

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA



Programa de doctorado
Biociencias y ciencias agroalimentarias

TESIS DOCTORAL

Respuesta de olivos jóvenes a la nutrición fosfórica y su influencia en la floración.

Autora:

María José Jiménez Moreno

Dirigido por:

Ricardo Fernández Escobar

Hava Rapoport Goldberg

Córdoba, **Junio de 2017**

TITULO: *Respuesta de olivos jóvenes a la nutrición fosfórica y su influencia en la floración*

AUTOR: *María José Jiménez Moreno*

© Edita: UCOPress. 2017
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS

Respuesta de olivos jóvenes a la nutrición fosfórica y su influencia en la floración.

DOCTORANDO/A

María José Jiménez Moreno

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El Catedrático **Ricardo Fernández Escobar**, profesor de la Universidad de Córdoba y la Dra. **Hava Rapoport Goldberg**, investigadora del Instituto de Agricultura Sostenible (IAS) perteneciente al CSIC, como directores de la tesis doctoral con título: Respuesta varietal de olivos jóvenes a la nutrición fosfórica y su influencia en la floración, realizada por **María José Jiménez Moreno**; informan que:

- Dicha tesis ha sido realizada satisfactoriamente bajo nuestra dirección y en los plazos previstos.
- Su principal objetivo ha sido estudiar la relación entre la nutrición fosfórica y la floración, y la realización de experimentos tanto en condiciones controladas como en campo, para la consecución de esos objetivos.

- Tanto los resultados como las conclusiones obtenidas son de relevancia para un manejo sostenible y eficiente de la fertilización fosfórica en el olivar.
- La doctoranda ha contribuido con diversas aportaciones de interés para la comunidad científica, a la nutrición del fósforo en diferentes variedades de olivo y su influencia en la floración.
- En su etapa predoctoral, María José Jiménez Moreno ha codirigido un proyecto final de grado titulado “Efecto de las micorrizas en la nutrición fosfórica del olivo” desarrollado por María del Carmen Moreno Márquez; ha impartido clases docentes en el Máster de Olivicultura y Elaiotecnia y en el Máster de Producción, Protección y Mejora Vegetal en los módulos “métodos experimentales” y “nutrición y fertilización”. Además, ha colaborado en otros departamentos de la Universidad (puesta a punto de la detección NIR del fósforo en ingeniería forestal) y del IFAPA (programa de cruzamientos y mejora genética para la obtención de nuevas variedades de olivo).
- El trabajo realizado por María José Jiménez Moreno queda reflejado en varias contribuciones científicas en las que consta como primer autor: dos artículos de revistas de revisión por pares (con índice de impacto e indexadas en la base de datos JCR), una comunicación a congresos internacionales y tres a congresos nacionales, que se detallan a continuación. Además, fruto del trabajo realizado durante esta tesis doctoral, la doctoranda ha sido merecedora de una mención de honor a la mejor comunicación oral en el I Congreso Ibérico de Olivicultura, celebrado en Elvas-Badajoz del 13 al 15 de Abril de 2016.

Revistas incluidas en el Science Citation Index:

- **Jiménez-Moreno M.J.** and Fernández-Escobar R. 2016. Response of young olive plants (*Olea europea*) to phosphorus application. HortScience. 51(9):1167-1170.
Datos de 2015 (JCR): índice de impacto 0.943, posición 13/34 y 2º cuartil en el área temática de Horticulture.
- **Jiménez-Moreno M.J.** and Fernández-Escobar R. 2017. Influence of nutritional status of phosphorus on flowering in the olive (*Olea europaea* L.). Scientia Horticulturae. 223:1-4.
Datos de 2015 (JCR): índice de impacto 1.538, posición 8/34 y 1º cuartil en el área temática de Horticulture.

Aportaciones a Congresos Nacionales:

- Fernández-Escobar R., Arquero O., Serrano N., Beltrán G., Antonaya M.F., **Jiménez-Moreno M.J.** 2011. Nutrición y fertilización del olivar. *III Jornadas nacionales del grupo de olivicultura de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH)*. Sevilla, España. 6-7 Octubre.
- **Jiménez-Moreno M.J.** and Fernández-Escobar R. 2012. Influencia de la aplicación foliar de fósforo en la floración de variedades de olivo. *XIII Congreso nacional de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH). Convergencia de las tecnologías hortofrutícolas*. Almería, España. 16-20 Abril.
- **Jiménez-Moreno M.J.** and Fernández-Escobar R. 2016. Respuesta de plantas jóvenes de olivo a la aplicación de fósforo. *I Congreso Ibérico de Olivicultura. V Jornadas del grupo de olivicultura de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH) y VII simposio nacional de olivicultura de la Asociación Portuguesa de Horticultura (APH)*. Badajoz-Elvas, España-Portugal. 13-15 Abril.

Aportaciones a Congresos Internacionales:

- **Jiménez-Moreno M.J.** and Fernández-Escobar R. 2011. Effect of phosphorus fertilization on flowering of young olive trees. *International Conference for Olive Tree and Olive Products. Olivebioteq 2011*. Chania, Creta, Grecia. 31 Octubre – 4 Noviembre.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 26 de Junio de 2017

Firma del/de los director/es:

Fdo.: Ricardo Fernández Escobar

Fdo.: Hava Rapoport Goldberg

Los trabajos incluidos en esta tesis doctoral han sido parcialmente subvencionados por el proyecto AGL2011-25752 del Ministerio de Ciencia e Innovación de España, por el proyecto de excelencia P11-AGR-7835 de la Junta de Andalucía y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).



Web con información y publicaciones del doctorando:

https://www.researchgate.net/profile/Maria_Jose_Moreno4/info

*“Si buscas resultados distintos no
hagas siempre lo mismo”*

Albert Einstein.

Agradecimientos

Quiero expresar mi gratitud a todas las personas que han colaborado directa o indirectamente en la realización de esta Tesis Doctoral. Especialmente, doy las gracias a mis directores de tesis, Ricardo Fernández Escobar y Hava Rapoport, por compartir su tiempo y conocimientos conmigo a lo largo de estos años que no han sido del todo fáciles. Muchas gracias por la orientación y dedicación prestada en todo momento, así como por vuestra disposición ante cualquier duda para permitirme desarrollar este trabajo que ahora tenéis entre vuestras manos.

También me gustaría agradecer al profesor Manuel Benloch por sus consejos y el interés prestado por el desarrollo de mi trabajo y mi evolución profesional.

A Inmaculada Moreno, por enseñarme nuevas técnicas de laboratorio imprescindibles para poder desarrollar parte de este trabajo y por su gran amabilidad.

A María Benloch por sus opiniones y críticas constructivas con las que he podido rectificar y aprender mucho, por ayudarme con los análisis en el espectrofotómetro, y por su compañía y consejos en esos ratitos de charla durante los almuerzos que hacían mucho más llevadero el día de trabajo.

A M^a Felisa Antonaya por ser mi compañera de tesis con la que he compartido tantos ensayos y experiencias, así como nuestro primer despacho juntas. Gracias por tu motivación en los días grises.

A Ana Martín, por enseñarme con paciencia a dar mis primeros pasitos en el laboratorio, a la vez que aprendía las lecciones más importantes, las de la vida. No tengo palabras para agradecerle toda su dedicación y su amistad.

A Manolo García, por su gran entrega para ayudar siempre con las tareas más duras de campo.

A María del Carmen Moreno, por la confianza depositada en mí para orientarla en su trabajo profesional fin de carrera y permitirme continuar mis trabajos iniciales con micorrizas.

A todos mis amigos de la carrera, Gemma, Álvaro, Ricardo y Toni, por soportar mis charlas “olivareras” y por animarme a no desistir nunca.

A mi amiga Cati Rot por su apoyo desde la distancia en todo momento.

A mi hermano, Fernando, por aquellas veces que conseguía engañarlo para que me ayudara con los conteos de inflorescencias en campo.

A mi marido, Fermín, por aguantar heroico todos mis agobios. Por todo su apoyo y paciencia a lo largo de todos estos años. Y sobre todo, por permitirme ser quien soy y hacerme feliz cada día.

A mi madre, a la que agradezco su apoyo incondicional, su capacidad de escucha infinita y por sus ánimos que me daban fuerzas para continuar.

A mi abuela, por inculcarme los verdaderos valores de la vida. Sé que estarás orgullosa de mí allá donde estés.

A todos ellos, y a toda mi familia. Gracias.

Resumen

El olivo (*Olea europaea* L.) es un cultivo leñoso cultivado desde la antigüedad, y en la actualidad ocupa una superficie mundial de unos 10 millones de hectáreas. España es el principal país productor y exportador, con más de la tercera parte de la producción mundial. En la fertilización del olivo, el fósforo no ha sido un elemento nutritivo de gran interés puesto que no suele presentar problemas de deficiencia. La baja concentración iónica de este elemento en la hoja, su bajo consumo y reutilización por la planta explican esto. Sin embargo, el efecto de la fertilización con fósforo (P) observado en el olivo y en otras especies frutales, aún presentando niveles de suficiencia en hoja, parece adquirir una importancia notable en los primeros años de floración, lo que ha motivado el desarrollo de este trabajo. El primer objetivo de esta Tesis Doctoral fue determinar con mayor exactitud los niveles críticos de P, así como inducir los síntomas de deficiencia y toxicidad para determinar el estado nutricional al que ocurrían. Para ello, se llevaron a cabo dos ensayos en condiciones controladas con plantas cultivadas en maceta con sustrato inerte, que recibieron diferentes dosis de P mediante riego (desde 0 hasta 200 o 400 ppm P, según el ensayo). Las plantas deficientes en P manifestaron una clorosis apical que adquiría progresivamente tonalidades rojizas y púrpuras, hasta que la hoja caía. Los síntomas de toxicidad observados fueron similares a los de deficiencia de zinc, y las hojas amarillentas mantenían los nervios y el tejido próximo a éstos verde, cayendo finalmente. Los niveles de concentración de P en hoja a los que se observaron dichos síntomas fueron de 0.025% y 0.21%, respectivamente. El contenido de P en la planta se acumula principalmente en la raíz. La Eficiencia de Absorción del Fósforo (EAP) se cuantificó entre 1.34% y 4.45%, valores muy bajos. En todos los ensayos se evaluó el efecto de la aplicación de P en el crecimiento y en el contenido total de P. Los resultados sugieren un aumento de la concentración de P en hoja con dosis crecientes de P aplicado (hasta 200 ppm P), o en plantas cultivadas en suelos ricos en P. El crecimiento vegetativo disminuyó para concentraciones de P en hoja por debajo o por encima de 0.11% a 0.13%. En campo, las aplicaciones foliares de P no aumentaron el crecimiento ni el estado nutricional de P, probablemente por tratarse de plantas bien nutridas. Existen diferencias varietales en la concentración de P en hoja, presentando

'Arbequina' valores mayores que los de 'Hojiblanca' y de 'Picual', y que parecen corresponderse con características genéticas propias de cada variedad. En todos los casos, los árboles jóvenes muestran concentraciones de P en hoja muy por encima del nivel de suficiencia establecido, disminuyendo con el tiempo hasta valores cercanos al 0.1%. El capítulo 5 aporta información acerca del efecto de la micorrización con *Glomus intraradices* en el olivo. La micorrización no aumentó el estado nutricional de P, pero tuvo un efecto evidente en el desarrollo radical más que en el crecimiento del brote. Plantas inoculadas con el hongo, y cultivadas en suelos con altos contenidos de P, mostraron un crecimiento menor que aquellas que crecieron en suelos con bajos niveles de P. Además, el crecimiento vegetativo disminuye en plantas micorrizadas y que reciben fertilización fosfórica, dada la interacción entre ambos factores. Finalmente, se evaluaron los parámetros de floración y su relación con el estado nutricional de P en la planta. Hubo diferencias varietales para el vigor y la edad a la que se produce la primera floración. Ambos parámetros no estaban relacionados con el estado nutricional de P. No obstante, el P parece aumentar la fertilidad de flores en 'Arbequina' (sin resultados estadísticamente significativos en campo). Resultados similares se observaron en olivos micorrizados con *G. intraradices*. Al menos el 80% de las variedades 'Manzanilla de Sevilla', 'Arbequina', 'Manzanilla Cacereña', 'Picudo', 'Castellana', 'Aloreña', 'Blanqueta' y 'Changlot Real' florecieron al primer año de su plantación. Sin embargo, menos del 30% de las variedades 'Cornicabra', 'Lechín de Sevilla', 'Morisca', 'Empeltre', 'Farga', 'Lechín de Granada' y 'Verdial de Badajoz' florecieron por primera vez pasados tres años. La presente Tesis Doctoral supone el establecimiento de unas pautas para la fertilización fosfórica, considerando para olivos jóvenes unas dosis de fertirriego óptimas entre 100 y 200 ppm P. Pese a que las aplicaciones de P mejoran el estado nutricional de las plantas, si dichos valores se encuentran por encima de los de suficiencia no hay efecto en la floración. Además la micorrización aporta mayores beneficios cuando la inoculación del hongo se realiza antes de la plantación, al permitir un buen desarrollo radical de la planta que favorece su posterior trasplante y mayor tolerancia a estreses. Dicha práctica podría ser de interés para los 272 viveros comerciales de olivo españoles existentes, consiguiendo plantas de mayor calidad.

Summary

The olive (*Olea europaea* L.) is an evergreen tree that has been cultivated from ancient times. It occupies a surface of around 10 million hectares all over the world. Spain is the main olive oil producer, accounting for more than a third of world production. Phosphorus is a mineral nutrient that does not concern about olive fertilization point of view, since P deficiency is rare. This is because its low leaf ionic concentration, its low consumption and its reuse by the plant. However, some studies with olive tree and other fruit trees, even with sufficiency leaf P level, has indicated that an increase of phosphorus in the plant is related to flower fertility and the first flowering. This has been the hypothesis developed in our work. The first objective of this Doctoral Thesis was to determine the P critical levels more exactly than established ones. Also, symptoms of P deficiency and toxicity were induced for their description and for to know the nutritional status of the olive to which these symptoms occur. Two experiments were carried out with potted plant in controlled conditions, using an inert substrate and with different P doses by irrigation (from 0 to 200 or 400 ppm P, according to the trial). Deficiency plants showed apical chlorosis that turns progressively red and purple, and finally the petioles collapsed and the leaves fall. The symptoms of toxicity observed were similar to those of zinc deficiency. The leaves turned yellowish with the veins and tissues surrounding the veins green, and finally fall. Leaf P concentration in these plants was 0.025% and 0.21%, respectively. P partitioning in plant showed a greater accumulation on roots (>50% of total P content). In addition, the Efficiency of Phosphorus Absorption (EPA) was quantified, presented very low values between 1.34% and 4.45%. The effect of P fertilization on vegetative growth and total P content in the olive was evaluated for all the trials. The results suggested an increase of leaf P concentration with increased doses of P applied (until 200 ppm P), or using soils with high P content. Leaf P concentration below or above which shoot growth was reduced was 0.11% to 0.13%. In field conditions, foliar application of phosphorus to young olive trees did not result in an increase of P concentration nor P content in the leaf, probably due to leaf P concentration above the sufficiency level. Differences were observed among cultivars, and 'Arbequina' showed higher leaf P concentration than 'Hojiblanca' and 'Picual'. These

differences seem to be an intrinsic genetic character. All cultivars exhibit leaf P concentration well above the nutritional sufficiency threshold, and then decreased with time tending to 0.1% values. The chapter 5 provides information about the effect of mycorrhization with *Glomus intraradices* on vegetative growth in the olive tree. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) did not increase the nutritional P level, although was more effective in improving root development than shoot development. Inoculated plants growing in a soil rich in P showed a reduced shoot growth when compared with plants growing in a soil poor in P. Shoot growth was also reduced when mycorrhizal plants received P applications, due to the interaction between two factors. Finally, the influence of nutritional status of P on flowering in the olive was evaluated, since it could increase the flower and fertile inflorescence in the first years after transplanting. There were cultivar differences in vigor and the time of first flowering, but no relationship with leaf P concentration was observed. However, 'Arbequina' showed a tendency to increase the flower fertility with P applied, but no significant results were found in field conditions. Similar results were observed in olive trees that were inoculated with *G. intraradices*. These results could not be verified in 'Picual' since no flowering occurs by the first year. At least 80% of the cultivars 'Manzanilla de Sevilla', 'Arbequina', 'Manzanilla Cacerena', 'Picudo', 'Castellana', 'Aloreña', 'Blanqueta' and 'Changlot Real' flowered the first year after plantation, although with a different intensity. On the contrary, less than 30% of the trees 'Cornicabra', 'Lechín de Sevilla', 'Morisca', 'Empeltre', 'Farga', 'Lechín de Granada' and 'Verdial de Badajoz' flowered after three years. This Doctoral Thesis supposes some guidelines for phosphorus fertilization in olive tree, considering optimal doses for fertigation between 100 and 200 ppm P. Although P fertilization improves the nutritional P status in olive tree, there was no effect on flowering if the values are above the sufficiency threshold. Moreover, plant mycorrhization before planting brings greater benefits, due to a better root development which favors its later transplantation and makes plants more tolerant to stresses. This practice could be interesting for the 272 commercial Spanish olive nurseries, getting higher quality plants.

Tabla de contenidos

Lista de tablas	iii
Lista de figuras	iv
Capítulo 1. Introducción General	1
1.1. El cultivo del olivo. Variedades españolas.....	3
1.2. Fertilización del olivar. Nutrientes y floración.....	8
1.3. Nueva Olivicultura.....	11
1.4. El fósforo (P) como elemento nutritivo de interés en la fertilización del olivar.....	15
1.5. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) asociados al cultivo del olivo..	18
1.6. Referencias.....	19
Capítulo 2. Objetivos	29
2.1. Objetivos.....	31
2.2. Esquema de la tesis.....	32
Capítulo 3. Respuesta de plantas jóvenes de olivo (<i>Olea europaea</i> L.) a la aplicación de fósforo	35
Capítulo 4. Influencia del estado nutricional del fósforo en la floración del olivo (<i>Olea europaea</i> L.)	39
Capítulo 5. Interacción entre la micorrización con <i>Glomus intraradices</i> y el fósforo en plantas de olivo de vivero	43
5.1. Resumen.....	45
5.2. Introducción.....	45
5.3. Materiales y métodos.....	47
5.3.1. <i>Diseño experimental</i>	47
5.3.2. <i>Limpieza y tinción de las raíces micorrizadas</i>	49
5.3.3. <i>Medidas de crecimiento y determinación de P.</i>	50
5.3.4. <i>Análisis estadísticos</i>	50

5.4. Resultados.....	51
5.5. Discusión.	59
5.6. Referencias.....	61
Capítulo 6. Discusión General.....	65
6.2. Referencias.....	72
Capítulo 7. Conclusiones Finales	77

Lista de tablas

Tabla 1. Destino, importancia y difusión de las principales variedades de olivo cultivadas en España.	6
Tabla 2. Interpretación de los niveles de nutrientes en hojas de olivo recogidas en Julio, expresados en materia seca.....	10
Tabla 3. Aceites de oliva (virgen extra) con Denominaciones de Origen Protegidas (DOP) en España.	13
Tabla 11. Características químicas de los suelos usados.....	48
Tabla 12. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total de la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en el primer experimento.	51
Tabla 13. Crecimiento vegetativo a los cuatro y doce meses tras el inicio de los tratamientos para la micorrización y P aplicado en el primer experimento.....	52
Tabla 14. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total de la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en el segundo experimento.....	53
Tabla 15. Crecimiento vegetativo final (cm) a los ocho meses, para la micorrización y P aplicado en el segundo experimento.....	53
Tabla 16. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total en la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en 'Arbequina' en el experimento 3.....	56
Tabla 17. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total en la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en 'Picual' en el experimento 3.....	57
Tabla 18. Inflorescencias y flores totales, y porcentaje de inflorescencias fértiles y flores perfectas en 'Arbequina' para la micorrización nivel de P en el suelo del experimento 3.....	58
Tabla 19. Crecimiento vegetativo, y concentración y contenido de P en hoja, en 'Arbequina' y 'Picual' según su micorrización en condiciones de campo del experimento 4.....	59
Tabla 20. Inflorescencias y flores totales, y porcentaje de inflorescencias fértiles y flores perfectas en 'Arbequina' según su micorrización en condiciones de campo del experimento 4.....	59

Lista de figuras

- Figura 1.** Zonas olivareras de España. 1)'Picual' 2)'Hojiblanca' 3) Andalucía Occidental 4) Andalucía Oriental 5) Oeste 6) Centro 7) Levante 8) Valle del Ebro 9) Tortosa-Castellón 10) 'Arbequina'..... 4
- Figura 2.** Evolución de la superficie (miles de ha.) y producción (miles de t.) del olivar en España.....14
- Figura 8.** Imágenes de trozos de raíces teñidas demostrando ausencia (A) y presencia (B) de micorrización por el inóculo (*Glomus intraradices*). Las micorrizas se identifican por la presencia de hifas (flecha) y grandes vesículas (estrella).54
- Figura 9.** Crecimiento vegetativo final, a los seis meses, de 'Arbequina' y 'Picual' para la micorrización y nivel de P en el suelo. Diferentes letras encima de las barras indican diferencias significativas para valores de $P < 0.05$55
- Figura 10.** Desarrollo radical de plantas de olivo micorrizadas y no micorrizadas de las variedades 'Arbequina' y 'Picual' a los seis meses desde su micorrización con *Glomus intraradices*.....56

Abreviaciones

% ps	% peso seco
DOP	Denominación de Origen Protegida
EAP	Eficiencia de Absorción del Fósforo
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
HMA	Hongos Micorrízicos Arbusculares
K	Potasio
N	Nitrógeno
P	Fósforo
Pi	Fosfato (fósforo inorgánico)

Capítulo 1

Introducción General

Introducción general.

1.1. El cultivo del olivo. Variedades españolas.

El Olivo, *Olea europaea* L., es un árbol perennifolio y longevo que pertenece a la familia botánica Oleaceae. Es una de las plantas cultivadas más antiguas, originario de una región geográfica que ocupa desde el Cáucaso hasta Irán, Palestina y la costa de Siria. Se extendió desde Chipre hacia Anatolia, y a través de Creta hacia Egipto, hasta poblar todos los países de la Cuenca Mediterránea. A partir del siglo XV llegó a América, y en la actualidad sigue expandiéndose su cultivo en zonas no tradicionales de Sudáfrica, China, Japón o Australia (Civantos, 2008).

Su hábitat se concentra entre las latitudes 30º y 45º de los hemisferios norte y sur. Es una especie adaptada a condiciones adversas, que crece principalmente en áreas secas o poco lluviosas y suelos calcáreos de la Cuenca Mediterránea. Actualmente ocupa una superficie aproximada de 10 millones de hectáreas alrededor de todo el mundo (97% de las cuales se ubican en los países de la Cuenca Mediterránea), de las cuales sólo el 10% son de riego. El patrimonio oleícola existente se estima en unos 1000 millones de árboles, que producen una media anual de unos 15 millones de toneladas de aceitunas (con un incremento medio anual del 4% en la última década), el 90% de las cuales se destina a la producción de aceite, (FAOSTAT, 2014). España es el principal productor de aceite de oliva, aportando unos 1401.6 miles de toneladas que representan más de la tercera parte de la producción mundial (COI, 2017). En Andalucía, el olivar representa el 60% del área nacional ocupando 1.6 millones de hectáreas (MAPAMA, 2017). Además de su gran proyección territorial, el cultivo del olivo supone uno de los principales sectores del sistema agroalimentario español a nivel económico, social, medioambiental e incluso cultural.

El área olivarera española puede considerarse dividida en 10 regiones atendiendo a las características productivas (Ministerio de Agricultura, 1972), de las cuales cuatro se encuentran en Andalucía (Figura 1).



Figura 1. Zonas olivares de España. 1) 'Picual' 2) 'Hojiblanca' 3) Andalucía Occidental 4) Andalucía Oriental 5) Oeste 6) Centro 7) Levante 8) Valle del Ebro 9) Tortosa-Castellón 10) 'Arbequina'.

Fuente: Blog esencia de olivo, disponible en la web <http://www.esenciadeolivo.es/aceite-de-oliva/aceite-de-oliva-en-espana/zonas-productoras-en-espana/>

La primera región es la conocida como zona del 'Picual', en la que predomina la variedad del mismo nombre, típica de almazara por dar aceites de oliva de gran estabilidad. Abarca toda la provincia de Jaén y las comarcas de Bujalance (Córdoba) e Iznalloz (Granada). La segunda región, o zona de 'Hojiblanca', comprende casi toda la provincia de Córdoba con excepción de Bujalance y La Carlota, además de la comarca de Estepa (Sevilla), Loja (Granada) y Antequera (Málaga). La variedad más representativa es 'Hojiblanca', de doble aptitud (mesa y aceite). La tercera región de Andalucía Occidental abarca las provincias de Cádiz, Huelva, Sevilla (excepto Estepa), y La Carlota (Córdoba). Es una de las zonas más heterogéneas en cuanto a variedades, pues junto a las de almazara ('Verdial de Huevar' y 'Lechín de Sevilla'), coexisten las típicas de mesa ('Manzanilla de Sevilla' y 'Gordal Sevillana'). La cuarta región de Andalucía Oriental se extiende por la provincia de Almería y casi la totalidad de las provincias de Granada (excepto Iznalloz y

Loja) y Málaga (excepto Antequera). Aparte de las variedades ya mencionadas de 'Picual' y 'Hojiblanca', destacan otras tres propias de la zona: 'Verdial de Vélez-Málaga' y 'Aloreña', destinadas a aceite o con doble aptitud, respectivamente.

Aunque se han delimitado estas diez zonas olivareras españolas en función de sus características varietales y productivas, encontramos muchas más variedades repartidas a lo largo de toda la geografía nacional. Así pues, trabajos de prospección e identificación de variedades llevados a cabo han encontrado 262 variedades distintas (Barranco, 1997). Atendiendo a la importancia y difusión de cada una de ellas se diferencian cuatro categorías varietales: principales, secundarias, difundidas y locales. Las variedades principales son cultivadas en una gran superficie y se extienden, al menos, en una comarca. Veinticuatro variedades españolas alcanzan esta categoría de principal, con aptitudes de aceite y/o mesa, y con diferente extensión según la zona (Tabla 1). Las variedades secundarias serían aquellas que no llegan a dominar en ninguna comarca pero que constituyen la base de plantaciones regulares. Finalmente, las variedades difundidas se encuentran como árboles aislados en varias comarcas, o en una sola para el caso de las variedades locales.

El olivo, pese a ser cultivado desde tiempos antiguos es uno de los cultivos menos evolucionados en cuanto a mejora vegetal y al escaso conocimiento de las variedades cultivadas en muchas regiones, ó la adaptación de esas variedades fuera de su área de cultivo. Es de interés conocer las características agronómicas y tecnológicas principales de las variedades como la época de floración, periodo de maduración o características del fruto, entre otras (Rallo *et al.*, 2005), para predecir el comportamiento de las variedades en la zona de cultivo y adecuar las posibilidades que nos brindan con el objetivo maximizar la rentabilidad de las nuevas plantaciones. Debemos considerar asimismo otros factores de producción como el manejo del cultivo o la

recolección en función del sistema de plantación implantado, pero indudablemente estarán también vinculados a las características varietales.

Tabla 1. Destino, importancia y difusión de las principales variedades de olivo cultivadas en España.

Variedad	Destino	Superficie (x1000 ha)	Difusión
'Picual'	Aceite	860	Jaén, Córdoba, Granada
'Cornicabra'	Aceite	269	Ciudad Real, Toledo
'Hojiblanca'	Doble	217	Córdoba, Málaga, Sevilla
'Lechín de Sevilla'	Aceite	105	Sevilla, Cádiz
'Manzanilla de Sevilla'	Mesa	85	Sevilla, Badajoz
'Morisca'	Aceite	74	Badajoz
'Empeltre'	Aceite	72	Zaragoza, Teruel, Baleares
'Arbequina'	Aceite	71	Lérida, Tarragona
'Manzanilla Cacereña'	Doble	64	Cáceres, Salamanca
'Picudo'	Aceite	60	Córdoba, Granada
'Farga'	Aceite	45	Castellón, Tarragona
'Lechín de Granada'	Aceite	36	Granada, Almería, Murcia
'Verdial de Huevar'	Aceite	34	Huelva, Sevilla
'Gordal Sevillana'	Mesa	30	Sevilla
'Verdial de Badajoz'	Aceite	29	Badajoz, Cáceres
'Morrut'	Aceite	28	Tarragona, Castellón
'Sevillenca'	Aceite	25	Tarragona, Castellón
'Villalonga'	Aceite	24	Valencia
'Castellana'	Aceite	22	Guadalajara, Cuenca
'Verdial de Vélez-Málaga'	Aceite	20	Málaga
'Aloreña'	Doble	17	Málaga
'Blanqueta'	Aceite	17	Alicante, Valencia
'Changlot Real'	Aceite	5	Valencia
'Alfajara'	Aceite	4	Valencia, Albacete

Fuente: D. Barranco, 2008. Variedades y patrones. En: *El Cultivo del Olivo*. 6ª ed.

Concretamente, uno de los factores condicionantes de muchas especies frutales, como el almendro o el pistachero, y también en el olivo, es el periodo de tiempo que transcurre hasta su entrada en producción, conocido como periodo improductivo. Actualmente, con las nuevas plantaciones de olivar

superintensivas en seto, con alta densidad de plantas (1500-2000 plantas/ha), se persigue conseguir una precoz entrada en producción que permita retornar la inversión en el menor tiempo posible. De este modo, las variedades más precoces y con periodos improductivos menores resultan de gran interés.

Otra cuestión a considerar es que el olivo es una especie con una marcada tendencia vecera, alterando años “de carga” con otros menos productivos. Esto es, en un año sin producción se origina una elevada inducción floral, pero al año siguiente la inducción floral es mucho menor por efecto de la presencia de frutos (Fernández-Escobar *et al.*, 1992). También influyen otros factores medioambientales como la temperatura o la luz, y factores intrínsecos como el mayor o menor crecimiento vegetativo (Lavee, 2007). No obstante, se han comprobado algunas alternativas eficaces para minimizar los efectos de la alternancia o vecería como la aplicación de giberelinas al final del verano para reducir la inducción floral en años de carga (Lavee y Haskal, 1993; Fernández-Escobar *et al.*, 1992), cosechar lo más pronto posible, o incluso mediante una adecuada nutrición y riego (Lavee, 2007). No hay que olvidar que el olivo fructifica en ramos del año anterior, desarrollando hasta dos inflorescencias por nudo, compuestas de 10 a 40 flores según la variedad y las condiciones fisiológicas y ambientales. Dentro de una misma inflorescencia podemos encontrar flores perfectas (hermafroditas) o imperfectas (estaminíferas o masculinas) (Rapoport, 2008; Lavee *et al.*, 1996). La polinización y la fecundación son requisitos esenciales para la formación y el cuajado de frutos (aunque en olivo se forman algunos frutos partenocárpicos, también llamados zofairones). La polinización consiste en la transferencia de polen de una a otra flor, y suele ser anemófila. La fecundación es la unión de una célula sexual masculina y un óvulo para la formación del futuro embrión, pudiendo realizarse de forma autofértil o necesitando la presencia de otra variedad para que se produzca la fecundación con éxito (en el caso de variedades autoincompatibles). En condiciones ambientales adversas, como temperaturas superiores a 30°C, el polen pierde su capacidad germinativa. El estrés hídrico o nutritivo seis semanas antes de la época de floración también reduce el número de flores por inflorescencia e incrementa el aborto ovárico (Uriu, 1960). Desde

la iniciación floral influyen numerosos condicionantes medioambientales, (baja temperatura, fotoperiodo, intensidad lumínica, estrés hídrico), crecimiento vegetativo, reservas de carbohidratos (Wilkie *et al.*, 2008) para el correcto desarrollo reproductivo, pero la fertilidad de las flores también depende de características genéticas propias de cada variedad, además de otros factores medioambientales y nutricionales (Lavee *et al.*, 1996; Cuevas *et al.*, 1994; Rallo y Fernández-Escobar, 1985; Rallo *et al.*, 1981; Uriu, 1960). Este último aspecto ha sido citado recientemente ante la posible implicación del fósforo en el desarrollo de los procesos reproductivos (Erel *et al.*, 2016; Erel *et al.*, 2013).

1.2. Fertilización del olivar. Nutrientes y floración.

El abonado es una de las prácticas más frecuentes en agricultura, mediante la que se aportan los nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas que no son aportados por el suelo. Se puede decir que hay dos principios fundamentales de la nutrición vegetal que permanecen en la actualidad: 1) la esencialidad de los elementos minerales (Arnon y Stout, 1939); 2) el equilibrio entre nutrientes, de modo que si uno de ellos se encuentra en exceso o en defecto provoca desequilibrios que pueden alterar la disponibilidad de otros nutrientes (Shear *et al.*, 1946).

Hoy en día, el abonado en el olivar supone entre el 5% y 10% de los costes anuales de cultivo (Fernández-Escobar, 2008a), lo que incentiva un aporte excesivo de fertilizantes que para nada garantiza una producción máxima y/o de calidad, sino, que por el contrario, puede resultar contraproducente desde el punto de vista agronómico por producir posibles desequilibrios nutritivos, así como también económica y medioambientalmente por incurrir en gastos adicionales que no repercuten en mayores beneficios, además de la contaminación de las aguas subterráneas por lixiviación de ciertos elementos como el nitrógeno. Por tanto, para establecer un buen programa de fertilización debemos basarnos en un abonado racional, que aporte sólo los elementos nutritivos requeridos, y teniendo en cuenta otras consideraciones como el tipo de planta, su estado fisiológico, intensidad

de cultivo, tipo de suelo, etc. Lo ideal sería minimizar las aplicaciones de fertilizantes que permitan corregir deficiencias y/o excesos de elementos a la par que aumentar la productividad, maximizando de este modo la rentabilidad de la operación y conservando el medioambiente. Además, en especies leñosas como el olivo, a diferencia de lo que ocurre con especies herbáceas, hay que tener en cuenta los órganos de reserva de los que disponen y que les permiten vivir muchos años, incluso ante condiciones adversas. Dichos órganos (principalmente raíces y tallos, aunque también las hojas) almacenan nutrientes para su posterior utilización en los años siguientes (Rosecrance *et al.*, 1998; Picchioni *et al.*, 1997; Brown *et al.*, 1995). Si además de las reservas nutritivas tenemos en cuenta la capacidad de reutilización de ciertos elementos como el fósforo, por tratarse de un elemento muy móvil, o incluso las exportaciones de nutrientes que tienen lugar por la cosecha o la poda, así como la dinámica de los elementos en el suelo, podemos comprobar lo complejo que puede llegar a ser establecer una fertilización adecuada. Así pues, se requiere conocer en profundidad las necesidades nutritivas del olivar (Jiménez-Moreno y Fernández-Escobar, 2016; Fernández-Escobar *et al.*, 2015). Podemos hacer uso de una serie de métodos que nos permiten conocer cuáles son estas necesidades nutritivas de nuestro cultivo, entre los que se encuentran la observación de síntomas, los análisis de suelo y los análisis foliares.

La observación de síntomas no es el método más fiable, a pesar de ser ampliamente utilizado. Para un buen diagnóstico nutritivo basado en dicha observación, se requieren buenos conocimientos del cultivo, aparte de que la ausencia de síntomas no tiene porqué ser sinónimo de un buen estado nutritivo, ya que los síntomas suelen aparecer cuando los desequilibrios son ya muy acusados. El análisis del suelo tiene su utilidad para poder conocer posibles limitaciones del mismo, sobre todo antes del establecimiento del cultivo. Sin embargo, la dinámica de los nutrientes en el suelo es bastante compleja y no siempre se corresponde con el contenido de nutrientes en la planta (por bloqueos, adsorciones o formas no asimilables). El análisis foliar resulta el mejor método para el estado nutritivo de la plantación (Fernández-Escobar *et al.*, 2009), permitiendo identificar desórdenes nutritivos, detectar

Introducción

niveles bajos o excesivos de nutrientes o incluso medir la respuesta al abonado. Para ello, se comparan los niveles obtenidos para cada elemento nutritivo con los niveles críticos establecidos para cada uno de ellos (Tabla 2), esto es, los niveles por debajo de los cuales la producción o crecimiento disminuye. El procedimiento de muestreo de hojas debe ser el adecuado, seleccionando hojas con peciolo de la parte central de los brotes del año. En el olivo se recogen en Julio, cuando las concentraciones de elementos en hoja son estables, ya que los nutrientes en las hojas del crecimiento del año evolucionan estacionalmente (Fernández-Escobar et al., 1999; Brown, 1994).

Tabla 2. Interpretación de los niveles de nutrientes en hojas de olivo recogidas en Julio, expresados en materia seca.

Elemento	Deficiente	Adecuado	Tóxico
Nitrógeno, N (%)	1.4	1.5-2.0	-
Fósforo, P (%)	0.05	0.1-0.3	-
Potasio, K (%)	0.4	> 0.8	-
Calcio, Ca (%)	0.3	> 1	-
Magnesio, Mg (%)	0.08	> 0.1	-
Manganeso, Mn (ppm)	-	> 20	-
Zinc, Zn (ppm)	-	> 10	-
Cobre, Cu (ppm)	-	> 4	-
Boro, B (ppm)	14	19-150	185
Sodio, Na (ppm)	-	-	> 0.2
Cloro, Cl (ppm)	-	-	> 0.5

Fuente: Fernández-Escobar (2008a), elaborado a partir de datos recopilados en Chapman (1996), Childers (1966) y Beutel *et al.* (1983).

El nitrógeno (N) es el elemento nutritivo requerido en mayores cantidades, pero en olivares de secano el potasio (K) es el que puede presentar el principal problema (Restrepo-Díaz *et al.*, 2008). El fósforo (P) no es un macronutriente que preocupe desde el punto de vista de la fertilización del olivar, puesto que no suele haber respuesta en crecimiento ante la fertilización fosfórica en condiciones de campo (Fernández-Escobar, 2008a; Hartmann *et al.*, 1966). Si el terreno es calizo, se pueden encontrar deficiencias de hierro y/o

boro, mientras que en suelos ácidos lo que cabe esperar son deficiencias en calcio.

Los nutrientes también juegan un papel importante en el desarrollo de los procesos reproductivos, no sólo en el crecimiento vegetativo. De este modo, una correcta fertilización con N aumenta el número de inflorescencias por brote, las flores fértiles por inflorescencia y los frutos cuajados por olivo (Pastor *et al.*, 1998). No obstante, se ha demostrado que el exceso de dicho nutriente puede repercutir en la calidad de la flor al disminuir la longevidad de los primordios seminales (Fernández-Escobar *et al.*, 2008b). El fósforo también parece afectar al desarrollo de los procesos reproductivos, como así lo indican estudios recientes en olivo (Erel *et al.*, 2016; Erel *et al.*, 2013). Anteriormente se han asociado incrementos de P en el contenido de la planta con un mayor número de inflorescencias y cuajado de frutos en los primeros años del establecimiento de una plantación de manzanos (Neilsen *et al.*, 1990a ; Taylor y Goubran, 1975). El potasio es un elemento muy demandado por los frutos a medida que éstos se van desarrollando, lo que implica unas grandes extracciones de este elemento en olivo (Fernández-Escobar *et al.*, 2015). En cuanto a los micronutrientes, destaca el boro por su implicación en los procesos reproductivos, cuando las necesidades en este elemento para la planta son máximas. Al ser uno de los nutrientes menos móviles, su deficiencia puede acarrear irregularidades en el crecimiento y floración (polinización y cuajado de frutos), aunque en suelos calizos donde se desarrolla la mayoría del olivar andaluz, no suele haber problema. Del mismo modo, un exceso de B resulta contraproducente, ya que su toxicidad puede provocar la muerte de las plantas, particularmente en las jóvenes (Benlloch *et al.*, 1991).

1.3. Nueva Olivicultura.

El aceite de oliva, producto clave de la Dieta Mediterránea, cada vez es más apreciado por sus propiedades y beneficios saludables. En España es un producto amparado por 29 Denominaciones de Origen Protegidas (DOP), 12 de las cuales son andaluzas (Tabla 3). Se reconoce así el aceite virgen extra como

Introducción

un alimento de calidad superior y diferenciada, debido a sus características propias y diferenciales por el medio geográfico en el que se producen las materias primas, por cómo se elaboran los productos, y por la influencia del factor humano que participa en las mismas.

Este incremento de la conciencia sobre los beneficios saludables del aceite de oliva está haciendo que el área de cultivo del olivo se expanda en numerosos países. La mayoría de las nuevas plantaciones se caracterizan por marcos de plantación mucho más pequeños (sistemas intensivos, superintensivos o en seto), con alta densidad de plantas que deben ser suministradas anualmente de los viveros comerciales de olivo. Estas nuevas plantaciones priman el aumento de la productividad y el descenso de los costes de producción, dos condicionantes claves que estimularon la creación de un conjunto de estrategias, desarrolladas a partir de la década de los 70 en respuesta a una importante crisis del sector, y conocidas como “Nueva Olivicultura” (Rallo, 1998).

Entre los cambios más destacables que pueden atribuirse a la “Nueva Olivicultura” cabe señalar: a) la expansión del área bajo regadío; b) el establecimiento de plantaciones con mayor densidad de árboles de un pie adaptados a la recolección mecánica; c) el desarrollo de una industria viverística adaptada a la obtención de plantas de un tronco y entrada precoz en producción; y d) la adopción de prácticas de producción, recolección y post-cosecha tendentes a mejorar la calidad del aceite de oliva.

Bajo estas premisas, la olivicultura en España ha experimentado en las últimas décadas importantes cambios tecnológicos, entre los que destaca la reconversión del olivar tradicional por otros sistemas más intensivos (con densidades entre 200 y 500 árboles/ha). Algo después, en torno a los 90, se implantó el sistema de alta densidad o superintensivo con plantaciones en seto, donde las densidades alcanzadas son muy superiores (1500-2000 árboles/ha).

Tabla 3. Aceites de oliva (virgen extra) con Denominaciones de Origen Protegidas (DOP) en España.

Denominación de Origen Protegida	Zona de producción
Antequera	Andalucía
Baena	Andalucía
Estepa	Andalucía
Lucena	Andalucía
Montes de Granada	Andalucía
Montoro-Adamuz	Andalucía
Poniente de Granada	Andalucía
Priego de Córdoba	Andalucía
Sierra de Cádiz	Andalucía
Sierra de Cazorla	Andalucía
Sierra de Segura	Andalucía
Sierra Mágina	Andalucía
Aceite del Bajo Aragón	Aragón
Sierra del Moncayo	Aragón
Aceite de la Alcarria	Castilla La Mancha
Aceite Campo de Calatrava	Castilla La Mancha
Aceite Campo de Montiel	Castilla La Mancha
Montes de Toledo	Castilla La Mancha
Aceite de L'Empordà	Cataluña
Aceite de Terra Alta	Cataluña
Aceite de Baix Ebre-Montsià	Cataluña
Les Garrigues	Cataluña
Siurana	Cataluña
Aceite de Navarra	Comunidad Foral de Navarra
Aceite de la Comunitat Valenciana	Comunidad Valenciana
Aceite de Monterrubio	Extremadura
Gata-Hurdes	Extremadura
Aceite de Mallorca	Islas Baleares
Aceite de la Rioja	La Rioja

Fuente: Elaboración propia a partir del mapa de aceites con DOP publicado por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (datos actualizados a marzo de 2015).

Introducción

Estos avances tecnológicos, ligados a las mejoras en la productividad, han favorecido que exista una tendencia creciente en la evolución de la superficie plantada de olivar, mucho más acusada en las producciones por la implantación de sistemas de cultivo con altas densidades y con riego (Figura 2). Se podría decir que las nuevas plantaciones de olivo demandan ciertas características (mayor precocidad de entrada en producción, aptitud mecánica que facilite la recolección, tolerancia a ciertas enfermedades y buenos aceites, principalmente con elevados rendimientos grasos y alto contenido en ácido oleico) que también son perseguidas por los programas de mejora actuales.

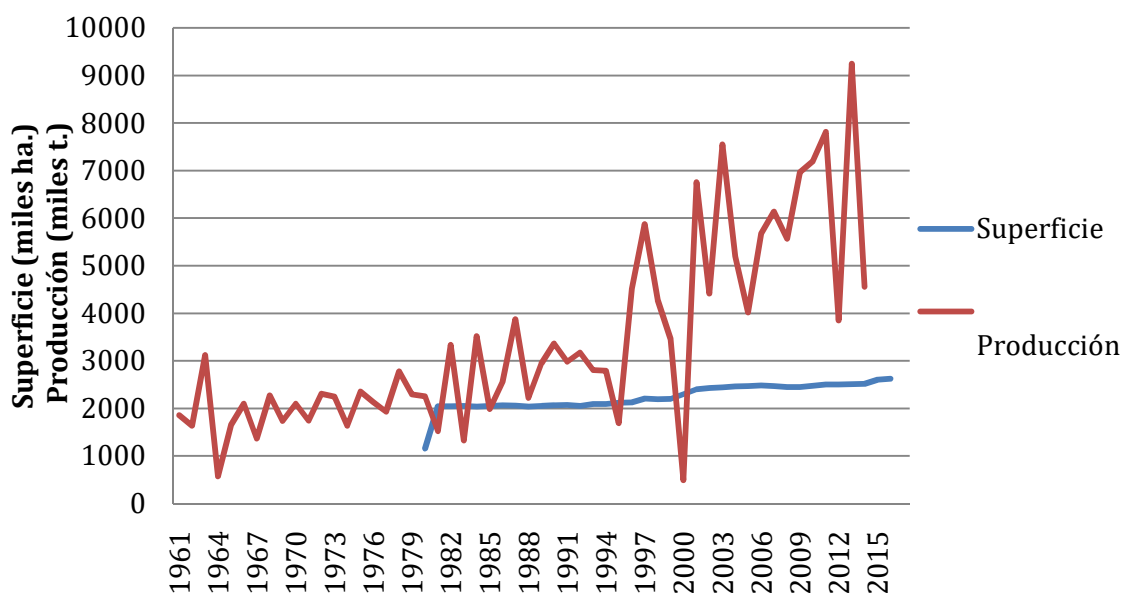


Figura 2. Evolución de la superficie (miles de ha.) y producción (miles de t.) del olivar en España.

Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), disponibles en la web: <http://www.fao.org/statistics/es/>

Por otra parte, las nuevas plantaciones de olivar actualmente suelen establecerse mediante estaquillas semileñosas enraizadas bajo nebulización (Caballero y Del Río, 1994; Caballero, 1980; Cimato y Fiorino, 1980), y las altas densidades de plantación requieren gran número de plantas que deben ser suministradas por los viveros de olivos anualmente. En consecuencia, sería conveniente mejorar los métodos de multiplicación, o el crecimiento

inmediatamente posterior de las plantas necesario antes de su venta, para satisfacer la ávida demanda actual.

Este método de propagación consta de tres fases (Caballero y Del Río, 2008): a) Enraizamiento de las estaquillas; b) Endurecimiento, para promover el buen funcionamiento del sistema radical obtenido; c) Crecimiento de los plantones, cultivados en maceta o bolsas de plástico a un solo brote.

Con el fin de acortar lo máximo posible este proceso se empezaron a enraizar estaquillas más pequeñas (con dos nudos en lugar de cuatro), obteniendo así el doble de plantas con el mismo material vegetal de partida. En la última fase del proceso, el crecimiento se puede forzar mediante intervenciones de poda a un solo brote, utilizando sustratos ricos en materia orgánica o aplicando los nutrientes mediante un ligero abonado, e incluso inoculando las plantas con hongos micorrízicos arbusculares, que además de mejorar la absorción de fósforo permiten un mayor desarrollo radical (Tang *et al.*, 2009; Subramanian y Charest, 1997) y que puede ser muy beneficioso para conseguir un establecimiento de la plantación exitoso.

1.4. El fósforo (P) como elemento nutritivo de interés en la fertilización del olivar.

El fósforo es un macronutriente que juega un papel fundamental en muchos procesos fisiológicos de la planta. Es un constituyente estructural de macromoléculas como los ácidos nucleicos, y forma parte de nucleoproteínas, fosfolípidos y otras enzimas involucradas en procesos energéticos. Todo ello está directamente correlacionado con el desarrollo de la planta (Zeng *et al.*, 2014), particularmente del sistema radical (Rausch y Bucher, 2002; Schachtman *et al.*, 1998). Además, los intrincados mecanismos involucrados en mantener la homeostasis de fósforo inorgánico (Pi) dentro de la planta ponen de manifiesto la complejidad de la adquisición y translocación de Pi (Raghothama, 1999). En el olivo, al igual que ocurre en otras especies leñosas, el P se recicla con facilidad al ser un elemento móvil (Kurita *et al.*, 2014; Barrelet *et al.*, 2006; Eschrich *et al.*, 1988), aunque poco se ha estudiado sobre

la nutrición del P en plantas leñosas (Rennenberg y Herschbach, 2013).

La concentración de P en el suelo suele ser menor que la de otros macronutrientes (Bielecki, 1973), y una elevada porción se encuentra en formas no disponibles para su absorción por las plantas (Holford, 1997). Además, el movimiento de fósforo en el suelo tiene lugar por difusión, principalmente, y la velocidad de este proceso suele ser baja (Schachtman *et al.*, 1998). La consecuencia más inmediata de esto es que el P constituye uno de los elementos minerales limitantes para la producción de muchos cultivos (Vance *et al.*, 2003), aunque en el olivo los requerimientos son bajos (Jiménez-Moreno y Fernández-Escobar, 2016; Rennenberg y Herschbach, 2013). Por esta razón, los fertilizantes fosfóricos son ampliamente aplicados en numerosos cultivos agrícolas (Shen *et al.*, 2011). Otras estrategias para la adquisición y utilización de P por las plantas leñosas incluyen la simbiosis con hongos micorrízicos arbusculares (Smith y Read, 2008), de los que se hablará con más detalle en el apartado siguiente.

Ante este escenario, el interés de la fertilización fosfórica se pone de manifiesto en cuanto hay estudios que asocian un aumento en la concentración de P en hoja, por encima del nivel de suficiencia establecido, con un adelanto e incremento de la floración, sobre todo en los primeros años del establecimiento del cultivo (Rickard, 2000; Neilsen *et al.*, 1990a; Reddy y Majmudar, 1985; Williams y Thompson, 1979; Taylor y Goubran, 1975). Dado que la floración y el cuajado de frutos son los principales procesos que influyen en la productividad de los frutales, y, particularmente, en el olivo donde las etapas de crecimiento vegetativo y reproductivo están estrechamente relacionadas (Dag *et al.*, 2010; Castillo-Llanque *et al.*, 2008), este planteamiento resulta de gran interés, puesto que de verificarse esta posible reducción del periodo improductivo, se conseguirían importantes beneficios económicos para el olivo que contribuirían a aumentar la rentabilidad del cultivo.

Asimismo, el nivel de floración está relacionado negativamente con el cuajado de los frutos (Lavee *et al.*, 1996), éste último influenciado por el número

de inflorescencias más que por el número de flores/inflorescencia (Reale *et al.*, 2006).

Los efectos obtenidos con la aplicación de P son diferentes según se trate de cultivos anuales o perennes, entre especies frutales diferentes, e incluso entre variedades dentro de una misma especie (Raese, 1998; Freeman y Carlson, 1994). En olivo también hay estudios que indican que el P podría afectar al desarrollo reproductivo (Erel *et al.*, 2016; Erel *et al.*, 2013), por lo que es lícito pensar que incrementos en el contenido de P en olivos jóvenes podrían aumentar el número de inflorescencias y adelantar la floración.

Otra de las consecuencias de la aplicación de fósforo es el incremento en longitud de la raíz, como así se ha demostrado en cerezo (Nielsen *et al.*, 1990b) o en el manzano (Nielsen *et al.*, 1990a), y que pudiera asociarse a un incremento en los niveles de citoquininas. La raíz es el órgano de la planta donde se encuentra el mayor contenido de fósforo (Jiménez-Moreno y Fernández-Escobar, 2016; Bath, 1981). Estos estudios mostraron que en plantas con alto contenido en P tiene lugar una mayor traslocación a otros órganos (tallos y hojas), frente a aquellas cuyos niveles internos de P son menores, donde casi todo el P absorbido permanece en la raíz. Anteriormente, Wittwer (1969), en una revisión sobre el papel del fósforo en la producción de cultivos hortícolas, concluyó que la aplicación de fosfato en el momento del establecimiento del cultivo acelera la regeneración de las raíces que pueden dañarse al ser trasplantadas, e incluso conduce, a veces, a una precocidad en la floración y fructificación. Resultados similares fueron obtenidos por Wojcik y Klamkowski (2005), que destacan el efecto positivo de la aplicación de fosfato en el momento del establecimiento del cultivo cuando el crecimiento en raíz es limitado. Como vemos, la longitud de las raíces es uno de los factores más importantes en la absorción de P (Guangli *et al.*, 2009). Ensayos con diferentes cultivos en campo indican una estrecha relación entre la longitud radical y el P absorbido, mientras que en maceta, las diferencias en la absorción de P se relacionan con cambios en volumen de suelo más que con la densidad radical (Otani y Ae, 1996).

1.5. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) asociados al cultivo del olivo.

El olivo es una planta micotrófica, es decir, tiene la capacidad de obtener nutrientes estableciendo simbiosis con hongos (Roldán-Fajardo y Barea, 1985). Estas asociaciones micorrízicas son conocidas por su papel beneficioso en la nutrición de las plantas, que al desarrollar un sistema radical más ramificado y con mayor longitud de raíz, pueden explorar un mayor volumen de suelo respecto a otras plantas no micorrizadas (Citernes *et al.*, 1998; Smith y Read, 1997). Otros beneficios de la inoculación con micorrizas son un mayor ratio de supervivencia y desarrollo de las plantas propagadas, mejoran el establecimiento de la plantación, protegen contra estreses bióticos y abióticos, en concreto la resistencia de la raíz frente a patógenos y tolerancia a la sequía (Wu *et al.*, 2013) y salinidad (Porrás-Soriano *et al.*, 2009), e incluso mejoran la estructura del suelo (Azcón-Aguilar y Barea, 1997). Algunos autores sugieren beneficios adicionales, como incrementos significativos en crecimiento, precocidad, producción (Calvente *et al.*, 2004, Estaún *et al.*, 2003; Roldán-Fajardo y Barea, 1985), que pudieran tener su origen causal en esa mejor nutrición fosfórica.

En lo que se refiere a la absorción de P por la planta, como también ocurre para otros nutrientes poco móviles, la micorrización constituye una alternativa válida al uso de tratamientos químicos, ya que permite la absorción desde fuentes de P orgánicas, que de otro modo no estarían disponibles para la planta. No obstante, es necesario conocer la compatibilidad entre el hongo y la especie a inocular, e incluso variedades dentro de la misma especie, para tener ciertas garantías de que la micorrización resulte efectiva (Chatzistathis *et al.*, 2013).

No es la primera vez que se sugiere la inoculación rutinaria de plantas jóvenes en vivero (Montes-Borrego *et al.*, 2014; Porrás-Soriano *et al.*, 2009; Estaún *et al.*, 2003; Plenchette, 2000), tanto por mejorar su respuesta en vivero como posteriormente al trasplante en campo (Meddad-Hamza *et al.*, 2010; Carretero *et al.*, 2009; Dag *et al.*, 2009; Binet *et al.*, 2007; Calvente *et al.*, 2004;

Azcón-Aguilar y Barea, 1997). Pero sí es conveniente señalar algunas consideraciones a tener en cuenta que pueden interferir en una micorrización exitosa, aparte de las relaciones entre el hongo y la planta huésped ya citadas. Una de las cuestiones a considerar más restrictivas es la fertilización con P en plantas micorrizadas, ya que se producen interacciones negativas entre ambos factores, de modo que un incremento del P descende los niveles de colonización micorrízica (Schreiner, 2010; Schreiner y Linderman, 2005; Barea, 1991).

En vista de los datos de que disponemos, la simbiosis micorrízica puede ser considerada como un factor esencial para fomentar la sanidad y productividad de las plantas, cuya incorporación en las empresas viverísticas de olivo puede resultar de gran interés para conseguir plantas de calidad.

1.6. Referencias.

- Azcón-Aguilar, C. y Barea, J.M. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Sci. Hortic.* 68:1-24.
- Arnon, D.I. y Stout, P.R. 1939. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to cooper. *Plant Physiology* 14:371-375.
- Barea, J.M. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In: B.A. Stewart (Ed.). *Adv. Soil Sci.* Springer-Verlag. New York. pp.1-40.
- Barranco, D. 1997. Las principales variedades de olivo en España. *Vida Rural.* 55:32-34.
- Barranco, D. 2008. Variedades y patrones. En: *El Cultivo del Olivo.* 6ª ed. D. Barranco; R. Fernández-Escobar y L. Rallo (Eds.). 846 pp. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Barrelet, T.; Ulrich, A.; Rennenberg, H.; Krähenbühl, U. 2006. Seasonal profiles of sulphur, phosphorus and potassium in Norway spruce wood. *Plant Biol.* 8:462-469.

- Benlloch, M.; Arboleda, F.; Barranco, D.; Fernandez-Escobar, R. 1991. Response of young olive trees to sodium and boron excess in irrigation water. HortScience. 26: 867-870.
- Bath, S.K.K. 1981. Nutrient inflows into apple roots. I. P32-orthophosphate uptake from solution by M9 rootstocks and Worcester Pearmain seedlings. Plant, Cell and Environment. 4: 297-302.
- Bialeski, R.L. 1973. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. Annu. Rev. Plant Physiol. 24:225-252.
- Binet, M.N.; Lemoine, M.C.; Martin, C.; Chambon, C.; Gianinazzi, S. 2007. Micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) and application of mycorrhizal to improve plantlet establishment. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 43:473-478.
- Brown, P.H.; Weinbaum, S.A.; Picchioni, G.A. 1995. Alternate bearing influences annual nutrient consumption and the total nutrient content of mature pistachio trees. Trees Structure and Function. 9 (3): 158-164.
- Brown, P.H. 1994. Seasonal variations in Fig (*Ficus carica* L.) leaf nutrient concentrations. Hortscience. 29 (8): 871-873.
- Caballero, J.M. 1980. Multiplicación del olivo por estaquillado semileñoso bajo nebulización. Comunicaciones INIA. Serie Producción Vegetal. 31-39.
- Caballero, J.M. y Del Río, C. 1994. Propagación del olivo por enraizamiento de estaquillas semileñosas bajo nebulización. Comunicación I+D Agroalimentaria, 7/94. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 23 pp.
- Caballero, J.M. y Del Río, C. 2008. Métodos de multiplicación. En: *El Cultivo del Olivo*. 6ª ed. D. Barranco; R. Fernández-Escobar y L. Rallo (Eds.). 846 pp. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Calvente, R. ; Cano, C.; Ferrol, N.; Azcón-Aguilar, C.; Barea, J.M. 2004. Analysing natural diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in olive tree (*Olea europaea* L.) plantations and assessment of the effectiveness of native fungal isolates as inoculants for commercial cultivars of olive plantlets.

- Applied Soil Ecol. 26:11-19.
- Carretero, C.L.; Cantos, M.; Garcia, J.L.; Azcón, R.; Troncoso, A. 2009. Growth responses of micropropagated cassava clones as affected by *Glomus intraradices* colonization. J. Plant Nutr. 32:261-273.
- Castillo-Llanque, F.J.; Rapoport, H.F. and Navarro, C. 2008. Interaction between shoot growth and reproductive behavior in olive trees. Proceedings of the V international symposium on olive growing. Acta Horticulturae. Vol.1-2(791):453-457.
- Chatzistathis, T.; Orfanoudakis, M.; Alifragis, D.; Therios, I. 2013. Colonization of Greek olive cultivars' root system by arbuscular mycorrhiza fungus: root morphology, growth, and mineral nutrition of olive plants. Sci. Agricola, 70(3):185-194.
- Cimato, A. y Fiorino, P. 1980. Stato attuale delle conoscenze sulla moltiplicazione dell'olivo con la tecnica della nebulizzazione. L'Informe Agrario. XXXVI (38):12227-12238.
- Citernes, A.S.; Vitagliano, C.; Giovannetti, M. 1998. Plant growth and root system morphology of *Olea europaea* L. rooted cuttings as influenced by arbuscular mycorrhizas. J. Hort. Sci. Biotech. 73:647-654.
- Civantos, L. 2008. La olivicultura en el mundo y en España. En: *El Cultivo del Olivo*. 6ª ed. D. Barranco; R. Fernández-Escobar y L. Rallo (Eds.). 846 pp. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- COI. 2017. Consejo Oleícola Internacional. Cifras de aceite de oliva. Disponible en la web: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures> (verificado a fecha 14 de Junio de 2017).
- Cuevas, J.; Rallo, L.; Rapoport, H.F. 1994. Crop load effects on floral quality in olive. Sci. Hortic. 59:123-130.
- Dag, A.; Yermiyahu, U.; Ben-Gal, A.; Zipori, I.; Kapulnik, Y. 2009. Nursery and post transplant field response of olive trees to arbuscular mycorrhizal fungi in an arid region. Crop Pasture Sci. 60:427-433.
- Dag, A.; Bustan, A.; Avni, A.; Tzipori, I.; Lavee, S.; Riov, J. 2010. Timing of fruit

- removal affects concurrent vegetative growth and subsequent return bloom and yield in olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae* 123(4):469-472.
- Erel, R.; Yermiyahu, U.; Yasuor, H.; Cohen-Chamus, D.; Schwartz, A.; Ben-Gal, A.; Dag, A. 2016. Phosphorus nutritional level, carbohydrate reserves and flower quality in olives. *PLoS One*. 11(12):e0167591.
- Erel, R.; Yermiyahu, U.; Van Opstal, J.; Ben-Gal, A.; Schwartz, A.; Dag, A. 2013. The importance of olive (*Olea europaea* L.) tree nutritional status on its productivity. *Sci. Hortic.* 159:8-18.
- Eschrich, W.; Fromm, J.; Essiamah, S. 1988. Mineral partitioning in the phloem during autumn senescence of beech leaves. *Trees (Berl.)* 2:73-83.
- Estaún, V.; Camprubí, A.; Calvet, C.; Pinochet, J. 2003. Nursery and field response of olive trees inoculated with two arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 128:767-775.
- FAOSTAT. 2014. Datos estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en la web: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (verificado a fecha 14 Junio de 2017).
- Fernández-Escobar, R. 2008a. Fertilización. En: *El Cultivo del Olivo*. 6ª ed. D. Barranco; R. Fernández-Escobar y L. Rallo (Eds.). 846 pp. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Fernández-Escobar, R. 2008b. Olive fertilization practices in the Mediterranean region. *Olivae*. 109:13-22.
- Fernández-Escobar, R.; Sánchez-Zamora, M.A., García-Novelo, J.M.; Molina-Soria, C. 2015. Nutrient removal from olive trees by fruit yield and pruning. *HortScience*. 50:1-5.
- Fernández-Escobar, R.; Parra, M.A.; Navarro, C.; Arquero, O. 2009. Foliar diagnosis as a guide to olive fertilization. *Spanish J. Agric. Res.* 7 (1): 212-223.
- Fernández-Escobar, R.; Benlloch, M.; Navarro, D. y Martín, G.C. 1992. The time of

- floral induction in the olive. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 117:304-307.
- Fernández-Escobar, R.; Moreno, R.; García-Creus, M. 1999. Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia Horticulturae* 82: 25-45.
- Freeman, M. and Carlson, R.M. 1994. Mineral nutrient availability. In: *Olive production manual*. University of California, publication 3353. Berkeley, California, pp:69-75.
- Guangli, X.; Tingxuan, L.; Xizhou, Z.; Haiying, Y.; Huagang, H.; Gupta, D.K. 2009. Uptake and accumulation of phosphorus by dominant plant species growing in a phosphorus mining area. *J. Hazardous Materials.* 171:542-550.
- Hartmann, H.T.; Uriu, K.; Lilleland, O. 1966. Olive nutrition, p.256-261. In: N.F. Childers (Ed.). *Temperate to tropical fruit nutrition*. Horticultural Publications, Rutgers University, NJ.
- Holford, I.C.R. 1997. Soil phosphorus: its measurements and its uptake by plants. *Austral. J. Soil Res.* 35(2):227-239.
- Jiménez-Moreno, M.J. y Fernández-Escobar, R. 2016. Response of Young olive plants (*Olea europaea*) to phosphorus application. *HortScience.* 51(9):1167-1170.
- Kurita, Y.; Baba, K.; Ohnishi, M.; Anegawa, A.; Shichijo, C.; Kosuge, K.; Fukaki, H.; Mimura, T. 2014. Establishment of a shortened annual cycle system; a tool for the analysis of annual re-translocation of phosphorus in the deciduous woody plant (*Populus alba* L.). *J. Plant Res.* 127(4):545-551.
- Lavee, S. 2007. Biennial bearing in olive (*Olea europaea*). *Annales. Ser. Hist. Nat.* 17:101-112.
- Lavee, S.; Rallo, L.; Rapoport, H.F.; Troncoso, A. 1996. The floral biology of the olive: effect of flower number, type and distribution on fruit set. *Sci. Hortic.* 66:149-158.
- Lavee, S. y Haskal, A. 1993. Partial fruiting regulation of olive trees (*Olea europaea* L.) with Paclobutrazol and Gibberellic acid in the orchard. *Adv.*

Hort. Sci. 7:83-86.

MAPAMA. 2017. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Gobierno de España. Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos (ESYRCE). Disponible en la web: <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/> (verificado a fecha 27 de Marzo de 2017).

Meddad-Hamza, A.; Beddiar, A.; Gollote, A.; Lemoine, M.C.; Kuszala, C.; Gianinazzi, S. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth of olive trees and their resistance to transplantation stress. *Afr. J. Biotechnol.* 9:1159-1167.

Ministerio de Agricultura. 1972. *El Olivar Español*. Madrid. 136 pp. Extracto tomado del blog "Esencia de Olivo", disponible en la web: <http://www.esenciadeolivo.es/aceite-de-oliva/aceite-de-oliva-en-espana/zonas-productoras-en-espana/> (verificado a fecha 14 de Junio de 2017).

Montes-Borrego, M.; Metsis, M.; Landa, B. 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with the olive crop across the Andalusian landscape: factors driving community differentiation. *PLoS ONE.* 9(5):e96397.

Neilsen, G.H., Hogue, E.J. y Parchomchuk, P. 1990a. Flowering of apple trees in the second year is increased by first year P fertilization. *HortScience.* 25 (10): 1247-1250.

Neilsen, G.H.; Neilsen, D. y Atkinson, D. 1990b. Top and root growth and nutrient absorption of *Prunus avium* L. at two soil pH and P levels. *Plant and Soil.* 121 (1): 137-144.

Otani, T. y Ae, N. 1996. Sensitivity of phosphorus uptake to changes in root length and soil volumen. *Agronomy J.* 88(3):371-375.

Pastor, M.; Humanes, J.; Vega, V.; Castro, J. 1998. *Diseño y Manejo de Plantaciones de Olivar*. 225 pp. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. Sevilla.

Picchioni, G.A.; Brown, P.H.; Weinbaum S.A.; Muraoka, T.T. 1997. Macronutrient

- allocation to leaves and fruit of mature, alternate-bearing pistachio trees: Magnitude and seasonal patterns at the whole-canopy level. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 122 (2): 267-274.
- Plenchette, C. 2000. Receptiveness of some tropical soils from banana fields in Martinique to the arbuscular fungus *Glomus intraradices*. *Appl. Soil Ecol.* 15:253-260.
- Porrás-Soriano, A.; Soriano-Martín, M.L.; Porrás-Piedra, A.; Azcón, R. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *J. Plant Physiol.* 166:1350-1359.
- Raese, J.T. 1998. Response of apple and pear trees to phosphate fertilization: A compendium. *Communications in Soil Sci. and Plant Analysis*. 29(11-14):1799-1821.
- Raghothama, K.G. 1999. Phosphate acquisition. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50:665-693.
- Rallo, L. 1998. El olivar y la innovación tecnológica. *Phytoma*. 102:6-8.
- Rallo, L.; Barranco, D.; Caballero, J.M.; del Río, C.; Martín, A.; Tous, J.; Trujillo, I. 2005. *Varietades de Olivo en España*. Junta de Andalucía-MAPA-Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 480 pp.
- Rallo, L. y Fernández-Escobar, R. 1985. Influence of cultivar and flower thinning within the inflorescence on competition among olive fruit. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 110:303-308.
- Rallo, L.; Martín, G.C.; Lavee, S. 1981. Relationship between abnormal embryo sac development and fruitfulness in olive. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 106:813-817.
- Rapoport, H. 2008. Botánica y morfología. En: *El Cultivo del Olivo*. 6ª ed. D. Barranco; R. Fernández-Escobar y L. Rallo (Eds.). 846 pp. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Rausch, C. y Bucher, M. 2002. Molecular mechanisms of phosphate transport in

- plants. *Planta*. 216:23-37.
- Reale, L.; Sgromo, C.; Bonofiglio, T.; Orlandi, F.; Fornaciari, M.; Ferranti, F.; Romano, B. 2006. Reproductive biology of olive (*Olea europaea* L.) DOP umbria cultivars. *Sexual Plant Reproduction*. 19(4):151-161.
- Reddy, S.E. and Majmudar, A.M. 1985. Tracking phosphorus patterns in mango (*Mangifera indica* L.) and possible relations to floral induction. *Fertilizer Res.* 6:225-234.
- Rennenberg, H. y Herschbach, C. 2013. Phosphorus nutrition of woody plants: Many questions, few answers. *Plant Biol.* 15:785-788.
- Restrepo-Díaz, H.; Benlloch, M.; Fernández-Escobar, R. 2008. Plant water stress and K⁺ starvation reduce absorption of foliar applied K⁺ by olive leaves. *Sci. Hort.* 116:409-413
- Rickard, D.A. 2000. Review of phosphorus acid and its salts as fertilizer materials. *J. Plant Nutr.* 23 (2): 161-180.
- Roldán-Fajardo, B.E. y Barea, J.M. 1985. Mycorrhizal dependency in the olive tree (*Olea europaea* L.). In: Gianinazzi-Pearson, V.; Gianinazzi, S. (Eds.). *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizal*. INRA, Paris, pp.323-326.
- Rosecrance, R.C.; Weinbaum, S.A.; Brown, P.H. 1998. Alternate bearing affects nitrogen, phosphorus, potassium and starch storage pools in mature pistachio trees. *Annals of Botany*. 82 (4): 463-470.
- Schachtman, D.P; Reid, R.J; Ayling S.M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116: 447-453.
- Shear, C.B.; Crane, H.L.; Myers, A.T. 1946. Nutrient element balance: A fundamental concept in plant nutrition. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 47: 239-248.
- Shen, J.; Yuan, L.; Zhang, J.; Li, H.; Bai, Z.; Chen, X. ; Zhang, W.; Zhang, F. 2011. Phosphorus dynamics : from soil to plant. *Plant Physiol.* 156:997-1005.
- Schreiner, R.P. 2010. Foliar sprays containing phosphorus (P) have minimal impact on 'Pinot noir' growth and P status, mycorrhizal colonization, and

- fruit quality. *HortScience*. 45(5):815-821.
- Schreiner, R.P. y Linderman, R.G. 2005. Mycorrhizal colonization in dryland vineyards of the Willamette Valley, Oregon. *Small Fruits Rev.* 4:41-55.
- Smith, S.E. y Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. Elsevier/Academic Press, Amsterdam, The Netherlands.
- Subramanian, K.S. y Charest, C. 1997. Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. *Mycorrhiza*. 7 (1): 25-32.
- Tang, C.; Han, X.Z; Qiao, Y.F.; Zheng, S.J. 2009. Phosphorus deficiency does not enhance proton release by roots of soybean (*Glycine max* L. Murr.). *Environmental and Experimental Botany*. 67: 228-234.
- Taylor, B.K. y Goubran, F.H. 1975. The phosphorus nutrition of the apple tree. I. Influence of rate of superphosphate on the performance of young trees. *Australian J. Agric. Res.*. 26: 843-853.
- Uriu, K. 1960. Periods of pistil abortion in the development of the olive flower. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 73:194-202.
- Vance, C.P.; Uhde-Stone, C.; Allan, D.L. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol.* 157:423-447.
- Wilkie, J.D.; Sedgley, M. y Olesen, T. 2008. Regulation of floral initiation in horticultural trees. *J. Exp. Bot.* 59(12):3215-3228.
- Wittwer, S.H. 1969. Regulation of phosphorus nutrition of horticultural crops. *HortScience*. 4: 320-322.
- Wojcik, P. y Klamkowski, K. 2005. Response of 'Jonagold' apple trees in the first three years after planting to mono ammonium phosphate fertilization under replant problem conditions. *J. Plant Nutr.* 28 (8): 1397-1411.
- Williams, J.M. y Thompson A.H. 1979. Effect of phosphorus, nitrogen and daminozide on growth and 1st fruiting of dwarf apple trees. *HortScience*. 14 (6): 703-704.

Introducción

Wu, Q.S.; Srivastava, A.K. y Zou, Y.N. 2013. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: A review. *Sci. Hortic.* 164:77-87.

Zeng, H.; Wang, G.; Hu, X.; Wang, H.; Du, L.; Zhu, Y. 2014. Role of microRNAs in plant responses to nutrient stress. *Plant Soil.* 374:1005-1021.

Capítulo 2

Objetivos

Objetivos.

2.1. Objetivos.

Ante el escenario mostrado en el Capítulo 1, y por las razones que allí se detallan, hay una necesidad actual de establecer un mayor conocimiento de la nutrición fosfórica en olivo para un mejor manejo de la fertilización, así como tener en consideración su posible efecto sobre la floración, teniendo en cuenta las diferencias varietales que pudieran existir, lo que permitiría reducir el periodo improductivo de nuevas plantaciones con los consiguientes beneficios agronómicos y económicos asociados para el manejo del cultivo.

Así pues, los principales objetivos concretos que se persiguen son:

- 1) Determinar con mayor exactitud los niveles críticos del P, así como describir los síntomas de deficiencia y toxicidad en olivo y el estado nutricional para que tienen lugar. Para ello es de utilidad analizar y describir la distribución del P en cada órgano de la planta. Este objetivo se aborda en el Capítulo 3.
- 2) Cuantificar la Eficiencia de Absorción del Fósforo (EAP), esto es, el P absorbido por la planta respecto al total aplicado. Este objetivo se aborda en el Capítulo 3.
- 3) Evaluar el efecto de la aplicación del fósforo a distintas dosis y formas de aplicación en el crecimiento y contenido total de P en olivos jóvenes (o concentración de P en hoja para condiciones de campo), tanto en condiciones de umbráculo (maceta) como en campo, durante los primeros años del establecimiento de la plantación. Se pretende, además, conocer cómo influyen los factores tipo de suelo, variedad y micorrización en dicha fertilización fosfórica. Este objetivo se aborda en los Capítulos 3, 4 y 5.
- 4) Evaluar los parámetros de floración en olivos jóvenes a nivel cuantitativo y cualitativo, así como su relación con el estado nutricional de P de la planta bajo condiciones de cultivo en

Objetivos

umbráculo y en campo, para verificar nuestra hipótesis de partida que asocia incrementos en la concentración de P en hoja con un adelanto e incremento de la floración en los primeros años del establecimiento del cultivo. Este objetivo se aborda en los Capítulos 4 y 5.

2.2. Esquema de la tesis.

La tesis se presenta en 7 capítulos que contribuyen a la consecución de uno o varios de los objetivos específicos ya citados en el apartado anterior.

Inicialmente, una introducción general ocupa el **Capítulo 1**, subdividida en cinco apartados que tratan sobre: 1.1) El cultivo del olivo y sus variedades; 1.2) La fertilización del olivar. Los nutrientes en la floración; 1.3) Nueva Olivicultura; 1.4) El Fósforo como elemento nutritivo de interés; y 1.5) Los hongos micorrízicos asociados al cultivo del olivo.

El presente capítulo, **Capítulo 2**, que incluye los objetivos y el esquema general de la tesis.

En el **Capítulo 3** se incluyen ensayos en los que se realizan aplicaciones de P, mediante fertirriego, a diferentes dosis en macetas con sustrato inerte, y con la variedad 'Picual', para inducir síntomas de deficiencia y toxicidad así como determinar los niveles críticos de P. Esta información resultó de gran utilidad para los siguientes ensayos, permitiendo acotar las dosis de P óptimas para el olivo según la respuesta vegetativa obtenida. También se pone de manifiesto una baja Eficiencia de Absorción del Fósforo (EAP) y los principales órganos a los que se distribuye el P dentro de la planta, con las implicaciones que ello conlleva y que así se mencionan.

En el **Capítulo 4** se evalúa y compara el efecto de la aplicación de fósforo foliar en las variedades 'Hojiblanca', 'Picual' y 'Arbequina', frente a la respuesta varietal propia (sin añadir P) de las 24 variedades principales españolas. Se consideran aspectos vegetativos y reproductivos, en relación a los contenidos y

concentraciones de P del olivo. La ausencia de respuesta ante la fertilización fosfórica y las diferencias varietales en la primera floración, son dos aspectos clave que aquí se discuten.

El **Capítulo 5** incluye información relativa a cuatro ensayos, tres en maceta y uno en campo, que son complementarios y consideran cada uno de ellos diferentes factores para la evaluación final del efecto del fósforo en el crecimiento vegetativo y en la floración (variedad, dosis de P, micorrización con *Glomus intraradices*, y tipo de suelo según su nivel en P). El conjunto nos permite comprender diferentes relaciones e interacciones de gran utilidad para su aplicación en la nutrición fosfórica, destacando el papel de las micorrizas bajo ciertos condicionantes para su incorporación en el sector viverístico de una forma más efectiva.

Para finalizar, se presenta una discusión general de todos los trabajos y las conclusiones finales en los **Capítulos 6 y 7**, respectivamente.

Los capítulos 3 y 4 corresponden a artículos que ya han sido publicados en revistas con índice de impacto en el JCR, e incluidas en el primer y segundo cuartil de su área temática (Horticultura). El capítulo 5, estructurado con un formato similar a los dos anteriores, se basa en otro artículo enviado posteriormente y que continua pendiente de aceptación. El título correspondiente a cada capítulo aparece al principio de los mismos (ver "**Tabla de Contenidos**" al inicio).

Capítulo 3

Respuesta de plantas jóvenes de olivo (*Olea europaea* L.) a la aplicación de fósforo

Este capítulo corresponde al artículo “Response of Young olive plants (*Olea europaea*) to phosphorus application” publicado en 2016.

Puede acceder al mismo en el enlace siguiente:

<http://hortsci.ashspublications.org/content/51/9/1167.abstract>

HORTSCIENCE 51(9):1167–1170. 2016. doi: 10.21273/HORTSCI11032-16

Response of Young Olive Plants (*Olea europaea*) to Phosphorus Application

María José Jiménez-Moreno and Ricardo Fernández-Escobar¹

Departamento de Agronomía, Campus Universitario de Rabanales, Universidad de Córdoba, Edificio C 4, Carretera Madrid-Cádiz, km 396, 14071 Córdoba, Spain

Additional index words. phosphorus nutrition, phosphorus uptake efficiency, phosphorus excess, Zn deficiency

Abstract. Mist-rooted ‘Picual’ olive cuttings growing in 1.1-L pots containing a mixture of washed sand and perlite were used to induce symptoms of phosphorus (P) deficiency and toxicity and to determine the nutritional status to which these symptoms occur. Plants were growing in a growth chamber at 25 °C day/15 °C night with a 14-hour photoperiod. From late spring to the autumn, plants were placed in a shade house protected from the rain. In the first experiment, plants received the application of 0, 100, 200, or 400 ppm P, and in the second experiment, 0, 12.5, 25, 50, 100, or 200 ppm P. Shoot growth was measured weekly and leaf samples were collected at different dates to determine P concentration. At the end of each experiment, plants were harvested and P was determined to obtain the P uptake by the plants. Phosphorus uptake efficiency (PUE) was estimated as $PUE = (P \text{ uptake}/P \text{ applied}) \times 100$. P content increased in plants with the amount of P applied, and accumulated mainly in the roots. Vegetative growth showed a quadratic response, indicating a reduction of growth at the lower and highest doses of P application. Leaf P concentration below or above which shoot growth was reduced was 0.11% to 0.13%. Symptoms of P deficiency and toxicity were observed in only a few plants. Leaf P concentration of deficient plants was 0.025%, and that of toxicity 0.21%. Toxicity symptoms were similar to that of zinc (Zn) deficiency. PUE was very low, 1.34% to 4.45%, suggesting the low P requirements of the olive.

Received for publication 16 June 2016. Accepted for publication 22 July 2016.

Capítulo 4

*Influencia del estado
nutricional de fósforo en la
floración del olivo (Olea
europaea L.)*

Este capítulo corresponde al artículo “Influence of nutritional status of phosphorus on flowering in the olive (*Olea europaea* L.)” publicado en 2017.

Puede acceder al mismo en el enlace siguiente:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817303102>

Scientia Horticulturae 223 (2017) 1–4



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Scientia Horticulturae

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scihorti



Influence of nutritional status of phosphorus on flowering in the olive (*Olea europaea* L.)



M.J. Jiménez-Moreno, R. Fernández-Escobar*

Departamento de Agronomía, Campus Universitario de Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071, Córdoba, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Phosphorus nutrition
Leaf phosphorus
Phosphorus application
First flowering

ABSTRACT

Two different field experiments were carried out during four years with one-year-old olive trees recently planted. In the first experiment, ‘Hojiblanca’, ‘Picual’ and ‘Arbequina’ received several foliar applications along each season of 0, 100 or 200 ppm phosphorus. The second experiment was established with 24 olive cultivars to determine the effect of cultivars in the nutritional status of phosphorus and flowering. No phosphorus fertilizers were applied in this experiment. Foliar application of phosphorus to young olive trees during several seasons did not increase phosphorus concentration in leaves. This lack of response to phosphorus application could be because these trees have high levels of phosphorus in leaves. Consequently, no effect on vegetative growth or flowering was observed in response to phosphorus application. Differences in vigor, phosphorus level, and the time of first flowering were observed among cultivars, but no relationship was found between leaf phosphorus concentration and vigor or the time of first flowering. Results indicate that if the nutritional status of phosphorus in olive trees is above the sufficiency threshold phosphorus does not affect flowering. The time of first flowering seems to depend on the cultivar.

Received 6 March 2017. Received in revised form 19 April 2017. Accepted 15 May 2017.

Capítulo 5

Interacción entre la micorrización con *Glomus intraradices* y el fósforo en plantas de olivo de vivero.

Interacción entre la micorrización con *Glomus intraradices* y el fósforo en plantas de olivo de vivero.

5.1. Resumen.

La micorrización con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en plantas de vivero se ha convertido en una práctica habitual en viveros de olivo, ya que las asociaciones micorrízicas aumentan la tolerancia de la planta ante estreses bióticos y abióticos tras el trasplante. Las plantas de vivero en maceta también requieren fertilización debido a que las raíces se encuentran confinadas en una limitada cantidad de suelo. Dado que el olivo es una especie con bajos requerimientos de fósforo, y que los HMA afectan a la absorción de nutrientes, resulta de interés estudiar la posible interacción entre ambos factores. Para desarrollar estos estudios se realizaron tres experimentos diferentes con plantas en maceta que crecieron en umbráculo, y otro experimento en condiciones de campo. La inoculación con *Glomus intraradices* no afectó al nivel de fósforo en las plantas pero redujo el crecimiento vegetativo del brote en aquellas plantas que crecieron en un suelo rico en fósforo. Cuando el sustrato utilizado era pobre en fósforo, el crecimiento vegetativo del brote fue similar al control pero el desarrollo radical fue mayor. La micorrización también incrementó la fertilidad de las flores en 'Arbequina'. El crecimiento del brote se redujo cuando se usó sustrato esterilizado, lo que sugiere la recomendación de suelos naturales. Ya que no se observó efecto de la micorrización cuando la inoculación se realizó en el momento de la plantación, se recomienda la inoculación durante el periodo de crecimiento en vivero para mejorar la calidad de la planta.

5.2. Introducción.

España es el principal productor de aceite, acaparando más de la tercera parte de la producción mundial con unas 1401.6 miles de toneladas (COI, 2017). En Andalucía (al sur de España), los olivares están ampliamente difundidos (1.6 millones de ha), representando el 60% del área nacional oleícola (MAPAMA, 2017). En esta región, la olivicultura abarca diferentes

sistemas de cultivo, desde el monocultivo extensivo hasta el cultivo marginal ó los olivares modernos intensivos y superintensivos. Debido a una mayor concienciación sobre los beneficios para la salud del aceite de oliva, el área de crecimiento de este cultivo se está expandiendo en muchos países. Las nuevas plantaciones, algunas de ellas con altas densidades de plantación (1500-2000 árboles·ha⁻¹), requieren un gran número de plantas que son suministradas anualmente por los viveros comerciales de olivos.

Los nuevos olivares se suelen establecer con plantas procedentes de nebulización obtenidas mediante estaquillas semileñosas. Las estaquillas enraizadas se ponen en bolsas de plástico con sustrato. Estas plantas se suelen fertilizar durante el periodo de crecimiento en el vivero con un fertilizante compuesto que contiene varios elementos minerales. Las plantas en maceta suelen requerir fertilización debido a que las raíces se encuentran en una limitada y confinada cantidad de suelo y paralelamente ocurre un rápido crecimiento vegetativo.

Puesto que el olivo es una planta muy micotrófica (Roldan-Fajardo y Barea, 1986), en los últimos años muchos olivares nuevos se han establecido con plantas que incorporaban hongos micorrízicos arbusculares (HMA) comerciales en el mismo envase durante el periodo en vivero para facilitar su establecimiento (Azcón-Aguilar y Barea, 1997; Calvente *et al.*, 2004; Binet *et al.*, 2007; Dag *et al.*, 2009; Meddad-Hamza *et al.*, 2010). Es bien sabido que las asociaciones micorrízicas incrementa la tolerancia de las plantas a la sequía (Wu *et al.*, 2013) y la salinidad (Porrás-Soriano *et al.*, 2009), protege de ataques de nematodos (Castillo *et al.*, 2006), y afecta a la absorción de nutrientes (Dag *et al.*, 2009; Chatzistathis *et al.*, 2013).

El fósforo es un elemento esencial para el crecimiento de las plantas y, consecuentemente, es un factor limitante ante condiciones de deficiencia de fósforo. Sin embargo, el olivo es una especie con bajos requerimientos en fósforo, como ocurre con otras plantas leñosas (Rennenberg y Herschbach,

2013), incluyendo plantas jóvenes de olivo en maceta (Jiménez-Moreno y Fernández-Escobar, 2016). Algunos trabajos indican una posible reducción de la colonización de HMA causa por la aplicación de fósforo en viñedos (Schreiner y Linderman, 2005; Schreiner, 2010). Si esta interacción existe, podría ser mayor en plantas en maceta, reduciendo los beneficios de la micorrización en plantas de vivero.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la micorrización de plantas de olivo de vivero y su interacción con la nutrición fosfórica, así como evaluar los resultados de la inoculación con HMA en vivero y en campo.

5.3. Materiales y métodos.

5.3.1. Diseño experimental.

Cuatro experimentos diferentes se desarrollaron para estudiar el efecto de la micorrización en plantas jóvenes de olivo. Un primer estudio preliminar se llevó a cabo con plantas de olivo en condiciones de umbráculo. Se usó una mezcla de arena de río lavada y turba (2:1 en volumen) como sustrato para las macetas, que fue autoclavada (dos ciclos separados 24 horas a 121°C durante 90 minutos). En marzo de 2011, al momento del trasplante en maceta, se realizó la inoculación con *Glomus intraradices* (Mycosim Tri-ton), mezclando el sustrato anterior con 6 g/L del producto comercial siguiendo las recomendaciones del fabricante, que garantiza un mínimo de 150 esporas/g y al menos 650 unidades infectivas/g (esporas + hifas + fragmentos de raíces micorrizadas). Las estaquillas enraizadas bajo nebulización de 'Picual' crecieron posteriormente en macetas de 1.1 L. Las plantas se regaron una o dos veces a la semana, dependiendo de sus requerimientos, con 100 mL de agua por maceta, y mensualmente con una solución nutritiva sin fósforo para prevenir deficiencias nutricionales. Esta solución estaba compuesta por 2.5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 2.5 mM MKNO_3 , 1.0 mM MgSO_4 , 12.5 mM H_3BO_3 , 1.0 mM ZnSO_4 , 0.2 mM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, 10 mM ácido Fe-etilendiamina-di-o-hidroxi-fenilacético y 0.5 mM KCl. El experimento se realizó en base a un diseño factorial con dos

factores y diez repeticiones. Un factor fue la micorrización de las plantas (-HMA ó +HMA), y el otro fue la aplicación de 0, 100 ó 200 ppm P, usando ácido ortofosfórico (H₃PO₄) como fuente de P. Se realizó una aplicación de la solución de P cada semana, alternando con una aplicación de agua. El experimento duró 4 meses, aunque se mantuvo sin nuevas aplicaciones hasta el año siguiente para comprobar si se producía la floración de las plantas, aunque no fue así.

El segundo ensayo fue similar al primero, también con olivos de la variedad ‘Picual’, pero en esta ocasión el sustrato estaba compuesto de suelo natural del campo experimental del Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, España (Tabla 11). El experimento se estableció en enero de 2014 bajo condiciones de umbráculo, mediante un diseño experimental factorial con dos factores (micorrización y aplicación de fósforo: 0 ó 200 ppm P), y ocho repeticiones. Duró 8 meses. Para verificar que las raíces fueron micorrizadas, se llevó a cabo un método de tinción de raíces.

Tabla 4. Características químicas de los suelos usados.

	HH ¹ (%)	CaCO ₃	CE ² (1.5) (dS/m)	P Olsen (mg/kg)	Arcilla (%)	Limo (%)	Arena (%)
Suelo bajo en P	7.4±0.01	43.5±0.4	0.14±0.00	4.2±0.2	40.0±0.4	27.5±0.7	32.5±1.0
Suelo alto en P	7.1±0.08	1.5±0.6	0.13±0.01	26.1±2.7	36.33±0.9	18.7±0.3	45.0±1.0

¹HH = Humedad Higroscópica; ²CE = Conductividad Eléctrica.

El suelo con alto nivel de P se utilizó en los ensayos 2 y 4, y ambos suelos en el ensayo 3.

El suelo con alto nivel de fósforo se tomó del campo experimental del Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, España, y el suelo con bajo nivel de fósforo pertenecía a una finca ubicada en Santa Cruz (Córdoba).

El tercer experimento fue un factorial con ocho repeticiones y dos factores: micorrización (-HMA ó +HMA) y tipo de suelo (con alto o bajo nivel de fósforo, como se indica en la Tabla 1). No se añadieron aplicaciones de P. El

experimento se inició en mayo de 2015 bajo condiciones de umbráculo con variedades de olivo 'Picual' y 'Arbequina', y duró 6 meses.

El cuarto ensayo se llevó a cabo desde marzo de 2014 en condiciones de campo durante 20 meses. Se estableció en el campo experimental del Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, España (37°54'N, 4°43'W). Los árboles fueron plantados a 2.5 x 1.5m de distancia, con riego por goteo. Las características del suelo están resumidas en la Tabla 11 como suelo alto en P. Se usaron estaquillas de seis meses de edad con una altura media de 76 cm, que se inocularon al trasplante incorporando en cada hoyo de plantación, de aproximadamente unos 3 L de capacidad, 8 g del producto comercial (Mycosim Tri-ton), siguiendo una vez más las recomendaciones del fabricante. El diseño experimental fue un factorial con dos factores: variedad de olivo ('Picual' ó 'Arbequina') y micorrización (-HMA ó +HMA), con cuatro bloques y tres árboles por unidad experimental. La micorrización se realizó en el momento de la plantación, aplicando el hongo en el hoyo de plantación. No se aplicó fósforo en este ensayo.

5.3.2. Limpieza y tinción de las raíces micorrizadas.

Las raíces se lavaron a fondo con agua para deshacerse de cualquier partícula de suelo. Después, se tomaron muestras de cada planta de las raíces pequeñas, finas y sin lignificar, que fueron identificadas y se cortaron en piezas de 1 cm de longitud aproximadamente. Las raíces se tiñeron siguiendo el método de Phillips y Hayman (1970), modificado por el procedimiento descrito por Koske y Gemma (1989). La técnica de tinción consistió en poner fragmentos de raíz en un baño de agua con una solución de KOH al 10% (90°C durante 30 minutos) para vaciar las células de su contenido citoplasmático y así mejorar la observación de la simbiosis fúngica. Después, los fragmentos de raíz fueron enjuagados con agua para eliminar cualquier resto de KOH, y luego se sumergieron en HCL 0.1 N (a temperatura ambiente durante 5 minutos) para acidificar las raíces y conseguir una mejor tinción. Luego se realizó un nuevo enjuague con agua. La tinción de las muestras se hizo con azul de trypan

al 0.05% en lactoglicerol calentado a 90°C en un baño de agua. Tras esto, las muestras de raíces estaban preparadas para su observación al microscopio óptico. La presencia e intensidad de colonización de HMA se estimó a partir de 32 fragmentos montados en un portaobjetos con una gota de glicerol.

5.3.3. Medidas de crecimiento y determinación de P.

Se midió el crecimiento vegetativo total tanto en campo (altura del árbol) como en maceta (considerando la suma del brote principal más los laterales). Se cogieron hojas de tres meses de edad, totalmente expandidas en Julio para determinar la concentración de P en el experimento de campo. Al final de los ensayos en maceta, las plantas se destruyeron y las hojas, tallos y raíces se separaron independientemente de cada planta, se lavaron con agua destilada, se secaron a 80°C durante 72 horas, se molieron y almacenaron en un horno a 60°C hasta su análisis. Las muestras almacenadas se calcinaron en un horno-mufla a 600°C durante 12 horas y se disolvieron en HCl 0.1 N. La determinación de fósforo se realizó usando el método de colorimetría descrito por Murphy y Riley (1962).

La floración se cuantificó contando las inflorescencias y flores totales y fértiles, considerando como inflorescencia fértil aquella que al menos tiene una flor perfecta (Rallo y Fernández-Escobar, 1985).

5.3.4. Análisis estadísticos.

Se realizó el análisis de varianza de los datos usando el programa estadístico "Statistix" versión 9.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL). Todos los valores porcentuales se transformaron usando el arcoseno de la raíz cuadrada antes del análisis. Cuando se observó un valor de F significativo en el análisis de varianza, la separación de medias entre tratamientos se obtuvo por contraste polinómico para factores cuantitativos, o mediante test F para factores cualitativos.

5.4. Resultados.

En el ensayo preliminar, la concentración y contenido de P incrementó significativamente con la cantidad de P aplicado, pero las plantas control mostraron valores por encima del rango de suficiencia, indicando que eran plantas bien nutridas (Tabla 12). No se observó efecto de la micorrización en estas plantas. Además, la interacción entre factores resultó no significativa. El crecimiento vegetativo no se afectó por la aplicación de P, probablemente porque todas las plantas estaban bien nutridas en fósforo, pero la micorrización causó una disminución significativa del crecimiento del brote (Tabla 13). Esta disminución del crecimiento vegetativo en plantas micorrizadas podría deberse a la esterilización del sustrato de dichas plantas.

Tabla 5. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total de la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en el primer experimento.

	Concentración de P (% ps)					Contenido de P en la planta (mg)
	Hojas nuevas	Hojas viejas	Tallos nuevos	Tallos viejos	Raíces	
Micorrización						
-HMA	0.13 a	0.13 a	0.14 a	0.13 a	0.31 a	33.96 a
+HMA	0.13 a	0.12 a	0.12 a	0.12 a	0.31 a	34.23 a
P aplicado (ppm)						
0	0.11	0.10	0.11	0.10	0.12	21.29
100	0.13	0.12	0.13	0.13	0.33	38.32
200	0.14	0.14	0.14	0.14	0.48	42.68
Significación ¹	L**	L**	NS	L***	L***,Q*	L***,Q*
CV(%) ²	4.4	10.3	10.9	5.2	7.1	4.4

¹*, **, ***Significativo para valores de $P \leq 0.05$, ≤ 0.01 , ó ≤ 0.001 , respectivamente; L = lineal, Q = cuadrática, NS = no significativo.

²Coeficiente de variación.

Tabla 6. Crecimiento vegetativo a los cuatro y doce meses tras el inicio de los tratamientos para la micorrización y P aplicado en el primer experimento.

	Crecimiento vegetativo (cm)	
	Cuatro meses	Doce meses
Micorrización		
-HMA	65.13 a	98.45 a
+HMA	56.49 b	83.60 b
P aplicado (ppm)		
0	56.83	83.13
100	62.26	92.14
200	63.35	97.76
Significación ¹	NS	NS
CV(%) ²	5.7	2.9

¹ NS = no significativo.

² Coeficiente de variación.

En el segundo experimento, no se encontraron interacciones entre la micorrización y la aplicación de fósforo. La concentración y contenido de P aumentó con la aplicación de P (Tabla 14). El fósforo se acumuló principalmente en las raíces, como ocurría en el primer experimento. En este ensayo, el crecimiento vegetativo no se vio afectado por la micorrización y descendió con aplicaciones de P (Tabla 15). En este experimento las raíces se lavaron y tiñeron para examinar la presencia e intensidad de colonización de HMA. La Figura 8 muestra la formación de vesículas de *Glomus intraradices* en el sistema radical.

Tabla 7. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total de la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en el segundo experimento.

	Concentración de P (% ps)					Contenido de P en la planta (mg)
	Hojas nuevas	Hojas viejas	Tallos nuevos	Tallos viejos	Raíces	
Micorrización						
-HMA	0.14 a	0.15 a	0.13 a	0.08 a	0.18 a	29.45 a
+HMA	0.13 a	0.13 a	0.12 a	0.08 a	0.17 a	28.99 a
P applied (ppm)						
0	0.12	0.12	0.12	0.08	0.11	25.40
200	0.15	0.16	0.13	0.09	0.24	33.04
Significación ¹	L**	L**	NS	NS	L***	L*
CV(%) ²	6.2	6.9	11.1	10.4	14.2	4.6

¹*, **, ***Significativo para valores de $P \leq 0.05$, ≤ 0.01 , ó ≤ 0.001 , respectivamente; L = lineal, NS = no significativo.

²Coeficiente de variación.

Tabla 8. Crecimiento vegetativo final (cm) a los ocho meses, para la micorrización y P aplicado en el segundo experimento.

Crecimiento vegetativo (cm)	
Micorrización	
-HMA	27.70 a
+HMA	32.14 a
P aplicado (ppm)	
0 ppm	34.14
200 ppm	25.66
Significación ¹	L**
CV (%) ²	4.9

¹** Significativo para valores de $P \leq 0.01$; L = lineal.

²Coeficiente de variación.

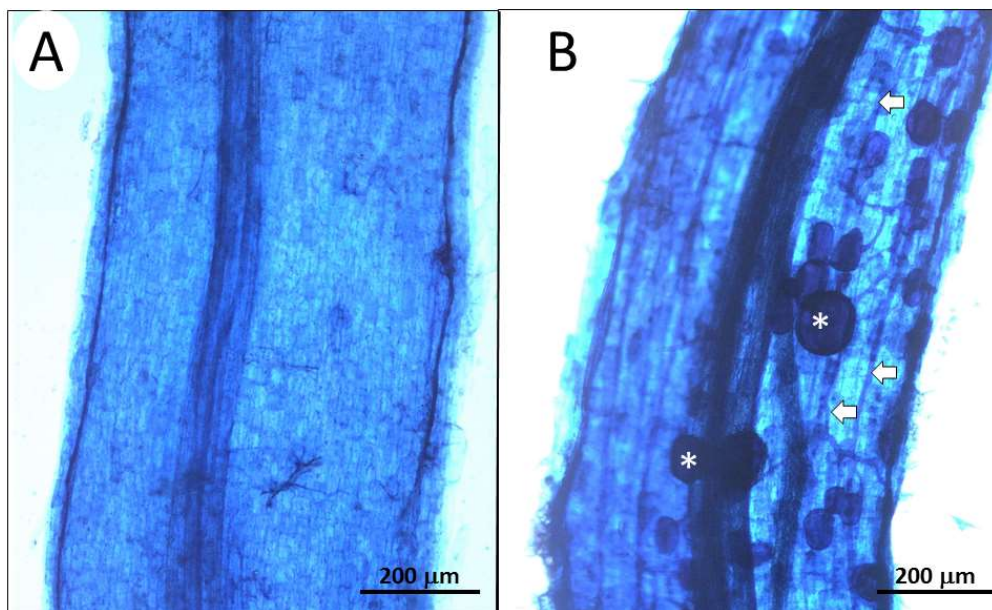


Figura 3. Imágenes de trozos de raíces teñidas demostrando ausencia (A) y presencia (B) de micorrización por el inóculo (*Glomus intraradices*). Las micorrizas se identifican por la presencia de hifas (flecha) y grandes vesículas (estrella).

En el tercer ensayo, hubo una interacción significativa para el crecimiento vegetativo entre el tipo de suelo y la micorrización en 'Picual' (Figura 9). La inoculación con HMA en suelos con altos niveles de P reduce el crecimiento de las plantas en comparación con la inoculación en suelos con bajo nivel de P. El crecimiento del brote de 'Arbequina' fue muy pequeño, probablemente debido a que estas plantas florecieron y al bajo vigor de esta variedad. El efecto de la inoculación con HMA fue evidente en el desarrollo radical. Las plantas micorrizadas que crecieron en suelos con bajo nivel de P mostraron un sistema radical más ampliado y compacto que el de las plantas control (Figura 10). No se observaron diferencias claras en plantas que crecieron en suelos con alto nivel de P. Las raíces de estas plantas mostraron un crecimiento intermedio al que mostraron las plantas de suelos con bajos niveles de P. La concentración y contenido total en la planta de P fue mayor en plantas que crecieron en suelo con alto nivel de P que en las que lo hicieron en suelo con bajo nivel de P para ambas variedades (Tablas 16 y 17), pero no se vieron afectadas por la micorrización.

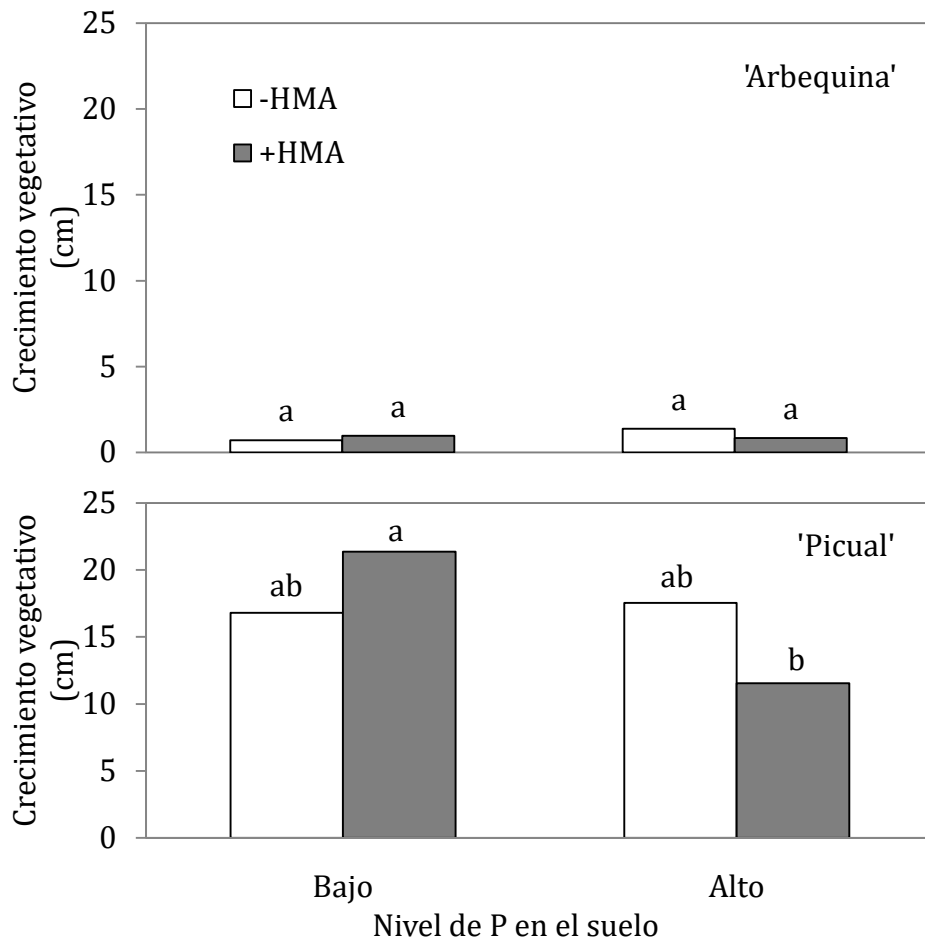


Figura 4. Crecimiento vegetativo final, a los seis meses, de 'Arbequina' y 'Picual' para la micorrización y nivel de P en el suelo. Diferentes letras encima de las barras indican diferencias significativas para valores de $P \leq 0.05$.

'Arbequina'



Figura 5. Desarrollo radical de plantas de olivo micorrizadas y no micorrizadas de las variedades 'Arbequina' a los seis meses desde su micorrización con *Glomus intraradices*.

Tabla 9. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total en la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en 'Arbequina' en el experimento 3.

	Concentración de P % (dw) ¹					Contenido de P en la planta (mg)
	Hojas nuevas	Hojas viejas	Tallos nuevos	Tallos viejos	Raíces	
Micorrización						
-HMA	0.09 a	0.08 a	0.05 a	0.07 a	0.07 a	14.07 a
+HMA	0.10 a	0.08 a	0.11 a	0.06 a	0.07 a	14.19 a
Nivel de P en el suelo						
Bajo	0.08 b	0.07 b	0.07 a	0.03 b	0.05 b	8.80 b
Alto	0.11 a	0.08 a	0.08 a	0.10 a	0.09 a	19.47 a
CV(%) ²	9.9	6.2	89.9	9.4	6.1	7.5

¹Letras diferentes en la misma columna y factor indican diferencias significativas para valores de $P \leq 0.001$.

²Coefficiente de variación.

Tabla 10. Concentración de fósforo (% ps) en hojas, tallos y raíces, y contenido total en la planta (mg) para la micorrización y P aplicado en 'Picual' en el experimento 3.

	Concentración de P % (ps) ¹					Contenido de P en la planta (mg)
	Hojas nuevas	Hojas viejas	Tallos nuevos	Tallos viejos	Raíces	
Micorrización						
-HMA	0.08 a	0.06 b	0.09 a	0.04 a	0.09 a	18.90 a
+HMA	0.09 a	0.07 a	0.09 a	0.05 a	0.08 a	22.29 a
Nivel de P en el suelo						
Bajo	0.08 b	0.06 b	0.08 a	0.04 b	0.05 b	13.50 b
Alto	0.09 a	0.08 a	0.10 a	0.06 a	0.12 a	27.69 a
CV(%) ²	6.6	4.8	45.9	5.9	12.5	7.3

¹Letras diferentes en la misma columna y factor indican diferencias significativas para valores de $P \leq 0.001$.

²Coefficiente de variación.

Las plantas de 'Arbequina' florecieron después de un año en este ensayo. En dichas plantas, la micorrización incremento significativamente la fertilidad de las flores e inflorescencias, mientras que no se observó efecto por el tipo de suelo (Tabla 18). Las plantas de 'Picual' no florecieron.

Tabla 11. Inflorescencias y flores totales, y porcentaje de inflorescencias fértiles y flores perfectas en ‘Arbequina’ para la micorrización nivel de P en el suelo del experimento 3.

	Inflorescencias totales ¹	%Inflorescencias fértiles	Flores totales	%Flores perfectas
Micorrización				
-HMA	6.73 a	68.95 b	75.76 a	16.83 b
+HMA	7.53 a	90.19 a	94.50 a	23.83 a
Nivel de P en el suelo				
Bajo	7.59 a	78.21 a	87.16 a	21.28 a
Alto	6.67 a	80.93 a	83.09 a	19.38 a
CV (%) ²	23.4	25.4	17.5	34.5

¹Letras diferentes en la misma columna y factor indican diferencias significativas para valores de $P \leq 0.05$.

²Coefficiente de variación.

No se observó efecto de la micorrización en el crecimiento vegetativo y la acumulación de P en hoja en ambas variedades en el experimento desarrollado en condiciones de campo (Tabla 19). Como ocurrió en el ensayo anterior en condiciones de umbráculo, sólo ‘Arbequina’ floreció durante el desarrollo de este experimento en campo. Los parámetros de floración de ‘Arbequina’ mostraron una tendencia a incrementar el número y la fertilidad de flores e inflorescencias con la inoculación de HMA, pero no hubo diferencias significativas, probablemente debido a la alta variabilidad obtenida, como así lo indican los altos coeficientes de variación (Tabla 20).

Tabla 12. Crecimiento vegetativo, y concentración y contenido de P en hoja, en ‘Arbequina’ y ‘Picual’ según su micorrización en condiciones de campo del experimento 4.

	‘Arbequina’			‘Picual’		
	Crecimiento vegetativo ¹ (cm)	Concentración P (%ps) en hoja	Contenido de P (mg) en hoja	Crecimiento vegetativo (cm)	Concentración P (%ps) en hoja	Contenido de P (mg) en hoja
	Micorrización					
-HMA	103.73 a	0.37 a	3.74 a	109.10 a	0.18 a	1.77 a
+HMA	105.00 a	0.36 a	3.71 a	125.98 a	0.18 a	1.63 a
CV(%) ²	2.8	3.3	6.4	6.0	1.4	5.7

¹Letras diferentes en la misma columna y factor indican diferencias significativas para valores de $P \leq 0.05$.

²Coefficiente de variación.

Tabla 13. Inflorescencias y flores totales, y porcentaje de inflorescencias fértiles y flores perfectas en ‘Arbequina’ según su micorrización en condiciones de campo del experimento 4.

	Inflorescencias totales ¹	%Inflorescencias fértiles	Flores totales	%Flores perfectas
	Micorrización			
-HMA	7.36 a	75.64 a	63.95 a	19.33 a
+HMA	9.11 a	78.77 a	72.41 a	21.90 a
CV(%) ²	25.3	3.6	15.5	30.3

¹Letras diferentes en la misma columna y factor indican diferencias significativas para valores de $P \leq 0.05$.

²Coefficiente de variación.

5.5. Discusión.

La inoculación de plantas jóvenes de olivo con *Glomus intraradices* no incrementa el fósforo ni en las variedades ‘Arbequina’ y ‘Picual’ ni en las plantas que crecen en suelos con altos o bajos niveles de fósforo. Estos resultados están en desacuerdo con otros presentados para olivos (Dag *et al.*, 2009) y otras especies (Ortas *et al.*, 2011; Ortas y Ustuner, 2014). Esta

discrepancia puede deberse, al menos parcialmente, al hecho de que el efecto del HMA depende de las especies micorrízicas tanto como de la variedad de olivo (Chatzistathis *et al.*, 2013). El fósforo en la planta solo incrementó cuando se aplicó fertilizante fosfórico o cuando las plantas de olivo crecieron en un suelo rico en fósforo.

Los tratamientos afectaron el crecimiento vegetativo de las plantas de olivo. La aplicación de fertilizantes fosfóricos no incrementó el crecimiento e incluso pudo reducirse como ocurrió en el segundo experimento. Estos resultados eran esperados ya que en la mayoría de los experimentos usamos un sustrato rico en fósforo y las plantas estaban por encima de los niveles críticos de suficiencia para el P (Beutel *et al.*, 1983) incluso en plantas control. Una reducción del crecimiento a altos niveles de P también ha sido observada en plantas jóvenes de olivo (Jiménez-Moreno y Fernández-Escobar, 2016) ya que el olivo tiene bajos requerimientos de P para su crecimiento vegetativo.

La inoculación con HMA reduce el crecimiento del brote en plantas cultivadas en un sustrato con suelo rico en fósforo en comparación de aquellas plantas que crecen en un suelo pobre en P. Además, el crecimiento radical aumenta en plantas inoculadas que crecen en suelo pobre en P. Un sistema radical bien desarrollado es importante para tolerar estreses, particularmente después del trasplante. En el olivo, la respuesta del crecimiento a la colonización con HMA fue más efectiva en mejorar el desarrollo radical que el crecimiento del brote (Porrás-Soriano *et al.*, 2009), pero nuestros resultados indican que esto es más efectivo dependiendo de la riqueza de P en el suelo. Dichos resultados coinciden con Chen *et al.* (2017) que indicó que la colonización micorrízica a bajos niveles de P era mayor que a altos niveles de P en semillas de *Poncirus trifoliata*, siendo más efectiva que el nivel de P en regular la formación de raíces laterales. Resultados similares se obtuvieron con la aplicación de fósforo en viñedos (Schreiner y Linderman, 2005; Schreiner, 2010), que reducían la colonización de HMA. En nuestro trabajo, la aplicación de fósforo no afectó al crecimiento. Dag *et al.* (2009), sin embargo, también

recomienda frenar la fertilización después del enraizamiento para promover la inoculación de HMA en estaquillas de olivo.

El crecimiento del brote también se redujo tras la inoculación de HMA cuando se usó sustrato estéril. Aunque la mayoría de los viveros de olivo usan suelo natural como sustrato, total o parcialmente, algunos de ellos usan un sustrato inerte para el crecimiento de las plantas normalmente mezclado con fertilizantes y, otras veces, con HMA. Los resultados sugieren usar suelo natural si se tiene intención de inocular con HMA.

No se observó efecto en el crecimiento de las plantas cuando la inoculación con HMA se realizó en el momento de la plantación, aplicando el hongo en el hoyo de plantación. Los resultados sugieren que la inoculación es más favorable en el vivero, para que las plantas puedan incrementar el volumen radical antes de su trasplante. Finalmente, la inoculación con HMA incrementó la fertilidad en 'Arbequina'. Este efecto podría ser de interés cuando el aborto ovárico aumenta tras un periodo de sequía durante la diferenciación floral (Uriu, 1960).

5.6. Referencias.

- Azcón-Aguilar, C. and Barea, J.M. 1997. Applying mycorrhizal biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Sci. Hortic.* 68:1-24.
- Beutel, J.; Uriu, K. and Lilleland, O. 1983. Leaf analysis for California deciduous fruits. p.15-17. In: H.M. Reisenauer (ed.). *Soil and plant tissue testing in California University of California, Bull.* 1879.
- Binet, M.N.; Lemoine, M.C.; Martin, C.; Chambon, C.; Gianinazzi, S. 2007. Micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) and application of mycorrhizal to improve plantlet establishment. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 43:473-478.

- Caballero, J. and Del Rio, C. 2017. Métodos de multiplicación. In: Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. (eds.) El Cultivo del Olivo. Madrid. Editorial Mundi-Prensa, Junta de Andalucía. pp.90-115.
- Calvente, R.; Cano, C.; Ferrol, N.; Azcón-Aguilar, C.; Barea, J.M. 2004. Analysing natural diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in olive tree (*Olea europea* L.) plantations and assessment of the effectiveness of native fungal isolates as inoculants for commercial cultivars of olive plantlets. *Appl. Soil Ecol.* 26:11-19.
- Castillo, P.; Nico, A.I.; Azcón-Aguilar, C.; Del Río Rincón, C.; Calvet, C.; Jiménez-Díaz, R.M. 2006. Protection of olive planting stocks against parasitism of root-knot nematodes by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Pathol.* 55:705-713.
- Chatzistathis, T.; Orfanoudakis, M.; Aligragis, D.; Therios, I. 2013. Colonization of Greek cultivars' root system by arbuscular mycorrhiza fungus: root morphology, growth, and mineral nutrition of olive plants. *Sci. Agric.* 70(3):185-194.
- Chen, W., Li, J., Zhu, H., Xu, P., Chen, J and Yao, Q. 2017. The differential and interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungus and phosphorus on the lateral root formation in *Poncirus trifoliata* (L.). *Sc. Hortic.* 217: 258–265.
- Dag, A.; Yermiyahu, U.; Ben-Gal, A.; Zipori, I.; Kapulnik, Y. 2009. Nursery and post-transplant field response of olive trees to arbuscular mycorrhizal fungi in an arid region. *Crop Pasture Sci.* 60:427-433.
- IOC, 2017. World Olive Oil Figures. International Olive Council. Available at web site <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures> (verified March 27, 2017).
- Jiménez-Moreno, M.J. and Fernández-Escobar, R. 2016. Response of Young olive plants (*Olea europea*) to phosphorus application. *Hortscience.* 51(9):1167-1170.

- Koske, R.E. and Gemma, J.H. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res.* 92(4):486-488.
- MAPAMA, 2017. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Gobierno de España. Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos (ESYRCE). Available at web site <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/> (verified March 27, 2017).
- Meddad-Hamza, A.; Beddiar, A.; Gollote, A.; Lemoine, M.C.; Kuszala, C.; Gianinazzi, S. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth of olive trees and their resistance to transplantation stress. *Afr. J. Biotechnol.* 9:1159-1167.
- Murphy, J. and J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.* 26(1):31-36.
- Ortas, I., Sari, N., Akpınar, Ç., and Yetisir, H. 2011. Screening mycorrhiza species for plant growth, P and Zn uptake in pepper seedling grown under greenhouse conditions. *Sc. Hortic.* 128:92-98.
- Ortas, I. and Ustuner, O. 2014. Determination of different growth media and various mycorrhizal species on citrus growth and nutrient uptake. *Sc. Hortic.* 166: 84–90.
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Porrás-Soriano, A.; Soriano-Martín, M.L.; Porrás-Piedra, A.; Azcón, R. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *J. Plant Physiol.* 166:1350-1359.
- Rallo, L. and Fernández-Escobar, R. 1985. Influence of cultivar and flower thinning within the inflorescence on competition among olive fruit. *J. Am. Soc. Hor. Sci.* 110:303-308.

- Rennenberg, H., Herschbach, C., 2013. Phosphorus nutrition of woody plants: many questions-few answers. *Plant Biology* 15, 785-788.
- Roldan-Fajardo, B.E. and Barea, J.M. 1986. Mycorrhizal dependency in the olive tree (*Olea europaea* L.). In: Gianinazi-Pearson, V.; Gianinazzi, S. First European Symposium on Mycorrhizae. Physiology and genetics aspects of mycorrhizae. Paris, pp.323-326.
- Schreiner, R.P. 2010. Foliar sprays containing phosphorus (P) have minimal impact on 'Pinot noir' growth and P status, mycorrhizal colonization, and fruit quality. *Hortscience*. 45(5):815-821.
- Schreiner, R.P. and Linderman, R.G. 2005. Mycorrhizal colonization in dryland vineyards of the Willamette Valley, Oregon. *Small Fruits Rev.* 4:41-55.
- Uriu, K. 1960. Periods of pistil abortion in the development of the olive flower. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 73:194-202.
- Wu, Q.S., Srivastava, A.K. and Zou, Y.N. 2013. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: A review. *Sc. Hortic.* 164: 77-87.

Capítulo 6

Discusión General.

Discusión General.

La fertilización con fósforo (P) no ha sido objeto de gran interés en árboles frutales, incluyendo el olivo (*Olea europaea* L.), debido a que las deficiencias nutritivas en este elemento son raras. Además, tampoco se han observado respuestas en crecimiento ante aplicaciones de P en condiciones de campo (Fernández-Escobar, 2008; Hartmann *et al.*, 1966). Esto, unido a que la concentración iónica de P en la planta es baja en comparación con otros macronutrientes, así como el P extraído por la cosecha y la poda (Fernández-Escobar *et al.*, 2015), y a que se trata de un elemento muy móvil que es reciclado con facilidad por la planta (Kurita *et al.*, 2014; Barrelet *et al.*, 2006; Eschrich *et al.*, 1988), hace que su consumo sea bajo y no sea un elemento que preocupe desde el punto de vista de la fertilización. Sin embargo, hay estudios que asocian un aumento de la concentración de P en hoja, por encima del nivel de suficiencia establecido, con un adelanto e incremento de la floración, sobre todo en los primeros años del establecimiento del cultivo. El efecto de la fertilización con P observado en olivo y otros frutales en la floración, aún presentando niveles suficientes en hoja, parece adquirir una importancia notable en los primeros años de cultivo (Erel *et al.*, 2016; Erel *et al.*, 2008; Neilsen *et al.*, 1990; Taylor y Goubran, 1975). Esta reducción del periodo improductivo supondría beneficios económicos importantes para el agricultor, además de los mayores rendimientos productivos posteriores. Los resultados del presente trabajo permiten evaluar y comprender mejor dicha relación entre el estado nutricional de P y la floración en olivos jóvenes.

La aplicación de fósforo en un amplio rango de dosis, desde 12.5 ppm a 400 ppm P, mediante el agua de riego y usando plantas pequeñas procedentes de estaquillas semileñosas (con pocas reservas nutritivas) cultivadas en macetas, con sustrato inerte y en condiciones controladas (cámara de crecimiento), permitió establecer con mayor exactitud los niveles críticos del P, niveles por debajo de los cuales la producción y crecimiento disminuyen, así como la descripción de síntomas de deficiencia y toxicidad y en qué estado nutricional de P en el que tenían lugar. La única referencia para la deficiencia de P en olivo fue citada por

Hartmann y Brown (1953), en condiciones de cultivo muy similares a las de nuestros ensayos, y donde observaron que las hojas de plantas deficientes en P mostraban un tamaño más pequeño y un crecimiento menor de la planta, pero sin las tonalidades púrpuras que se describen típicamente para otros cultivos. Estos síntomas se manifestaban para concentraciones de P en hoja del 0.03 % (ps), resultados que concuerdan con los obtenidos en nuestro trabajo (0.025% P). Estos valores tan bajos explican la dificultad de encontrar síntomas de deficiencia en olivo, incluso en plantas jóvenes. Por otra parte, se manifiestan síntomas de toxicidad de P similares a los descritos recientemente por Fernandez-Escobar *et al.*, (2016) para la deficiencia de zinc, resultados esperados por el antagonismo de altos niveles de P con otros micronutrientes (Marschner, 2012; Shane *et al.*, 2004; Safaya, 1976; Cakmak y Marschner, 1987). Dichos síntomas no habían sido descritos en olivo hasta ahora, y se manifiestan para concentraciones de P en hoja en torno al 0.21% (ps), el doble del nivel de suficiencia establecido de 0.1%.

Cabe cuestionarse la exactitud del intervalo de suficiencia establecido por Beutel *et al.* (1983) para valores de concentración de P en hoja del 0.1-0.3%, y que no indicaba concentraciones tóxicas. En plantas muy pequeñas, la limitada capacidad de almacenamiento de P en otros órganos, principalmente raíces (donde se localiza más del 50% del contenido total de P en la planta) y tallos, podría explicar la acumulación de P en exceso en las hojas. Algo similar ocurre cuando se fertiliza con P ciertas especies *Proteaceas* adaptadas a ambientes pobres en nutrientes como describe Shane *et al.* (2004). Esto mismo podría explicar el hecho de que los árboles muy jóvenes tengan concentraciones en hoja más elevadas que los árboles adultos, como se pone de manifiesto en los siguientes ensayos, incluso en condiciones de campo. En árboles adultos en condiciones de campo es usual encontrar árboles asintomáticos cuyo estado nutritivo de P es inferior a estos valores establecidos en el intervalo de suficiencia (Fernández-Escobar, 2008a; Hartmann *et al.*, 1966).

Los resultados aportados y la descripción de síntomas son imprescindibles para un correcto diagnóstico del estado nutritivo del cultivo y un abonado racional que maximice los rendimientos.

La determinación de la distribución del P a cada uno de los órganos de la planta y la cuantificación de la Eficiencia de Absorción del Fósforo (EAP) contribuyen a conocer con más detalle la nutrición del fósforo en el olivo. La cuantificación de la EAP obtenida, esto es, el fósforo absorbido respecto al total aplicado, pone de manifiesto unos valores inferiores al 5%, muy bajos si lo comparamos con la eficiencia de absorción de otros nutrientes, como el nitrógeno (Fernández-Escobar *et al.*, 2014). Aunque dicha eficiencia tiende a aumentar algo con aplicaciones de dosis mayores, enseguida desciende incluso a valores menores que para dosis mínimas. Esta tendencia era de esperar por el comportamiento similar que muestran otros nutrientes en especies frutales (Weinbaum *et al.*, 1992).

De estos resultados se deriva una cuestión muy importante en cuanto a un uso más sostenible y responsable de los fertilizantes fosfóricos en olivo y, probablemente, en otras plantas leñosas. En tanto que la EAP es tan baja sólo quedan dos opciones: 1) buscar alternativas para mejorar dicha eficiencia mediante ingeniería genética (Thornton *et al.*, 2014); o 2) aplicar P sólo cuando sea estrictamente necesario para asegurar unos crecimientos y productividades adecuadas. Con ello conseguiríamos reducir las aplicaciones de P para disminuir posibles efectos contaminantes en el medioambiente, así como no malgastar un recurso finito que puede pasar a ser disponible para otros cultivos con mayores necesidades en P y que pueden ver limitada su productividad de aquí a 50 o 100 años cuando se agoten las reservas de fosfato a la velocidad de uso de fertilizantes fosfóricos actuales que además va en aumento (Dawson y Hilton, 2011; Cordell *et al.*, 2009; Gilbert, 2009).

Las dosis óptimas se sitúan entre los 100 y 200 ppm P, según la respuesta vegetativa y el contenido de P total en la planta obtenidos, y podrían ser las más idóneas para conseguir los beneficios de floración deseados en el establecimiento de la plantación. Una vez establecidas las dosis óptimas para la fertilización con P y habiendo verificado los bajos requerimientos de P en olivo, como ocurre para otras plantas leñosas (Rennenberg y Herschbach, 2013), la cuestión común para el resto

de los experimentos de este trabajo es: ¿cómo se ve afectado el desarrollo vegetativo y/o reproductivo por la dosis de P aplicada o por el contenido total de P de la planta, que a su vez pudiera ser alterado por dichas aplicaciones? En general, el crecimiento vegetativo no se vio afectado por la aplicación de P. En el capítulo 3 se obtuvo una respuesta cuadrática con máximos para concentraciones de P en hoja de 0.11-0.13% (ps). En el capítulo 4 no hay respuesta al crecimiento ni en macetas ni en condiciones de campo, aunque en todos los casos los valores de concentración de P en hoja indican que son plantas bien nutridas y el estado nutricional es el mismo para todas las dosis de P aplicadas.

En ensayos posteriores se introducen otros factores que pueden influir en la nutrición fosfórica, y por tanto, en el crecimiento vegetativo y/o una mayor floración. De este modo se consideran suelos naturales con contenidos de P diferentes (altos y bajos) como otra fuente de P para la planta, así como la inoculación de olivos con hongos micorrízicos arbusculares (*Glomus intraradices*) estrechamente vinculados a la nutrición del P. Además, se incluyen ciertas variedades para determinar posibles diferencias en su comportamiento. En el capítulo 5 se incluyen diferentes experimentos considerando estos factores citados. El efecto de la micorrización en el crecimiento vegetativo muestra interacciones con el estado nutricional del P de las plantas, de modo que se ve reducido en plantas que crecen en sustratos ricos en P frente aquellas inoculadas y que crecen en suelos pobres en P. Resultados similares se observaron con aplicaciones de P en viñedos (Schreiner, 2010; Schreiner y Linderman, 2005).

Destaca la efectividad de las micorrizas en el desarrollo radical aún cuando no se observa respuesta en el crecimiento del brote (Porrás-Soriano *et al.*, 2009), más aún en suelos con bajos niveles de P, como ya se ha mencionado (Chen *et al.*, 2017). Los resultados obtenidos sugieren que la micorriza es menos efectiva cuando se usa un suelo esterilizado, así como cuando la micorrización se realiza en el momento del trasplante directamente en el hoyo de plantación. Estas consideraciones son de especial relevancia para el sector viverístico, a los que se aconseja usar suelos naturales con unos niveles moderados de P y realizar la inoculación en etapas iniciales del estaquillado, preferiblemente tras su enraizado

para permitir un mayor volumen radical que será beneficioso para un posterior trasplante y establecimiento de la plantación.

‘Arbequina’ mostró un crecimiento menor que ‘Picual’ y ‘Hojiblanca’, lo que era de esperar por su bajo vigor (Del Rio *et al.*, 2005), pero la concentración de P (% ps) en hoja fue mucho mayor. No obstante, las aplicaciones de P en campo no consiguieron aumentar la concentración ni el contenido de P en hoja, a diferencia de los resultados obtenidos en maceta. El factor micorrización en ningún caso aumentó el estado nutritivo de las plantas, lo que difiere de resultados previos obtenidos para el olivo (Dag *et al.*, 2009) y otras especies (Ortas y Ustuner, 2014; Ortas *et al.*, 2011). ¿Existe entonces alguna relación entre el bajo vigor de ‘Arbequina’ y su elevada concentración de P en hoja? Para responder a esta nueva pregunta se llevó a cabo un ensayo comparativo de las 24 principales variedades españolas en el que no se aplicó P adicional, pudiendo comprobar que ambos factores son independientes y que tienen su origen en otras características varietales, posiblemente genéticas.

La concentración y contenido de P en la planta, a diferencia de la tendencia general del crecimiento vegetativo, sí que aumenta con dosis crecientes de P aplicado o cuando se usan suelos con altos niveles de P. Además de las diferencias varietales de las que se ha hablado, destacando ‘Arbequina’ frente a las concentraciones de P en hoja de ‘Hojiblanca’ y de ‘Picual’, es importante señalar que dichas concentraciones disminuyen con el paso de los años para todas las variedades. Este hecho corrobora las altas concentraciones de P en plantas jóvenes, que decrecen a medida que el olivo aumenta su desarrollo radical y, por tanto, su capacidad de almacenamiento.

En los ensayos desarrollados para este trabajo se ha encontrado una cierta relación entre la concentración de P en hoja y la fertilidad (capítulo 4). Hay variedades, como el caso de ‘Arbequina’, que presentan de forma natural mayor contenido de P y se corresponden con variedades conocidas como más precoces en la entrada en producción. Ante ese escenario y otras observaciones similares que aseguraban incrementos en la floración del olivo mediante incrementos de la

concentración de P en hoja a partir de aplicaciones de fertilizantes fosfóricos (Erel *et al.*, 2016; Erel *et al.*, 2008; Neilsen *et al.*, 1990; Taylor y Goubran, 1976;), era necesario establecer la correlación entre ambas variables. Ensayos previos con aplicaciones de P foliares no obtuvieron los resultados esperados en floración, pero pusieron en evidencia las diferencias entre variedades, asociando mayores concentraciones de P en hoja en aquellas variedades más precoces como 'Koroneiki' ó 'Arbequina' frente a 'Hojiblanca' y 'Picual' (Jiménez-Moreno y Fernández-Escobar, 2012). Los resultados obtenidos indican que no existe tal relación entre el fósforo y la fertilidad de las flores, la cual depende de diversas variables como las características genéticas, ambientales o factores nutricionales (Fernández-Escobar *et al.*, 2008; Lavee *et al.*, 1996; Cuevas *et al.*, 1994; Uriu, 1960). No obstante, la inoculación con HMA sí que incrementó la fertilidad de las flores e inflorescencias en 'Arbequina', lo que puede ser interesante en periodos de sequía durante la diferenciación floral, en los que se incrementa el aborto ovárico (Uriu, 1960).

Actualmente, la intensificación de los sistemas productivos impone este tipo de actuaciones agronómicas que están aún por definirse con mayor certeza. Los programas de mejora actuales (León-Moreno, 2012) también persiguen características de este tipo, y de verificarse estas relaciones supondría un primer paso para la elección del material vegetal de dichos programas, permitiendo un gran ahorro de recursos y de tiempo.

6.2. Referencias.

- Barrelet, T., A. Ulrich, H. Rennenberg, and U.Krähenbühl. 2006. Seasonal profiles of sulphur, phosphorus and potassium in Norway spruce wood. *Plant Biol.* 8:462-469.
- Beutel, J., K. Uriu, and O. Lilleland. 1983. Leaf analysis for California deciduous fruits, p. 15-17. In: H.M. Reisenauer (ed.). *Soil and plant tissue testing in California.* University of California, Bull. 1879.

- Cakmak, I. and H. Marschner. 1987. Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotton. III. Changes in physiological availability of zinc in plants. *Physiol. Plant.* 70:13–20.
- Chen, W.; Li, J.; Zhu, H.; Xu, P.; Chen, J.; Yao, Q. 2017. The differential and interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungus and phosphorus on the lateral root formation in *Poncirus trifoliata* (L.). *Sc. Hortic.* 217:258-265.
- Cordell, D., J.O. Drangert, and S. White. 2009. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Glob. Environ. Change* 19:292–305.
- Cuevas, J.; Rallo, L.; Rapoport, H.F. 1994. Crop load effects on floral quality in olive. *Sci. Hortic.* 59:123-130.
- Dag, A.; Yermiyahu, U.; Ben-Gal, A.; Zipori, I.; Kapulnik, Y. 2009. Nursery and post transplant field response of olive trees to arbuscular mycorrhizal fungi in an arid region. *Crop Pasture Sci.* 60:427-433.
- Dawson, C.J. and J. Hilton. 2011. Fertiliser availability in a resource-limited world: Production and recycling of nitrogen and phosphorus. *Food Policy* 36:S14–S22.
- Del Río, C.; Caballero, J.M.; García-Fernández, M.D.; Tous, J.; Romero, A.; Plana, J. 2005. Vigor. In: Rallo, L.; Barranco, D.; Caballero, J.M.; Del Río, C.; Martín, A.; Tous, J.; Trujillo, I. (Eds.). *Varietades de olivo en España*. Junta de Andalucía. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. pp. 247-256.
- Erel, R.; Dag, A.; Ben-Gal, A.; Schwartz, A.; Yermiyahu, U. 2008. Flowering and fruit set of olive trees in response to nitrogen, phosphorus and potassium. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 133(5):639-647.
- Erel, R.; Yermiyahu, U.; Yasuor, H.; Cohen-Chamus, D.; Schwartz, A.; Ben-Gal, A. 2016. Phosphorus nutritional level, carbohydrate reserves and flower quality in olives. *PLoS One.* 11(12):e0167591.

- Eschrich, W., J. Fromm, and S. Essiamah. 1988. Mineral partitioning in the phloem during autumn senescence of beech leaves. *Trees (Berl.)* 2:73–83.
- Fernández-Escobar, R. 2008. Fertilización, p. 297–336. In: D. Barranco, R. Fernández-Escobar, and L. Rallo (eds.). *El Cultivo del Olivo*, 6th ed. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain.
- Fernández-Escobar, R., M. Guerreiro, M. Benlloch, and M. Benlloch-González. 2016. Symptoms of nutrient deficiencies in young olive trees and leaf nutrient concentration at which such symptoms appear. *Sci. Hort.* 209:279–285.
- Fernández-Escobar, R., M.A. Sánchez-Zamora, J.M. García-Novelo, and C. Molina-Soria. 2015. Nutrient removal from olive trees by fruit yield and pruning. *HortScience* 50:1–5.
- Fernández-Escobar, R., M.F. Antonaya-Baena, M.A. Sánchez-Zamora, and C. Molina-Soria. 2014. The amount of nitrogen applied and nutritional status of olive plants affect nitrogen uptake efficiency. *Sci. Hort.* 167:1–4.
- Fernández-Escobar, R.; Ortiz-Urquiza, A.; Prado, A.; Rapoport, H.F. 2008. Nitrogen status influence on olive tree flower quality and ovule longevity. *Environm. Exp. Bot.* 64:113-119.
- Gilbert, N. 2009. The disappearing nutrient. *Nature.* 461:716–718.
- Hartmann, H.T. and J.G. Brown. 1953. The effect of certain mineral deficiencies on the growth, leaf appearance, and mineral content of young olive trees. *Hilgardia* 22(3):119–130.
- Hartmann, H.T., K. Uriu, and O. Lilleland. 1966. Olive nutrition, p. 252–261. In: N.F. Childers (ed.). *Temperate to tropical fruit nutrition*. Horticultural Publications, Rutgers University, NJ.
- Jiménez-Moreno, M.J. y Fernández-Escobar, R. 2012. Influencia de la aplicación foliar de fósforo en la floración de variedades de olivo. XIII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas (SECH). Almería, España. *Actas de Horticultura* 60:501-504.

- Kurita, Y., K. Baba, M. Ohnishi, A. Anegawa, C. Shichijo, K. Kosuge, H. Fukaki, and T. Mimura. 2014. Establishment of a shortened annual cycle system; a tool for the analysis of annual re-translocation of phosphorus in the deciduous woody plant (*Populus alba* L.). *J. Plant Res.* 127(4):545-551.
- Lavee, S.; Rallo, L.; Rapoport, H.F.; Troncoso, A. 1996. The floral biology of the olive: effect of flower number, type and distribution on fruit set. *Sci. Hortic.* 66:149-158.
- León-Moreno, L. 2012. Usefulness of portable near infrared spectroscopy in olive breeding programs. *Spanish J. Agric. Res.* 10(1):141-148.
- Marschner, H. 2012. Mineral nutrition of higher plants. 3rd ed. Academic Press, London, UK.
- Neilsen, G.H.; Hogue, E.J. y Parchomchuck, P. 1990. Flowering of apple trees in the second year is increased by first year P fertilization. *HortScience.* 25(10):1247-1250.
- Ortas, I. and Ustuner, O. 2014. Determination of different growth media and various mycorrhizae species on citrus growth and nutrient uptake. *Sc. Hortic.* 166: 84-90.
- Ortas, I., Sari, N., Akpınar, Ç., and Yetisir, H. 2011. Screening mycorrhiza species for plant growth, P and Zn uptake in pepper seedling grown under greenhouse conditions. *Sc. Hortic.* 128:92-98.
- Porras-Soriano, A.; Soriano-Martín, M.L.; Porras-Piedra, A.; Azcón, R. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *J. Plant Physiol.* 166:1350-1359.
- Rennenberg, H. y Herschbach, C. 2013. Phosphorus nutrition of woody plants : many questions, few answers. *Plant Biol.* 15:785-788.
- Safaya, N.M. 1976. Phosphorus-Zinc interaction in relation to absorption rates of phosphorus, zinc, copper, manganese and iron in corn. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 40(5):719-722.
- Schreiner, R.P. 2010. Foliar sprays containing phosphorus (P) have minimal

impact on 'Pinot noir' growth and P status, mycorrhizal colonization, and fruit quality. *HortScience*. 45(5):815-821.

Schreiner, R.P. y Linderman, R.G. 2005. Mycorrhizal colonization in dryland vineyards of the Willamette Valley, Oregon. *Small Fruits Rev.* 4:41-55.

Shane, M.W., M.E. McCully, and H. Lambers. 2004. Tissue and cellular phosphorus storage during development of phosphorus toxicity in *Hakea prostrata* (Proteaceae). *J. Expt. Bot.* 55 (399):1033-1044.

Taylor, B.K. y Goubran, F.H. 1976. The phosphorus nutrition of the apple tree. II. Effects of localized phosphate placement on growth and phosphorus content of split root trees. *Aust. J. Agric. Res.* 27(4):533-539.

Thornton, M.K.; Novy, R.G. y Stark, J.C. 2014. Improving phosphorus use efficiency in the future. *Am. J. Potato Res.* 91:175-179.

Uriu, K. 1960. Periods of pistil abortion in the development of the olive flower. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 73:194-202.

Weinbaum, S.A., R. Scott Johnson, and T.M.DeJong. 1992. Causes and consequences of overfertilization in orchards. *HortTechnology* 2:112-120.

Capítulo 7

Conclusiones Finales.

Conclusiones Finales.

De este trabajo de Tesis Doctoral se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. Los síntomas de deficiencia de P en olivo se manifiestan por una clorosis apical que progresivamente va adquiriendo tonalidades rojizas y púrpuras, hasta que finalmente el peciolo se colapsa y la hoja se cae. Las hojas con síntomas de toxicidad van amarilleándose manteniendo verdes las venas y el tejido de alrededor de éstas, hasta que acaba cayendo (síntomas similares a la deficiencia de zinc). Dichos síntomas aparecen para concentraciones de P en hoja de 0.025 y 0.21% (ps), respectivamente. *(Capítulo 3)*
2. El nivel de suficiencia se establece en el intervalo de concentraciones de P en hoja de 0.11 a 0.13%, por debajo o por encima de los cuales, respectivamente, disminuye el crecimiento vegetativo. Estos niveles acotan con más exactitud el rango de suficiencia establecido hasta ahora de 0.1 a 0.3% (ps). *(Capítulo 3)*
3. La Eficiencia de Absorción de Fósforo (EAP) para el olivo es muy baja comparada con otros macronutrientes, menor al 5%, y disminuye aún más con aplicaciones de P a dosis crecientes. *(Capítulo 3)*
4. Más de la mitad del contenido total de P en la planta (mg) se encuentra en las raíces, seguido por las hojas y tallos. El porcentaje de P que va a la raíz aumenta con dosis crecientes de P aplicadas. *(Capítulos 3 y 5)*
5. La dosis óptima de aplicación de P en plantas jóvenes se sitúan entre 100 y 200 ppm P. Dosis mayores o menores disminuyen el crecimiento vegetativo. *(Capítulos 3 y 5)*
6. La concentración de P en hoja aumenta con dosis crecientes de P aplicado mediante el agua de riego en maceta, pero no ocurre lo mismo con las aplicaciones foliares en campo. *(Capítulos 3, 4 y 5)*

Conclusiones Finales

7. Existen diferencias varietales para la concentración de P en hoja que vienen determinadas por características genéticas propias de cada variedad. 'Arbequina' presenta valores mucho mayores que 'Hojiblanca' y 'Picual', que pudieran inferirle cierta precocidad en la floración. Los factores P y floración no se correlacionan entre sí cuando se comparan las 24 variedades principales españolas. (*Capítulos 4 y 5*)
8. Pese a las diferencias varietales, todas las concentraciones de P en hoja disminuyen con el paso de los años, manteniendo niveles muy elevados cuando las plantas son jóvenes, que decrecen progresivamente, a partir del tercer o cuarto año, tendiendo a valores en torno al 0.1% de suficiencia establecido. (*Capítulo 4*)
9. El vigor del árbol no está relacionado con la concentración de P en hoja, ni tampoco con su precocidad. (*Capítulo 4*)
10. Hay cierta relación entre la concentración de fósforo en hoja y la fertilidad de las flores de 'Arbequina', aunque no siempre es significativa. (*Capítulos 4 y 5*)
11. El uso de sustratos esterilizados o con altos contenidos de P, aunque sea por la aplicación de fertilizantes fosfóricos, tiene un efecto negativo en la micorrización de plantas de olivo con *Glomus intraradices*, y debiera ser tenido en cuenta para un correcto manejo e implementación de olivos micorrizados en viveros comerciales. (*Capítulo 5*)
12. El efecto de la micorrización con *Glomus intraradices* fue muy evidente en el desarrollo radical, pero no mostró diferencias en el crecimiento del brote. (*Capítulo 5*)
13. No se observó respuesta en el crecimiento vegetativo ni en el aumento de P de la planta en condiciones de campo, donde la inoculación del hongo se realizó al momento del trasplante, aplicando el HMA en el hoyo de plantación. Los resultados sugieren realizar la inoculación desde el inicio en el vivero. Así, el

volumen radical puede desarrollarse suficientemente antes del trasplante y permite un mejor establecimiento y tolerancia a estreses. (Capítulos 5)

14. La micorrización con *Glomus intraradices* en olivos de la variedad 'Arbequina' incrementa la fertilidad de las flores e inflorescencias. (Capítulo 5)

