (11): 1401-1406.

Agam, N., Cohenb, Y., Bernic, J.A.J., Alchanatisb, V., Koola, D., Daga, A., Yermiyahua, U. e Ben-Gala, A., 2013. An Insight To The Performance Of Crop Water Stress Index For Olive Trees. *Agricultural Water Management*. 118: 79–86.

Angelopoulos, K., Dichio, B. e Xiloyannis, C., 1996. Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea L.*) during water stress and rewatering. *Journal of Experimental Botany*. 301 (47): 1093-110.

Anónimo. United Nations Framework Convention on Climate Change (UNFCCC)., 2007. Climate change: impacts, vulnerability and adaptation in developing countries.

Babaei, L., Marandi, R. e Abbaspour, N., 2014. The Effect Of salicylic acid on photosynthetic system of two varieties of grapes (*Vitis vinifera L.*) under drought stress conditions. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*. 4 (3): 630 – 640.

Bacelar, E. A., Correia, C. M., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B., Lopes, J. I. e Torres-Pereira, J. M., 2004. Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions. *Tree Physiology*. 24: 233 – 239.

Bacelar, E. A., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F. e Correia C. M., 2007a. Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany*. 60: 183 – 192.

- Bacelar, E.L.V.A., Moutinho-Pereira, J.M., Gonçalves, B.M.C., Brito, C.V.Q., Gomes-Laranjo, J., Ferreira, H.M.F., Correia, C.M., 2012. Water use strategies of plants under drought conditions. In: Ricardo Aroca (Ed.), *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 145-170.
- Bader, B., Aissaoui, F., Kmicha, I., Salema, A. B., Chehab, H., Gargouri, K., Boujnah, D., Chaieb, M., 2015. Effects of salinity stress on water desalination, olive tree (*Olea europaea* L. cvs ‘Picholine’, ‘Meski’ and ‘Ascolana’) growth and ion accumulation. in *Desalination*. Elsevier. 364: 46–52
- Baquadano, F. J. e Castillo, F. J., 2006. Comparative ecophysiological effects of drought on seedlings of the Mediterranean water-saver *Pinus halepensis* and water-spenders *Quercus coccifera* and *Quercus ilex*. *Trees* 20(6): 689-700.
- Barroso, J. M., Peça, J. O., Dias, A. B., Pinheiro, A. C., Santos, F. L., 2013. Evolução técnica em olivicultura. In: O grande livro da oliveira e do azeite - Portugal oleícola. *Dinalivro editora*, Lisboa. 86-97
- Bates, B.C., Kundzewicz, Z.W., Wu, S., Palutikof, J.P., 2008: Climate change and water. *Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC Secretariat*, Geneva. 210.
- Bilger, W., Schreiber, U., 1986. Energy-dependent quenching of dark-level chlorophyll fluorescence in intact leaves. *Photosynthesis Research*. 10, 303–308.
- Böhm, J., 2013. Domesticação da oliveira na antiguidade na bacia mediterrânica. In: O grande livro da oliveira e do azeite - Portugal oleícola. *Dinalivro editora*, Lisboa. 52-66.
- Böhm, J., Antunes, M. T., 2013. A evolução da espécie *Olea europaea* L.. In: O grande livro da oliveira e do azeite - Portugal oleícola. *Dinalivro editora*, Lisboa. 34-49.
- Bolharnordenkampe, H. R., S. P. Long, et al., 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field – A review of current instrumentation. *Functional Ecology*. 3: 497-514.

- Bosabalidis A. M., Kofidis, G., 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Science*. 163: 375 – 379.
- Boughalleb, F., Hajlaoui, H. 2011. Physiological and anatomical changes induced by drought in two olive cultivars (cv Zalmati and Chemlali). *Acta Physiologiae Plantarum*. 33: 53–65.
- Cáceres, L. 2017. Climate Change Relevant Aspects at World and National Levels. *AFESE*, 46: 27-38.
- Cameira, M. R., Pereira, A., Ahujab, L., Ma, L., 2014. Sustainability and environmental assessment of fertigation in anintensive olive grove under Mediterranean conditions. *Agricultural Water Management*. 146: 346–360.
- Cano-Lamadrid, M., Girón, I.F., Pleite, R., Burl, F., Corell, M., Moriana, A., Carbonell-Barrachina, A.A., 2015. Quality attributes of table olives as affected by regulated deficit irrigation. *LWT - Food Science and Technology*. 62: 19-26.
- Centritto, M., Whabi, S., Serraj, R. e Chaves, M. M., 2005. Effects of parcial root drying (PRD) on adult olive tree (*Olea europaea*) in field conditions under arid climate. II – Photosynthetic responses. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 106: 303 – 311.
- Connor, D. J., 2005. Adaptation of olive (*Olea europaea* L.) to water-limited environments. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56: 1181–1189.
- Connor, D. J., Fereres, E., 2005. The physiology of adaptation and yield expression in olive. *Horticultural Reviews*. 31 : 155-229.
- Cordeiro, A.M.; Calado, M.L.; Morais, N.; Miranda, A., Carvalho, M.T., 2010. Ficha Técnica Variedades de Oliveira – Cobrançosa. *Revista Vida Rural*. 1746: 19
- Correia, C. M., 2000. Comportamento fisiológico e produtivo de *Zea mays* L. em resposta à elevação dos níveis de radiação ultravioleta-B. *Tese de Doutorado, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro*, Vila Real. 264.

- Correia, M. F., 2014. Clima e olivicultura. Potencialidades locais na região de Alvega. *Revista de Geografia e Ordenamento do Território (GOT)*. Centro de Estudos de Geografia e Ordenamento do Território. 5: 117-142
- Crowley, T. J., 2000. Causes of climate change over the past 1000 years. *Science*. 289: 270 – 277
- Cuevasa, M.V., Torres-Ruiza, J.M., Álvarezb, R., Jiménezb, M.D., Cuervab, J., Fernández, J.E., 2010. Assessment of trunk diameter variation derived indices as water stress indicators in mature olive trees. *Agricultural Water Management*. 97: 1293–1302
- Dichio, B. Xiloyannis, C., Celano, G., Vicinanza, L., Gómez-Aparisi, J., Esmenjaud, D. and Salesses, G., 2004. Performance of new selections of *Prunus* rootstocks, resistant to root knot nematodes, in waterlogging conditions. *Acta Horticulturae*. 658, 403-405 pp.
- Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx., 2014. IPCC Climate Change 2014: Mitigation of climate change. Contribution of working group III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. *Cambridge University Press*, Cambridge, United Kingdom and New York.
- Esteves, C. A. C., 2011. Minimização dos efeitos do défice hídrico em *Quercus suber L.* com a aplicação de ácido salicílico. *Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro*.
- Evans, J. R., Loreto, F., Leegood, R. C., Sharkey, T. D, von Caemmerer S., 2000. Acquisition and diffusion of CO₂ in higher plant leaves, photosynthesis: physiology and metabolism. *Kluwer Academic Publishers*. Dordrecht, The Netherlands. 321-351.
- Fernandes, G. M., 2014. Caracterização morfológica e genética de cultivares de oliveiras centenárias e tradicionais para a obtenção de produtos diferenciados. Bragança. *Dissertação de Mestrado Curso de Segurança e Qualidade Alimentar: Escola Superior Agrária de Bragança*. 115.

Fernandez, M., Florescu, D., Kang, J., Levy, A., Suciu, D., 1998. Catching the boat with strudel: experience with a web-site management system. In *Proceedings of ACM-SIGMOD International Conference on Management of Data*. 414-425.

Anónimo. Gabinete de Planeamento e Políticas (GPP) – Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas., 2007. Olivicultura – Diagnóstico Sectorial. 52.

Genty, B., Briantais, J. M. e Baker, N. R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*. 990: 87 – 92.

Giorgi, F., 2006. Climate change hot-spots. *Geophysical Research Letters*. 33: L08707

Giorgi F. and P.Lionello., 2008. Climate Change Projections for the Mediterranean Region. *Global and Planetary Change*. 63:90-104.

Girón, I.F., Corell, M., Galindo, A., Torrecillas, E., Morales, D., Dell'Amico, J., Torrecillas, A., Moreno, F., Moriana, A., 2015. Changes in the physiological response between leaves and fruits during a moderate water stress in table olive trees. *Agricultural Water Management*. 148: 280–286.

Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaïbi, W., Zarrouk, M., 2009. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea L.*) cultivars. *Scientia Horticulturae*. 119: 257–263.

Hashempoura, A., Ghasemnezhada, M., Ghazvinia, R. F., Sohanib, M. M., 2014. The physiological and biochemical responses to freezing stress of olive plants treated with salicylic acid. *Russian Journal of Plant Physiology*. 61(4): 443–450

Hayata, Q., Hayata, S., Irfan, M., Ahmadb, A., 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany*. 68(1): 14-25

Houghton, J. T., Jenkins, G. J., Ephraums, J. J., 1990. Climate change – The IPCC scientific assessment. *Cambridge University Press*. 195-238.

Hsiao, T. C., Acevedo, E., Fereres, E., Henderson, D. W., 1976. Water stress, growth, and osmotic adjustment. *Philosophical Transactions of The Royal Society Biological Sciences*. 273: 479-500.

Hughes, T. P., Baird, A. H., Bellwood, D. R., Card, M., Connolly, S. R., Folke, C., Grosberg, R., Hoegh-Guldberg, O., Jackson, J. B. C., Kleypas, J., Lough, J. M., Marshall, P., Nyström, M., Palumbi, S. R., Pandolfi, J. M., Rosen, B., Roughgarden, J., 2008. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science*. 301: 929-933.

Idrees, M., Khan, M. M. A., Aftab, T., Naeem, M., Hashmi, N., 2010. Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. *Journal of Plant Interactions*. 5(4): 293-303.

INE – Instituto nacional de Estatística., 2015. Informação à comunicação social – Contas económicas da agricultura. 2015 – Primeira estimativa. *Serviço de Comunicação e Imagem*. 12.

INE - Instituto Nacional de Estatística., 2016. Ficha Técnica: Estatísticas Agrícolas 2015. *Instituto Nacional de Estatística, I. P.* 164.

Jesus, C., Meijón, M., Monteiro, P., Correia, B., Amaral, J., Escandón, M., Cañal, M. J., Pinto, G., 2015. Salicylic acid application modulates physiological and hormonal changes in *Eucalyptus globulus* under water deficit. *Environmental and Experimental Botany*. 118: 56–66.

Khan, N. A., Syeed, S., Masood, A., Nazar, R., Iqbal, N., 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology*; 1: 1.

Khan, T. I. ; Dular, A. K. ; Solomon, D. M., 2003. Biodiversity conservation in the thar desert; with emphasis on endemic and medicinal plants. *The Environmentalist*. 23: 137-144.

Khan, W., Prithiviraj, B. e Smith, D., 2003. Photosynthetic response of corn and soybean to foliar application salicylates. *J. Plant Physiol.* 160: 485–492.

- Kitsaki, C.K., Drossopoulos, J.B., 2005. Environmental effect on ABA concentration and water potential in olive leaves (*Olea europaea* L. cv “Koroneiki”) under non-irrigated field conditions *Environmental and Experimental Botany*. 54: 77–89.
- Krall J.P. & Edwards G.E., 1993. PEP Carboxylases from two C4 species of *Panicum* with markedly different susceptibilities to cold inactivation. *Plant and Cell Physiology*. 34: 1–11.
- Lawlor, D. W., Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment*. 25: 275–294.
- Liga para a Protecção da Natureza., 2014. Alterações Climáticas: Preparar Portugal.
- López-Bernal, A., García-Tejera, O., Testi, L., Orgaz, F., J. Villalobos, F., 2015. Low winter temperature induce a disturbance of water relations in field olive trees. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. 29:1247–1257.
- Manaa, A., Gharbi, E., Mimouni, H, Wasti, S., Aschi-Smiti, S., Lutts, S., Ahmed, H. B., 2014. Simultaneous application of salicylic acid and calcium improves salt tolerance in two contrasting tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivars. 95: 32–39.
- Martel, A. B., Qaderi, M. M. 2016. Does salicylic acid mitigate the adverse effects of temperature and ultraviolet-B radiation on pea (*Pisum sativum*) plants? *Environmental and Experimental Botany*. 122: 39–48.
- Martin-Mex, R., Villanueva-Couoh, E., E., Herrera-Campos e T., Larque-Saavedra, A., 2003. Positive effects of salicylic acid and the flowering of gloxinia, In: Proceedings 31st Annual Meeting, August 3-6, 2003. *Plants Growth Regulation Society of America*, Vancouver, Canada. 149-151.
- Martinellia, F., Remorinic, D., Saiab, S., Massaic, R., Tonuttia, P., 2013. Metabolic profiling of ripe olive fruit in response to moderate water stress. *Scientia Horticulturae*. 159: 52–58.

- Maxwell, K., Johnson, G. N., 2000. Chlorophyll fluorescence practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51: 659 – 668.
- McCue, P., Zheng, Z., Pinkham, J. L., Shetty, K., 2000. A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. *Process Biochemistry*. 35: 603–613.
- Mediavilla, S., Escudero, A. and Heilmeyer, H., 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. *Tree Physiol.* 21: 251–259.
- Mishra, M., Kumar, U., Prakash, V., 2013. Influence of salicylic acid pre-treatment on water stress and its relationship with antioxidant status in glycine max. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4(4): 81–97.
- Moriana, A., Villalobos, F. J., Fereres, E., 2002. Stomatal and photosynthetic responses of olive (*Olea europaea* L.) leaves to water deficits. *Plant, Cell and Environment*. 25: 395–405.
- Moriana, A., F. Orgaz, M. Pastor and E. Fereres., 2003. Yield responses of a mature olive orchard to water deficits. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 128:425–431.
- Munné-Bosch S. and Peñuelas J., 2003. Photo- and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field-grown *Phillyrea angustifolia* plants. *Planta*. 217: 758–766.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Physiology*. 13: 143-160.
- Mutlu, S., Karadağoğlu, Ö., Atici, Ö., Nalbantoğlu, B., 2013. Protective role of salicylic acid applied before cold stress on antioxidative system and protein patterns in barley apoplast. *Biologia Plantarum*. 57 (3): 507-513.
- National Academy of Sciences & The Royal Society., 2014. Climate Change-Evidence & Causes.
- Nevo, E., M.A. Bolshakova, G.I. Martyn, L.I. Musatenko, K. Sytnik, T. Pavlíček and A. Beharav., 2000. Drought and light anatomical adaptative leaf strategies in

three woody species caused by microclimatic selection at “Evolution Canyon,” Israel. *Isr. J. Plant Sci.* 48:33–46.

Niinemets, Ü., 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density and thickness in trees and shrubs. *Ecology*. 82: 453–469.

Öquist, G., Wass, R., 1988. A portable microprocessor operated instrument for measuring chlorophyll fluorescence kinetics in stress physiology. *Plant. Physiol.* 73, 211-217.

Osborne, C. P., Chuine, I., Viner, D., Woodward, F. I. 2000. Olive phenology as a sensitive indicator of future climatic warming in the Mediterranean. *Plant, Cell and Environment*. 23: 701–710.

Orgaz, F. e Fereres., 1997. Riego. In *El cultivo del Olivo*, 1ª edição. Junta de Andalucía y Grupo Mundi Pensa, 251-272.

Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S., Giannakoula, A., 2012. Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*. 60: 1-11.

Promyousa, S., Ketsab, S., Doornd, W. G. V., 2012. Salicylic acid alleviates chilling injury in anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) flowers. *Postharvest Biology and Technology*. 64: 104–110.

Qina, X., Xiaoa, H., Xueb, C., Yua, Z., Yanga R., Caia, Z., 2015. Biocontrol of gray mold in grapes with the yeast *Hanseniaspora uvarum* alone and in combination with salicylic acid or sodium bicarbonate. *Postharvest Biology and Technology* 100: 160–167.

Reis, P., 2014. O olival em Portugal - Dinâmicas, tecnologias e relação com o desenvolvimento rural. *Edição: Animar - Associação Portuguesa para o Desenvolvimento Local*. Lisboa. 37.

Rhizopoulou, S., 2007. *Olea europaea* L. A Botanical Contribution to Culture. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 2 (4): 382-387.

Rosenzweig, C, Parry, M. L., 1994. Potential Impact of Climate Change on World Food Supply. *Nature Publishing Group*. 367: 133–138.

Saei1, A., Zamani, Z., Talaie, A.-R., Fatahi, R. influence of drought stress periods on olive (*Olea europaea* L. cv. Zard) leaves stomata., 2006. *International Journal Of Agriculture & Biology*. 8 (4): 430 – 433.

Searchinger, T., Heimlich, R., Houghton, R. A., Dong, F., Elobeid, A., Fabiosa, J., Tokgoz, S., Hayes, D., Yu, T.-H., 2008. Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land-use change. *Science*. 319: 1238-1240.

Seyde, A., Faryabi, E., 2016. The effects of salicylic acid and nitric oxide on the freezing stress tolerance of olive oil plants. *The Caspian Sea Journal*. 10 (4): 100-106.

Shakirova, F.M., 2007. Role of hormonal system in the manifestation of growth promoting and anti-stress action of salicylic acid. In Hayat, S., Ahman, A. (Eds.), *Salicylic Acid, A Plant Hormone*. Springer, Dordrecht, Netherlands.

Shinohara, T., Leskovar, D. I., 2014. Effects of ABA, antitranspirants, heat and drought stress on plant growth, physiology and water status of artichoke transplants. *Scientia Horticulturae*. 165: 225–234.

Singh, B. and Usha, K., 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*. 39: 137-141.

Sofa, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., Masia, A., 2005a. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Funct. Plant Biol*. 32, 45–53.

Steduto, P., Hsiao, T. C., Fereres, E., Raes, D., 2012. crop yield response to water. *FAO Irrigation and Drainage Paper*. 66: 500.

Stern, D. I., Kaufmann, R. K., 2014. Anthropogenic and natural causes of climate change. *Climatic Change*. 122: 257–269.

- Sun, X., Yuan, S., Lin, H.-H., 2006. salicylic acid decreases the levels of dehydrin-like proteins in tibetan hulless barley leaves under water stress. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*. 61: 245-250.
- Sure, S., Arooie, H., Moghadam, D., 2011. Influence of drough stress and its interaction with salicylic acid on medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seedling growth. *Botany Research Journal*. 4 (4-6): 35-40.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2013. Fisiologia Vegetal. *Artmed Editora*. 3^a ed. Porto Alegre. 918.
- Tamás, L., Mistrík, I., Alemayehu, A., Zelinová, V., Bocová, B., Huttová, J., 2015. Salicylic acid alleviates cadmium-induced stress responses through the inhibition of Cd-induced auxin-mediated reactive oxygen species production in barley root tips. *Journal of Plant Physiology*. 173: 1–8.
- Tanasijeveca, L., Todorovica, M., Pereirab, L. S., Pizzigallic, C., Lionelloda, P., 2014. Impacts of climate change on olive crop evapotranspiration and irrigation requirements in the Mediterranean region. *Agricultural Water Management*. 144: 54–68.
- Therios, I., 2005b. Olive production. *Gartaganis Publications*. Thessaloniki, Greece. 476.
- Therios, I., 2009. Crop production science in horticulture: Olives. *CABI North American Office*. 18: 409.
- Tognetti, R., Raschi, A., Longobucco, A., Lanini, M. and Bindi, M., 2005. Hydraulic properties and water relations of *Vitis vinifera* L. exposed to elevated CO₂ concentrations in a free air CO₂ enrichment (FACE). *Phyton, International Journal of Experimental Botany*. 45: 243 – 256.
- Tognetti, R., Sebastiani L, Minnocci A., 2004. Gas exchange and foliage characteristics of two poplar clones grown in soil amended with industrial waste. *Tree Physiology*. 24: 75 – 82.

- Tombesi, A., Tombesi, S., Saavedra, M. M., Fernández-Escobar, R., d'Andria, R., Lavini, A., Jardak, T., 2007. Production techniques in olive growing. *International Olive Council (IOC)*. 344.
- Trenberth, K. E., 1990. Recent observed interdecadal climate changes in the northern hemisphere. *American Meteorological Society*. 71 (7): 988 – 993
- Varone, L., M. Ribas-Carbo, et al., 2012. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. *Environmental and Experimental Botany*. 75: 235-247.
- Vitousek, P. M., 1994. Beyond global warming: ecology and global change. *Ecology*. 75 (7): 1861–1876.
- Von Caemmerer, S., Farquhar, G.D., 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153, 376–387.
- Wang, L.-J., Fan, L., Loescher, W., Duan, W., Liu, G.-J., Cheng, J.-S., Luo, H.-B., and Li, S.-H., 2010. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. *BMC Plant Biology*. 10: 1-10.
- Watson, R. T., Zinyowera, M. C., Moss, R. H., 1998. The regional impacts of climate change – an assessment of vulnerability. *Cambridge University Press*. 8: 255-318.
- Witkowski, E.T.F. and Lamont, B.B., 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*. 88: 486–493.
- Yordanova, R., Popova, L., 2007. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants. *General and Applied Plant Physiology*. 33 (3-4): 155-170.
- Yuan, S., Lin, H.-H., 2008. Role of salicylic acid in plant abiotic stress. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 63(5-6): 313-20.

Zhao, H.-J., Zhao, X.-J., Ma, P.-F., Wang, Y.-X., Hu, W.-W., Li, L.-H., and Zhao, Y.-D., 2011. Effects of salicylic acid on protein kinase activity and chloroplast D1 protein degradation in wheat leaves subjected to heat and high light stress. *Acta Ecologica Sinica*. 31: 259-263.