

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

LEONARDO SILVA PATTO

ACROTONIA DA BROTAÇÃO DE MACIEIRA EM REGIÃO DE INVERNO AMENO

TESE

PATO BRANCO

2017

INVERNO AMENOUNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO
PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

LEONARDO SILVA PATTO

ACROTONIA DA BROTAÇÃO DE MACIEIRA EM REGIÃO DE INVERNO AMENO

TESE

PATO BRANCO

2017

LEONARDO SILVA PATTO

ACROTONIA DA BROTAÇÃO DE MACIEIRA EM REGIÃO DE INVERNO AMENO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin
Coorientadora: Profa. Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

PATO BRANCO

2017

P322a

Patto, Leonardo Silva
Acrotonia da brotação de macieira em região de inverno ameno/
Leonardo Silva Patto. – 2016
73f. : il.; 30cm.

Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin
Coorientador: Profª. Drª. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni
Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, 2016.
Bibliografia: f. 63 – 73.

1. Repouso hiberna 2. Dominância Apical 3. Malus Domestica I. Cidain, Idemir, orient. II. Oldoni, Tatiane Luiza Cadorin, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 22. Ed. 630

Ficha Catalográfica elaborada por:
Maria Juçara Silveira CRB-9/1359
Biblioteca da UTFPR Câmpus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Tese nº XXX

ACROTONIA DA BROTAÇÃO DE MACIEIRA EM REGIÃO DE INVERNO AMENO

por

LEONARDO SILVA PATTO

Tese apresentada às 14 horas do dia 24 de Fevereiro de 2016 como requisito parcial para obtenção do título de DOUTOR EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Flávio Gilberto Herter
UFPeL

**Prof. Dr. Ruy Inácio Neiva de
Carvalho**
PUC-PR

**Prof. Dr. Moeses Andrigo
Danner**
UTFPR

Prof. Dr. Idemir Citadin
UTFPR
Orientador

Prof. Dr. Américo Wagner Júnior
UTFPR

Prof. Dr. Moeses Andrigo Danner
Coordenador do PPGTP

A Deus sempre em primeiro lugar.

A minha amada esposa, Luana Maro.

Aos meus queridos pais, Márcia Patto e Renato Patto.

A minha adorável irmã e sua família

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me conduzido a vencer mais uma etapa de minha vida.

À minha esposa Luana Maro, por todo amor, paciência e compreensão a mim dedicado. Por ser minha companheira, amiga, sempre me incentivando e apoiando, e que se fez presente durante todo esse período. Por tantos momentos maravilhosos que tornaram minha caminhada mais leve. Muito obrigado.

Aos meus pais que sempre estiveram presentes e nunca hesitaram em me proporcionar acesso à educação, e que me serviram de exemplo de humildade e ética. À minha irmã Priscila pelo amor e carinho.

A minha irmã Priscila Patto e à sua família, Thiago, Alice e Tom, por todo apoio, amizade e companheirismo, e por tantos momentos de alegria a mim proporcionado.

À tia Celeste, minha incentivadora e grande responsável por ingresso na vida acadêmica e ao meu tio Deca, que nunca hesita em me atender um pedido. À toda minha família, pelo convívio e pela credibilidade em mim depositada.

Um agradecimento especial ao professor Dr. Idemir Citadin, exemplo de profissional ético e competente. Obrigado pela orientação, compreensão, paciência e ensinamentos, e também pela confiança em mim depositada.

À todos colegas da UTFPR, em especial aos amigos André, Gener e Marcos. À toda a equipe da central de análise que muitos contribuíram para que as análises fossem executadas, em especial à professora Dr. Tatiane Oldoni.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de estudos. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro. À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Muito obrigado a todos, que de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse dar mais um passo na minha carreira.

RESUMO

PATTO, Leonardo Silva. Acrotonia da brotação de macieira em região de inverno ameno. f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2016.

Durante a dormência, as plantas de clima temperado cessam temporariamente o crescimento visível. No caso da macieira sabe-se que a temperatura é o fator ambiental que mais influencia a dormência. A planta necessita de baixas temperaturas para induzir a entrada e posteriormente a saída da dormência, para então retomar o crescimento vegetativo. Sabe-se que quando não ocorre acúmulo suficiente de frio, as plantas apresentam crescimento errático, com brotação ocorrendo predominantemente na porção distal dos ramos, comprometendo a brotação satisfatória. No entanto, há pouca informação sobre o metabolismo destes carboidratos e sua relação com a dormência de plantas em condições de inverno ameno. Contudo o objetivo deste trabalho foi avaliar as diferenças biológicas e bioquímicas entre as porções distal e proximal de ramos de macieira que influenciam a acrotonia. De abril a outubro dos anos de 2012, 2013 e 2014, foram coletados ramos e esporões de três cultivares de macieira (Eva, Galaxy e Fuji Suprema) cultivadas em um pomar comercial no município de Plamas-PR. Para avaliar a intensidade da dormência em gemas vegetativas foi realizado o teste de estacas de uma só gema, e o teste de Tabuenca para as gemas florais. Variáveis bioquímicas também foram avaliadas como o teor de proteínas solúveis; atividade de alfa-amilase; açúcares(glicose, frutose, sacarose e sorbitol); amido e umidade. De forma geral as cultivares apresentaram tempo médio de brotação (TMB) menores do que em clima temperado. A porcentagem de brotação manteve-se alta na maioria das coletas para as três cultivares. O teste de Tabuenca confirmou a precocidade da cultivar Eva e mostrou comportamento muito semelhante entre a 'Galaxy' e a 'Fuji Suprema'. Além disso foi observado um intervalo muito curto entre a saída da endodormência em condições de forçagem e em condição de campo. A umidade ponderal variou conforme o padrão da temperatura em cada ano, sendo que em 2013, ano de maior acúmulo de frio a umidade ponderal apresentou os menores valores para todas as cultivares. Em 2013 a tendência de aumento da atividade da alfa-amilase e no teor de proteína coincidiram com o menor valor de TMB. A glicose e frutose apresentaram comportamento muito semelhantes entre si durante as observações. O teor de sacarose variou de ano para ano, não apresentando um padrão fixo. O sorbitol, açúcar mais abundante no xilema, tende a ser mais constante durante a dormência com leve tendência de redução próximo à brotação. O teor de amido tende a diminuir com os primeiros acúmulos de horas frio, no entanto frequentemente sofre ressíntese, devido às ondas de calor comuns no inverno. Existe diferenças entre as porções distal e proximal dos ramos para todas as variáveis analisadas, com teor de carboidrato, atividade enzimática, proteínas e umidade predominantemente maiores na porção distal dos ramos, com algumas exceções pontuais. Isso pode estar associado à ocorrência de acrotonia em macieiras. As plantas avaliadas parecem não entrar em dormência profunda em

condição de inverno ameno, tendo seu metabolismo muito sujeito às oscilações de temperatura. O metabolismo das plantas tende a mudar de ano para ano de acordo com o padrão do inverno em cada ano.

Palavras-chave: Repouso hibernar. Dominância Apical. *Malus domestica*.

ABSTRACT

PATTO, Leonardo Silva. Acrotony in apple trees in mild winter region. nFolhas f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2015.

During dormancy, temperate plants temporarily stops visible growth. In apple trees, it is known that temperature is the environmental factor that most influences dormancy. The plant requires low temperatures to induce input and then to output endodormancy, thus resumption vegetative grow. It is known that when there isn't sufficient chilling accumulation, plants present erratic growth, with budbreak occurring predominantly in the distal portion of the branches, compromising the satisfactory budbreak. However, there is little information on the metabolism of these carbohydrates and their relationship to plant dormancy in subtropical humid climates. This work aimed to evaluate the biological and biochemical differences between the distal and proximal portions of apple tree branches that influence acrotonia. From April to October of 2012, 2013 and 2014, branches and spurs of three apple cultivars (Eva, Galaxy and Fuji Suprema) were harvested in a commercial orchard in Palmas-PR. In order to evaluate the dormancy intensity in vegetative and floral buds, single bud cuttings test and Tabuenca test were carried out, respectively. Biochemical variables were also evaluated such as soluble protein content; Alpha-amylase activity; Soluble sugars (glucose, fructose, sucrose and sorbitol); Starch and water content. In general, the cultivars showed the Mean Time to Budbrst (MTB) lower than in temperate climate. The budburst percentage remained high in most of the observation dates for the three cultivars. The Tabuenca test confirmed the precocity of the cultivar Eva and showed very similar behavior between 'Galaxy' and 'Fuji Suprema'. In addition, a very short interval between the endodormancy output under forcing conditions and in field condition was observed. The water content varied according to the temperature pattern in each year, and in 2013, the year of greatest cold accumulation, the lowest values for all cultivars were observed. In 2013, the trend of increased alpha-amylase activity and protein content coincided with the lower value of MTB. Glucose and fructose presented very similar behavior among themselves during the observations. The sucrose content varied from year to year and did not present a fixed pattern. Sorbitol, sugar most abundant in the xylem, tends to be more constant during dormancy with a slight reduction tendency close to budding. The starch content tends to decrease with the first chilling accumulations, however it often undergoes resynthesis due to the heat waves common in winter. There are differences between the distal and proximal portions of the branches for all variables analyzed, with carbohydrate content, enzymatic activity, proteins and humidity predominantly larger in the distal portion of the branches, with some occasional exceptions. This may be associated with the occurrence of acrotonia in apple trees. The evaluated apple trees do not appear to fall into deep endodormancy in a mild winter condition, their metabolism seems to be very subject to temperature oscillations. Plant metabolism tends to change from year to year according to the winter pattern in each year.

Keywords: Winter rest. Apical Dominance. *Malus domestica*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Ilustração de um ramo de macieira destacado, esquematizando as porções distal (ápice) e proximal (base). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....15
- Figura 2: Temperatura em °C (A, B e C), número de horas abaixo de 7,2°C (D, E e F), número de horas acumulada abaixo de 7,2°C e 12°C (G, H e I), registrados pela estação meteorológica do IAPAR, em Palmas-PR, nos anos de 2012 (A, D e G), 2013 (B, E e H) e 2014 (C, F e I). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....32
- Figura 3: Tempo médio de brotação (A, B, C) e percentagem de brotação (D, E, F) na porção distal e proximal de ramos de macieira Eva, número de horas abaixo de 7,2°C (G, H, I) e umidade ponderal do ramo (J, K, L) em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....34
- Figura 4: Tempo médio de brotação (A, B, C) e percentagem de brotação (D, E, F) na porção distal e proximal de ramos de macieira Gala, número de horas abaixo de 7,2°C (G, H, I) e umidade ponderal do ramo (J, K, L) em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....37
- Figura 5: Tempo médio de brotação (A, B, C) e percentagem de brotação (D, E, F) na porção distal e proximal de ramos de macieira Fuji, número de horas abaixo de 7,2°C (G, H, I) e umidade ponderal do ramo (J, K, L) em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....40
- Figura 6: matéria fresca e matéria seca de gemas florais (sem escamas), durante o período de dormência nos anos de 2012, 2013 e 2014, das cultivares de macieira: Eva, Gala e Fuji, nas condições de campo e após forçagem por 7 dias à 25°C (Teste de Tabuenca, 1964). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($\alpha=0,05$ e $n=5$). As setas representam as datas do início de floração observada no pomar em Palmas-PR. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....45
- Figura 7: Concentração de proteínas solúveis (A, B, C), atividade da alfa-amilase (D, E, F) e relação alfa-amilase/proteínas (G, H, I) na porção distal e proximal de ramos de macieira Eva em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas - PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....58
- Figura 8: Concentração de proteínas solúveis (A, B, C), atividade da alfa-amilase (D, E, F), relação alfa-amilase/proteínas (G, H, I) e conteúdo de amido (J, K, L) na porção distal e proximal de ramos de macieira Gala em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas - PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....50
- Figura 9: Concentração de proteínas solúveis (A, B, C), atividade da alfa-amilase (D, E, F) e relação alfa-amilase/proteínas (G, H, I) nas porções distal e proximal de ramos de macieira Fuji em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas - PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....52
- Figura 10: Conteúdo de glicose (A, B, C), frutose (D, E, F), sacarose (G, H, I), sorbitol (J, K, L), extraídos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, e amido (M, N, O) de ramos de macieira das cultivares Eva (A, D, G, J, M), Gala (B, E, H, K, N) e Fuji (C, F, I, L, O) coletados no ano de 2012 em Palmas-PR. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....55
- Figura 11: Conteúdo de glicose (A, B, C), frutose (D, E, F), sacarose (G, H, I) e sorbitol (J, K, L), extraídos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de ramos de macieira das

cultivares Eva (A, D, G, J), Gala (B, E, H, K) e Fuji (C, F, I, L) coletados no ano de 2013 em Palmas-PR. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....68

Figura 12: Conteúdo de glicose (A, B, C), frutose (D, E, F), sacarose (G, H, I) e sorbitol (J, K, L), extraídos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de ramos de macieira das cultivares Eva (A, D, G, J), Gala (B, E, H, K) e Fuji (C, F, I, L) coletados no ano de 2014 em Palmas-PR. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 CULTIVARES ESTUDADAS.....	17
2.2 DORMÊNCIA.....	18
2.3 DINÂMICA DA DORMÊNCIA.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 MATERIAL VEGETAL	25
3.2 COLETA DO MATERIAL.....	25
3.3 VARIÁVEIS ANALISADAS.....	26
3.5 DADOS CLIMÁTICOS.....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
5 CONCLUSÕES.....	63
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
7 REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho foi conduzido em plantas de macieiras durante a fase de dormência. As alterações metabólicas e as respostas biológicas decorrentes deste processo foram os elementos centrais deste estudo. Buscou-se a elucidação de questões ainda não esclarecidas quanto ao comportamento destas plantas quando cultivadas em regiões de clima subtropical úmido.

É sabido que a cultura da macieira (*Malus domestica* Bork.) é de grande importância no cenário mundial de produção de frutíferas de clima temperado. A maçã é a fruta de clima temperado mais produzida no mundo, seguida da uva (FAOSTAT, 2017). Até o ano de 2014, a produção mundial ultrapassava 84 milhões de toneladas anuais, ficando atrás apenas da melancia e da banana. Além disso, o cultivo da macieira está presente em todos os continentes sendo a Ásia é o maior produtor seguido pela Europa, América, Oceania e África, com 63%, 20%, 13%, 3% e 1% da produção, respectivamente (FAOSTAT, 2017).

Dentre as mais de 7500 cultivares existentes, as cultivares mais plantadas no mundo são Red Delicious, Golden Delicious, Granny Smith, Fuji, Gala, Braeburn, Pink Lady, Jonagold Elstar. No Brasil, os grupos Gala e Fuji representam em torno de 60% e 30% da produção, respectivamente (PETRI et al., 2011). O cultivo da macieira no país apresentou um grande desenvolvimento a partir da década de 70, quando a macieira era inexpressiva em Santa Catarina, Paraná e demais Estados da região Sudeste. No entanto, o Brasil, em 40 anos, passou de país importador à autossuficiência, sendo o ano de 1998 um marco importante, pois o Brasil passa ao status de país exportador da fruta (PETRI et al., 2011).

Essas plantas apresentam como característica a divisão do seu ciclo em duas fases sendo estas a fase hibernar e a fase de crescimento vegetativo ou reprodutivo (PETRI et al., 2012). A fase de crescimento vegetativo caracteriza-se pela brotação, floração, frutificação, enfolhamento.

Já a fase hibernar, alvo de estudo deste trabalho, também é conhecida como dormência. Durante a dormência a planta cessa temporariamente o crescimento visível (LANG et al., 1987). Tal fenômeno pode ser entendido como sendo um mecanismo de sobrevivência e/ou adaptação das plantas às adversidades ambientais (BONHOMME, 1998; CAMPOY et al. 2011). Sabe-se que o fator ambiental que mais influencia na dormência é o clima, e sobretudo, a temperatura.

Para superar a dormência e retomar o crescimento vegetativo, a plantas de

clima temperado necessitam ser submetida à baixas temperaturas para acumular determinada quantidade de frio, que pode variar de acordo com a espécie e cultivar (HAUAGGE; CUMMINS, 1991). Assim, quando a exigência em frio é atendida a planta consegue superar a dormência e retomar o crescimento com brotação satisfatória e homogênea.

Porém quando esta exigência não é atendida e a planta não consegue acumular frio suficiente, a brotação pode ser comprometida. Nesses casos é comum ocorrer distúrbios fisiológico tais como brotações atrasadas e erráticas, diminuição da produção de pólen, diminuição de área foliar e dos ramos, baixa densidade de gemas, baixa fixação de frutos e menor produção. Sintomas semelhantes foram relatados em estudos com videira (POUDEL et al., 2007), pessegueiro (CITADIN et al., 2001) e macieira (PETRI; LEITE, 2004) em condições de baixo acúmulo de frio.

Esses problemas decorrentes do acúmulo de frio insuficiente têm se mostrado como sendo um dos maiores entraves à expansão da macieira para regiões de inverno ameno, como o sul e sudeste do Brasil. A flutuação térmica durante o período hibernal é muito grande nessas regiões e afeta diretamente a quantidade de frio acumulado. Portanto, o acúmulo de frio raramente é satisfeito durante o inverno (HAWERROTH et al., 2010). Assim os aspectos fenológicos da macieira podem variar de ano para ano, em função desta exigência em frio ter sido ou não satisfeita.

Outro ponto importante da dormência de plantas em regiões de clima subtropical ainda pouco estudado é a entrada em endodormência. A maioria dos trabalhos relacionam o baixo acúmulo de frio com a saída da endodormência (SCHMITZ et al., 2014, PUTTI et al., 2003, PETRI; LEITE, 2004). Porém, existem trabalhos que sugerem que nessas regiões as plantas não entram em endodormência, ou quando entram, permanecem em endodormência superficial (MALAGI et al., 2015; CARVALHO; ZANETTE, 2004). Assim, a falta de acúmulo de frio poderia dificultar a entrada da planta em endodormência. Tal afirmação é plausível pois em plantas em estado de endodormência profunda, quando ocorre baixo acúmulo de frio, é observado uma basitonía nos ramos, ou seja, ocorre brotação apenas das gemas da porção proximal dos ramos (COOK; JACOBS, 1999). Na Figura 1 está ilustrado as duas porções do ramo de macieira citados anteriormente. Já em regiões de clima subtropical úmido o que tem sido observado é uma acrotomia dos ramos, ou seja, a brotação se dá na porção distal dos ramos (SCHMITZ et al. 2014). Tal fato pode indicar que a planta não entrou em dormência profunda, uma vez que mesmo o acúmulo de frio sendo inferior ao acúmulo em

regiões temperadas, as plantas apresentaram brotação acropetal.

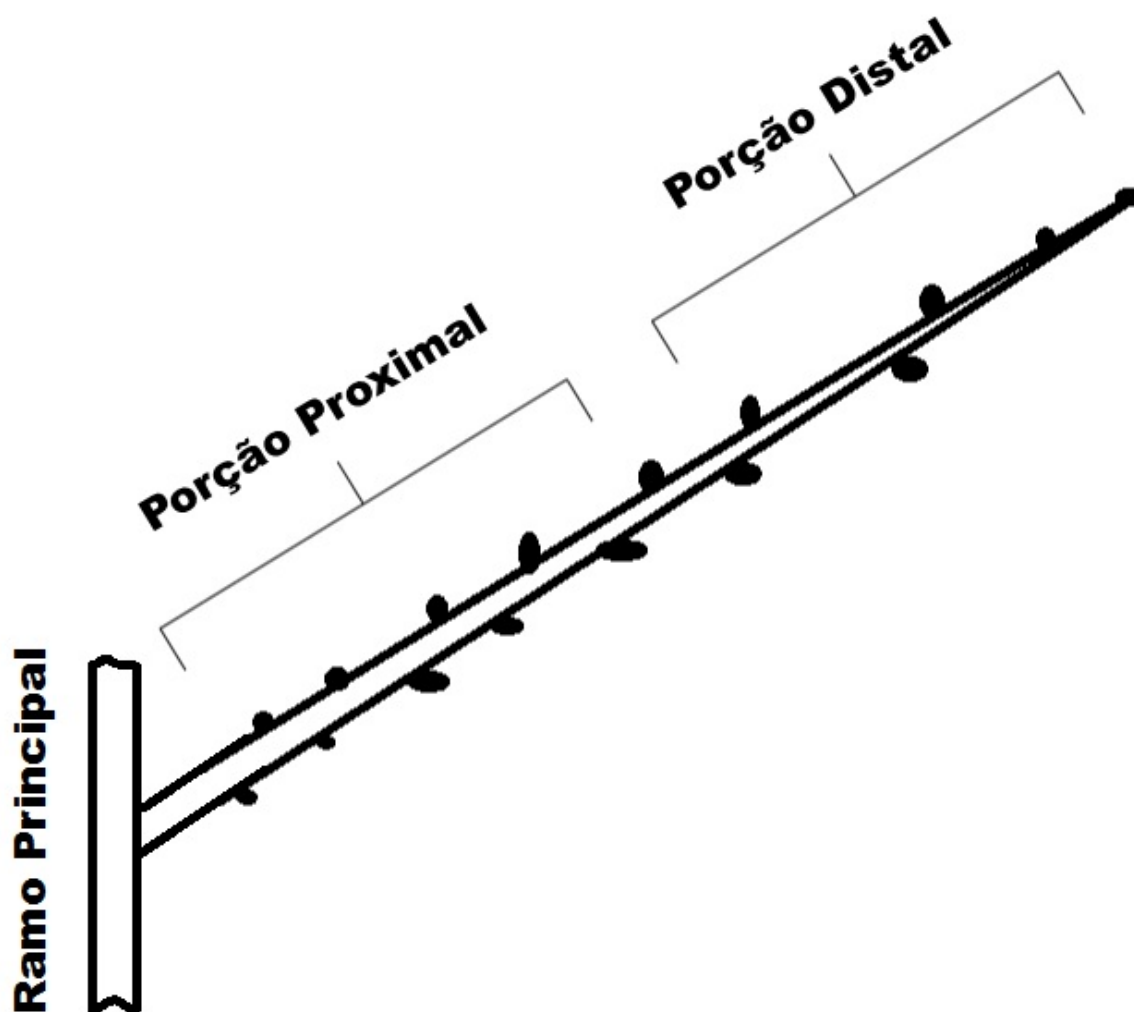


Figura 1: Ilustração de um ramo de macieira destacado, esquematizando as porções distal (ápice) e proximal (base). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

A ocorrência de acrotonia, muitas vezes, compromete a adequada floração e brotação das plantas, especialmente em regiões de inverno ameno. Nessas regiões as plantas apresentam ramos com brotação errática na parte central conhecido como “pescoço pelado”. Ainda há uma grande escassez de informação quanto às causas da ocorrência de acrotonia, o que afeta o manejo das plantas nessas regiões.

Existem métodos mecânicos, químicos e físicos disponíveis para estimular a retomada do crescimento ativo das plantas, no entanto estes oneram muito o custo de produção (LUEDELING et al., 2011). No Brasil, a cianamida hidrogenada é um dos produtos mais utilizados para essa finalidade nas plantas frutíferas de clima temperado cultivadas sob condições de acúmulo insuficiente de frio. Outra alternativa para amenizar o problema do erratismo e outros distúrbios fisiológicos é o uso de cultivares menos

exigentes em frio.

Neste sentido, no Brasil, uma contribuição marcante para o avanço da pomicultura em regiões de clima subtropical ocorreu em 1999, com o lançamento da cultivar IAPAR 75 – ‘Eva’, macieira precoce com baixa necessidade de frio hibernal, adaptada para essas regiões de inverno ameno (HAUAGGE; TSUNETTA, 1999).

Já regiões tradicionais de cultivo de plantas de clima temperado, como a Europa, América do Norte e parte da Ásia, o fator preocupante, que também afeta a fisiologia das plantas, é o aumento da temperatura média destas regiões. O aquecimento global vem preocupando os pesquisadores em todo o mundo. O seu impacto na atividade frutícola, especialmente nessas regiões de clima temperado, tem causado alterações fenológicas como o adiantamento da brotação (HEIDE, 2003) e da floração (GUÉDON; LEGAVE, 2008), desincronização da floração, em espécies dependentes de polinização cruzada (GLEIZER et al., 2007), aumento do risco de danos causados por geadas tardias e tem reduzido o acúmulo de frio (LUEDELING et al., 2011). Se o aquecimento global continuar em curso, as características climáticas das zonas produtoras das regiões temperadas no futuro poderão tornar-se semelhantes às que hoje ocorrem em regiões subtropicais (MALAGI, 2014).

O melhor entendimento dos processos fisiológicos que ocorrem na planta durante a fase de dormência, especialmente sob condições de inverno ameno, é muito importante para o desenvolvimento de novas cultivares mais adaptadas às regiões subtropicais úmidas, bem como, ao novo cenário climático das regiões tradicionais no cultivo das de clima temperado.

Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar se existem diferenças bioquímicas espaciais nos ramos que possam elucidar a ocorrência da acrotonia em ramos de macieira. Assim a hipótese principal deste trabalho foi a de que há diferenças significativas quanto ao conteúdo de carboidratos e atividade enzimática entre as porções distal e proximal de ramos de macieiras, que culminam com a expressão de acrotonia na brotação dos mesmos.

Além disso, buscou-se avaliar a dinâmica da dormência em macieiras cultivadas em região de inverno ameno, com base no estudo do comportamento do conteúdo de carboidratos e suas relações com os eventos bioquímicos e fisiológicos que ocorrem na planta durante este período de repouso vegetativo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O sucesso com a cultura da macieira no Brasil está ligado aos avanços tecnológicos que acompanharam a cultura. Um dos principais fatores a considerar neste sucesso são as cultivares utilizadas. Como mencionado anteriormente, os grupos Gala e Fuji, até o momento, são as cultivares mais exploradas no país, mas o lançamento da cultivar Eva contribuiu para a exploração da cultura em regiões de inverno ameno (PETRI et al., 2011).

2.1 - Cultivares estudadas

2.1.1 - 'Gala Galaxy'

A cultivar Gala vem sendo plantada no Brasil, na Nova Zelândia, na África do Sul, na Argentina, na França, na Espanha e no Chile. É uma das cultivares mais plantadas no Brasil. É originária do cruzamento entre 'Kidd's Orange Red' x 'Golden Delicious', realizado em 1934, em Wairarapa, na Nova Zelândia. Foi lançada em 1962 com o nome de 'Gala' e o plantio comercial foi iniciado em 1965 na Nova Zelândia. Em 2006, o Brasil era o país com maior área plantada da cultivar original (CAMILO; DENARDI, 2006).

A cultivar Gala apresenta plantas de porte semi-vigorosos, com ramos bem distribuídos e com grande quantidade de folhas. Os frutos são muito atrativos, apresentando epiderme vermelho-rajada sobre fundo amarelo, lisa, brilhante e geralmente com pouco de 'russeting' (CAMILO; DENARDI, 2006).

A 'Galaxy' é oriunda de mutação da 'Royal Gala'. Primeiramente em 1969 foi encontrado uma mutação estável da 'Gala', com melhoria na qualidade de fruto e patenteada em 1977 como 'Royal Gala' (HOVE, 1977). Em 1985, uma mutação em Royal Gala foi avaliada dando origem a Cultivar Galaxy patenteada em 1989, na Nova Zelândia (KIDDLE, 1989). A cultivar Galaxy apresenta maior vigor de crescimento das plantas, maior produção acumulada em 6 safras, melhor coloração de epiderme e maior percentual de frutos grandes do que a 'Gala' original, com exigência em frio de 1115 Unidades Frio (UF). No decorrer do texto a cultivar Galaxy será tratada como 'Gala'.

2.1.2 - 'Fuji Suprema'

A cultivar Fuji, como dito anteriormente, é uma das duas cultivares líderes no

país. É resultante do cruzamento entre 'Ralls Janet' x 'Delicious', realizado por H. Nitsu em 1939, em Fujisaki, no Japão. Foi introduzida no Brasil em 1967 e, junto com a 'Gala', tornou-se uma das mais importantes cultivares para a cultura no país. É caracterizada por ser uma cultivar com plantas vigorosas, muito produtivas, exigente em frio hibernal e tem excelente frutificação efetiva (CAMILO; DENARDI, 2006).

A 'Fuji Suprema' é uma mutação somática da cultivar Fuji. Originou-se em um ramo de uma planta cultivada em pomar comercial de Curitiba-SC (PETRI et al., 1997). O que distingue essa cultivar da 'Fuji' é a coloração da epiderme dos frutos, vermelho-sólida, cobrindo mais de 80% da superfície do fruto e proporciona maior porcentagem de frutos extras (CAMILO; DENARDI, 2006). Sua exigência em frio, 1040 UF, é semelhante à 'Galaxy'. O fruto apresenta essa coloração vermelha antes mesmo do ponto de maturação, portanto o ponto de colheita deve ser determinado pelo teor de sólidos solúveis. As demais características da planta são bastante semelhantes às da cultivar Fuji original. No decorrer do texto a cultivar Fuji Suprema será tratada com 'Fuji'.

2.1.3 - 'Eva'

A cultivar Eva é originária entre o cruzamento dos cultivares Anna e Gala. A 'Eva' apresenta como principal característica a baixa exigência em frio hibernal, requer entre 300 e 350 horas de temperaturas em torno de 7,2 °C para florescer, diferentemente da 'Gala' e da 'Fuji'. Além disso, é altamente precoce, produtiva e muito rústica. A coloração da epiderme da fruta é vermelho-escarlata, com estrias leves sobre o fundo creme-amarelado, lembrando a coloração da cv. Gala. O formato é cilíndrico e o tamanho médio. A polpa é doce e semi-árida, macia e suculenta, conferindo às frutas sabor agradável (HAUAGGE; TSUNETTA, 1999).

2.2 - Dormência

Sabe-se que as plantas frutíferas de clima temperado são caracterizados por possuírem uma fase do ciclo na qual tem o crescimento reduzido, ou até mesmo cessado, e que após este período retoma o crescimento desencadeando a floração, frutificação e crescimento vegetativo, novamente. Esta fase do ciclo é conhecida como dormência, ou fase de repouso vegetativo.

Pode-se dizer que esse é um mecanismo de resistência, ou adaptativo, dessas plantas para enfrentar adversidades, sobretudo, climáticas (BONHOMME, 1998).

Assim o crescimento e desenvolvimento da planta só ocorre em épocas favoráveis (Erez, 2000). E para superar essa fase, retomando crescimento, é preciso que essas plantas acumulem determinadas horas exposta ao frio, denominadas de horas frio (HF).

De acordo com Lang et al. (1987), a dormência pode ser definida como sendo a suspensão temporária do crescimento visível de toda a estrutura vegetal portadora de um meristema. Segundo os mesmos autores, a dormência pode ser dividida em três fases, a paradormência, endodormência e ecodormência. Apesar da planta não apresentar crescimento visível, as atividades metabólicas essenciais continuam a ocorrer, porém com intensidade reduzida (Petri et al., 1996).

2.2.1 - Paradormência

A paradormência é tida como sendo uma questão de inibição correlativa. Assim a inibição do crescimento de um órgão é dividida a ação de outro. Assim a inibição ou supressão do inibidor permite a retomada, quase imediata, do crescimento do órgão inibido (CHAMPAGNAT, 1989).

Este tipo de dormência é aquela que ocorre nas gemas devido presença de folhas adjacentes (SAMISH, 1954). Portanto o crescimento e desenvolvimento da gema é inibido pela presença da folha. Com a queda prematura da folha, ocorre a quebra de dormência e conseqüentemente o crescimento da gema. Esta inibição, da folha sobre a gema, pode estar relacionada com a concorrência por recursos nutricionais, produção de hormônios e capacidade de percepção do fotoperíodo (CHARRIER; AMÉGLIO, 2011).

Outro exemplo de paradormência, muito comum em fruteiras temperadas conduzidas em regiões de inverno ameno é a dominância apical. Neste caso o crescimento de uma gema é inibido pelo crescimento de gemas em extratos superiores do ramo.

2.2.2 - Endodormência

A endodormência é entendida como sendo a dormência que ocorre devido a fatores intrínsecos ao órgão em questão. E mesmo que as condições ambientais estejam favoráveis, o crescimento não ocorre. Segundo Faust et al. (1997) a endodormência pode ser ainda dividida em duas porções, a d-endodormência (deep-endodormancy) e s-endodormência (shallow-endodormancy). A d-endodormência ocorre a partir da paradormência, com possível sobreposição, até o pico de dormência, nesse período os agentes químicos de quebra de dormência não surtem efeito em substituição ao frio. A s-endodormência é o período após a o pico de dormência, em que o uso de agentes químicos pode substituir o restante da necessidade de frio, antecipando e

homogeneizando a retomada de crescimento.

Alguns estudos com macieiras cultivadas sob condições de baixo acúmulo sugerem que nessas condições as plantas não entram em dormência profunda (d-endodormência) (MALAGI et al., 2014; CARVALHO; ZANETTE, 2004), permanecendo em dormência superficial durante todo o período de repouso.

Sob condições de invernos amenos, mesmo que apresente alto percentual de brotação ela se dá de forma errática, com formação de rosetas (EREZ, 1999), que não irão sustentar o novo ciclo de crescimento. Nestas regiões, plantas mais exigentes em frio apresentam crescimento anormal das brotações, conhecido como erratismo. O erratismo é caracterizado pela baixa taxa de gemas axilares entrando em crescimento e pela defasagem temporal da abertura das gemas florais (BALANDIER, 1992).

Portanto o acúmulo de frio é considerado um fator crucial para superação da endodormência. É nesta fase que ocorre a dormência profunda ou forte, a qual exige uma quantidade de frio maior para ser superada. Em regiões subtropicais é difícil a retomada de crescimento normal após a dormência profunda, quando esta ocorre, pois não há acúmulo suficiente de HF.

2.2.3 - Ecodormência

Já a ecodormência se caracteriza por ser o repouso vegetativo induzido por fatores ambientais. Neste caso as condições intrínsecas (bioquímicas) das gemas estão satisfeitas. No entanto não ocorre brotação por questões climáticas. Assim a ecodormência evita que a brotação ocorra quando as condições ambientais ainda não são ideais para o desenvolvimento. Além disso, em regiões onde ocorre geada tardia, ao retardar a floração, a ecodormência evita a perda por geada.

A transição entre endodormência e ecodormência ocorre gradualmente e, mesmo que a endodormência não tenha sido completamente superada, a exposição às elevadas temperaturas induz a brotação (TROMP et al., 2005). No entanto, o tempo gasto para a brotação varia conforme o estado de dormência da gema.

Segundo Malagi et al. (2014), em condições de inverno ameno o período entre a superação da endodormência e a brotação (ecodormência) é menor, quando comparado com regiões onde o acúmulo de frio é satisfatório, uma vez que nessas regiões as condições climáticas permanecem inadequadas para a brotação após a superação da endodormência.

2.3 - Dinâmica da dormência

A condição térmica antes e durante o período de dormência é o fator ambiental mais importante e que, portanto, mais limita a produção de fruteiras de clima temperado em regiões subtropicais (PETRI; CAMELATO, 2004; PETRI et al., 2004). A intensidade e quantidade de frio durante o período de repouso influencia a intensidade de dormência das gemas e conseqüentemente o padrão de brotação pós dormência (SAURE et al, 1985).

Alguns trabalhos (MALAGI et al, 2015, CARVALHO et al, 2004) evidenciam que em regiões de inverno ameno, como é o caso da maior parte das regiões produtoras de maçã no Brasil, a falta de frio impede a entrada da planta em endodormência, ou pelo menos não dá condição de entrada em endodormência profunda. Assim as gemas estariam aptas a brotarem na ocorrência dos picos de calor durante o inverno, muito comuns nessas regiões. Este evento predispões as plantas aos riscos de baixas temperaturas ou até mesmo geadas. Além disso, as gemas que brotam primeiro, gemas da porção distal, começam a exercer dominância sobre as demais gemas (acrotonia). Desse modo a brotação é deficiente, errática, comprometendo a produção das plantas.

A macieira necessita de períodos de baixas temperaturas (4° a 10°C) no outono e inverno, designados de horas de frio, caso contrário a planta continuará em dormência ou apresentará brotação e floração prolongada e irregular (PUTTI et al., 2003). Cook e Jacob (1999) observaram que plantas de macieira em estado de endodormência perdem a característica de acrotomia quando o frio é deficiente. Portanto, o conhecimento do requerimento de frio da espécie e da cultivar é fundamental para que se obtenha sucesso na produção.

A endodormência ocorre nos meses frios, em que eventos bioquímicos e fisiológicos que acontecem a níveis meristemáticos ou muito próximos, culminam com o não desenvolvimento da gema (FAQUIM et al., 2007). Somente pela superação da endodormência haverá sucesso na brotação e contribuirá para produção de frutos satisfatória. Essa fase é influenciada por uma série de fatores, tais como a espécie, cultivar, idade da gema e condições climáticas (PUTTI et al., 2003; CARVALHO; ZANETTE, 2004)

A dormência das gemas é governada por condições ambientais que, por sua vez, afetam o nível das substâncias reguladoras de crescimento que controlam as mudanças metabólicas da entrada e saída da dormência (PETRI et al., 2002).

Entre as substâncias reguladoras de crescimento, a primeira a ser citada foi o ácido abscísico (ABA), que inibe determinados tipos de RNA, impedindo a formação de proteínas necessárias ao crescimento (SAURE, 1985, citado por ROBERTO et al., 2006). A concentração de ABA diminui à medida que se aproxima o fim da dormência. Auxinas e citocininas também são citadas como substâncias que interferem no processo de dormência. Embora pareça não haver relação direta entre as auxinas e a saída de dormência, elas são envolvidas na abertura das gemas (PETRI et al., 2002).

A fase de endodormência também influencia a forma dos carboidratos na planta, conseqüentemente influenciam a atividade das enzimas alfa-amilase e Sacarose Fosfato Sintase (SPS). Estudos ligados à dinâmica dos carboidratos nas plantas englobam a teoria trófica da dormência (ALVES et al., 2007; DECOURTEIX et al., 2008; CITADIN et al., 2009; SACHET, 2013). esta teoria relaciona a capacidade de brotação das plantas com a capacidade das gemas em adquirir e usar carboidratos (TORT et al. 1985, GENDRAUD; PÉTEL, 1990).

Em espécies da família Rosaceae, como é o caso da macieira, o sorbitol é um alvo de estudos, pois este é o açúcar mais translocado (MOING et al., 1997). Alguns estudos demonstram que o teor de sorbitol e a capacidade da planta em utilizá-lo, convertendo-o em açúcares solúveis e/ou amido, coincide com alguns pontos importantes do período de dormência (MAUREL et al. 2004, ITO et al. 2012, ITO et al. 2013).

Segundo Ito et al. (2012), em estudo com pereiras japonesas, as gemas florais regulam a saída da endodormência modulando o catabolismo de sorbitol e sacarose de acordo com o estágio de dormência em que se encontram. Além disso, eles sugerem um efeito inibitório do sorbitol sobre o crescimento das gemas florais durante o período de endodormência. O sorbitol tem papéis funcionais diferentes da sacarose durante o período de inverno (dormência), como função protetora contra estresse abióticos, a exemplo das baixas temperaturas durante o inverno (KANAYMA, 2009).

Sabe-se que durante o verão/outono ocorre armazenamento de carboidratos na forma de amido no parênquima do xilema dos ramos das plantas perenes (SAUTER, 1988). Este amido será hidrolisado em açúcares simples, durante a endodormência, para evitar o congelamento ou a embolia dos vasos. A alfa-amilase é a enzima chave deste processo de hidrólise do amido, e sua atividade é aumentada durante os meses frios. Como consequência, ocorre o aumento de açúcares solúveis no xilema e diminuição nos teores de amido nos tecidos de reserva. Observa-se também forte atividade da SPS, enzima envolvida na formação da sacarose. Após janeiro, nas condições de clima

temperado, observa-se ressíntese de amido em consequência da diminuição dos teores de açúcares solúveis (AMEGLIO et al., 2001).

No período que antecede a brotação e a floração observa-se uma forte atividade da alfa-amilase nos ramos, sobretudo na porção apical de ramos de noqueira, onde predomina a brotação (CITADIN et al., 2009). Nesta fase também ocorre uma elevação da atividade da ATPase e Invertase ácida (IA), responsáveis pela entrada dos açúcares solúveis para dentro das células dos tecidos drenos (ALVES et al., 2007).

Porém, em estudo com pereira japonesa, Marafon et al. (2011) observaram que a privação de frio não induziu a mobilização do amido, diminuindo a síntese e exportação de sacarose nos tecidos lenhosos (fonte) e a sua importação pelas gemas florais (drenos); as concentrações de açúcares totais e açúcares redutores, bem como as atividades das enzimas IA e SPS foram inferiores nos tecidos dos ramos mantidas sob privação de frio; e que a concentração de amido foi superior no lenho das plantas que não receberam frio. Isso reforça a hipótese de que o erratismo observado na brotação e floração das fruteiras de clima temperado pouco adaptadas é consequência da irregularidade na mobilização dos carboidratos.

Outro fator importante, durante o período de dormência, é o teor de água nos tecidos da planta. Alguns trabalhos associam o conteúdo de água com o estado de dormência das plantas em macieiras (MALAGI et al., 2014; SACHET, 2013), pessegueiro (LEITE et al., 2006; BONHOMME et al., 1997) e pereiras (MARAFON et al., 2011; SIMÕES et al., 2014). Durante a dormência e indução da brotação a água tem papel importante nos eventos bioquímicos, uma vez que os solutos, sobretudo os carboidratos, são translocados dissolvidos em água (MARAFON, 2008; SIMÕES et al., 2014). Então teor de água varia conforme o estágio de dormência no qual a planta se encontra. Faust et al. (1991) observaram que a água passa de um estado ligado, à estruturas celulares, para um estado livre quando a gema supera a endodormência.

Além disso, alguns trabalhos têm estudado as alterações no conteúdo de proteínas durante a fase de repouso vegetativo em pereira (TAMURA et al., 1998) e macieira (CARVALHO et al., 2006). No entanto, ainda há pouca informação a respeito da relação proteína e dinâmica da dormência em fruteiras de clima temperado. Ambos trabalhos estudaram a influência da temperatura no conteúdo de proteínas em gemas e ramos de plantas frutíferas. Carvalho et al. (2006) observaram alterações do conteúdo de proteínas durante a dormência de macieiras, sendo maior o conteúdo quando a planta apresentou maior pico de dormência.

Para avaliar, seja o conteúdo de carboidratos, de proteínas ou atividade enzimática durante a dormência de plantas, é fundamental conhecer o estado de dormência no qual a planta se encontra. Além disso é importante realizar o acompanhamento das respostas das plantas às diferentes condições climáticas a fim de conhecer o seu comportamento durante a fase de repouso vegetativo bem como determinar o momento em que a dormência, mais precisamente a endodormência, é superada.

Para tanto, vários trabalhos vem adotando métodos que auxiliam na determinação dessas respostas, conhecido como método biológico. O método biológico é considerado como o único capaz de quantificar a dormência de gemas, sendo capaz de identificar as variações temporal, espacial e genética (HERTER et al., 2001). No Brasil, esse método é aplicado nas principais espécies frutíferas de clima temperado (Carvalho et al., 2010).

Dentre os métodos biológicos destacam-se o método de ramos destacados, de ramos enxertados, de estacas de uma só gema e o teste de Tabuenca. Neste trabalho utilizou-se os métodos de estaca de uma uma só gema (RAGEAU, 1978) e o teste de Tabuenca (TABUENCA, 1964). O primeiro método permite a avaliação da profundidade de dormência das gemas, em diferentes porções do ramo, uma vez que as gemas são isoladas, ou seja, elimina-se a paradormência. Já o teste de Tabuenca é utilizado em alguns trabalhos com o intuito de determinar o momento da saída da endodormência através da avaliação dos incrementos em matéria fresca e matéria seca dos primórdios florais. (BONHOMME et al., 1997; LEITE et al., 2006; MALAGI et al, 2015).

2.4 Requiremento em frio

Devido às limitações fisiológicas impostas pela falta de frio para as plantas frutíferas de clima temperado, tem-se a necessidade de quantificar o frio, tanto para definir o requerimento de frio de uma cultivar, como para determinar a quantidade de frio disponível em um local específico. Existem vários métodos para quantificar as horas de frio, ou unidades de frio, dentre estes podemos citar os modelos de Utah (RICHARDSON et al., 1974), modelo da Carolina do Norte (SHALTOUT; UNRATH, 1983) e o modelo dinâmico (FISHMAN et al., 1987). Estes métodos possuem uma curva de resposta entre as temperaturas observadas e as unidades de frio correspondentes. Estes métodos

também possuem variações adaptadas à regiões mais quentes, como o modelo da Carolina do Norte modificado por Ebert et al. (1986). Para mensurar a quantidade de frio necessária para superar a dormência das gemas, o método mais utilizado até o momento é o uso da soma diária das horas abaixo de 7,2°C, durante o período de maio a setembro (PUTTI et al., 2003).

Os métodos ou modelos agrometeorológicos são formas de análise quantitativas e qualitativas da ação dos elementos do ambiente sobre o desenvolvimento vegetal. As dificuldades em se determinar uma temperatura padrão de acúmulo de frio, juntamente com as limitações dos modelos já existentes, contribuíram para o surgimento de modelos que focam na fenologia das plantas.

Os modelos fenológicos fazem uso, além dos dados de temperaturas, também de dados de fenologia das plantas ao longo dos anos. Assim baseando-se no modelo fenológico, novos estudos estão sendo desenvolvidos com foco em definir medidas de adaptação, novo zoneamento agroclimático e efeitos do aquecimento global (MALAGI, 2014).

Como o frio ocorrido no outono e inverno influencia diretamente na capacidade de brotação da gema, é fundamental que se conheça a necessidade de frio que uma determinada cultivar precisa para a superação da endodormência, de forma a garantir a brotação e a floração.

3 Material e métodos

O presente trabalho é resultado do acompanhamento da dinâmica da dormência de três cultivares de macieira, sendo elas: Galaxi, Fuji Suprema e Eva.

3.1 - Material Vegetal

O material amostral foi proveniente de plantas cultivadas em pomar comercial localizado no município de Palmas-PR, localizado a 26°29' de latitude sul a 51°59' longitude oeste, com altitude média de 1115 m. O clima de Palmas, segundo a classificação de Köppen, é o Cfb, Temperado, com temperaturas médias, no mês mais quente inferior a 22°C e no mês mais frio inferior a 18°C, super-úmido, com precipitação pluviométrica em torno de 2250 mm. A quantificação das horas de frio foi feita utilizando o métodos de Número de Horas de Frio (HF), contabilizando o somatório de horas com temperaturas iguais ou menores que 7,2°C, temperaturas iguais e inferiores a 12 °C.

Ao início das observações, em 2012, as plantas apresentavam idade de 13 anos sendo as cultivares Fuji Suprema e Galaxy conduzidas em sistema adensado (2.857 plantas ha-1) com tutoramento e sobre o porta-enxerto M9. Já a 'Eva' foi conduzida no sistema adensado (2.631 plantas ha-1), sem tutoramento, sobre o porta-enxerto Maruba com filtro curto de M9.

3.2- Coleta do material

O experimento foi conduzido nos anos de 2012, 2013 e 2014. As coletas dos ramos e gemas foram realizadas quinzenalmente no período de março a julho e semanalmente de agosto a outubro, nas cultivares Galaxi, Fuji Suprema e Eva, sem que tenham sido tratadas com substâncias indutoras de brotação. As coletas foram suspensas quando se observava o início de brotação (IB), ou seja, quando 10% das gemas se encontravam brotadas através da análise visual das plantas. Em cada data, para cada cultivar, foram coletados o total de 30 ramos com aproximadamente 35 cm de comprimento e 50 esporões com aproximadamente 8 cm, em um grupo homogêneo de plantas de cada cultivar e que não sofreram tratamentos com indutores de brotação.

Imediatamente após a coleta, cinco ramos por cultivar foram seccionados a

metade de seu comprimento e retiradas as gemas consideradas basais e apicais como também as duas porções de lenho sem casca, agrupados separadamente por cultivar, congelados em nitrogênio líquido (-196°C) e armazenadas em ultra freezer (-45°C) para posterior determinação do teor de carboidratos e atividade enzimática. Outros cinco ramos foram utilizados para determinar o peso fresco e seco das gemas e do lenho. Os demais 20 ramos foram utilizados para determinação do tempo médio de brotação pela metodologia de gemas isoladas.

3.3- Variáveis analisadas

3.3.1- Estado de dormência

A fim de caracterizar o estado de dormência das gemas foi empregada a metodologia de estacas de uma só gema (RAGEAU, 1978), utilizando os 20 ramos (brindilas) coletados. Para cada data de coleta, quatro amostras equidistantes (basal, 2/4 basal, 3/4 basal e apical) de cada ramo, contendo uma única gema foram submetidas a 25°C (+1°C) e alta umidade, em câmara de crescimento. Cada estaca media cerca de 7 centímetros sendo a única gema posicionada 1 centímetro abaixo da porção superior dessa estaca. O tempo individual decorrido desde a colocação na câmara até a brotação foi registrado, e a média destes constituiu o tempo médio de brotação (TMB). As observações seguiram por no máximo 60 dias e o percentual de brotação é referente ao número de estacas brotadas durante esse período.

3.3.1 Umidade ponderal

Com o intuito de verificar se o aumento da atividade metabólica não está somente relacionado com uma reidratação dos tecidos, uma amostra de cinco ramos, dividido em lenho e gemas da porção proximal e distal, foi utilizada para determinar a quantidade de água dos tecidos (umidade ponderal). Inicialmente, foi mensurada a matéria fresca (MF) das amostras. Posteriormente, essas amostras foram levadas a estufa de secagem a 60°C, até atingirem peso constante para registro da matéria seca (MS). A umidade ponderal (UP) foi determinada segundo a seguinte formula: $UP = (MF - MS)/MS$. As médias foram calculadas separadamente para cada data de coleta, tipo de tecido, cultivar e ramo.

3.3.2 Conteúdo de proteínas totais e atividade da alfa-amilase

A extração de proteínas solúveis totais foi feita segundo a metodologia

utilizada por Citadin et al. (2009) e Marafon et al. (2011a), ajustada para a espécie estudada (macieira). Uma amostra de 150 mg de matéria fresca de lenho foram trituradas em almofariz, em nitrogênio líquido, e acrescida 10% (peso/peso) de polivinil polipirrolidona (PVPP). Nas amostras trituradas, foi acrescentado 800 µL de tampão de extração (HEPES pH 7.0 / KOH, DTT 10 mM, MgCl₂ 5 mM, EDTA 1 mM) e mantidos em banho de gelo por 15 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm, durante 10 min a 4 °C. O sobrenadante foi recuperado para as dosagens de proteínas totais e atividade da alfa-amilase. As médias e os desvios-padrão foram calculados separadamente para cada data de coleta, tecido e posição do ramo. As proteínas totais de cada extrato foram dosadas segundo o método de Bradford (BRADFORD, 1976) e a atividade enzimática segundo as especificações do kit Ceralpha (Megazyme).

3.3.3 Conteúdo de açúcares solúveis e amido

Os açúcares, glicose, frutose, sacarose e sorbitol, e o amido foram extraídos a partir de 100 mg de amostras, liofilizadas e maceradas, por um método derivado de Moing et al. (1992), utilizando etanol 80% (volume/volume) em banho maria a 80 ° C. Foi utilizado como padrão interno o xylitol a uma concentração de 0,25 g/L. Primeiramente a amostra foi incubada em banho maria (80 ° C) com a solução de etanol contaminada com o padrão interno (xylitol 0,25g/l) por 30 minutos, levado para centrifugação por 15 minutos a 10.000G. Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes, utilizando-se etanol 80% (volume/volume) porém sem o padrão interno. Os sobrenadantes dos três procedimentos foram reunidos em um único frasco para posterior purificação e determinação de açúcares. Ao precipitado foi adicionado 1 mL de água destilada e agitado em vortex, centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos desprezando-se o sobrenadante. Posteriormente procedeu-se com a secagem à vácuo à 45°C (45 minutos). Esse material foi mantido em ultrafreezer (-45°C) e utilizado para posterior quantificação de amido.

O processo de purificação consistia em passar a amostra, primeiramente por um cartucho de carvão ativado (SUPELLEAN ENVI-CARB 500MG/6ML) e polivinilpolipirrolidona (PVPP Sigma) para eliminar polifenóis. Após esta etapa o material purificado seria levado para evaporação em "speed vac".

Posteriormente à extração dos açúcares os sobrenadantes foram reunidos e levados ao "speed vac" para evaporação. Posteriormente a amostra seca foi então diluída em 1mL de água ultra pura, filtrada em filtro de seringa PTFE (0,45µm) e condicionada em vials de 1,5 mL para serem injetadas no HPLC.

A coluna utilizada foi a Aminex HPX-87H que permitiu boa separação da glicose, frutose, sacarose, sorbitol e do padrão interno xylitol. A coluna foi aquecida a 45°C e a água ultra pura acidificada com de ácido sulfúrico (0,005 mol/L) foi utilizada como fase móvel com fluxo 0,6 mL.mm⁻¹. O tempo de corrida foi de 30 min e a detecção feita por refratômetro (RI). Os resultados foram expressos em miligramas de açúcares por grama de matéria seca.

O amido foi quantificado através da hidrólise enzimática seguido por colorimetria. Ao precipitado seco, descrito anteriormente, foi adicionado 500 uL de tampão acetato 0,2 M (pH 4,5) contendo 70 U/mL de amiloglucosidase (*Aspergillus niger*, Sigma). As amostras foram incubadas por 24 horas em banho-maria à 55°C com privação de luz. A glicose liberada foi quantificada pelo método de DNS (ácido 3,5- dinitrossalicílico) e o valor multiplicado por 0,9 (fator de conversão de glicose em amido) para expressar os resultados em mg de amido/g matéria seca de lenho.

3.3.4 Teste de Tabuenca (Tabuenca, 1964)

O Teste de Tabuenca é utilizado para indicar a saída da endodormência. A partir de junho, amostras de 50 esporões foram coletados no pomar comercial, divididos em 2 grupos de 25 esporões cada. No dia da coleta um grupo passou pelo procedimento que consistiu em selecionar 25 gemas, divididas em 5 grupos de 5 gemas, retirar as brácteas e pesar primórdios (peso fresco), posteriormente levadas à estufa a 60 °C até peso constante para obter a matéria seca. O outro grupo de esporões foi levado para câmara de crescimento (Fitotrons) a 25 + 1 °C e mantidas por 7 dias (forçagem). Após, passou pelos mesmos procedimentos para obtenção do peso fresco e peso seco. Os dados foram apresentados em forma de gráfico e avaliados utilizando intervalo de confiança.

3.5 Dados meteorológicos

Os dados de temperatura horária, em Palmas-PR, foram registrados pela estação automática localizada no Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), 7 km do pomar. Os dados referentes aos anos de 2012, 2013 e 2014 foram cordialmente disponibilizados pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados climáticos são apresentados na Figura 2. O comportamento do clima variou entre os anos. Em 2012 o acúmulo de frio foi maior entre início de maio e final de julho, enquanto em 2013 o maior acúmulo ocorreu entre final de julho e início de setembro. Vale ressaltar que no final de julho de 2013 ocorreu uma frente fria intensa e duradoura, com ocorrência de neve no município de Palmas-PR. Já em 2014 o acúmulo de frio foi constante entre meados de maio a meados de agosto, com certa variação de agosto até final de setembro, e foi considerado um ano de acúmulo de frio ruim para a macieira.

De maneira geral 2012 foi o ano no qual o frio ocorreu na época esperada (de maio a agosto), 2013 foi um ano de frio tardio e intenso e 2014 foi um ano com poucas temperatura muito próximas de zero, com acúmulo distribuído entre maio e setembro. O acúmulo total de horas frio, abaixo de 7,2°C, foi de 313 horas, 481 horas e 277 horas, para os anos de 2012, 2013, e 2014 respectivamente. O acúmulo de frio ocorrido durante os anos de avaliação atenderam a necessidade de frio da cultivar Eva, que necessita de 100 a 350 HF (HAUAGGE; TSUNETTA, 1999). O mesmo não ocorreu para a 'Gala' e 'Fuji', consideradas de alta exigência, ou seja, acima de 700 HF. Todavia, mesmo com acúmulo inferior à 700 horas, a brotação ocorreu, seguida da floração e frutificação. Tal fato pode estar associado à não entrada em dormência profunda, que permitiu a retomada do crescimento quando as temperaturas se elevaram.

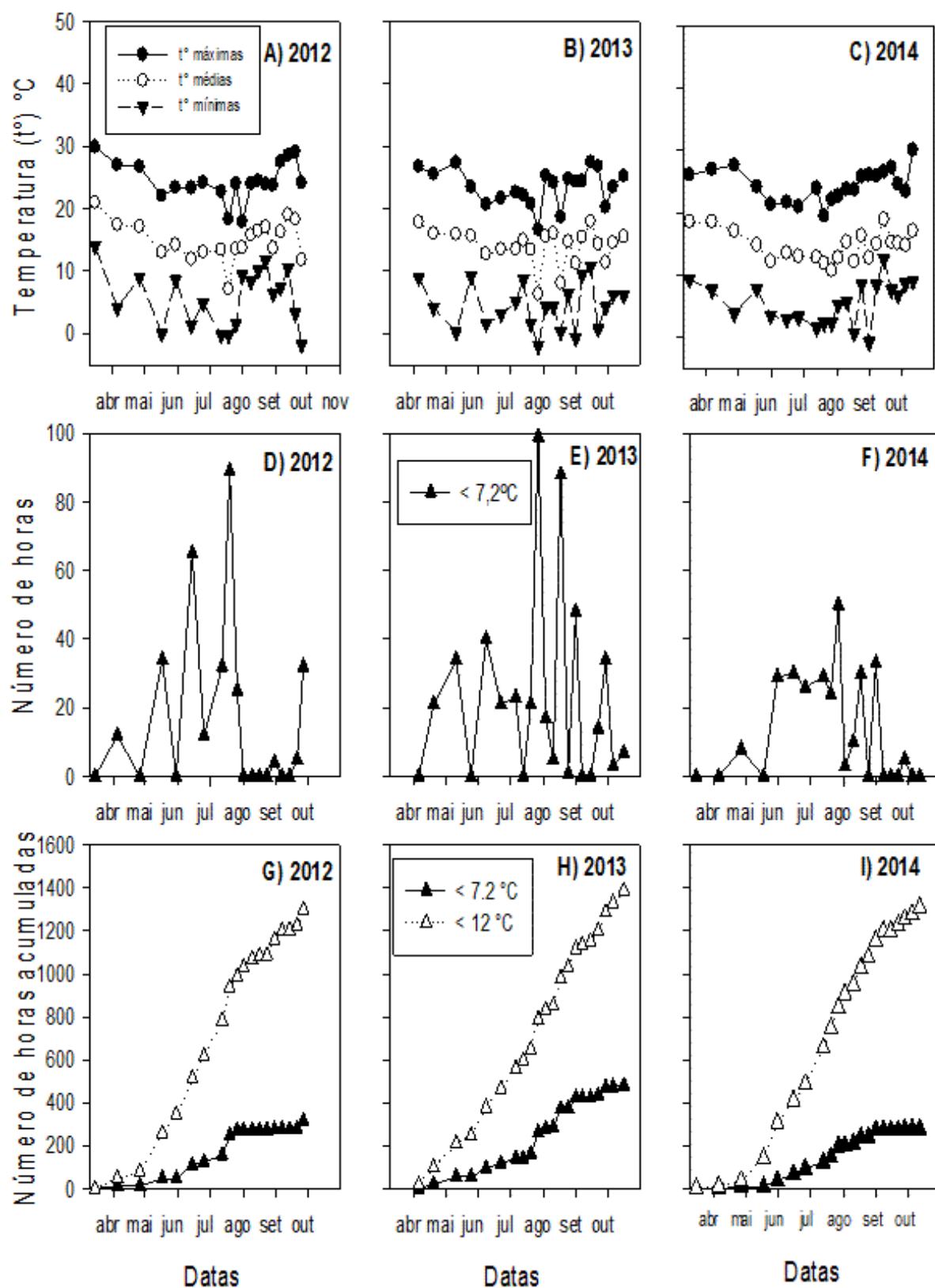


Figura 2: Temperatura em °C (A, B e C), número de horas abaixo de 7,2°C (D, E e F), número de horas acumulada abaixo de 7,2°C e 12°C (G, H e I), registrados pela estação meteorológica do IAPAR, em Palmas-PR, nos anos de 2012 (A, D e G), 2013 (B, E e H) e 2014 (C, F e I). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

O teste biológico de estacas com nós isolados tem sido utilizado em alguns estudos sobre dormência em macieira (MAUGET; RAGEAU, 1988; CARVALHO; ZANETTE, 2004; MALAGI et al., 2015). No entanto poucos trabalhos têm sido feitos avaliando o tempo médio de brotação (TMB) em condições de clima subtropical, ou seja, sob condições de inverno ameno (MALAGI et al. 2015, CARVALHO; ZANETTE, 2004).

O TMB para a cultivar Eva (Figura 3) foi maior para a porção proximal em todas as coletas a partir de maio de 2012 e em todas as coletas de 2013. Em 2014, houve diferença entre as porções dos ramos apenas no início de julho e meados de agosto, quando os valores da porção proximal foram significativamente maiores. Os valores máximos de TMB em 2012 ocorreram entre o final de junho e meados de julho, com TMB máximos de 21 e 16,6 dias, nas porções proximal e distal, respectivamente (Figura 3 A). Já em 2013, foi observado TMB máximo de 19,7 dias somente para a porção proximal, o que ocorreu no final de junho (Figura 3 B). Neste mesmo ano, o TMB da porção distal se manteve constante, com valor médio de 12,2 dias, até meados de julho, reduzindo a partir de então (Figura 3 B). Tal fato pode ser um indicativo de que a porção distal permaneceu em estado de dormência superficial, provavelmente devido ao acúmulo deficiente de frio. Isto porque em 2013 as temperaturas demoraram mais tempo para baixarem, ou seja, ocorreu frio mais tardio, entre agosto e setembro (Figura 3 H). No ano de 2014 os valores máximos de TMB, 26,7 dias e 25,5 dias para a porção proximal e distal, respectivamente, foram observados na primeira semana de junho (Figura 3 C).

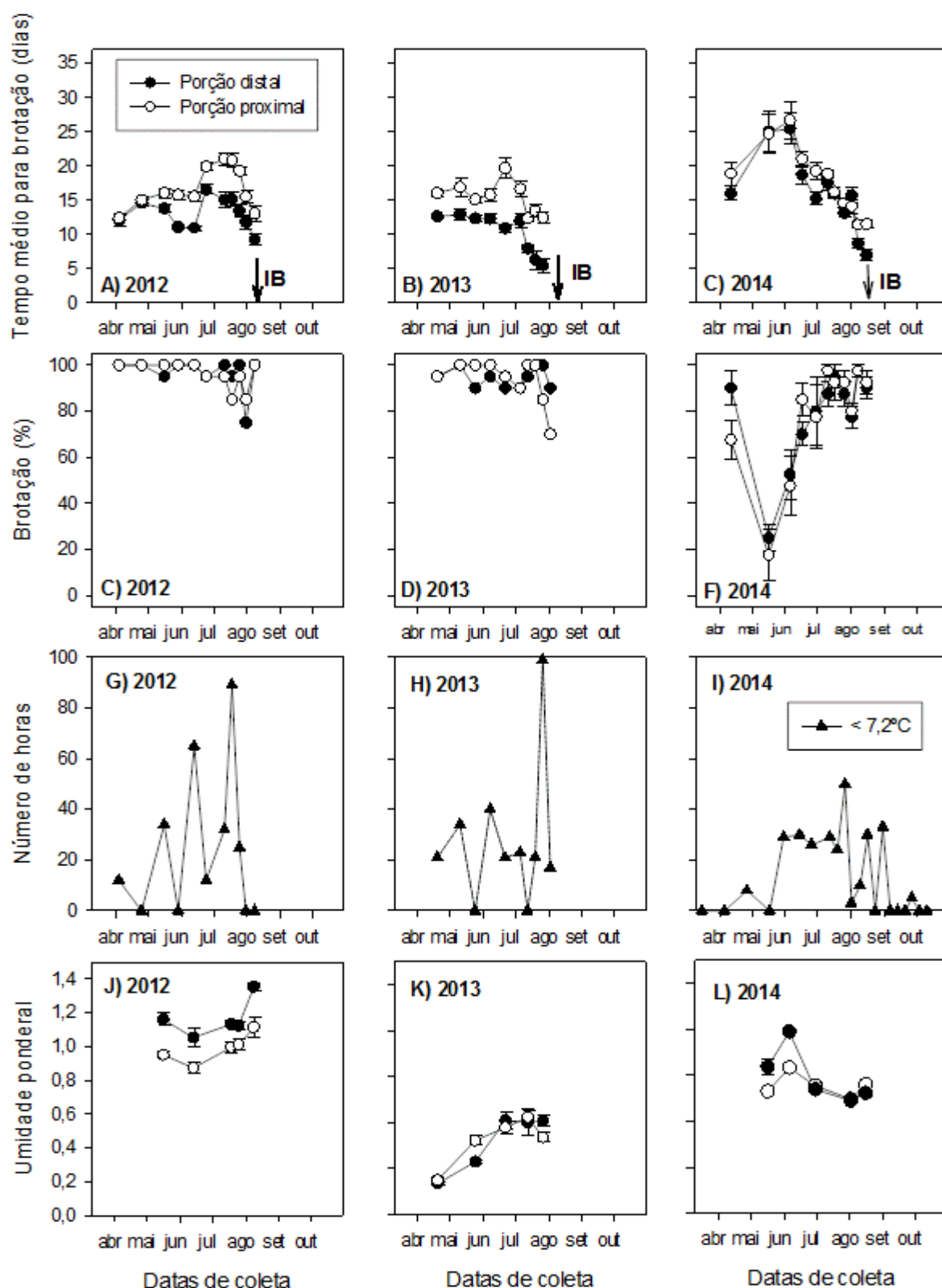


Figura 3: Tempo médio de brotação (A, B, C) e percentagem de brotação (D, E, F) na porção distal e proximal de ramos de macieira Eva, número de horas abaixo de 7,2°C (G, H, I) e umidade ponderal do ramo (J, K, L) em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

O percentual de brotação das estacas foi acima de 80% na maioria das coletas de 2012, 2013, exceto nas últimas coletas próximo da retomada do crescimento ativo em que os valores reduziram para até 70% de brotação (Figura 3 C, D). Porém em 2014 houve uma redução abrupta no percentual de brotação em meados de maio, que coincidiu com a ocorrência da primeira queda abrupta de temperatura e o aumento do TMB (Figura 3 E) Altas porcentagens de brotação observadas durante os três anos são indicativo de que a planta não entrou em dormência profunda. Alguns autores consideram que valores de porcentagem de brotação de 30%, em castanheiras e pessegueiros (CAMPOY et al., 2012; GUO et al., 2013) e 50% em cerejeiras (CORTES e GRATACOS 2008; MEASHAM et al., 2014) e outras frutíferas de clima temperado (SAURE, 1985), indicam que a planta já supriu a necessidade em frio, ou seja, não está em endodormência. Assim os valores observados neste trabalho sugerem que em regiões de inverno ameno as plantas permanecem em dormência superficial. Em 2014 o pico de dormência observado coincidiu com os primeiros acúmulos significativos de horas abaixo de 7,2°C (Figura 3 I).

A umidade ponderal em 2012 foi sempre maior na porção distal (Figura 3 J). Com as primeiras horas de frio acumuladas a 'Eva' apresentou um decréscimo de umidade inicial. No entanto a partir de meados de junho até o final das avaliações, houve tendência de aumento da umidade, atingindo o máximo valor em ambas porções. Em 2013, embora apresentando menores valores, também foi observado aumento da umidade ponderal até próximo à brotação (Figura 3 K). Vale ressaltar que neste ano, após a brotação da 'Eva', foi registrado frio intenso, o qual prejudicou essas novas brotações. Como as avaliações terminaram assim que se registrou brotação no campo, o decréscimo de umidade, notado após ocorrência de frio, não foi observado nesse ano.

Em estudo com a macieira Eva no Rio Grande do Sul, Schimitz (2014) observou aumento significativo da umidade das gemas próximo ao início de brotação. O mesmo foi observado em ramos de macieira 'Eva' neste trabalho, com exceção de 2014, no qual apresentou aumento da umidade ponderal até o primeiro acúmulo de frio e, posteriormente decresceu e manteve-se com pouca alteração até o final das observações (Figura 3 L). Tal fato pode estar ligado à ocorrência de frio mais homogênea, embora baixo acúmulo tenha sido observado. Assim com pouca alteração na temperatura após o primeiro acúmulo, houve pouca oscilação no conteúdo de água. De maneira geral, quanto à valores, a umidade ponderal observada neste trabalho é semelhante ao registrado para fruteiras de clima temperado em outros trabalhos, tanto em regiões de inverno ameno

(SCHIMITZ, et al., 2015), quanto em regiões de clima temperado (CITADIN et al, 2009).

A Cultivar Gala apresentou comportamento distinto entre os três anos de observação (Figura 4). Em 2012, a porcentagem de brotação foi alta e com pouca oscilação, variando entre 85% e 100% durante todo o período de coletas (Figura 3 E). Portanto, neste ano a cultivar parece não ter entrado em estado de endodormência, estando assim sujeita às oscilações de temperatura. A porção proximal apresentou valor máximo de TMB de 26,9 dias no início de agosto enquanto a porção distal apresentou TMB máximo de 24 dias no início da segunda quinzena de julho (Figura 4 A). Esse período coincide com o máximo valor de acúmulo de frio (Figura 4 G). Em estudo com macieira do grupo gala, cultivadas na Franca, Malagi et al. (2015), encontrou valores de TMB acima de 40 dias e porcentagem de brotação próximas de zero. Tal fato sugere que as plantas entram em endodormência profunda naquela região.

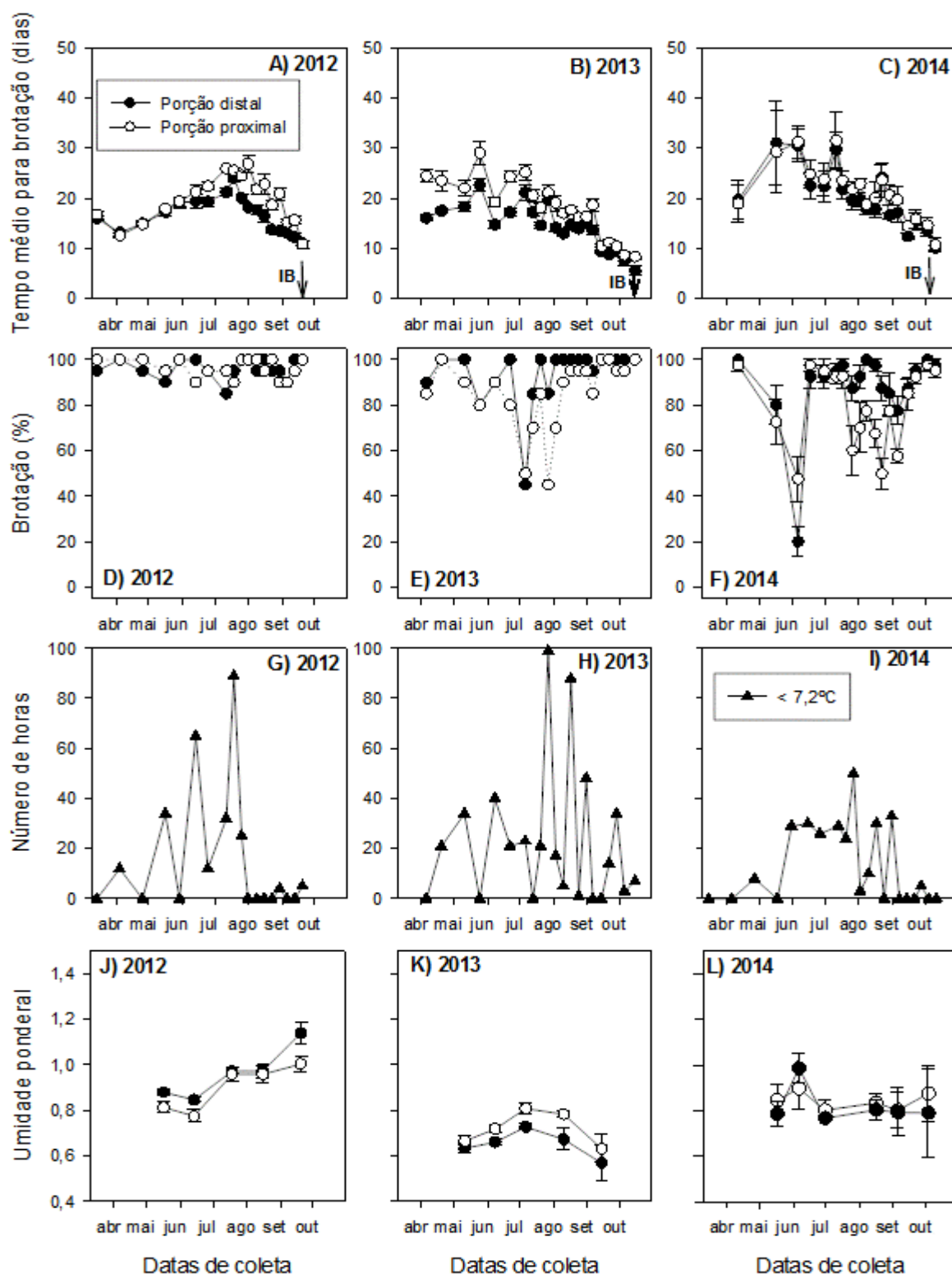


Figura 4: Tempo médio de brotação (A, B, C) e percentagem de brotação (D, E, F) na porção distal e proximal de ramos de macieira Gala, número de horas abaixo de 7,2°C (G, H, I) e umidade ponderal do ramo (J, K, L) em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Em 2013, não ocorreu um pico de dormência bem definido. Os maiores valores de TMB observados foram de 29 dias para a porção proximal e 22,6 dias para a porção distal, ambos valores foram registrados ao final de abril (Figura 4 B). No entanto, no início de julho os valores de TMB foram semelhantes aos valores máximos para a porção proximal e distal, sendo 25,2 dias e 21,1 dias, respectivamente. Esses últimos valores foram acompanhados de redução drástica da porcentagem de brotação (Figura 4 E). No entanto, o menor valor de brotação observado foi de 45%, tanto para a porção distal quanto para a porção proximal. Tal valor está muito próximo dos 50% de brotação considerado indicador de que a necessidade de frio foi atendida (CORTES; GRATACOS, 2008, MEASHAM et al., 2014).

O TMB o ano de 2014 apresentou comportamento semelhante ao de 2013, com ausência de pico bem definido, ou seja, apresentando 2 ou mais valores mais altos de TMB (Figura 4 C). O valor máximo de TMB observados na porção proximal foi de 31,5 dias ao final da primeira quinzena de julho. Mas valores semelhantes também foram observados no final de abril e início de junho com valor médio de 31,2 dias (Figura 4 C). Na porção distal o maior valor de TMB, de 31 dias, foi observado na segunda quinzena de abril. Valor semelhante também foi observado no início de julho (29,7 dias). No entanto, diferentemente de 2013, ambos valores de TMB citados foram acompanhados de redução da porcentagem de brotação.

A umidade ponderal apresentou comportamento semelhante ao da 'Eva' em 2012 e 2014, com crescente aumento até próximo do início de brotação em 2012 (Figura 4 J) e incremento em umidade até o primeiro acúmulo de horas frio em 2014, com redução e pouca oscilação a partir de então (Figura 4 L). Já em 2013 o comportamento foi diferente. Neste ano porção proximal apresentou umidade sempre maior que na porção distal, e ambas as porções apresentaram hidratação até meados de julho com posterior redução até o fim das observações (Figura 3 K).

Para a cultivar Fuji, os valores de TMB da porção distal foram sempre menores ou iguais aos valores da porção proximal nos três anos de observação (Figura 5 A, B, C). Em 2012, o valor máximo de TMB ocorreu no início da segunda quinzena de julho, sendo 27 dias e 28,6 dias correspondendo ao TMB da porção distal e proximal, respectivamente (Figura 5 A). Esse comportamento foi semelhante ao apresentado pela cultivar Gala no mesmo ano (Figura 4 A). Em 2012, o acúmulo de frio máximo se deu na última quinzena de julho, após esse período, até o final das coletas, o acúmulo foi pouco representativo (Figura 5 G). Assim, provavelmente ocorreu acúmulo de calor, o que pode

ter levado à redução dos valores de TMB de ambas cultivares a partir de meados de agosto. A porcentagem de brotação se manteve alta tanto na porção proximal (85 a 100%) quanto na porção distal, que variou de 95% a 100% (Figura 5 D). Mais uma vez esse comportamento sugere que as plantas não entraram em endodormência.

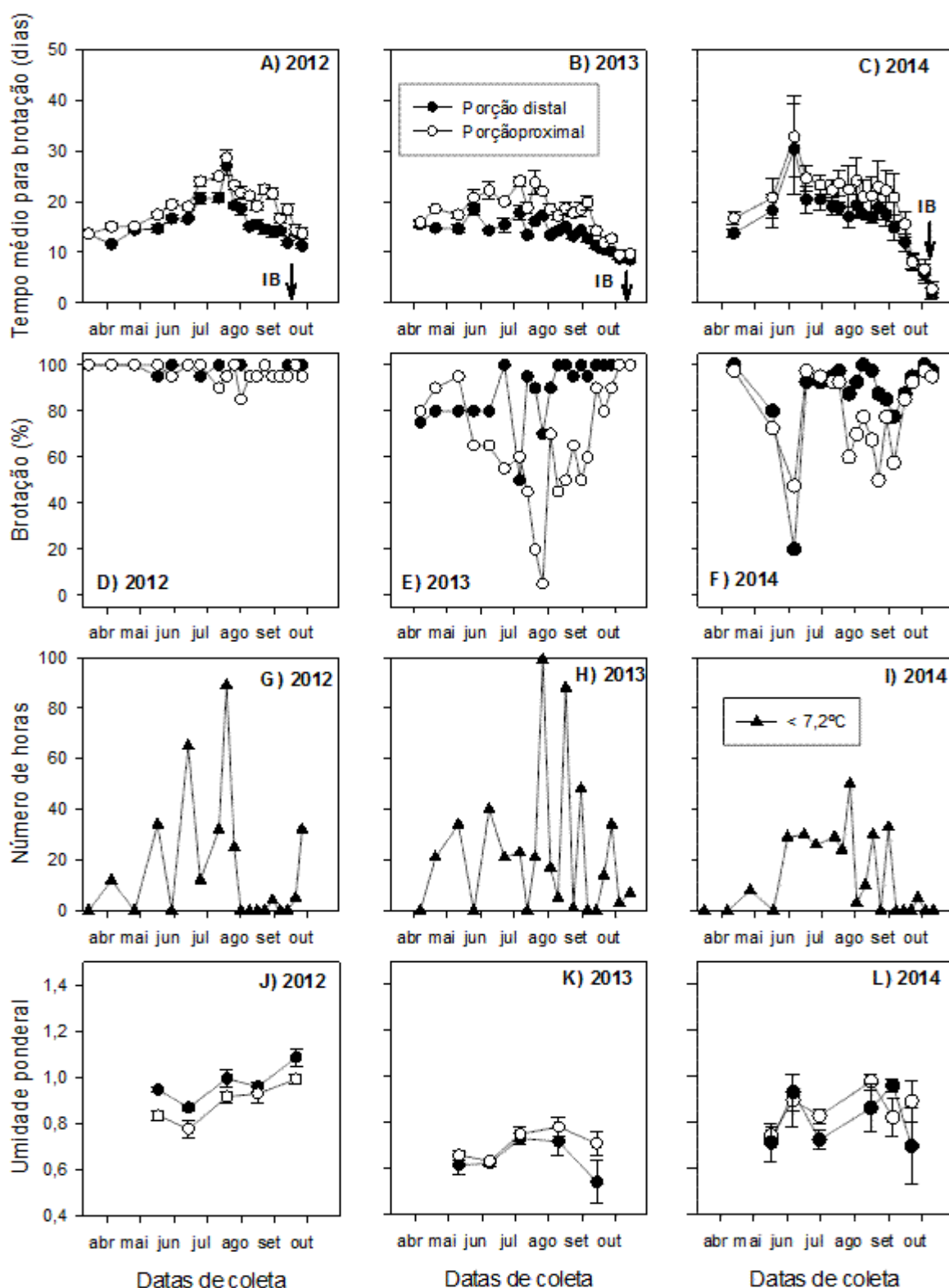


Figura 5: Tempo médio de brotação (A, B, C) e percentagem de brotação (D, E, F) na porção distal e proximal de ramos de macieira Fuji, número de horas abaixo de 7,2°C (G, H, I) e umidade ponderal do ramo (J, K, L) em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Para o ano de 2013 o TMB não apresentou um padrão característico de entrada e saída da dormência, ou seja, um gráfico com pico de valor máximo bem definido acompanhado de redução na porcentagem de brotação. Os valores de TMB sofreram pouca variação durante as coletas, principalmente entre final de abril e início de setembro (Figura 5 B). Mas dentro deste período alguns valores de TMB coincidiram com a redução da porcentagem de brotação como ocorreu no final de julho com TMB de 22 dias e porcentagem de brotação de 5% na porção proximal (Figura 5 B e E). A porcentagem de brotação manteve-se baixa durante a segunda quinzena de julho, entre 5 e 20% para a porção proximal, acompanhadas dos valores mais elevados de TMB, entre 22 e 23,7 dias. Apesar de apresentar maiores porcentagens de brotação no mesmo período, a porção distal apresentou comportamento semelhante, porém a redução na porcentagem de brotação ocorreu no início de julho, chegando a 50% com TMB de 17,8 dias (Figura 5 B e E). Ao final de julho também foi observada nova redução na brotação, chegando a 70%, que ainda assim é considerado um valor alto. O maior acúmulo de horas frio ocorreu no final de julho, coincidindo com a queda na porcentagem de brotação e elevação dos valores de TMB da porção proximal e apical.

Em 2014 a cultivar Fuji apresentou pico de TMB acompanhado de queda drástica da porcentagem de brotação (Figura 5 C e F). Tal fato coincide com o primeiro acúmulo significativo de horas frio neste mesmo ano (Figura 5 I). Este comportamento foi semelhante a cultivar gala em 2014, no entanto a Fuji apresentou apenas um pico de TMB. Embora não tenha ocorrido diferenças significativas entre as porções proximal e distal, os valores absolutos de TMB da porção proximal foram sempre maiores (Figura 5 C). O valor máximos de TMB observados foram de 32,7 dias e 30,4 dias para as porções proximal e distal, respectivamente. Quanto à porcentagem de brotação os menores valores apresentados foram de 20% na porção distal e 47,5% na proximal. Após a redução drástica na porcentagem de brotação de ambas as porções do ramo, a porção distal apresentou acréscimo na brotação e esta permaneceu com média de 92,3% de brotação. A porção proximal também aumentou a porcentagem de brotação até meados de julho, quando apresentou nova redução, permanecendo baixa até início de setembro, com média de 65,7%. Após esse período voltou a aumentar a porcentagem de brotação, a qual se manteve maior que 85% até o final das coletas (Figura 5 F). Essa segunda redução na brotação coincide com a época de novo acúmulo de horas frio.

Neste trabalho foi difícil identificar pontos de entrada e saída da endodormência da plantas pelo teste de TMB. Mesmo em condições de clima temperado,

Herter et al. (1992), em estudo de determinação da dormência de macieiras, observaram que em alguns anos é difícil identificar o ponto de inflexão nos gráficos de TMB, quando torna-se difícil apontar o fim da endodormência.

Em estudo comparando macieiras cultivadas sob condições de clima temperado e de inverno ameno, Malagi et al. (2015) observaram comportamentos diferentes. Enquanto nas regiões de inverno mais rigoroso foi possível distinguir três fases da dormência (para, endo e ecodormência), em regiões de inverno ameno o mesmo não foi observado. De maneira geral os resultados do TMB apresentados neste trabalho corroboram com a hipótese da não ocorrência de endodormência, ou pelo menos endodormência profunda, nas macieiras cultivadas sob condições de inverno ameno.

Desta maneira com a ocorrência de ondas de calor durante o inverno as gemas podem dar início à brotação, principalmente na porção distal. Tal fato contribui para o fenômeno da acrotomia, já observados em macieiras (CRABBÉ, 1987; COOK et al., 1998; COSTES; GUÉDON, 2002). Porém com a brotação desequilibrada entre porção distal e proximal, há maior ocorrência de inibição correlativa, ou seja, favorece a paradorência daquela sobre esta. Essa inibição foi observada também por Hawerroth et al. (2013), em ramos enxertados de duas variedades do grupo Gala.

A umidade ponderal apresentou comportamento semelhante ao da 'Eva' em 2012, com crescente aumento até próximo do início de brotação (Figura 5 J). Já em 2013 houve semelhança com a cultivar Gala, apresentando incremento de umidade até início de julho, decrescendo a partir daí até o fim das avaliações, provavelmente em função do acúmulo de frio registrado nessa época (Figura 5 K). Um ponto importante em 2013 foi que a porção basal apresentou umidade sempre maior ou igual a porção distal. Em 2014, assim como para a 'Eva' e a 'Gala', houve incremento em umidade até o primeiro acúmulo de horas frio, decrescendo na sequência e sofrendo poucas alterações até o final das observações (Figura 5 L).

Em estudo com noqueira, Ameglio e Cruiziat (1992) observaram que o conteúdo de água no lenho é fortemente influenciado pela temperatura. A temperatura afeta o fluxo de açúcar para o xilema, alterando a concentração osmótica (AMEGLIO et al., 2000). Neste trabalho nota-se que com os primeiros acúmulos de frio, havia tendência de alteração da umidade ponderal. Segundo Citadin et al. (2009), em noqueira a umidade ponderal tende a diminuir com o avanço da endodormência, estabilizando até próximo a retomada de crescimento. No entanto, como já vem sendo observado pelo baixo TMB e alta porcentagem de brotação, as plantas não parecem entrar em endodormência em

condições de inverno ameno. Isso explica, em parte, o comportamento da umidade ponderal neste trabalho, que não apresentou um padrão entre os ciclos.

Assim presume-se que em condições de clima subtropical as plantas tendem a um aumento na hidratação ou pelo menos há uma constância na umidade do lenho, até a ocorrência de frio mais intenso. Tal fato pode ser observado, principalmente com a umidade ponderal da Gala e Fuji. Em 2012 apresentaram uma crescente hidratação com pouca oscilação, e em 2013 e 2014 a hidratação foi interrompida com os primeiros acúmulos de frio.

O fato de as três cultivares apresentarem umidade ponderal mais baixa em 2013 do que nos demais anos chamou a atenção. Uma possível explicação para este fato pode ser que a ocorrência de frio entre final de abril e final de junho foi maior e mais constante em 2013 (Figura 2 B). Assim, o frio induziu as plantas a uma maior desidratação nesse ano, e manteve-se baixa pois antes de retomar a hidratação o frio se intensificou no final de julho. Em 2012, embora tenha ocorrido temperatura próxima de zero em maio e junho, a oscilação foi maior, apresentando temperaturas mínimas mais elevadas (Figura 2 A).

Como já mencionado, em 2014 o comportamento da umidade também foi semelhante entre as cultivares. Neste ano, embora tenha ocorrido menor acúmulo de horas frio, tal acúmulo foi mais homogêneo entre meados de maio e a meados de agosto (Figura 2 F). Isso explica, em parte, o comportamento da umidade nesse ano, que foi induzida a redução com os primeiros acúmulos de horas frio e manteve-se com menor oscilação até o final das observações, principalmente a 'Gala' e a 'Eva'.

O Teste de Tabuenca (TABUENCA, 1964), como mencionado anteriormente, tem a finalidade de indicar a saída da endodormência monitorando desenvolvimento dos primórdios florais e conteúdo de água. Alguns trabalhos foram desenvolvidos utilizando este teste biológico (BONHOMME et al., 1997, LEITE et al., 2006, MALAGI et al., 2015).

No teste de Tabuenca a 'Eva' foi a cultivar que apresentou aumento mais precoce de matéria fresca e matéria seca em todos os anos de observação (Figura 6 A, B e C). Tal fato vem a corroborar com sua característica de precocidade, atributo já conhecida desta cultivar (HAUAGGE; TSUNETTA, 1999). No entanto, entre os anos avaliados, 2013 foi o ano que a cultivar apresentou maior precocidade, com ganho de matéria fresca e seca dos primórdios em 8 de junho, praticamente um mês antes dos demais anos (Figura 5 B). Tal acontecimento pode ser explicado, em partes, pelo maior

acúmulo de frio ocorrido até junho, de 226 horas abaixo de 7,2°, comparado 2012 e 2014 com 116 horas e 53 horas, respectivamente. Assim as plantas permaneceram em dormência superficial e se apresentaram aptas à reidratação e acúmulo de matéria seca com a elevação da temperatura entre final de maio e meados de junho de 2013. Nos demais anos este ganho em matéria fresca e seca foi observado nos dias 12 de julho e 17 de julho, em 2012 e 2014, respectivamente.

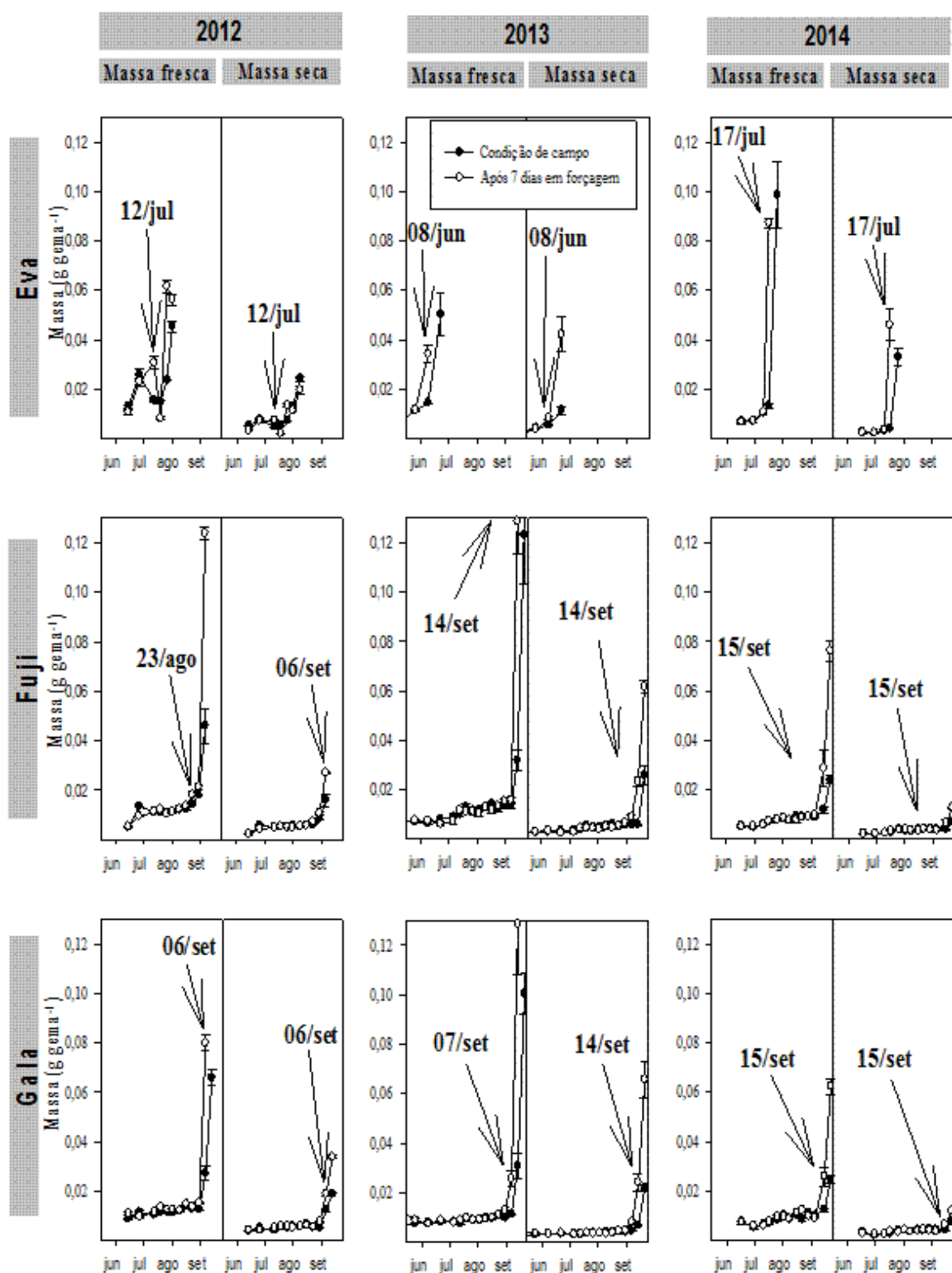


Figura 6: matéria fresca e matéria seca de gemas florais (sem escamas), durante o período de dormência nos anos de 2012, 2013 e 2014, das cultivares de macieira: Eva, Gala e Fuji, nas condições de campo e após forçagem por 7 dias à 25°C (Teste de Tabuena, 1964). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($\alpha=0,05$ e $n=5$). As setas representam as datas do início de floração observada no pomar em Palmas-PR. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Com relação a 'Gala' e 'Fuji', ambas cultivares apresentaram comportamento semelhante durante os três ciclos de dormência observados (Figura 6). Durante o ciclo de 2012, o aumento significativo de matéria fresca ocorreu em 23 de agosto para 'Fuji', enquanto para 'Gala' ocorreu mais tarde em 6 de setembro. Já no segundo ciclo, observou-se o inverso, enquanto para a 'Gala' a mudança de matéria fresca ocorreu em 7 de setembro, para a 'Fuji' ocorreu uma semana mais tarde em 14 de setembro. Em 2014, o incremento em matéria fresca observado ocorreu em 15 de setembro para ambas cultivares. Quanto à matéria seca o aumento ocorreu na mesma data para as duas cultivares nos três ciclos, sendo observados em 06/09/2012, 14/09/2013 e 15/09/2014. Em 2012 o acúmulo de frio ocorreu mais cedo, fato que pode ter contribuído com o incremento antecipado de matéria fresca e matéria seca neste ano, quando comparado com 2013 e 2014.

Para todas as cultivares, em todos os ciclos o incremento, tanto em matéria fresca como em matéria seca, ocorreu primeiramente nos primórdios submetidos às condições de forçagem e em seguida, com um intervalo de tempo de uma semana, o incremento também era observado nos primórdio em condições de campo. Bonhomme et al. (1997) e Leite et al. (2006) também observaram incrementos em matéria fresca, após saída da endodormência, de gemas de pessegueiro submetidos à forçagem em comparação às gemas que não passaram pela forçagem.

No entanto, este intervalo de tempo curto observado entre as diferentes condições, de forçagem e de campo, mostra que em regiões de inverno ameno, quando as gemas estão aptas a retomar o crescimento, ou seja, já superaram o estado de endodormência, a reidratação e o acúmulo de peso seco logo ocorre. Já em regiões de inverno mais rigoroso este intervalo, entre os incrementos em peso dos primórdios submetidos à forçagem e às condições de campo, é maior. Nessas regiões, mesmo tendo superado a endodormência, a condição do ambiente ainda não é favorável para a brotação (MALAGI et al, 2015). Portanto em regiões de clima subtropical o período de ecodormência é menor, ocorrendo brotações mais precoces quando comparadas com regiões de clima temperado.

A maioria dos modelos fenológicos levam em consideração que as espécies de clima temperado necessitam de um período de frio seguido de calor para retomarem o desenvolvimento normal (MALAGI, 2014). No entanto, neste trabalho é possível observar que esses modelos sequencias não se aplicam à macieira cultivada em regiões de inverno ameno, pois nestas regiões a oscilação da temperatura possibilita a ocorrência de

ondas de calor durante o inverno. Assim frio e calor ocorrem simultânea e alternadamente durante o período de dormência, afetando a dinâmica da dormência. Ainda segundo Malagi (2014), quando não há baixo acúmulo de frio durante o inverno, o calor tem papel fundamental nos processos biológicos, e a brotação pode ocorrer. Nessa linha de pensamento está o modelo paralelo (LANDSBERG, 1974, HANNINEN, 1990, KRAMER, 1994), que considera o efeito simultâneo do frio e do calor no período de endodormência das plantas. Modelos alternados ou flexíveis, conforme propõe Chuine (2000) ou Fu et al., (2012), necessitam também serem construídos e validados nas condições subtropicais, uma vez que combinam conceitos tanto dos modelos sequenciais quanto dos modelos paralelos.

Quanto ao teor de proteína e atividade da alfa-amilase, a cultivar Eva apresentou, quase sempre, maiores teores e maior atividade na porção distal dos ramos (Figura 7). Tal fato não ocorreu apenas no ano de 2013, quando o teor de proteína da porção distal e proximal praticamente não diferiram entre si durante o período de coletas (Figura 7 B). No entanto o ano de 2013 foi o ano que apresentou maiores valores para proteínas totais e atividade da alfa-amilase. Este fato pode estar associado com ao maior acúmulo de frio neste ano, que induz a planta a ativar enzimas para hidrolisar amido para aumentar a concentração de açúcar, afim de evitar embolia (AMEGLIO et al., 2000; AMEGLIO et al., 2001). Nos ciclos de 2012 e 2014 o padrão de comportamento da cultivar Eva foi semelhante, com aumento do teor de proteínas durante o inverno e forte tendência a redução próximo ao início de brotação (Figura 7 A, C). Com relação à atividade da alfa-amilase o padrão foi o mesmo nos três anos, apresentando atividade constante durante as coletas, com ligeira tendência de redução próximo ao estágio de início de brotação (Figura 7 D, E, F).

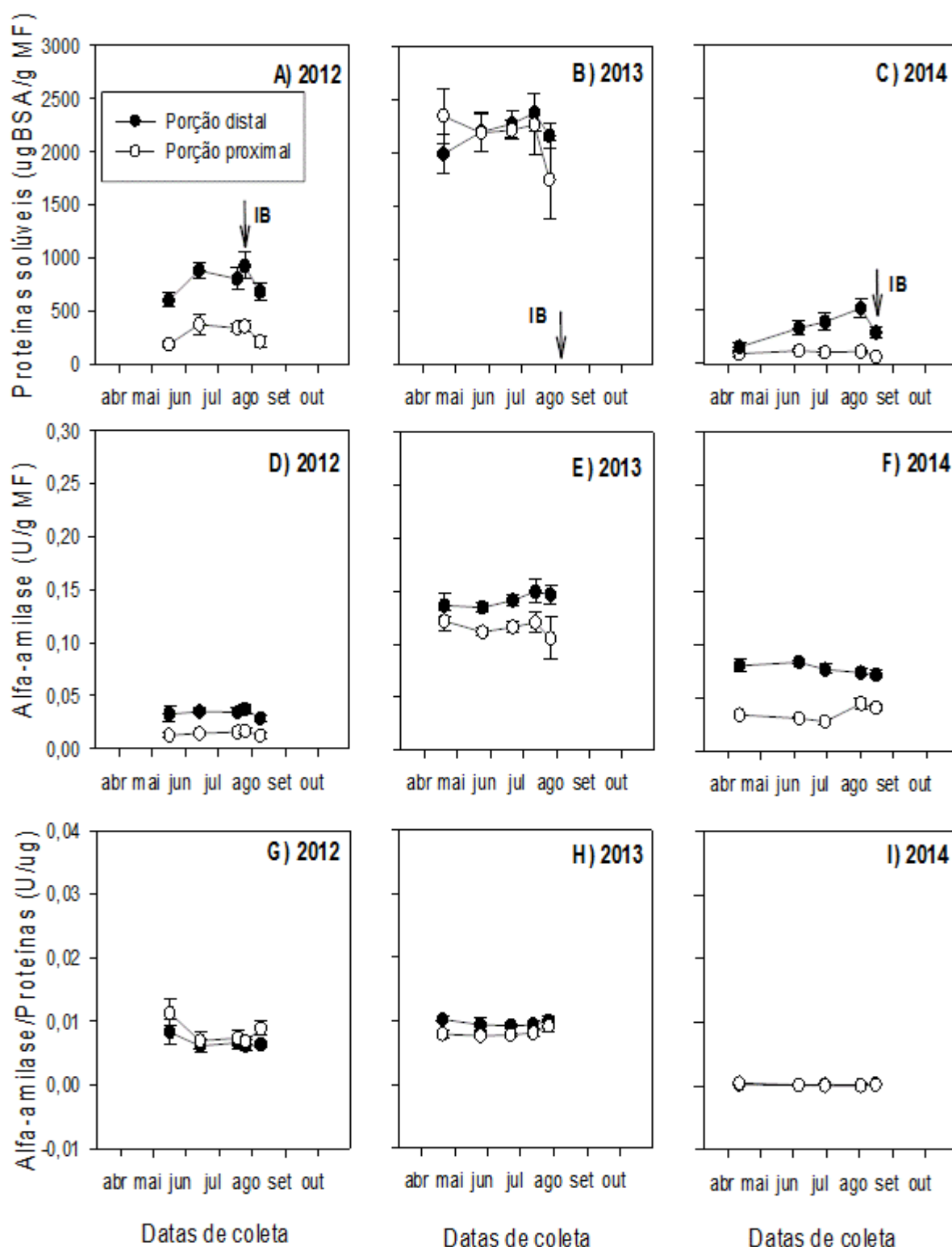


Figura 7: Concentração de proteínas solúveis (A, B, C), atividade da alfa-amilase (D, E, F) e relação alfa-amilase/proteínas (G, H, I) na porção distal e proximal de ramos de macieira Eva em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas - PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

A relação alfa amilase/proteínas manteve-se constante durante, praticamente todo período de avaliação. Isso indica que a proteína mensurada corresponde à enzima alfa amilase.

A 'Gala' também apresentou tendência de maiores valores de proteínas totais na porção distal dos ramos coletados, em todos os anos de avaliação (Figura 8 A, B, C). Quanto a atividade da alfa-amilase também foi observado maiores teores na porção distal para os anos de 2013 e 2014, sendo mais evidente em 2013 (Figura 8 D, E, F). Assim como na cultivar Eva, o teor de proteínas totais e atividade da alfa-amilase também foi maior durante o inverno com tendência de redução próximo ao início de brotação. Porém em 2013, na porção distal, o padrão foi diferente. Provavelmente este fato foi observado pois a última coleta avaliada ocorreu em meados de setembro, e naquele ano o início de brotação ocorreu no dia 10/10/2013. Portanto se fosse realizada uma análise mais próxima do início de brotação, o teor de proteína e atividade de alfa amilase na porção distal apresentariam, também, tendência de redução.

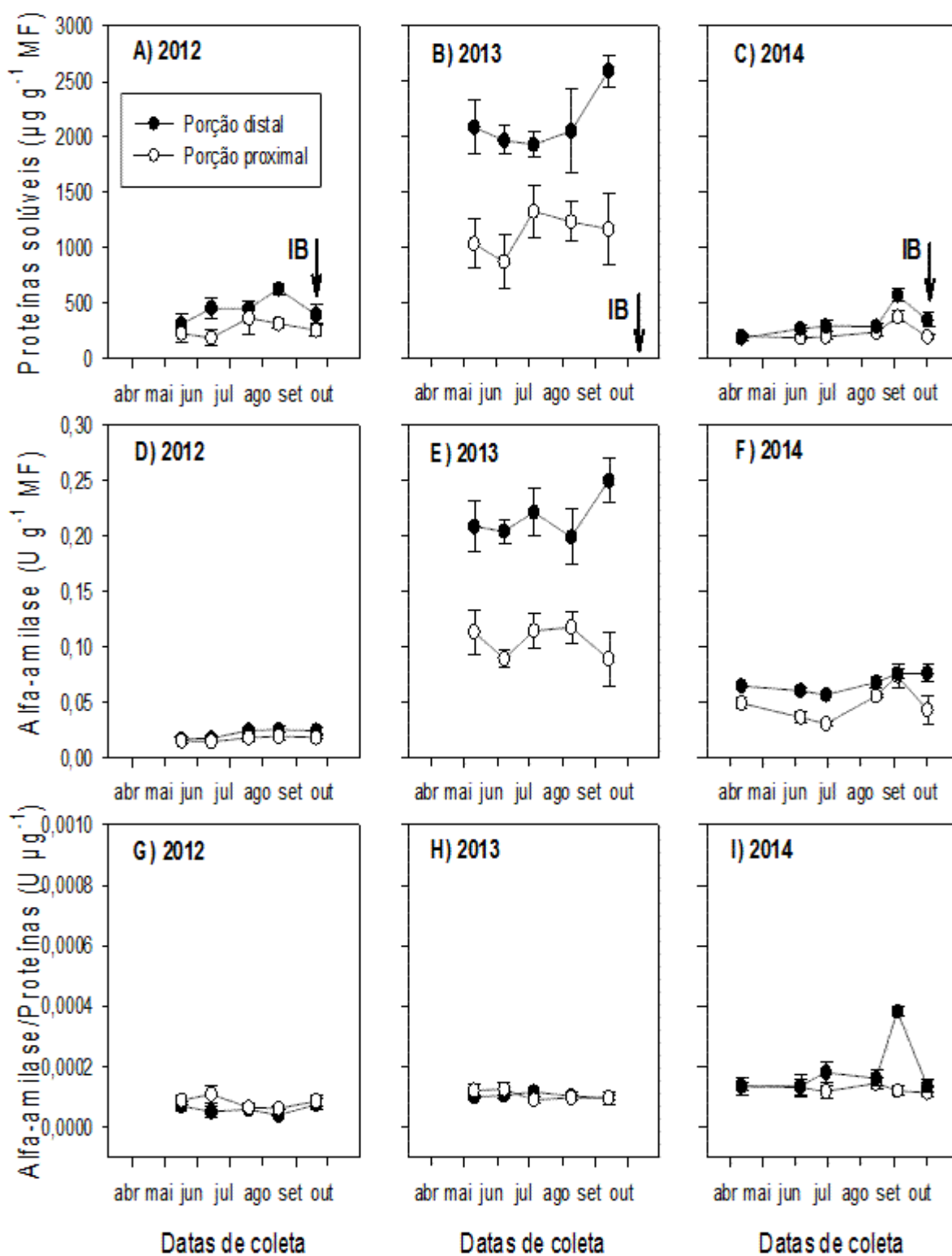


Figura 8: Concentração de proteínas solúveis (A, B, C), atividade da alfa-amilase (D, E, F), relação alfa-amilase/proteínas (G, H, I) e conteúdo de amido (J, K, L) na porção distal e proximal de ramos de macieira Gala em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas - PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Nota-se também que em 2013 o acúmulo de frio foi mais intenso a partir do

final de julho, início de agosto, coincidindo com o aumento de proteína e atividade enzimática. Com o frio tardio ocorrido em 2013 a brotação da Gala e da Fuji atrasou cerca de 20 dias, quando comparada ao ano de 2012, e 7 dias quando comparada à 2014.

Quanto a cultivar Fuji, o padrão foi parecido com as demais cultivares, com maiores valores de proteínas e atividade da alfa-amilase sendo observados na porção distal dos ramos, principalmente nos dois primeiros ciclos (Figura 9). Em 2014 essa diferença não apresentou valores significativos. Em 2012 o maior valor do teor de proteínas totais foi observado em agosto, em seguida houve forte tendência de redução já próximo ao início de brotação (Figura 9 A, B).

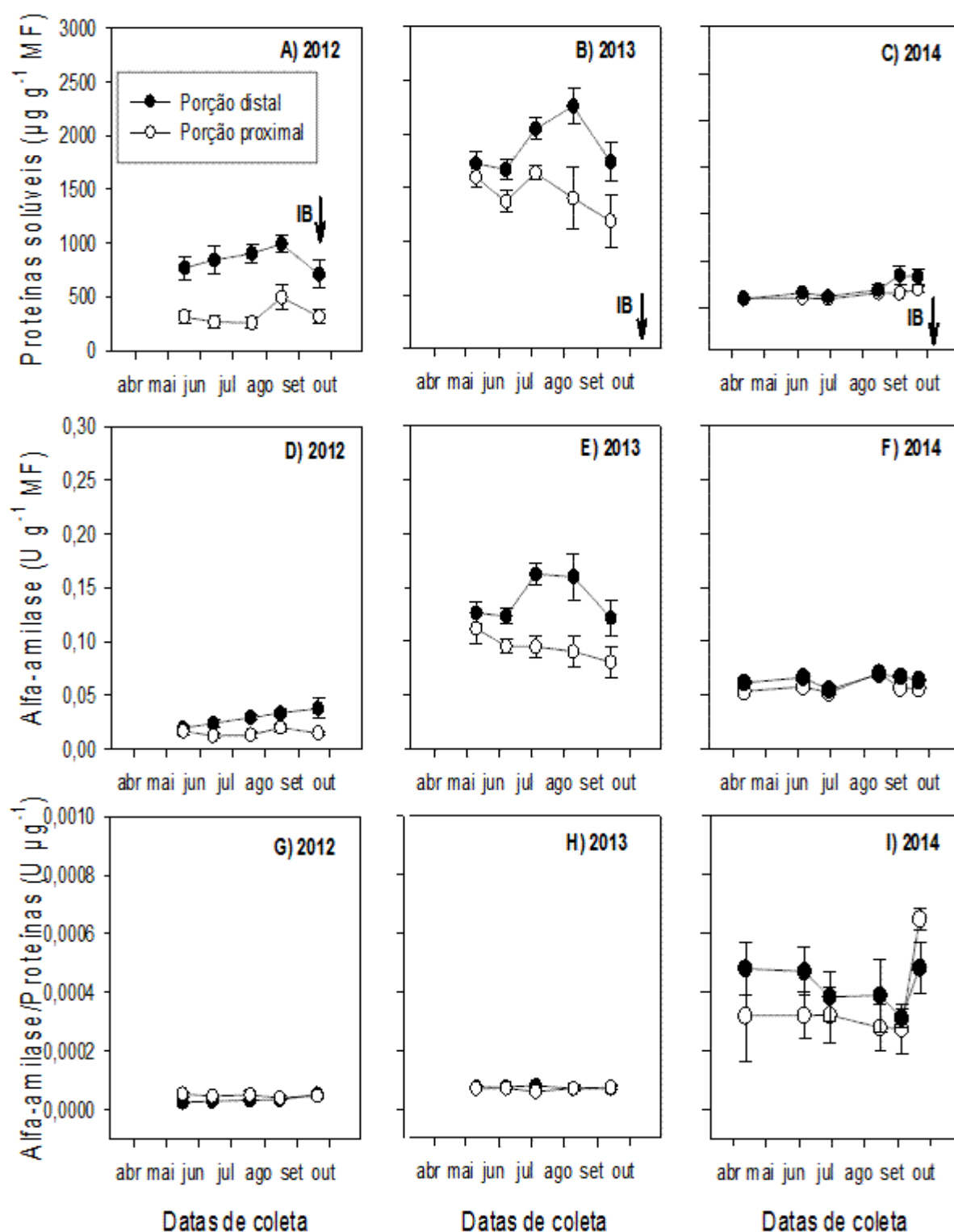


Figura 9: Concentração de proteínas solúveis (A, B, C), atividade da alfa-amilase (D, E, F) e relação alfa-amilase/proteínas (G, H, I) nas porções distal e proximal de ramos de macieira Fuji em coletas realizadas nos anos de 2012, 2013 e 2014 em Palmas - PR. Barras verticais representam o erro padronizado ($n=5$). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Em 2013, ano que apresentou maiores valores de proteínas e atividade enzimática, o aumento nos valores destas variáveis iniciou-se a partir de junho na porção distal, atingindo o maior valor absoluto em agosto, também seguido de tendência de redução. Tal comportamento vem de encontro com a alta intensidade de frio que ocorreu em julho de 2013. O frio ocorrido nesta época, bastante intenso, parece ter exercido maior influência na atividade enzimática e o teor de proteínas quando comparados com 2012 e 2014. É provável que esse fator tenha desencadeado uma maior hidrólise do amido a fim de impedir a embolia. Como em 2013 ocorreu maior acúmulo de frio entre julho e setembro, os níveis de proteínas e alfa-amilase mantiveram-se altos. Tanto para 'Gala' quanto para a 'Fuji'.

Já na porção proximal da cultivar Fuji, para proteínas totais houve aumento entre junho e julho, seguida de redução. Por outro lado, não houve aumento de atividade da alfa-amilase, e em termos de valores absolutos nota-se uma ligeira redução de junho até próximo ao estágio de início de brotação (Figura 9 B).

Em 2012 e 2014 a atividade da alfa-amilase foi basicamente constante tanto na porção distal como proximal, com leve tendência de incremento na porção distal entre junho e setembro no ano de 2012. Em estudo com gemas florais de peras, Tamura et al. (1998) observou que gemas mantidas à temperatura constante em torno de 20°C não alteraram o teor de proteínas.

Carvalho et al. (2006) estudando as variações de proteínas em gemas e ramos de macieira em condições de inverno ameno, sugerem que a temperatura influencia fortemente o conteúdo de proteínas nos ramos. Estes mesmos autores observaram que houve aumento de proteína nos ramos (adjacentes às gemas) no período de dormência mais intensa. Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com tais observações uma vez que, a maior intensidade de frio e a menor porcentagem de brotação no TMB indicam maior intensidade de dormência, e coincidem com o aumento de proteína e alfa-amilase em 2013.

Quanto à análise dos carboidratos no lenho de macieiras observou-se que os valores de conteúdo de carboidratos, em sua maioria, foram superiores nos ramos da porção distal para todas as cultivares e em todos os ciclos de dormência (Figura 10, Figura 11, Figura 12). Bonhomme et al. (2010), avaliando a absorção de carboidratos em noqueira, também observaram valores próximo de açúcares entre ambas porções do ramo, e sugerem que a disponibilidade de açúcares não é fator limitante de brotação das gemas nas duas porções.

O padrão de comportamento da glicose e frutose foram bastante semelhantes em cada cultivar e em cada ano de observação. No ano de 2012 todas as três cultivares apresentaram pequenas variações nos teores de glicose e frutose com tendência de aumento próximo ao estágio de início de brotação, quando apresentaram os maiores valores (Figura 10 A, B, C, D, E, F). Nessa fase a 'Fuji' apresentou maior teor desses açúcares na porção proximal. A 'Gala', diferentemente das demais, apresentou maiores valores absolutos de frutose na porção proximal durante todas as coletas de 2012 (Figura 10 E).

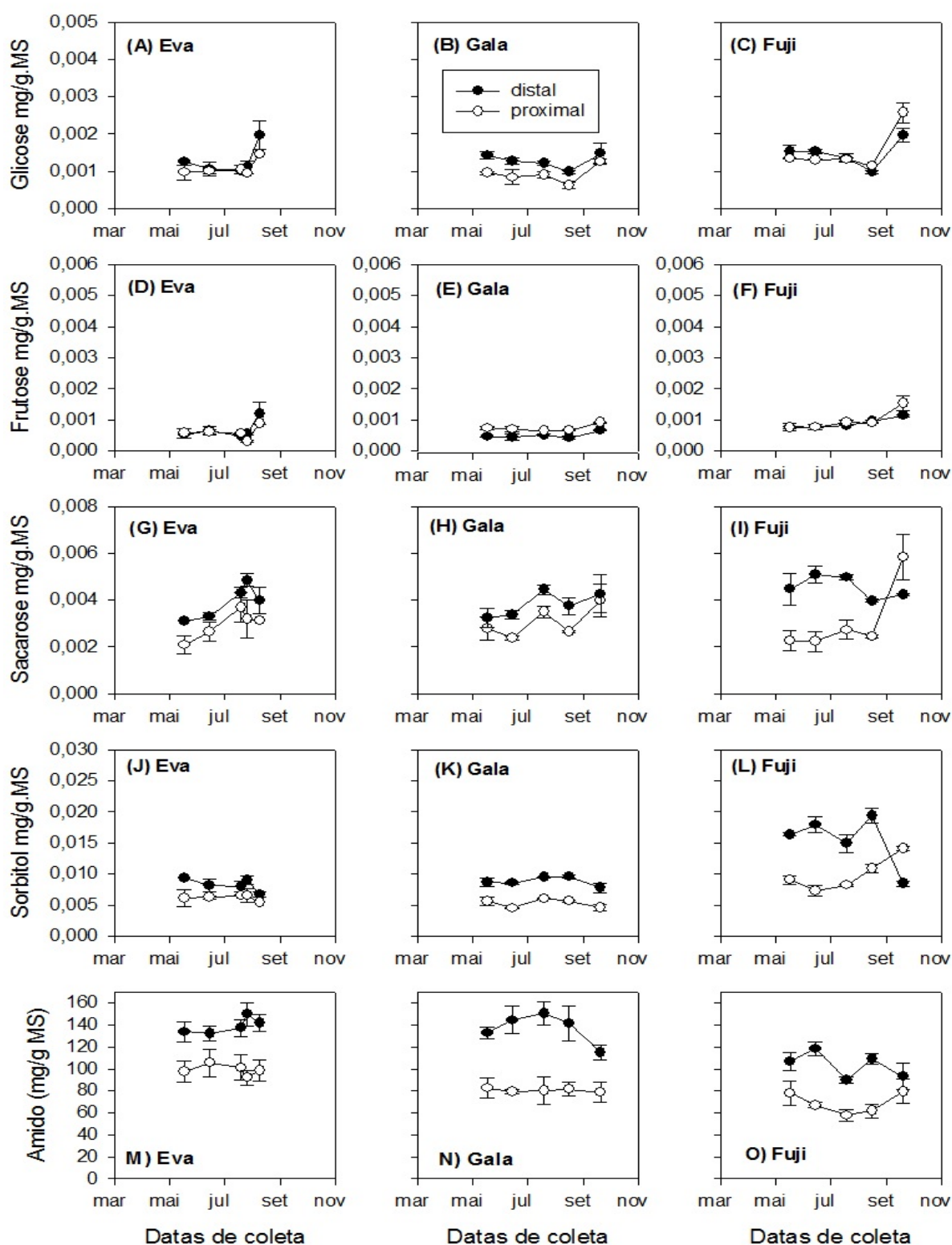


Figura 10: Conteúdo de glicose (A, B, C), frutose (D, E, F), sacarose (G, H, I), sorbitol (J, K, L), extraídos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, e amido (M, N, O) de ramos de macieira das cultivares Eva (A, D, G, J, M), Gala (B, E, H, K, N) e Fuji (C, F, I, L, O) coletados no ano de 2012 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Os teores de sacarose foram, de maneira geral, maiores que os teores de glicose e frutose. A cultivar Eva apresentou incrementos crescentes de meados de abril até final de julho, na porção distal, e até meados de julho na porção proximal (Figura 10 G). A partir de então foi observado uma tendência de redução destes teores em ambas as porções. O teor de sacarose na porção distal foi sempre maior ou igual ao observado na porção proximal. Na 'Gala' houve grande variação no teor de sacarose ao longo do ciclo de 2012, o teor na porção distal também foi sempre maior ou igual ao da proximal (Figura 10 H). O maior teor de sacarose observado ocorreu em meados de julho, seguido de redução significativa. Próximo à fase de início de brotação observou-se nova tendência de aumento no teor de sacarose em ambas as porções do ramo. Tal fato pode estar relacionado com a importação deste açúcar de zonas mais distantes do ápice dos ramos. Na cultivar Fuji a diferença entre a porção distal e proximal foi a maior entre as três cultivares (Figura 10 I). Apesar de observados maiores teores durante quase todo o ciclo, na porção distal não houve tendência de incremento próximo ao início de brotação. Além disto o teor da porção proximal nesta fase foi maior. Esta porção apresentou relativa constância durante o ciclo com forte incremento ao final das observações, já próximo ao início de brotação.

O sorbitol foi o açúcar (açúcar álcool) mais abundante nas três cultivares em 2012, chegando a apresentar teores até doze vezes maiores que glicose e frutose, como observado na 'Fuji' (Figura 9 10). O padrão de comportamento do sorbitol nas cultivares Eva e Gala foram semelhantes em 2012, porém a diferença entre as porções distal e proximal foi mais expressiva na 'Gala', na qual a porção distal apresentou sempre teores superiores (Figura 10 J, K). Essas duas cultivares apresentaram ligeira tendência de redução do teor de sorbitol na fase final do ciclo, próximo ao estágio de início de brotação. Já a cultivar Fuji apresentou comportamento distinto uma vez que, na porção proximal foi observado incrementos de sorbitol a partir de meados de junho e na porção distal houve oscilação no teor durante o ciclo com forte redução a partir de meados de agosto até o final das observações (Figura 10 L). Alguns trabalhos evidenciam que o sorbitol tem valores máximos no início do inverno apresentando forte redução já próximo do início de brotação em pessegueiro (MAUREL et al., 2014) e macieira (WILLIAMS; RAESE, 1974; CUTTING et al., 1991).

Quanto ao teor de amido as três cultivares apresentaram comportamentos distintos em 2012, embora o teor de amido na porção distal tenha sido sempre maior para todas as cultivares. A cultivar Eva exibiu maiores teores de amido ao final de junho, na

porção proximal e no final de julho na porção distal (Figura 10 M). Já na fase de início de brotação o teor de amido tende a reduzir, provavelmente para a formação de sacarose e em seguida de glicose e frutose para a retomada do crescimento. Na 'Gala' o teor de amido na base foi mais constante do que na porção distal, que apresentou uma tendência de aumento do teor até final de julho (Figura 10 N). Nesse mesmo período os valores de TMB também estavam altos (Figura 4 A). A partir daí o teor de amido na porção distal diminuiu até próximo ao estágio de início de brotação. Nessa fase o teor de sacarose aumentou, o que indica que pode ter ocorrido mobilização de amido para produção do açúcar. A cultivar Fuji apresentou grande oscilação no teor de amido na porção distal, apresentando menores valores em meados de julho e meados de setembro, próximo ao início de brotação (Figura 10 O). Na porção proximal houve tendência de redução do teor até meados de julho e incremento a partir daí até próximo ao estágio de início de brotação.

No ano de 2012 as cultivares Gala e Fuji apresentaram, na porção distal, redução no teor de amido acompanhado de incremento nos valores de sacarose próximo ao início de brotação, sugerindo que existe uma relação entre a dinâmica desses carboidratos e o processo de brotação. Tal fato pode explicar, em partes porque ocorre predominância de brotação no ápice dos ramos no campo. Na 'Eva' também houve redução em termos de valores brutos, no entanto esta cultivar pode ter sofrido maiores efeitos do frio no final de julho e início de agosto.

Em 2013, os teores de carboidratos foram predominantemente mais elevados na porção distal dos ramos, principalmente próximo ao início de brotação. Para a cultivar Eva, o padrão de comportamento dos açúcares glicose, frutose e sorbitol foi bastante semelhante ao ocorrido em 2012, no entanto os incrementos em glicose e frutose e a redução do sorbitol, próximo ao estágio de início de brotação, ocorreram com aproximadamente 13 dias de antecipação (Figura 11 A, D, J). Tal fato pode estar associado à deficiência de frio, ou frio tardio que ocorreu a partir de agosto desse ano. O teor de sacarose exibiu tendência de aumento até final de junho, mais expressivo na porção proximal, seguida de redução (Figura 11 G). Já próximo ao início de brotação houve incremento significativo de sacarose na porção proximal dos ramos, ao passo que na porção distal esse aumento mais sutil. O conteúdo de amido na 'Eva' apresentou ligeira tendência de aumento com o avanço da dormência, exibindo posteriormente, já próximo ao estágio de início de brotação, forte redução, tanto em ambas porções do ramos (Figura 11 M). Neste ano foi possível verificar a concomitância entre redução de

amido e incremento em sacarose na cultivar Eva.

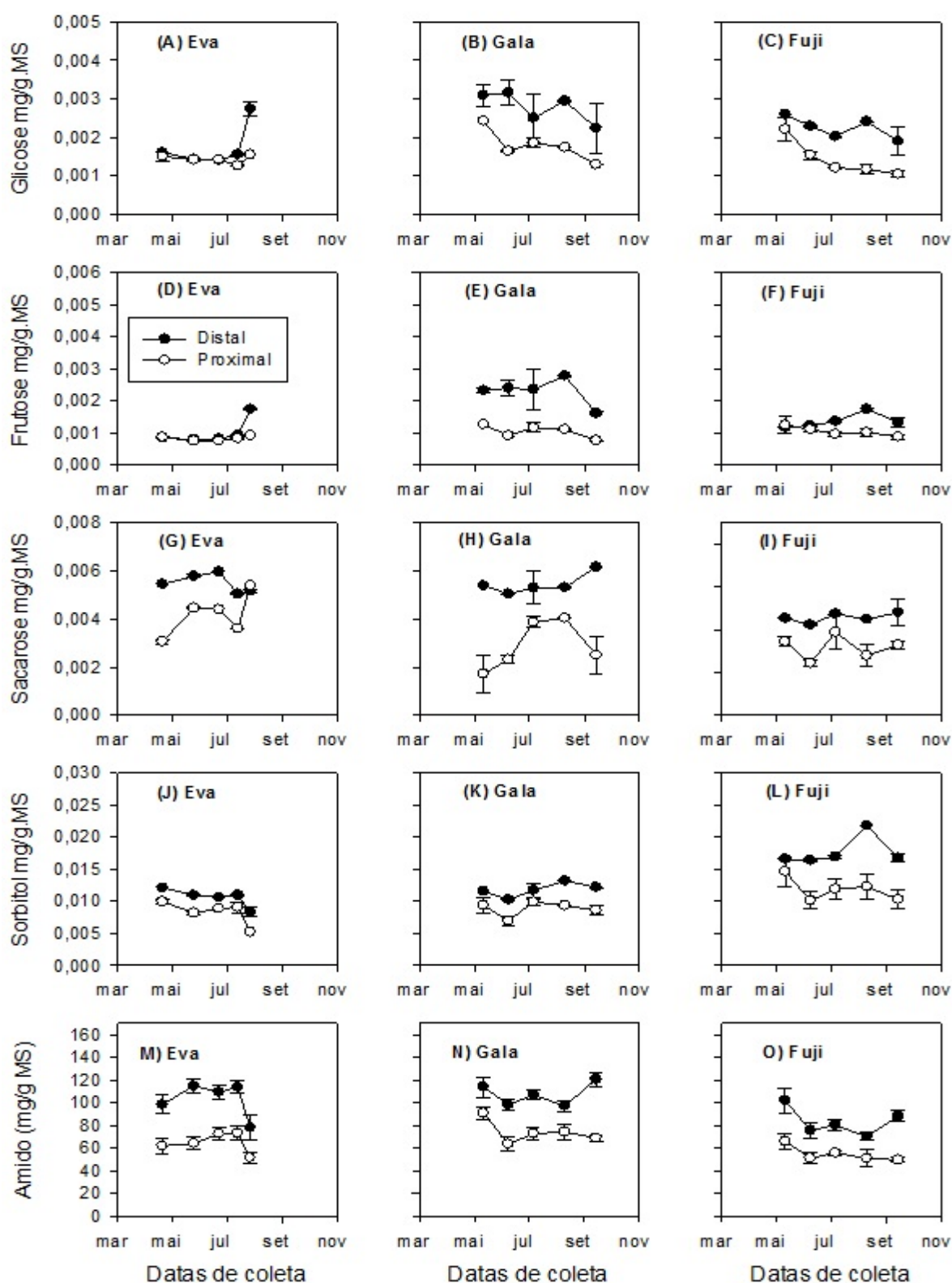


Figura 11: Conteúdo de glicose (A, B, C), frutose (D, E, F), sacarose (G, H, I) e sorbitol (J, K, L), extraídos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de ramos de macieira das cultivares Eva (A, D, G, J), Gala (B, E, H, K) e Fuji (C, F, I, L) coletados no ano de 2013 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

As cultivares Gala e Fuji apresentaram comportamento semelhantes quanto aos teores de glicose, frutose e amido. Ambas cultivares apresentaram tendência de redução do teor de glicose ao longo das coletas (Figura 11 B, C, E, F). O teor de frutose seguiu basicamente o mesmo comportamento da glicose, no entanto na 'Fuji' esse teor exibiu menores mudanças, principalmente até o início de julho (Figura 11 F). Quanto ao teor de sacarose na porção distal da 'Gala' observou-se ligeira redução inicial seguida de constância, durante quase todo ciclo, e incremento próximo ao início de brotação (Figura 11 H). Já na porção proximal o padrão de comportamento foi distinto, com incremento nas fases iniciais seguida por redução nas fases finais. A 'Fuji' manteve padrão próximo à 'Gala', para a porção distal, porém na porção proximal o comportamento foi distinto, com grandes oscilações durante o ciclo. O teor de sorbitol também foi muito maior que os demais açúcares em todas as cultivares. Observou-se que tanto a cultivar Gala quanto a Fuji apresentaram dinâmicas semelhantes do sorbitol, com leve redução inicial na porção proximal, seguida de constância até o final das coletas (Figura 11 K, L). A maior diferença entre essas cultivares foi que a 'Fuji' apresentou pico no teor de sorbitol em meados de agosto, seguida de redução.

Semelhança entre essas duas cultivares também foi notada no comportamento do teor de amido (Figura 11 N, O). Ambas cultivares exibiram redução no teor de amido até início de junho e se mantiveram, relativamente, constantes até início de agosto, nas porções distal e proximal. Já próximo ao início de brotação houve incremento na porção distal em ambas cultivares, enquanto a porção proximal continuou estável. Após o acúmulo intenso de frio entre final de julho e agosto de 2013, as ondas de calor, em meados de setembro, provavelmente provocaram a ressíntese de amido, o qual apresentou incremento em setembro. Bonhomme et al. (2010) também observou a ressíntese de amido após a endodormência de nozeiras cultivadas em clima temperado.

Em 2014, apesar de os teores de carboidratos da porção distal serem mais uma vez, maiores do que os teores da porção proximal, essas diferenças foram menores quando comparados a 2012 e 2013. No entanto, a exemplo dos demais anos o padrão de comportamento da glicose e frutose foram semelhantes dentro de cada cultivar e semelhante entre "Gala" e "Fuji" (Figura 12 A, B,C,D,E,F). A cultivar Eva apresentou tendência de aumento no teor desses açúcares próximo ao estágio de início de brotação, indicando a mobilização destes para a retomada de crescimento. Por outro lado, nas cultivares Gala e Fuji o teor de glicose e frutose reduziu a partir de final de agosto,

mantendo-se baixo até o final das observações. Quanto à sacarose, em todas as cultivares foi observado um grande incremento até final de junho (Figura 12 G, H, I). A partir de julho houve redução nesse teor, sendo mais forte na 'Eva', seguida da 'Gala' e mais branda na 'Fuji'. Nesta última cultivar a redução foi mais expressiva na porção proximal e mais ao final do ciclo.

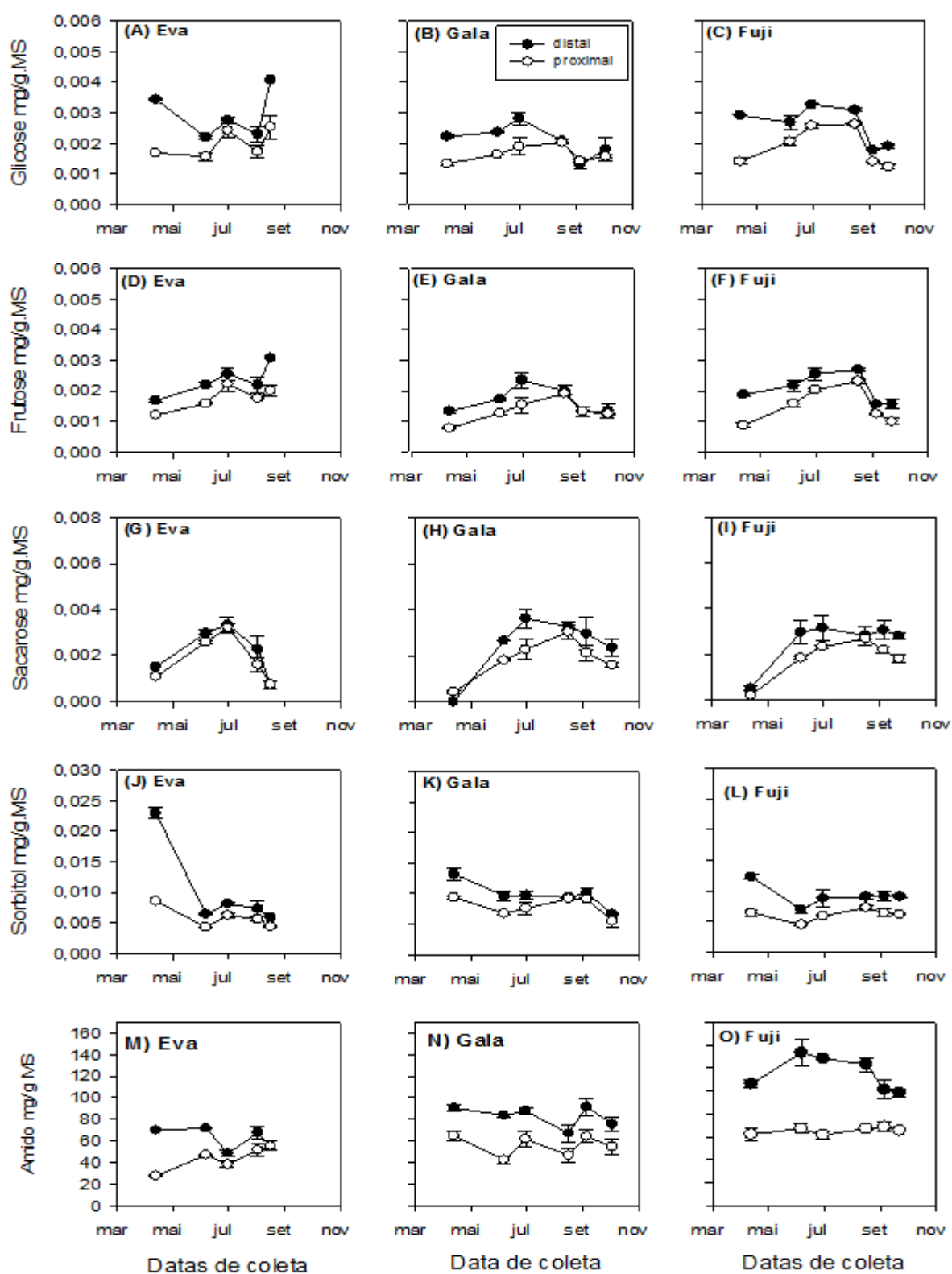


Figura 12: Conteúdo de glicose (A, B, C), frutose (D, E, F), sacarose (G, H, I) e sorbitol (J, K, L), extraídos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de ramos de macieira das cultivares Eva (A, D, G, J), Gala (B, E, H, K) e Fuji (C, F, I, L) coletados no ano de 2014 em Palmas-PR. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). IB indica início de brotação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Quanto ao sorbitol, a cultivar Eva apresentou forte redução até início de junho, com pouca alteração até o final das observações (Figura 12 J). A 'Gala' e 'Fuji', novamente, expressaram comportamento semelhante com ligeira redução inicial, seguida de relativa constância (Figura 12 K, L). Porém na 'Gala' observou-se nova redução a partir do início de setembro. A cultivar Eva e Gala exibiram comportamento semelhante quanto ao teor de amido com pequenas oscilações durante o ciclo (Figura 12 M, N). Tal redução corresponde ao mesmo período em que foi observado incremento em sacarose, fortalecendo a relação de degradação de amido e produção de sacarose. Todavia, na cultivar Fuji notou-se incremento de amido até início de junho e redução nítida a partir de meados de agosto, na porção distal (Figura 12 O). Na porção proximal o conteúdo de amido não sofreu grandes alterações durante o ciclo de 2014.

De maneira geral os teores de sorbitol observados durante os três ciclos apresentaram comportamento semelhante entre as cultivares, com os maiores teores apresentados, majoritariamente, na porção distal. Em todo os anos houve pouca oscilação no conteúdo de sorbitol nos ramos durante o período estudado, apresentando ligeira tendência de redução nas ultimas datas de coleta. O sorbitol é o carboidrato mais abundante no xilema de macieiras (WILLIAMS et al., 1967), pereiras (HERTER et al., 2001) e pessegueiro (MARQUAT et al., 1999), e seu conteúdo é influenciado pela temperatura (WILLIAMS; RAESE, 1974). No entanto, neste trabalho o sorbitol sofreu pouca oscilação e não parece ter sido fortemente influenciado pela temperatura. Esse comportamento pode ser reflexo da não entrada em endodormência das plantas nesta condição. Apesar disso, houve uma ligeira tendência de redução do sorbitol próximo a fase de início de brotação. Tal fato foi acompanhado pela tendência de ligeira redução, também, de amido. Assim esses carboidratos poderiam estar sendo metabolizados para fornecimento de frutose e glicose para serem utilizadas na retomada de crescimento.

Marquat et al. (1998) sugerem que o amido e sorbitol possam ser hidrolisados durante a dormência para a síntese de sacarose. No entanto, não houve aumento da sacarose próximo do início de brotação em 2012 e 2014. Em 2013 houve um pequeno aumento ao final das coletas para todas as cultivares. Maurel et al., (2004) estudando o comportamento de carboidratos em pessegueiros sob condição de privação de frio (em estufas), observaram que o teor de sacarose no xilema permanecia baixo, apresentando menor concentração que a glicose e a frutose durante todo o período. Esse comportamento não foi observado neste trabalho. O teor de sacarose foi sempre maior que o da glicose e frutose. Este pode ser uma evidência de que há uma discrepância

entre plantas em experimentos de privação de frio artificial e plantas conduzidas em regiões de ocorrência de frio deficiente.

Em contraste com os resultados encontrados, alguns experimentos com macieira (CUTTING et al. 1991) e com outras frutíferas de clima temperado (MAUREL et al. 2004, ITO et al. 2012) mostram uma variação no conteúdo de sorbitol no xilema, obtendo máximos e mínimos teores no início e ao final do inverno, respectivamente. Ito et al. (2012) sugerem ainda, que o sorbitol tem efeito inibitório da brotação de gemas florais de pereiras japonesas. Assim, esses autores mostram que em gemas o sorbitol permanece alto durante o período de dormência e diminui drasticamente próximo à brotação.

A relação entre degradação de amido e formação de sacarose envolvida na aclimatação das plantas ao frio (SAUTER, 1988) não ficou evidente no presente trabalho. Também em concordância com os resultados obtidos, outros trabalhos também observaram que o comportamento da glicose e da frutose foram bastante semelhantes entre si em ramos de pereiras japonesas (ITO et al., 2012) e em videiras (BEN MOHAMED et al., 2010).

Bonhomme et al. (2010), avaliando a absorção de carboidratos em noqueira, também observaram valores próximo de açúcares entre ambas porções do ramo, e sugerem que a disponibilidade de açúcares não é fator limitante de brotação das gemas nas duas porções. Assim a brotação está mais relacionada com a capacidade da gema em utilizar os carboidratos disponíveis, sacarose e sorbitol (BONHOMME et al., 2005).

4 CONCLUSÕES

Os testes biológicos, tanto o TMB quanto o Tabuena, são boas ferramentas para monitorar o estado de dormência de gemas de macieira em condição de clima subtropical úmido. Esses testes foram importantes para distinguir o comportamento dessas plantas com as cultivadas em clima temperado. As plantas cultivadas em região de clima subtropical úmido tendem a não apresentar pico de TMB bem definido ou muito sujeito as oscilações térmicas. E para o Tabuena foi possível notar que a fase de ecodormência tende a ser muito mais curta quando comparada com plantas em regiões de clima temperado.

Os resultados observados neste trabalho sugerem que em condição de inverno ameno, ou em regiões de clima subtropical, a macieira não entra em endodormência profunda, permanecendo em endodormência superficial.

Em regiões de inverno ameno, o metabolismo dos carboidratos, de maneira geral, não apresenta um padrão fixo de comportamento, como observado em regiões de clima temperado. Esse metabolismo parece sofrer forte influência da oscilação de temperatura no inverno de cada ano.

Segundo os resultados encontrados a acrotonia da macieiras em regiões subtropicais pode sim estar ligada às diferenças biológicas e bioquímicas entre as porções do ramo. Existem diferenças entre a porção distal e proximal dos ramos quanto ao tempo médio de brotação, conteúdo de carboidratos e proteínas, e atividade da alfa-amilase. Tal diferença possivelmente está relacionada com a força de dreno na porção distal.

Desta forma, as gemas da porção distal brotam primeiro, estabelecendo dominância sobre as demais gemas da porção proximal (paradormência), inibindo a brotação das mesmas ou as mantendo em forma de rosetas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A longo prazo, a interpretação dos resultados obtidos nos testes biológicos, aliados às observações do comportamento do clima em cada ano, contribuirá para elucidar que questões ligadas à dormência das plantas em condição de baixo frio hibernal.

O metabolismo de carboidratos deve ser avaliado em outros tecidos da planta, como gemas, escamas e casca. É importante a avaliação de outras enzimas ligadas a esse metabolismo como a SPS e as invertases. Outra sugestão é a avaliação do fluxo de açúcares entre os tecidos, bem como a expressão de genes ligados ao transporte desses açúcares. Além disso seria interessante a análise de respiração de gemas (teste do tetrazólico).

Em regiões de inverno ameno seria ideal, porém trabalhoso, a realização de análises bioquímicas em um número maior de datas de coletas. O comportamento da planta tende a variar conforme a oscilação de temperatura. A escolha dessas datas deve ser feita com base nessa oscilação da temperatura. Portanto, a cada variação mais significativa de temperatura deve ser feita uma bateria de análise.

Outra sugestão seria a realização de um experimento com plantas em vasos, conduzidas em ambientes com temperatura controlada, propiciando o mesmo acúmulo de frio em ambas as plantas, para posterior comparação entre o efeito do frio a campo e do frio artificial. Assim seria possível distinguir o efeito do frio em condição controlada e a campo.

Uma sugestão de estudo interessante seria a realização das avaliações realizadas neste trabalho, ou parte delas, concomitantemente em diferentes regiões produtoras no Brasil. Assim poderiam ser feitas observações do comportamento das plantas em diferentes níveis altitudinais, buscando caracterizar a plasticidade das cultivares quanto à necessidade de frio. Seria necessário padronizar as variáveis utilizadas a fim de eliminar erros experimentais.

REFERÊNCIAS

ALVES, G.; DECOURTEIX, M.; FLEURAT-LESSARD, P.; SAKR, S.; BONHOMME, M.; AMEGLIO, T.; LACOINTE, A.; JULIEN, J.L.; PETEL, G.; GUILLIOT, A. Spatial activity and expression of plasma membrane H⁺-ATPase in xylem of walnut tree (*Juglans regia* L.), during dormancy and growth resumption. **Tree Physiology**, v.27, p.1471-1480, 2007.

AMEGLIO, T., A. GUILLIOT, A. LACOINTE, J.L. JULIEN, G. ALVES, V. VALENTIN AND G. PETEL. Water relations in winter. Effect on bud break of walnut tree. In **Dormancy in plants**. Eds. J. D. Viemont and J. Crabbé. CAB, Farnham Royal, pp 109–120. 2000.

AMEGLIO, T., F.W. EWERS, H. COCHARD, M. MARTIGNAC, M. VANDAME, C. BODET AND P. CRUIZIAT. Winter stem xylem pressure in walnut trees: effects of carbohydrates, cooling and freezing. **Tree Physiology**. 21:387–394. 2001.

BALANDIER, P. Étude dynamique de la croissance et du développement des bourgeons de quelques cultivars de pêcher cultivés à diverses altitudes sous le climat tropical de l'île de la Réunion. 1992. 82f, **Tese** (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand, 1992.

BONHOMME, M. Physiologie des bourgeons végétatifs et floraux de pêcher dans deux situations thermiques contrastées pendant la dormance: capacité de croissance, force de puits et répartition des glucides., 1998. 114 f. **Tese** (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, 1998.

BONHOMME, M., R. RAGEAU, A. LACOINTE AND M. GENDRAUD.. Influences of cold deprivation during dormancy on carbohydrate contents of vegetative and floral primordia and nearby structures of peach buds (*Prunus persica* L. Batch). **Sci. Hortic.** v.105. p.223–240. 2005.

BONHOMME, M., R. RAGEAU, A. LACOINTE AND M. GENDRAUD.. Influences of cold deprivation during dormancy on carbohydrate contents of vegetative and floral primordia and nearby structures of peach buds (*Prunus persica* L. Batch). **Sci. Hortic.** v.105. p.223–240. 2005

BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; LACOINTE, A. Optimization of endodormancy release models, using series of endodormancy release data collected in France. **Acta Horticulturae**, v. 872, p. 51–60, 2010

BEN MOHAMED, H., VADEL, M.A., GEUNS, J.M.C., KHEMIRA, H.,. Biochemical changes in dormant grapevine shoot tissues in response to chilling: possible role in dormancy release. **Sci. Hortic.** v.124, p.440–447. 2010.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram

quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, p.248-254, 1976.

CAMILO, A. P.; DENARDI, F. Cultivares: Descrição e comportamento no Sul do Brasil. In: **A Cultura da Macieira**. 2 ed.. Florianópolis: EPAGRI. p. 113-168. , 2006.

CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; EGEEA, J. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 130, n. 2, p. 357–372, 2011.

CAMPOY, J.A., RUIZ, D., ALLDERMAN, L., COOK, N., EGEEA, J.. The fulfilment of chilling requirements and the adaptation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) in warm winter climates: an approach in Murcia (Spain) and the Western Cape (South Africa). **Eur. J. Agron.** v.37,p. 43–55, 2012

CHAMPAGNAT, P. Rest and activity in vegetative buds of tress. **Ann. Sci.** for. 46 (suppl.): p. 9-26, 1989.

CHARRIER, G.; AMÉGLIO, T. The timing of leaf fall affects cold acclimation by interactions with air temperature through water and carbohydrate contents. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, n. 3, p. 351–357, 2011.

CITADIN, I.; RASEIRA, M.C.B.; HERTER, F.G.; SILVA, J.B. Heat requirement for blooming and leafing in peach. **HortScience**, Alexandria, v.3, n.2, p.305-307, 2001.

CITADIN, I.; GUILLIOT, A.; BONHOMME, M.; RAGEAU, R. Atividade de enzimas relacionadas com a mobilização de carboidratos durante a dormência de noqueira (*Juglans regia*). **Rev. Bras. Frutic, Jaboticabal**, v.31, n.2, p.305-313, 2009.

CARVALHO, R. I. N. DE; ZANETTE, F. Dinâmica da dormência de gemas de macieira “Imperial Gala” durante o outono e inverno em região de baixa ocorrência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 65–68, 2004.

CARVALHO, R. I. N. DE; ZANETTE, F.; MAURER-MENESTRINA, J. .Variações do conteúdo de proteínas em gemas e ramos com um e dois anos de idade de macieira durante a dormência. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p.145-149, 2006.

CARVALHO, R. I. N., BIASI, L. A., ZANETT, F., SANTOS, J. M, PEREIRA, G. P. Estádios de brotação de gemas de fruteiras de clima temperado para o teste biológico de avaliação de dormência. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 93-100, 2010.

CHARRIER, G.; AMÉGLIO, T. The timing of leaf fall affects cold acclimation by interactions with air temperature through water and carbohydrate contents. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, n. 3, p. 351–357, 2011.

CHUINE, I. A unified model for budburst of trees. **Journal of Theoretical Biology**, v. 207, n. 3, p. 337–347, 2000.

COOK NC, RABE E, KEULEMANS J, JACOBS G.. The expression of acrotony in deciduous fruit trees: A study of the apple rootstock M.9. **The Journal of The American Society For Horticultural Science**. v.123, p30-34, 1998

COOK, N.C. AND G. JACOBS. Suboptimal winter chilling impedes development of acrotony in apple shoots. **Hortscience** n.34: p. 1213–1216, 1999.

CORTÉS, A., GRATACÓS, E.. Chilling requirements of ten sweet cherry cultivars in a mild winter location in Chile. **Acta. Hort.** v.795, p.457–462, 2008.

CRABBÉ, J. Aspects particuliers de la morphogenèse caulinaire des végétaux et introduction à leur étude quantitative. **Gembloux: IRSIA**, 1987. 116p.

CUTTING, J.G.M., STRYDOM, D.K., JACOBS, G., BELLSTEDT, D.U., VAN DER MERWE, K.J. AND WEILER, E.W.. 1991. Changes in xylem constituents in response to rest-breaking agents applied to apple before budbreak. **J. Am. Soc. Hortic. Sci.** 116:680–683.

DECOURTEIX, M.; ALVES, A.; BONHOMME, M.; PEUCH, M.; BEN BAAZIZ, K.; BRUNEL, N.; GUILLIOT, A.; RAGEAU, R.; AMÉGLIO, T.; PÉTEL, G.; SAKR, S. Sucrose (JrSUT1) and Hexoses (JrHT1 and 2) transporters in walnut xylem parenchyma cells: their potential role in early events of growth resumption. **Tree Physiology**, Victoria, v.28, p.215-224, 2008.

EBERT, A.; PETRI, J.L.; BENDER, R.J.; BRAGA, H.J. First experiences with chill units models in southern Brazil. **Acta Horticulturae**, Hague. v. 184, p. 89-96, 1986.

EPAGRI. A cultura da macieira. Florianópolis. 2006. 743p.

EREZ, A. Bud dormancy: Phenomenon, problems and solutions in the tropics and subtropics. In: Temperate Fruit Crops in Warm Climates. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, p. 17-48, 2000.

EREZ, A. Dormancy completion - a dual response. **HortScience**, v. 34, n. 3, p. 524–525, 1999.

FAQUIM, R.; SILVA, I. D.; CARVALHO, R. I. N.. Necessidade de frio para quebra de dormência de gemas de caqui 'Fuyu'. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 29, n. 3. P. 438-444. 2007.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statical Databases. Disponível em < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> > Acesso em 17 jan. 2017.

FAUST, M.; EREZ, A.; ROWLAND, L. J.; WANG, S. Y.; NORMAN, H. A. Bud dormancy in perennial fruit trees: Physiological basis for dormancy induction, maintenance, and release. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 4, p. 623-629, 1997.

FAUST, M.; LIU, D.; MILLARD, M. M. Bound versus free water in dormant apple buds - a theory for endodormancy. **HortScience**, v. 26, p. 887–890, 1991.

FISHMAN, S.; EREZ, A.; COUVILLON, G. A. The temperature dependence of dormancy breaking in plants: mathematical analysis of a two-step model involving a cooperative transition. **Journal of Theoretical Biology**, v. 124, p. 473–483, 1987.

FU, Y. H.; CAMPIOLI, M.; VAN OIJEN, M.; DECKMYN, G.; JANSSENS, I. A. Bayesian comparison of six different temperature-based budburst models for four temperate tree species. **Ecological Modelling**, v. 230, p. 92–100, 2012.

GENDRAUD, M. AND G. PÉTEL. Modifications in intercellular communications, cellular characteristics and change in morphogenetic potentialities of Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.). In *Intra- and Extracellular Communications in Plants: Reception, Transmission, Storage and Expression of Messages*. Eds. B. Millet and H. Greppin. INRA, Paris, pp 171–175, 1990.

GLEIZER, B.; LEGAVE, J. M.; BERTHOUMIEU, J.-F.; MATHIEU, V. Les arboriculteurs face aux changements climatiques - évolution de la phénologie florale et du risque de gel printanier. **Infos Ctifl**, n. 235, 2007.

GUÉDON, Y.; LEGAVE, J. M. Analysing the time-course variation of apple and pear tree dates of flowering stages in the global warming context. **Ecological Modelling**, v. 219, n. 1-2, p. 189–199, 2008.

GUO, L., DAI, J., RANJITKAR, S., XU, J., LUEDELING, E., Response of chestnut phenology in China to climate variation and change. **Agric. For. Meteorol.** n.180, p. 164–172, 2013.

HAUAGGE, R.; CUMMINS, J. N. Seasonal variation in intensity of bud dormancy in apple cultivars and related *Malus* species. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 116, n. 1, p. 107-115, 1991.

HAUAGGE, R.; TSUNETA, M. IAPAR 75-'Eva', IAPAR 76-'Anabela'e IAPAR 77-'Carícia'- Novas cultivares de macieira com baixa necessidade em frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 239–242, 1999.

HOVE, T. W. H. Apple Tree - Royal Gala Variety. United State Patent nº 4121, 1977.

HAWERROTH, F. J.; HERTER, F. G.; PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; PEREIRA, J. F. M. Dormência em frutíferas de clima temperado. **Embrapa Clima Temperado. Documentos** 310. 57p., 2010.

HAWERROTH, F.J.; HERTER, F.G.; PETRI, J.L. MARAFON, A.C.; LEONETTI, J.F. Evaluation of winter temperatures on apple budbreak using grafted twigs. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.713-721, 2013.

HEIDE, O.M. High autumn temperature delays spring bud burst in boreal trees, counterbalancing the effect of climatic warming. **Tree Physiology**, v.23, p. 931–936, 2003.

HERTER, F. G.; RAGEAU, R.; BONHOMME, M.; MAUGET, J. C. Determinação do término da dormência e floração para algumas cultivares de macieira: comparação entre métodos biológicos e empíricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, n. 1, p. 77-81, 1992.

HERTER, F.G.; MACHADO, L.B.; OLIVEIRA, M.F.; SILVA, J.B. Efeito do frio na brotação de gemas de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Carrick, em Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.23, n.2, p.261-264, 2001.

HANNINEN, H. Modelling bud dormancy release in trees from cool and temperate regions. **Acta Forestalia Fennica**, v. 213, p. 1–47, 1990.

ITO, A., SAKAMOTO, D., MORIGUCHI, T. Carbohydrate metabolism and its possible roles in endodormancy transition in Japanese pear. **Scientia Horticulturae**. 144: pp 187–194, 2012.

ITO, A., SUGIURA, T., SAKAMOTO, D., MORIGUCHI, T. Effects of dormancy progression and low-temperature response on changes in the sorbitol concentration in xylem sap of Japanese pear during winter season. **Tree Physiol**. 00, 1–11, 2013.

KANAYAMA, Y. Physiological roles of polyols in horticultural crops. **J. Jpn. Soc. Hort. Sci.** 78, 158–168, 2009.

KIDDLE, K. W. Apple Tree - Galaxi Cultivar. ,1989.

KRAMER, K. Selecting a model to predict the onset of growth of *Fagus sylvatica*. **Journal of Applied Ecology**, v. 31, p. 172–181, 1994.

LANG, G. A.; EARLY, J. D.; MARTIN, G. C.; DARNELL, R. L. Endo-, para-, and ecodormancy: Physiological terminology and classification for dormancy research. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 371-377, 1987.

LEITE, G. B.; BONHOMME, M.; PUTTI, G. L.; PETRI, J. L.; RAGEAU, R. Physiological and biochemical evolution of peach leaf buds during dormancy course under two contrasted temperature patterns. **International Journal of Horticultural Science**, v. 12, n. 4, p. 15–19, 2006.

LUEDLING, E.; GIRVETZ, E. H.; SEMENOV, M. A; BROWN, P. H. Climate change affects winter chill for temperate fruit and nut trees. **PloS one**, v. 6, n. 5, p. 1 13, 2011.

MALAGI, G. Variability of floral phenology and dormancy kinetics in apple trees under contrasting climates – a case-study to modeling phenology in the warming context. **Tese** (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Pelotas. Pelotas- RS. 2014.

MALAGI, G.; SACHET, M.R.; CITADIN, I.; HERTER, F.G.; BONHOMME, M.; REGNARD, J.L.; LEGAVE, J.M. The comparison of dormancy dynamics in apple trees grown under temperate and mild winter climates imposes a renewal of classical approaches. **Trees – Structure and Function**. V.29, n.5, p. 1365 – 1380, 2015.

MARAFON, A. C. Metabolismo de carboidratos, conteúdo de água e necrose floral em pereira (*Pyrus* sp.) em condições de falta de frio, 2008. 83 f. **Tese** (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

MARAFON, A. C.; HERTER, F. G. ; HAWERROTH, F. J. . Umidade ponderal em tecidos de pereira durante o período de dormência sob condições de inverno ameno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (1977. Impressa), v. 46, p. 1006-1012, 2011.

MARAFON, A.C.; CITADIN, I.; AMARANTE, L.; HERTER, F.G.; HAWERROTH, F.J. Chilling privation during dormancy period and carbohydrate mobilization in Japanese pear trees. **Scientia Agricola**, Piracicaba. v. 68, n.4, p.462-468, 2011.

MAUGET J., RAGEAU R. Bud dormancy and adaptation of apple tree to mild winter climates. **Acta Horticulturae**. n.232: p.101–108, 1988.

MAUREL, K., LEITE, G.B., BONHOMME, M., GUILLIOT, A., RAGEAU, R., PETEL, G., SAKR, S. Trophic control of bud break in peach (*Prunus persica*) trees: a possible role of hexoses. **Tree Physiol**. 24, 579–588, 2004a.

MAUREL, K., S. SAKR, F. GERBE, A. GUILLIOT, M. BONHOMME, R. RAGEAU AND G. PETEL. Sorbitol uptake is regulated by glucose through the hexokinase pathway in vegetative peach-tree buds. **J. Exp. Bot**. n.55: p.879–888. 2004b.

MARQUAT, C., VANDAMME, M., GENDRAUD, M., PETAL, G.,. Dormancy in vegetative bud of peach: relation between carbohydrate absorption potentials and carbohydrate concentration in the bud during dormancy and its release. **Sci. Hortic**. n.79, p. 151–162, 1999.

MEASHAM, P.F., QUENTIN, A.G., MACNAIR, N.. Climate, winter Chill, and decision-making in sweet cherry production. **HortScience** 49, 254–259, 2014.

MOING, A.; CARBONNE, F.; RASHAD, M.H.; VAUDILLERE, J.P. Carbon fluxes in mature peach leaves. **Plant Physiology**, v. 106, p. 591-600, 1992.

MOING, A., CARBONNE, F., ZIPPERLIN, B., SVANELLA, L., GAUDILLERE, J. P.. Phloem loading in peach: Symplastic or apoplastic? **Physiol. Plant**. 101: 489–496, 1997.

PETRI, J. L.; PALLADINI, L. A.; SCHUCK, E.; DUCROQUET, J. P. H. J.; MATOS, C.S.; POLA, A. C. Dormência e indução da brotação em fruteiras de clima temperado. Florianópolis: **EPAGRI**, 1996.

PETRI, J. L.; DENARDI, F.; SUZUKI, A. EPAGRI, 405 - Fuji Suprema: Nova cultivar de

macieira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v-10, n.3, p.48-50, 1997.

PETRI, J. L.; HERTER, F. Nashi Pear (*Pyrus pyrifolia*) dormancy under mild temperate climate conditions **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 589, p. 353-361, 2002.

PETRI, J.L. et al. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v.E., p. 048-056, 2011.

PETRI, J. C.; HAWERROTH, F. J.; LEITE, G. B.; COUTO, M.; FRANCESCATTO, P. Apple phenology in subtropical climate conditions. In: Xiaoyang Zhang. Phenology and climate change, Croatia, p. 195-216. 2012.

PETRI, J.L.; CAMELATTO, D. Quebra de dormencia. *Frutas do Brasil*, 2004.

PETRI, J. L.; LEITE, G. B. Consequences of insufficient winter chilling on apple tree budbreak. **VIIth on TZFTS. Annals**, p. 53–60, 2004.

POUDEL, P.R.; KATOAKA, I.; MOCHIOKA, R. Low chilling trait of *Vitis ficifolia* var. Ganebu and its introduction into *Vitis vinifera* by cross breeding. **Vitis**. v. 46 (1), p. 47–48, 2007.

PUTTI, G. L.; PETRI, J. L.; MENDEZ, M. E.. Efeito da intensidade do frio no tempo e percentagem de gemas brotadas em macieira. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, Aug. 2003.

RAGEAU, R. Croissance et debourrement des bourgeons vegetatifs de Pecher au cours d'un test classique de dormance. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Serie D, Paris*, v.287, p.1119-1122, 1978.

RICHARDSON, E. A.; SEELEY, S. D.; WALKER, D. R. A model for estimating the completion of rest for "Redhaven" and "Elberta" peach trees. **HortScience**, v. 9, n. 4, p. 331–332, 1974.

ROITSCH, T.; BITTNER, M.; GODT, D. E. Induction of apoplasmic invertase of *Chenopodium rubrum* by D-glucose and a glucose analog and tissue-specific expression suggest a role in sink-source regulation. **Plant Physiology**, Bethesda, v.108, p.285-294, 1995.

SACHET, M.R. Análises biológicas e bioquímicas na dinâmica da dormência de macieiras em Palmas – PR. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2013.

SAMISH, R. M. Dormancy in Woody Plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 5, n. 1, p. 183–204, 1954.

SAURE, M. C. Dormancy release in deciduous fruit trees. **Horticultural Reviews**, v.7, p.

239–300, 1985.

SAUTER J.J. Temperature-induced changes in starch and sugars in the stem of *Populus x Canadensis* “robusta”. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.132, p.608- 612, 1988.

SCHMITZ, J. D.; BONHOMME, M.; COCHARD, H.; HERTER, F. G.; LEITE, G. B.; REGNARD, J. L.; LAURI, P. E.. Are the effects of winter temperatures on spring budburst mediated by the bud water status or related to a whole-shoot effect? Insights in the apple tree. **Trees** (Berlin. Print), v. 29, p. 675-682, 2014.

SHALTOUT, A. D.; UNRATH, C. R. Rest completion prediction model for “Starkrimson Delicious” apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.108, n. 6, p. 957–961, 1983.

SIMÕES, F.; HAWERROTH, F.J.; YAMAMOTO, R.R.; HERTER, F.G. Water content and carbohydrate dynamics of pear trees during dormancy in Southern Brazil. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v.12, p.66-72, 2007.

TABUENCA, M. C. Necesidades de frio invernal de variedades de albaricoquero, melocotonero y peral. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei, Zaragoza*, v. 7, n. 3-4, p. 113-132, 1964.

TAMURA, F.; TANABE, K.; TANAKA, H.; ITAI, A. Protein charges in the flower buds of japanese pear during breaking of dormency by chilling or hiht temperature treatment.. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 123, n. 4, p. 532 - 536, 1998.

TORT, M., GENDRAUD, M., COURDUROUX, J.C.. 1985. Mechanisms of storage in dormant tubers: correlative aspects, biochemical and ultrastructural approaches. **Physiol. Veg.** 23:289–299.

TROMP, J.; WEBSTER, A.D.; WERTHEIM, S.J. Fundamentals of temperature zone tree fruits production. **Backhuys Publishers**. p. 65-73. 2005.

WILLIAMS, M. W.; MARTIN, G. C.; STAHLY, E. A. The movement and fate of sorbitol-14C in the apple tree and fruit. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v.90, p.20-24, 1967.

WILLIAMS, M. W.; RAESE, J. T. Sorbitol in tracheal sap of apple as related to temperature. **Physiologia Plantarum**, v. 30, n. 1, p. 49-52, 1974.