

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

MARCOS ROBSON SACHET

**ANÁLISES BIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS NA DINÂMICA DA
DORMÊNCIA DE MACIEIRAS EM PALMAS - PR**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2014

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

MARCOS ROBSON SACHET

**ANÁLISES BIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS NA DINÂMICA DA
DORMÊNCIA DE MACIEIRAS EM PALMAS - PR**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2014

MARCOS ROBSON SACHET

**ANÁLISES BIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS NA DINÂMICA DA
DORMÊNCIA DE MACIEIRAS EM PALMAS – PR**

Dissertação 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 Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin

PATO BRANCO

2014

S121a

Sachet, Marcos Robson .

Análises biológicas e bioquímicas na dinâmica da dormência de
maceiras em Palmas - PR / Marcos Robson Sachet. -- 2014.
66 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia, PR, 2014.

Bibliografia: f. 61 – 66.

1. *Malus domestica* Borkh. 2. Quebra de dormência. 3. Biologia hiberna
4. Fluxo de açúcares. 5. Endodormência. I. Citadin, Idemir, orient. II.
Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação
em Agronomia. III. Título.

CDD (22. ed.) 630



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 Dissertação n.º 094

**Análises biológicas e bioquímicas na dinâmica da dormência de macieiras em
Palmas - PR**

por

Marcos Robson Sachet

Dissertação apresentada às oito horas do dia vinte e sete de fevereiro de dois mil e quatorze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Flávio Gilberto Herter
UFPEl/Pelotas

Prof. Dr. Ruy Inacio Neiva de Carvalho
PUC/São José dos Pinhais

**Prof.ª Dr.ª Luana Aparecida Castilho
Maro**
UTFPR/PB

Prof. Dr. Idemir Citadin
UTFPR/PB
Orientador

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Idalmir dos Santos
PPGAG

Aos meus pais Marcos e Arlete
dedico...

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Idemir Citadin, pelos conselhos, ensinamentos e companheirismo.

Ao senhor Geraldo Lovo por permitir a execução desse trabalho em sua propriedade.

À Capes, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo auxílio financeiro para execução do projeto.

À UTFPR, Câmpus Pato Branco, por ofertar o Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAG), sobretudo, com qualidade.

Ao SIMEPAR, Sistema Meteorológico do Paraná, pela disponibilização dos dados climáticos.

Aos colegas Leonardo Silva Patto e Gustavo Malagi por participarem ativamente de todas as fases do projeto.

Aos integrantes da equipe de fruticultura (2012-2014) que auxiliaram nas coletas e análises: Jéssica Nasilowski, Luana Maro, Gener Penso, Rodrigo Tonet, Heloisa Thomazi, Elias Kleina e Marisa Pichler.

RESUMO

SACHET, Marcos Robson. Análises biológicas e bioquímicas na dinâmica da dormência de macieiras em Palmas-PR. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

O presente estudo objetivou caracterizar a dinâmica da dormência e a variação de carboidratos e outros constituintes de ramos de macieira com baixa ('Eva') e alta necessidade de frio ('Fuji Suprema' e 'Galaxy'), sob efeito de exposição a níveis crescente de frio ou ao longo do período de dormência em condição de campo. Brindilas e esporões foram coletados entre março e outubro de 2012 e 2013, em pomar comercial no município de Palmas-PR. Foram realizados testes biológicos de Tabuenca (1964) e de estacas com uma única gema. Paralelamente, lenhos dos ramos das porções basais e apicais foram reservados para análise de teor de proteínas solúveis; atividade de alfa-amilase; açúcares solúveis totais (AST), redutores (AR) e não redutores (ASNR); amido e umidade. O teste de Tabuenca (1964) pode ser aplicado em clima subtropical para estimar fim da endodormência. Entre as cultivares estudadas, 'Eva' apresenta menor exigência de frio, 'Fuji Suprema' e 'Galaxy' são equivalentes. A brotação da macieira ocorre em gradiente ao longo do ramo, com maior capacidade de brotação nas gemas laterais do ápice e em elevada exposição ao frio este gradiente deixa de ser significativo. A porção apical do lenho de ramos apresenta teores de proteínas solúveis, AST, AR, ASNR e amido e atividade de alfa-amilase maiores que na porção basal. Com o avanço na exposição ao frio ocorre aumento da atividade da alfa-amilase. A ocorrência de acúmulo de frio irregular promove a ressíntese de amido, redução da UP e atraso na brotação.

Palavras-chave: *Malus domestica* Borkh., quebra de dormência, biologia hiberna, fluxo de açúcares, endodormência.

ABSTRACT

SACHET, Marcos Robson. Biological and biochemical analysis in dormancy dynamics of apple trees grown in Palmas-PR. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2014.

The present study aimed to characterize the dormancy dynamics and the variation of carbohydrates and other shoots constituents of apple tree with low ('Eva') and high chilling requirement ('Fuji Suprema' and 'Galaxy'), under increasing cold levels or over the period of dormancy in the field. Bearing shoots and spurs were collected between March until October 2012 and 2013 in a commercial orchard in Palmas-PR. Tabuenca (1964) biological test and one bud cuttings test were performed. Simultaneously, one-year-old shoots wood, in the basal and apical portions, were reserved for soluble proteins, alpha-amylase activity, total soluble sugars, reducing and non-reducing sugars, starch and water content analysis. The Tabuenca test (1964) can be applied in subtropical climate to estimate the end endodormancy. Among the cultivars, 'Eva' has lower chilling requirement than 'Fuji Suprema' and 'Galaxy', which were equivalent. The apple tree budbreak gradient occurs along the shoot, with greater capacity for sprouting in the lateral buds of the apex. However in high exposure to cold temperature this gradient is no longer significant. The shoots apical portion present higher levels of soluble proteins, alpha-amylase activity, total soluble sugars, reducing and non-reducing sugars and starch than the basal portion. With the advancement of cold exposure the alpha-amylase activity increased. The occurrence of irregular chilling accumulation promotes starch resynthesis, water content decrease and sprouting delay.

Keywords: *Malus domestica* Borkh., budbreak, winter biology, sugar fluxes, endodormancy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Matéria fresca, matéria seca e umidade de gemas mistas (sem escamas), durante o período de dormência no ano de 2012, das cultivares de macieira: Eva (A, D, G), Fuji Suprema (B, E, H) e Galaxy (C, F, I), nas condições de campo e após forçagem por 7 dias a 25 °C (Teste de Tabuenca, 1964). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($p=0,05$ e $n=5$). F1 = início de floração observada no pomar em Palmas-PR. *Ocorrência de geada e necrose de gemas após forçagem. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 31
- Figura 2 - Matéria fresca, matéria seca e umidade de gemas mistas (sem escamas), durante o período de dormência no ano de 2013, das cultivares de macieira: Eva (A, D, G), Fuji Suprema (B, E, H) e Galaxy (C, F, I), nas condições de campo e após forçagem por 7 dias a 25 °C (Teste de Tabuenca, 1964). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($p=0,05$ e $n=5$). F1 = início de floração observada no pomar em Palmas-PR. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 32
- Figura 3 - Concentração de proteínas solúveis no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) e expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 35
- Figura 4 – Atividade da alfa-amilase no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 36
- Figura 5 – Relação alfa-amilase/proteínas no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 37
- Figura 6 – Concentração de açúcares redutores no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 38
- Figura 7 – Concentração de açúcares solúveis totais no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 39
- Figura 8 – Concentração de açúcares solúveis não-redutores no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 40
- Figura 9 – Concentração de amido no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 41

- Figura 10 – Tempo médio de brotação em estacas de gema isolada do ápice, 3/4, 2/4 e base de ramos de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....42
- Figura 11 – Brotação de estacas de gema isolada do ápice, 3/4, 2/4 e base de ramos de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....43
- Figura 12 – Tempo médio de brotação (A, B) e percentagem de brotação (C, D) de gemas vegetativas laterais na porção apical e basal de ramos de macieira Eva, desfolha (E, F) e número de horas abaixo de 7,2 °C entre coletas (G, H) realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....46
- Figura 13 – Tempo médio de brotação (A, B) e percentagem de brotação (C, D) de gemas vegetativas laterais na porção apical e basal de macieira Fuji Suprema, desfolha (E, F) e número de horas abaixo de 7,2 °C entre coletas (G, H) realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....48
- Figura 14 – Tempo médio de brotação (A, B) e percentagem de brotação (C, D) de gemas vegetativas laterais na porção apical e basal de ramos de macieira Galaxy, desfolha (E, F) e número de horas abaixo de 7,2 °C entre coletas (G, H) realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014. 50
- Figura 15 – Concentração de proteínas (A, B), atividade da alfa-amilase (C, D) e relação alfa-amilase/proteínas (E, F) na porção apical e basal de ramos de macieira Eva em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado ($n=5$). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....53
- Figura 16 – Concentração de proteínas (A, B), atividade da alfa-amilase (C, D) e relação alfa-amilase/proteínas (E, F) na porção apical e basal de ramos de macieira Fuji Suprema em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado ($n=5$). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....54
- Figura 17 – Concentração de proteínas (A, B), atividade da alfa-amilase (C, D) e relação alfa-amilase/proteínas (E, F) na porção apical e basal de ramos de macieira Galaxy em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado ($n=5$). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....55
- Figura 18 – Concentração de açúcares redutores (A, B), açúcares solúveis totais (C, D), açúcares não-redutores (E, F), amido (G, H) e umidade ponderal (I, J) na porção apical e basal de ramos de macieira Eva em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado ($n=5$). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.....57
- Figura 19 – Concentração de açúcares redutores (A, B), açúcares solúveis totais (C, D), açúcares não-redutores (E, F), amido (G, H) e umidade ponderal (I, J) na porção apical e basal de ramos de macieira Fuji Suprema em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado ($n=5$). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014....58
- Figura 20 – Concentração de açúcares redutores (A, B), açúcares solúveis totais (C, D), açúcares não-redutores (E, F), amido (G, H) e umidade ponderal (I, J) na porção apical e basal de ramos de macieira Galaxy em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado ($n=5$). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014....59

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Resumo da análise de variância para as variáveis: Teor de proteínas, atividade da alfa-amilase, relação alfa-amilase/teor de proteínas, açúcares redutores (AR), açúcares solúveis totais (AST), açúcares solúveis não-redutores (ASNR) e amido. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 33
- Tabela 2 - Resumo da análise de variância para a variável tempo médio de brotação (TMB). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014..... 34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 A CULTURA DA MACIEIRA.....	14
2.2 CULTIVARES ESTUDADAS.....	15
2.2.1 Cultivar Eva.....	15
2.2.2 Cultivar Fuji Suprema (Clone de 'Fuji').....	16
2.2.3 Cultivar Galaxy (Clone de 'Gala').....	16
2.3 DORMÊNCIA.....	17
2.3.1 Paradormência.....	18
2.3.2 Endodormência.....	19
2.3.3 Ecodormência.....	19
2.4 CONTROLE TRÓFICO.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 MATERIAL VEGETAL.....	23
3.2 DADOS CLIMÁTICOS.....	23
3.3 EXPERIMENTO 1 – TESTE DE TABUENCA (1964).....	23
3.4 EXPERIMENTO 2 – EFEITO DE DOSES DE FRIO.....	24
3.5 EXPERIMENTO 3 – CONDIÇÕES DE CAMPO.....	25
3.6 TESTES BIOQUÍMICOS.....	26
3.6.1 Atividade da Alfa-amilase e Concentração de Proteínas Solúveis Totais.....	26
3.6.1.1 Preparo do extrato.....	26
3.6.1.2 Atividade da alfa-amilase.....	26
3.6.1.3 Concentração de proteínas solúveis totais.....	27
3.6.2 Carboidratos.....	27
3.6.2.1 Açúcares solúveis.....	28
3.6.2.2 Amido.....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 EXPERIMENTO 1.....	29
4.2 EXPERIMENTO 2.....	33
4.3 EXPERIMENTO 3.....	45
5 CONCLUSÕES	60
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A macieira (*Malus domestica* Borkh.) é a principal frutífera cultivada no mundo. No Brasil, uma porção significativa da região produtora no Sul está localizada onde ocorre invernos definidos e acúmulo de frio próximo ao ideal. Parte das macieiras estão sendo cultivadas em locais onde as exigências climáticas das principais cultivares (Fuji e Gala) não são plenamente satisfeitas. Essas regiões apresentam invernos irregulares, geralmente com grande amplitude térmica diária e baixo acúmulo de frio.

Quando se cultivam macieiras em áreas com frio marginal, ocorre floração e brotação desuniforme, redução do potencial produtivo e da qualidade de frutos. Aliado a isso, há projeções de redução no acúmulo de frio em regiões tradicionalmente produtoras de macieira. O possível comprometendo da produção requer a melhor compreensão da relação entre dormência e ambiente na busca por soluções para esse iminente problema.

A hipótese desse trabalho é que a capacidade de brotação das gemas esteja relacionada com o metabolismo de carboidratos, durante a exposição ao frio no decorrer do inverno, com variações ao longo do ramo e entre cultivares com diferentes necessidades de frio. Essas variações justificariam a predominante acrotonia em macieiras cultivadas em clima subtropical.

Para isso, realizaram-se três experimentos com cultivares de baixa ('Eva') e alta necessidade de frio ('Fuji Suprema' e 'Galaxy').

O Experimento 1 baseou-se no teste de Tabuenca (1964) para determinar o momento em que as gemas mistas encontravam-se aptas a crescerem, possibilitando a distinção entre as cultivares quanto a data de saída de endodormência e frio acumulado.

No Experimento 2, ramos foram submetidos ao frio, até 1400 horas a 5 °C, enquanto no Experimento 3, ramos foram coletados periodicamente no pomar em Palmas-PR. Após, empregou-se o teste biológico de estacas com uma única gema vegetativa (RAGEAU, 1978). O objetivo foi determinar a dinâmica da dormência ao longo da exposição ao frio (Experimento 2) ou no decorrer do inverno (Experimento 3) e relacionar com alterações na constituição do lenho dos ramos entre cultivares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DA MACIEIRA

A macieira pertence a família Rosaceae, subfamília Maloidae (Pomoidae), gênero *Malus*. Apesar de serem citados vários nomes para a espécie, a denominação *Malus domestica* é a primeira denominação válida publicada para a macieira cultivada, pelo Código Internacional de Nomenclatura para Plantas Cultivadas (PETRI; LEITE, 2008).

Segundo os dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), em 2011, 94 nações produziram 75,5 milhões de toneladas em 4,7 milhões de hectares, com média de 15,9 t ha⁻¹. Os maiores produtores são: China (47% da produção total), EUA (5,7%), Índia (3,8%), Turquia (3,6%), Polônia (3,3%), Itália (3,2%), França (2,5%), Irã (2,2%) e em 9ª colocação o Brasil (1,8%) (FAO, 2014).

No Brasil, avanços no desenvolvimento do cultivo comercial, iniciados na década de 1970, deram suporte para expansão da cultura (PETRI et al., 2011). Em 2011, foram colhidos 1.338.995 de toneladas em 38.077 ha, com média de 35,17 toneladas/hectare (FAO, 2014). Em 2010, foram exportadas 90 mil toneladas enquanto importaram-se 70 mil toneladas (IBRAF, 2014).

A produção brasileira concentra-se na Região Sul (99,4%), mas também ocorre na região Sudeste (0,5%) e Nordeste (0,1%). Quanto aos Estados, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são os maiores produtores nacionais com 49,2% e 46,3%, respectivamente (IBGE, 2014). Com 90% dos pomares implantados com 'Fuji' e 'Gala' ou seus clones (PETRI; LEITE, 2008). Em 2012, o Paraná contribuiu com 3,8% da produção nacional, em 1.764 hectares, tendo como principais municípios: Palmas (442 ha), Lapa (340 ha), Campo do Tenente (320 ha) e Porto Amazonas (212 ha) (IBGE, 2014).

Uma porção significativa da região produtora no Sul está localizada onde ocorrem invernos definidos e acúmulo de frio próximo ao ideal. O restante da produção ocorre onde as exigências climáticas das principais cultivares (Fuji e Gala) não são plenamente satisfeitas, embora existam atualmente opções de cultivares

com menores necessidade de frio (PETRI; PALLADINI; POLA, 2006). Essas regiões apresentam invernos irregulares, geralmente com grande amplitude térmica diária e baixo acúmulo de frio.

2.2 CULTIVARES ESTUDADAS

2.2.1 Cultivar Eva

A cultivar Eva (IAPAR 75) é o resultado do cruzamento entre as cultivares Anna e Gala realizado em 1979 no IAPAR (Instituto Agrônômico do Paraná). Os testes de valor de cultivo foram iniciados em 1987, na região Sudoeste do Paraná, com lançamento no final da década de 1990. Necessita de 300 à 350 horas de frio (HF), com possibilidades de cultivo em regiões com acúmulo médio de 50 à 500 HF e baixa probabilidade de geadas tardias (HAUAGGE; TSUNETTA, 1999).

Em locais com frio insuficiente, a maior frutificação dessa cultivar é alcançada com aplicação de cianamida hidrogenada, que promove o maior número de brotações apicais e laterais (ROBERTO; KAGUEYAMA; DOS SANTOS, 2006). No leste paulista (Jundiaí-SP), sob clima tropical de altitude com menos de 40 HF e aplicação de cianamida hidrogenada e óleo mineral, a produtividade no segundo e terceiro ano após plantio foi de, respectivamente, 10 e 31 t ha⁻¹, com colheita entre dezembro e janeiro (CHAGAS et al., 2012).

Em região semiárida quente do nordeste brasileiro (Petrolina-PE) é necessário tratamento com cianamida hidrogenada e óleo mineral, controle de irrigação, desfolha e podas diferenciadas para estimular a entrada e saída da dormência. Mesmo sem ocorrer temperaturas abaixo de 7,2 °C, a cultivar Eva é capaz de completar o ciclo vegetativo produzindo de 8 à 10 t ha⁻¹ (LOPES et al., 2012).

2.2.2 Cultivar Fuji Suprema (Clone de 'Fuji')

A cultivar Fuji original é resultado do cruzamento entre 'Ralls Janet' x 'Delicious', realizado por H. Nitsu, em 1939, no Japão. Foi selecionada em 1958, testada como Tohoku nº 7, renomeada em 1962 como 'Fuji' e introduzida, no Brasil, em 1967 (CAMILO; DENARDI, 2006).

Em 1986, G. Della Maria, extensionista da EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina), encontrou um ramo de 'Fuji' com frutos totalmente vermelhos, no pomar de macieira do Sr. Gilberto Brandt, no município de Curitibanos-SC. Após sucessivas multiplicações assexuadas, ficou comprovada a estabilidade da mutação, com epiderme de frutos com coloração vermelha uniforme cobrindo de 80 a 100% da superfície, mesmo em frutos sombreados, enquanto que as demais características, em relação a 'Fuji' original, permaneciam inalteradas. Em 1996, essa seleção foi lançada e nomeada como 'Fuji Suprema' (PETRI; DENARDI; SUZUKI, 1997). Em pouco tempo, tornou-se uma das mutações de 'Fuji' mais cultivada no sul do Brasil (CAMILO; DENARDI, 2006).

A 'Fuji' é considerada uma cultivar com dormência profunda (HAUAGGE; CUMMINS, 1991a) necessitando entre 1040 ± 49 (GHARIANI; STEBBINS, 1994) e 1077 ± 74 (HAUAGGE; CUMMINS, 1991b) unidades de frio (UF) seguindo o modelo de previsão da saída de dormência da Carolina do Norte (SHALTOUT; UNRATH, 1983).

2.2.3 Cultivar Galaxy (Clone de 'Gala')

A cultivar Gala original é resultado do cruzamento entre 'Kidd's Orange' x 'Golden Delicious' no ano de 1934 na Nova Zelândia. Foi patenteada como 'Kidd's D-8' em 1974 nos EUA (MCKENZIE, 1974). Desde então, buscaram-se mutantes com melhorias na qualidade de fruto, principalmente em relação a epiderme com coloração uniforme e mais atraente ao consumidor (CAMILO; DENARDI, 2006).

Em 1969 foi encontrada uma mutação estável, com melhoria na qualidade de fruto e patenteada em 1977 como 'Royal Gala' (HOVE, 1977), algumas vezes tratada como cultivar Tenroy. Em 1985, uma mutação em 'Royal Gala' foi avaliada dando

origem a cultivar Galaxy, patenteada em 1989 (KIDDLE, 1989), todas oriundas da Nova Zelândia.

Os principais mutantes de 'Gala' foram testados por Rapillard e Dessimoz (2000) em Vétroz, Suíça, entre 1994 e 1999. A 'Galaxy' apresentou maior vigor de crescimento das plantas, maior produção acumulada em seis safras, melhor coloração de epiderme e maior percentual de frutos grandes em relação à 'Gala' original.

A cultivar Gala pertence ao grupo de cultivares com dormência profunda (HAUAGGE; CUMMINS, 1991a) com necessidade de frio de 1064 ± 61 (HAUAGGE; CUMMINS, 1991b) a 1115 ± 57 UF (GHARIANI; STEBBINS, 1994). A grande necessidade de frio não permite cultivo comercial em áreas com baixo acúmulo de frio por restringir fortemente a produtividade, como verificado por Chagas et al. (2012), a produtividade anual pode ser inferior a $2,0 \text{ t ha}^{-1}$.

2.3 DORMÊNCIA

As fases de repouso e crescimento que ocorrem em plantas podem ser interpretadas de duas formas: como uma adaptação para resistir e sobreviver às temperaturas baixas durante o inverno; ou, sem descartar o caráter adaptativo, como sendo o principal resultado de um ritmo endógeno modulado pelo clima (BONHOMME, 1998). Assim, há coordenação do crescimento e desenvolvimento em períodos apropriados (EREZ, 2000; RUIZ et al., 2007).

Esse fenômeno pode ocorrer basicamente em todos os órgãos que possuem meristemas (EREZ, 2000). Contudo, quanto se trata de fruteiras perenes, a dormência nas gemas recebe a maior atenção por influenciar diretamente a capacidade reprodutiva e adaptativa de cultivares a regiões de cultivo cada vez mais quentes (ATKINSON et al., 2013).

Uma planta pode estar, simultaneamente, sob diferentes estádios de dormência, visto que há grande diversidade de estados fisiológicos na população de gemas das plantas (BALANDIER et al., 1993; FAUST et al., 1997). Em função disto, não existe um momento fixo que delimita os diferentes tipos de dormência, mas sim

uma contínua transição de estados que resulta em momentos com maior predomínio de um tipo de dormência sobre os demais (ANZANELLO, 2012).

Até a década de 1980, muitos estudos sobre dormência foram realizados, entretanto, não havia ainda um consenso sobre as terminologias utilizadas, culminando em mais de 50 termos, muitas vezes ambíguos e contraditórios (LANG et al., 1987). Estes mesmos autores propuseram uma nova definição, sendo a dormência entendida como suspensão temporária do crescimento visível e dividiram esse fenômeno em três fases distintas (para, endo e eco-dormência).

2.3.1 Paradormência

A paradormência é caracterizada pelas inibições correlativas, em que um determinado órgão impede o crescimento de outro, sendo possível a retomada imediata do crescimento na supressão do inibidor. Nessa fase, pode ocorrer alocação preferencial de recursos para reprodução e controle da arquitetura (HORVATH et al., 2003), conferindo plasticidade às plantas às variações do ambiente (DOMAGALSKA; LEYSER, 2011).

Em específico, o crescimento de uma gema pode ser inibido por outras gemas em estrato superior (dominância apical). Esta pode ocorrer em quatro estágios sucessivos e com sobreposição: durante a formação das gemas laterais; inibição do crescimento após formação da gema; reassumindo o crescimento apical ou a dominância através da decapitação; e, na formação de um novo ramo (CLINE, 1997). Isso ocorre na primavera e verão durante o crescimento e diferenciação dos órgãos (FUCHIGAMI; WISNIEWSKI, 1997).

Outra inibição que ocorre nas gemas é causada pela presença de folhas adjacentes (SAMISH, 1954), cuja queda prematura pode promover a quebra de dormência e é frequentemente associada a estratégias para produção em regiões tropicais (LOPES et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012). Os mecanismos relacionados com o processo de inibição folha/gema podem estar relacionados com a concorrência por recursos nutricionais, produção de hormônios e capacidade de percepção do fotoperíodo (CHARRIER; AMÉGLIO, 2011).

2.3.2 Endodormência

Neste tipo de dormência, a origem da inibição situa-se no próprio meristema e o crescimento não ocorre de forma normal, mesmo que as condições ambientais sejam favoráveis e as inibições correlativas forem suprimidas. Para Faust et al. (1997) a endodormência pode ser ainda dividida em duas porções, a d-endodormência (*deep* = profunda) e s-endodormência (*shallow* = superficial). 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 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.

Também, na dormência profunda, o tempo necessário para iniciar a brotação é máximo, com baixa taxa de brotação, com variações entre cultivares de alta e baixa necessidade de frio (HAUAGGE; CUMMINS, 1991a; ANZANELLO, 2012; MALAGI; LEGAVE, 2012). Quanto mais profunda a endodormência, maior é o número de horas de frio para superá-la, o que implica no insucesso de algumas cultivares de clima temperado quando produzidos em ambientes subtropicais ou tropicais (EREZ, 2000).

A forma de superar a endodormência é frequentemente associada com a necessidade de exposição a temperaturas baixas que estimulem a recuperação da capacidade de crescimento. Weinberger (1950) utilizou a soma de horas com temperatura $\leq 7,2$ °C para determinar a necessidade de frio (horas de frio, HF) de pessegueiros em 11 anos de observação. Apesar de arbitrária, a temperatura base de 7,2 °C continua sendo amplamente utilizada.

2.3.3 Ecodormência

Caracteriza-se pelo não crescimento visível de um órgão, devido exclusivamente a fatores limitantes do desenvolvimento externos à planta. Após a suspensão desses fatores ocorre a retomada do crescimento (LANG et al., 1987).

No caso típico de clima temperado, é a última fase do repouso de inverno, após a superação da endodormência, as gemas continuam em repouso até que ocorra acúmulo de calor suficiente para a retomada do crescimento (GIANFAGNA; MEHLENBACHER, 1985). A necessidade de calor varia entre cultivares e depende da quantidade de frio acumulado anteriormente (COUVILLON; EREZ, 1985).

Seu valor adaptativo refere-se ao retardamento do crescimento das gemas, após completado o acúmulo de frio, enquanto as condições de clima forem inadequadas. Dessa forma, pode ser utilizado como estratégia no melhoramento genético de frutíferas de clima temperado para cultivos em condições subtropicais, pois cultivares com baixa necessidade de frio crescem satisfatoriamente em invernos quentes, entretanto, necessitam brotar tardiamente para evitar danos por geadas (BYRNE; SHERMAN; BACON, 2000; CITADIN et al., 2001; EGEA et al., 2003; ANZANELLO, 2012).

2.4 CONTROLE TRÓFICO

Enquanto as plantas apresentarem folhas e as temperaturas forem favoráveis, o balanço de carbono é positivo, ou seja, a fotossíntese é maior que a respiração (WIBBE et al., 1994). Com a redução da temperatura e fotoperíodo, inicia-se o processo de senescência das folhas, há degradação de proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos através de enzimas hidrolíticas, sendo os produtos translocados para ramos, troncos e raízes (GUIMARÃES, 2013).

Segundo Bonhomme (1998), o uso de carboidratos para a retomada de crescimento depende esquematicamente de três fatores: disponibilidade de açúcares solúveis, capacidade de transporte e capacidade de utilização. Assim, assume-se que baixa funcionalidade, em ao menos um fator, é suficiente para restringir a saída da dormência.

O lenho dos ramos, especificamente as células parenquimáticas, é o principal tecido responsável pelo equilíbrio entre oferta e demanda de nutrientes para as gemas. No verão, esse tecido exerce a função de dreno, predominando a atividade de síntese de amido, enquanto no inverno, apresenta-se como fonte, através da

degradação do amido e fornecimento de açúcares solúveis (YOSHIOKA et al., 1988) e reservas de nitrogênio (GUY, 1990).

Os carboidratos observados durante o período de dormência, são representados, predominantemente, pela sacarose, glicose, frutose, amido e sorbitol.

A sacarose é o principal carboidrato solúvel em ramos de macieira durante a dormência (YOSHIOKA et al., 1988). É um açúcar não redutor, cuja hidrólise resulta em glicose e frutose, ambos redutores, que são fontes primárias de energia, carbono para a síntese de aminoácidos, lipídios e demais metabólitos.

A degradação do amido é realizada através da enzima alfa-amilase e é relacionada com a temperatura do ambiente. A redução da temperatura favorece a ligação enzima-substrato, considerada pré-requisito para hidrólise (WITT et al., 1995). Temperaturas baixas, além de favorecerem a atividade da enzima, também estimulam a produção de mais moléculas (transcrição) (WEGRZYN et al., 2000).

A sacarose é sintetizada através sacarose-fosfato sintase (SPS) com os produtos da degradação do amido pela alfa-amilase. Sua atividade aumenta durante o outono, permanece em níveis altos durante o inverno e reduz na primavera durante a ressíntese do amido ou mobilização (SCHRADER; SAUTER, 2002). Resultados da atividade da SPS, avaliada por Citadin et al. (2009) em noqueira (*Juglans regia*), não apresentaram relação direta com a dinâmica da dormência, o que sugere que sua atividade e expressão sejam dependentes da presença de substrato, portanto, regulada indiretamente pela atividade da alfa-amilase.

A dinâmica de mobilização de carboidratos nos ramos pode variar entre cultivares de macieira ao longo do ano, mas apresenta um padrão com pico de amido no final do outono, seguido por degradação, e pico de açúcares solúveis em meados do inverno com decréscimo no início de primavera (SIVACI, 2006).

A máxima concentração de amido coincide com o período de queda de folha, início de temperaturas baixas e redução de fotoperíodo. A transformação de açúcares solúveis em amido, mediada pela alteração do ambiente, garante a redução de umidade nos tecidos. Isso se deve ao reduzido potencial osmótico do amido.

A concentração de açúcares solúveis é mais alta no xilema durante o inverno de que no verão, sendo a máxima concentração coincidente com a abertura de

gemas. Isso sugere a ação desses açúcares na proteção contra o frio (AMÉGLIO et al., 2002) e como fonte inicial para desenvolvimento de novos tecidos (SIVACI, 2006).

A concentração de proteínas solúveis também é sazonal. Há maior concentração entre o período de queda de folha e o inverno e redução no período de primavera. Embora essas variações coincidam com as variações em tolerância ao congelamento, é mais aceitável a função de estocagem de nitrogênio, com acúmulo durante senescência e migração para os meristemas a partir da brotação (GUY, 1990).

Entretanto, a maioria dos estudos foram realizados em condições de clima temperado, com alto acúmulo de frio e baixa oscilação térmica ou em condições controladas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal utilizado nesse trabalho foi coletado em um pomar comercial situado no município de Palmas, Sudoeste do Paraná, na propriedade do senhor Geraldo Lovo. O clima do local é classificado como Cfb por Köppen (CAVIGLIONE et al., 2000). Essa região apresenta média de 400 horas de frio ($\leq 7,2$ °C) acumuladas entre maio e setembro (BOTELHO; AYUB; MÜLLER, 2006). As cultivares avaliadas foram 'Eva', 'Fuji Suprema' e 'Galaxy' (26°31' Sul, 52°00' Oeste e 1.140 metros de altitude). O pomar foi implantado no ano de 1999, em sistema adensado (2.857 plantas ha⁻¹) com tutoramento para 'Fuji Suprema' e 'Galaxy' sobre porta-enxerto M9 e 'Eva' no sistema adensado (2.631 plantas ha⁻¹), sem tutoramento, com porta-enxerto Maruba e filtro curto de M9.

3.2 DADOS CLIMÁTICOS

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 e 2013 foram disponibilizados pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR). Calculou-se o número de horas com temperatura $\leq 7,2$ °C a partir de 1 de abril.

3.3 EXPERIMENTO 1 – TESTE DE TABUENCA (1964)

Este experimento foi realizado a partir da observação do efeito de temperaturas elevadas sobre o desenvolvimento de gemas mistas em esporões coletadas com diferentes acúmulos de frio em campo (TABUENCA, 1964). Foram coletadas durante o período de dormência entre abril e setembro nos anos de 2012 e 2013 para as 3 cultivares ('Eva', 'Fuji Suprema' e 'Galaxy').

As amostras foram divididas em duas porções homogêneas. Em uma porção, as gemas foram descamadas, com auxílio de uma lupa, e pesadas para compor a matéria fresca (MF) do campo. A outra porção, foi mantida em câmara de crescimento a 25 °C, com 16 horas de fotoperíodo, durante 7 dias. Após esse período em câmara de crescimento, repetia-se o procedimento de pesagem dos primórdios florais para compor a MF após forçagem. Após mensurado a MF, as gemas eram secas em estufa a 60 °C por 7 dias e novamente pesadas para compor a matéria seca (MS). A umidade foi calculada através da MF e MS ($100 \times (MF - MS) / MF$). Cada coleta foi representada por 5 repetições de 5 gemas mistas. Os dados foram expressos em valores médios com intervalo de confiança ($p = 0,05$ e $n = 5$).

3.4 EXPERIMENTO 2 – EFEITO DE DOSES DE FRIO

O Experimento 2 consistiu no teste com estacas de uma só gema (RAGEAU, 1978) com frio suplementar, utilizando apenas gemas vegetativas laterais. No dia 22/06/2013, data que marca o início do inverno austral, foram coletados 200 ramos tipo brindila (gema terminal mista e laterais vegetativas), com aproximadamente 30 cm, para as cultivares 'Eva', 'Fuji Suprema' e 'Galaxy', e divididos em grupos de 25 ramos. Os tratamentos consistiram na exposição dos grupos de ramos por 0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 e 1400 horas, em câmara fria a 5 °C sem iluminação, em vasos com a base das brindilas submersa em água.

Após o término de cada tratamento, 20 ramos foram seccionados em 4 porções equidistantes (ápice, 3/4, 2/4 e base) com 6 centímetros de caule abaixo e 1 cm acima da última gema vegetativa. As demais gemas foram removidas e os ferimentos isolados com fita parafinada. As estacas foram colocadas em espuma fenólica umedecida e submetidas a 25 °C (± 1 °C) em câmara de crescimento. Foi registrado o tempo individual decorrido desde a colocação na câmara de crescimento até a brotação, considerado o estágio de ponta-verde (PV), e a média destes constituiu o tempo médio de brotação (TMB). As observações seguiram-se por 60 dias, sendo o percentual de brotação referente ao número de estacas brotadas durante esse período. Os tratamentos de 0, 400, 800, 1000 e 1200 horas a

5 °C foram submetidos as análises bioquímicas. Para isso, 5 ramos foram descascados e o lenho do ápice e da base foram separados e armazenados em nitrogênio líquido até análise.

3.5 EXPERIMENTO 3 – CONDIÇÕES DE CAMPO

No Experimento 3, também foi empregado o teste com estacas de uma só gema (RAGEAU, 1978), em gemas vegetativas laterais de ramos do tipo brindila em condição de campo, coletados durante abril a novembro nos anos de 2012 e 2013 para as três cultivares ('Eva', 'Fuji Suprema' e 'Galaxy').

Em cada data eram coletados 30 ramos do tipo brindila (gema terminal mista e laterais vegetativas), com aproximadamente 30 cm de comprimento. No teste com estacas de uma só gema, dividiu-se 20 brindilas em duas partes, as gemas vegetativas laterais da extremidade superior dos ramos constituíram o grupo de gemas do ápice, enquanto as gemas da extremidade inferior constituíram a base. Os demais procedimentos são iguais ao do Experimento 2.

Fez-se o acompanhamento da desfolha em 15 ramos marcados em 15 plantas em campo, buscando-se o comportamento natural da desfolha. As datas de ponta-verde (PV) e início de floração (F1) foram determinadas de acordo com escala fenológica para a cultura de macieira (MEIER et al., 1994). A umidade ponderal (UP) foi estimada em 5 ramos sem casca através da MF e MS após 7 dias em estufa (60 °C) pela equação $UP = (MF - MS) / MS$. Outros 5 ramos foram divididos em duas partes (ápice e base), descascados e armazenados em nitrogênio líquido para análises bioquímicas.

3.6 TESTES BIOQUÍMICOS

3.6.1 Atividade da Alfa-amilase e Concentração de Proteínas Solúveis Totais

3.6.1.1 Preparo do extrato

Uma porção de 150 mg de lenho foi macerado em almofariz, com adição de nitrogênio líquido, acrescida de 10% (m/m) de polivinil polipirrolidona (PVPP). Nas amostras já maceradas, foi acrescentado 800 μ L de tampão de extração (HEPES pH 7,0 / KOH, DTT 1 mM, $MgCl_2$ 5 mM, EDTA 1 mM), agitado em vórtex e mantidos em banho de gelo por 15 minutos (diálise) até centrifugação a 10.000 rpm (força-G = 10.192), por 5 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi utilizado para quantificação da atividade da alfa-amilase e proteínas solúveis totais.

3.6.1.2 Atividade da alfa-amilase

A atividade da alfa-amilase foi realizada a partir do método Ceralpha (Megazyme®). Esse método consiste em adicionar, ao extrato vegetal, uma alíquota contendo substrato específico *p-nitrofenil maltoheptaoside* (5,45 mg mL^{-1}) em presença de um excesso de alfa-glucosidase termoestável (12,5 U mL^{-1}) denominado reagente HR. Este substrato, em reação com a alfa-amilase, presente no extrato vegetal, é hidrolisado em *p-nitrofenil* maltossacarídeo que, por sua vez, reage com alfa-glucosidase, resultando em glicose e *p-nitrofenol* livre, sendo este quantificado pela formação da coloração amarela em solução alcalina fraca. Uma unidade de atividade de alfa-amilase (U) representa a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ M de *p-nitrofenol*, a partir do reagente HR, por minuto.

O extrato vegetal e o reagente HR foram previamente aclimatados a 40 °C por 5 minutos em banho-maria. Alíquota de 50 μ L de reagente HR foram adicionados em 50 μ L de extrato vegetal, mantendo-se em banho-maria a 40 °C por exatos 15 minutos. A reação foi paralisada com adição de 750 μ L de trissódio fosfato a 20% (pH ~ 11). As leituras foram feitas em temperatura ambiente em espectrofotômetro

(UV-1800, Shimadzu) com comprimento de onda de 400 nm. A atividade da alfa-amilase foi expressa em unidades por grama de matéria fresca ($U\ g^{-1}\ MF$).

3.6.1.3 Concentração de proteínas solúveis totais

As proteínas totais foram quantificadas segundo o método de Bradford (1976). Adicionou-se uma alíquota de 50 μL de extrato vegetal em 1 mL de reativo Bradford (Coomassie Azul Brilhante G-250, Amresco®). Realizou-se leitura em espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu) com comprimento de onda de 595 nm. A padronização foi realizada a partir de 13 alíquotas de BSA (albumina bovina sérica), variando de 0 a 24 μg ($y = 1,9663x$ e $R^2=0,99$). A concentração de proteínas solúveis totais foi expressa em micrograma de BSA por grama de matéria fresca ($\mu g\ BSA\ g^{-1}\ MF$).

3.6.2 Carboidratos

As amostras foram liofilizadas, moídas em moinho rotativo (malha 0,05 mm) e mantidas em dessecador com sílica gel (higroscópica). Uma amostra de 25 a 30 mg do material homogeneizado foi pesado para análise de açúcares solúveis e amido.

A essa amostra foi adicionado 1 mL de etanol 80% (v/v), agitado em vórtex e incubado em banho-maria a 80 °C por 30 minutos. Após, foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos, recuperando-se o sobrenadante. O procedimento foi repetido, da mesma forma, duas vezes sobre o precipitado, entretanto, utilizando etanol a 50% (v/v) na última vez.

Os três sobrenadantes foram reunidos em um único frasco e mantidos a vácuo a 45 °C (Centrivap Concentrator, Labconco) até secar completamente. Esse material seco serviu para quantificação de açúcares solúveis e foram mantidas em ultrafreezer (-45 °C) até análise.

Ao precipitado, foi adicionado 1 mL de água destilada e misturado vigorosamente em vórtex, centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos, desprezando-se o sobrenadante, e secado a vácuo a 45 °C (45 minutos). Esse material foi

mantido em ultrafreezer (-45 °C), e posteriormente, utilizado para quantificação de amido.

3.6.2.1 Açúcares solúveis

Ao material seco, descrito anteriormente, foi adicionado 1 mL de água destilada e misturado vigorosamente em vórtex. Para açúcares redutores, alíquotas de 100 µL foram adicionadas a 400 µL de água destilada e 500 µL de reagente DNS (ácido dinitrosalicílico) e mantidas em banho-maria em ebulição por 5 minutos. Para açúcares solúveis totais, alíquotas de 100 µL foram hidrolisadas com 200 µL de HCl (3M) mantidas em banho-maria em ebulição por 5 minutos e, após esfriar, neutralizado com 200 µL de KOH (3M). Após esse procedimento, adicionou-se 500 µL de DNS e mantidas em banho-maria em ebulição por 5 minutos. As amostras foram feitas em duplicatas. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu) a 540 nm em temperatura ambiente. A conversão da leitura de absorbância em teor de açúcares seguiu a curva padrão de glicose, realizada com 11 alíquotas variando de 0 a 0,28 mg ($y = 0,583x$ $R^2=0,99$). A concentração de açúcares não-redutores foi estimada pela diferença entre açúcares solúveis totais e açúcares redutores, sendo todos apresentados em miligrama de glicose por grama de matéria seca de lenho (mg g^{-1} MS).

3.6.2.2 Amido

O amido foi quantificado através da hidrólise enzimática seguido por colorimetria. Ao material seco, descrito anteriormente, foi adicionado 500 µL de tampão acetato 0,2 M (pH 4,5) contendo ~ 70 U mL^{-1} de amiloglicosidase (*Aspergillus niger*, Sigma). As amostras foram incubadas por 24 horas em banho-maria a 55 °C. A glicose liberada foi quantificada por DNS, previamente descrito para açúcares redutores, e o valor multiplicado por 0,9 (fator de conversão de glicose em amido) para expressar os resultados em mg de amido por grama de matéria seca de lenho (mg g^{-1} MS).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO 1

O teste de Tabuenca (1964) foi realizado em 2012 (Figura 1) e 2013 (Figura 2). Houve sincronismo entre a capacidade de aumentar a matéria fresca e seca. O aumento significativo da umidade ocorre após uma semana ao aumento verificado no acúmulo de matéria fresca e seca.

Na literatura, a cultivar Eva é listada como de baixa necessidade de frio, entre 300-350 HF (HAUAGGE; TSUNETTA, 1999). Por outro lado, 'Fuji' e 'Gala' originais requerem acima de 1000 UF e apresentam dormência profunda (HAUAGGE; CUMMINS, 1991a; HAUAGGE; CUMMINS, 1991b; GHARIANI; STEBBINS, 1994). Essa diferença é evidente ao observar as datas de variação em matéria fresca, matéria seca e umidade em gemas mistas (Figura 1 e Figura 2).

A cultivar Eva apresentou variação entre primórdios florais antes e após forçagem a partir de 12/07/2012 (155 HF) e 08/06/2013 (95 HF); 'Fuji Suprema' em 23/08/2012 (269 HF) e 07/09/2013 (418 HF); e 'Galaxy' em 30/08/2012 (273 HF) e 07/09/2013 (418 HF). A variação para HF, entre anos, pode ocorrer pela falta de precisão do modelo de número de horas com temperatura abaixo de 7,2 °C, Weinberger (1950), em clima subtropical (POLA et al., 1994). Estas estimativas de necessidade de frio são inferiores a estimada para as cultivares a partir da fenologia. Isso ocorre pois, após suprido a necessidade de frio, marcado pelo aumento de MS dos meristemas, a temperatura base para o desenvolvimento e crescimento tornam-se necessariamente alta (PUTTI et al., 2000).

Para 'Eva', em 2012, foi observado necrose nas gemas, associada a ocorrência de geada durante a semana antecedente ao dia da coleta (19/07/2012). Essa necrose, com sintomas semelhantes ao tipo severa apresentada por Marafon (2008), só foi observada em gemas em estágio de desenvolvimento mais avançado, após serem submetidas a forçagem, levando ao erro de estimação dos valores de MF, MS e umidade (Figura 1A, D e G).

Observa-se que, em condições de forçagem, a gema encontra-se apta a crescer entre 3 e 8 semanas antes da floração observada em campo. Isso indica que

a gema não se encontra mais em endodormência, estando apta a florescer em campo, só não o faz porque as condições ambientais não são favoráveis. Essa ausência de crescimento visível mediada por fatores extrínsecos à planta caracteriza a ecodormência.

O inconveniente é que, nesse clima, a ocorrência de flutuações térmicas, com possíveis ocorrências de geadas severas após períodos de temperaturas altas (> 20 °C), podem necrosar gemas e induzir a erros de estimativas no teste, conforme observado para 'Eva' em 2012 (Figura 1 A, D e G).

Esse teste já vem sendo utilizado como indicador de final de endodormência em fruteiras de clima temperado como damasqueiros, pessegueiros e pereiras (TABUENCA, 1964; TABUENCA, 1967a; GUERRIERO, 1981), ameixeiras (TABUENCA, 1967b) e macieira (MALAGI; LEGAVE, 2012).

Pelo teste de Tabuenca, é possível sugerir que as gemas estão aptas a absorverem sólidos solúveis, marcado pelo aumento de matéria seca. Assim, a capacidade de aumentar a matéria seca fica condicionada a disponibilidade de sólidos solúveis em tecidos de reserva adjacentes. Conforme demonstrado por Guimarães (2013), próximo a saída de endodormência, a aplicação de sacarose exógena antecipa a brotação em *Vitis labrusca*. O que justifica o estudo de carboidratos e proteínas em lenho do ramo.

Os resultados observados nesse experimento demonstram que o teste de Tabuenca (1964) pode ser utilizado como um indicador de final de endodormência também em plantas de macieira cultivadas em condições subtropicais.

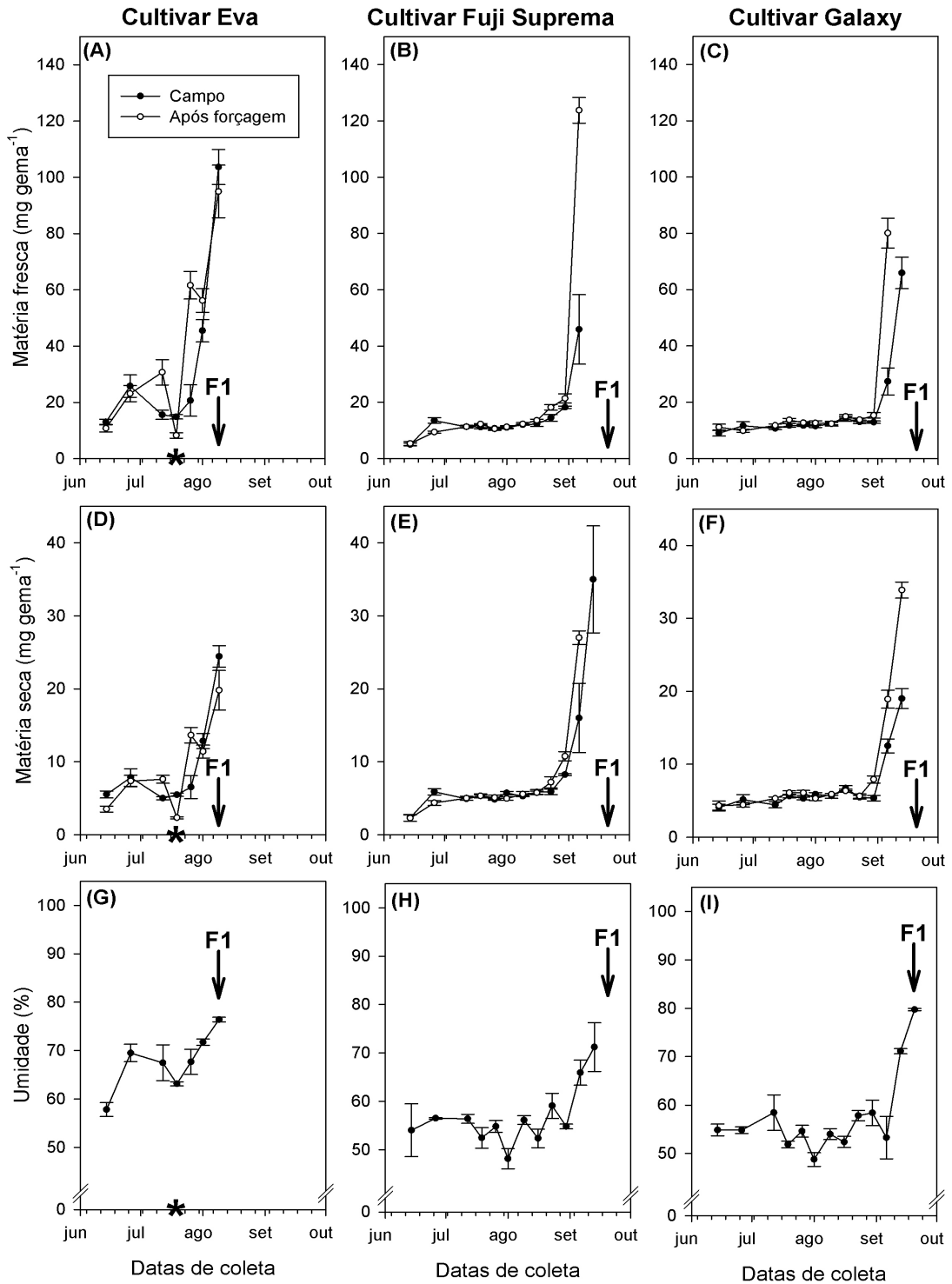


Figura 1 - Matéria fresca, matéria seca e umidade de gemas mistas (sem escamas), durante o período de dormência no ano de 2012, das cultivares de macieira: Eva (A, D, G), Fuji Suprema (B, E, H) e Galaxy (C, F, I), nas condições de campo e após forçagem por 7 dias a 25 °C (Teste de Tabuenca, 1964). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($p=0,05$ e $n=5$). F1 = início de floração observada no pomar em Palmas-PR. *Ocorrência de geada e necrose de gemas após forçagem. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

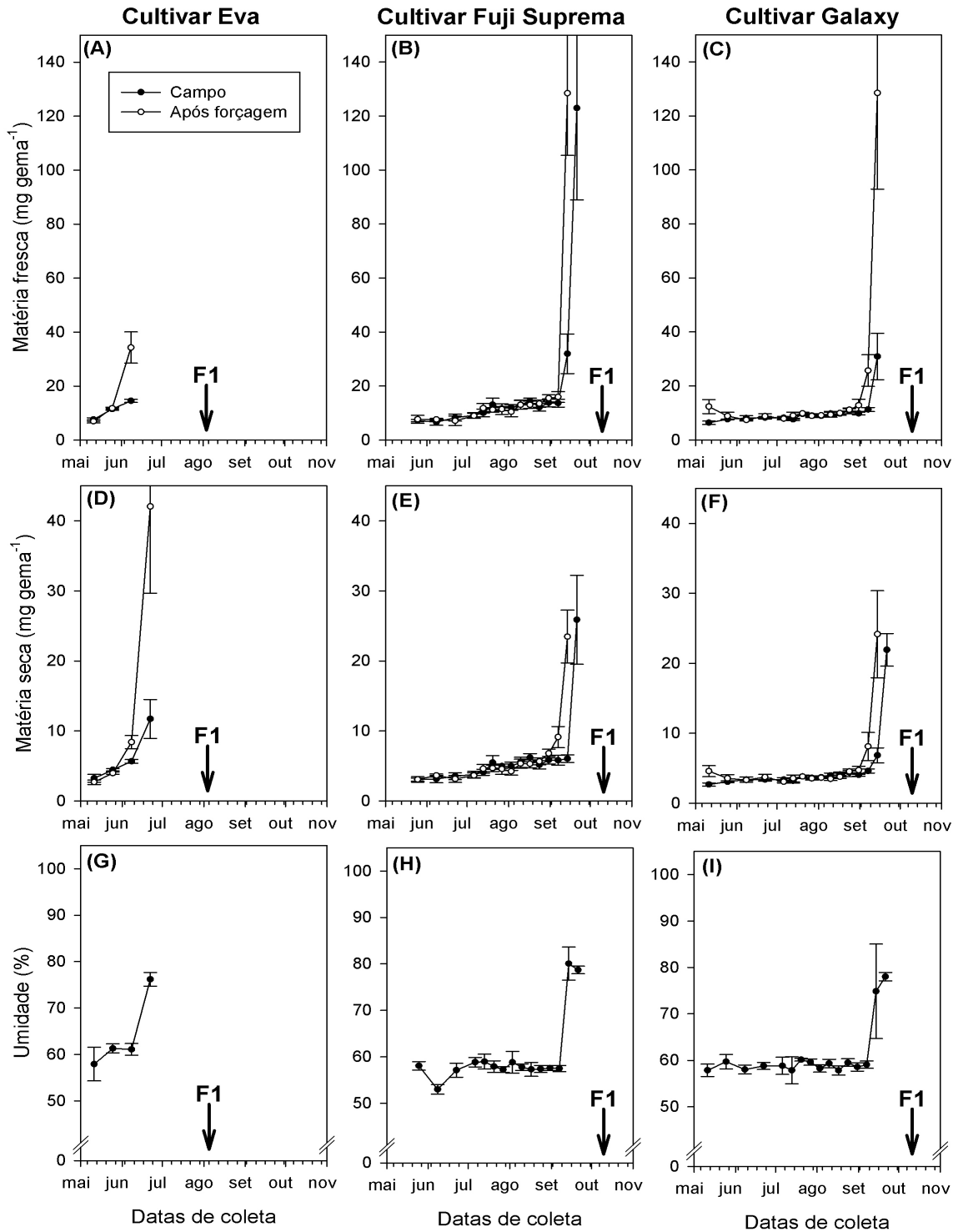


Figura 2 - Matéria fresca, matéria seca e umidade de gemas mistas (sem escamas), durante o período de dormência no ano de 2013, das cultivares de macieira: Eva (A, D, G), Fuji Suprema (B, E, H) e Galaxy (C, F, I), nas condições de campo e após forçagem por 7 dias a 25 °C (Teste de Tabuenca, 1964). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($p=0,05$ e $n=5$). F1 = início de floração observada no pomar em Palmas-PR. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

4.2 EXPERIMENTO 2

De acordo com a análise da variância (Tabela 1) para as variáveis proteínas solúveis totais, açúcares solúveis totais (AST) e amido houve interações duplas entre cultivar x posição no ramo (CxP) e posição no ramo x horas de exposição ao frio (PxH). A variável alfa-amilase apresentou interação CxP e efeito simples de horas de exposição ao frio (H). A relação amilase/proteínas apresentou interação PxH e efeito simples de cultivar (C). Os açúcares solúveis não-redutores (ASNR) apresentou três interações duplas (CxP, CxH e PxH). A interação tripla foi significativa somente para açúcares redutores (AR), necessitando o desdobramento do efeito simples de um fator dentro de combinações de outros dois. Na análise de variância realizada para TMB (Tabela 2), houve interações significativas entre CxH e PxH.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para as variáveis: Teor de proteínas, atividade da alfa-amilase, relação alfa-amilase/teor de proteínas, açúcares redutores (AR), açúcares solúveis totais (AST), açúcares solúveis não-redutores (ASNR) e amido. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio						
		Proteínas	Alfa-amilase	Amil/Prot	AR	AST	ASNR	Amido
Cultivar (C)	2	56,04 **	0,00135 **	0,00021 **	53,56 **	518,68 **	259,53 **	6655,74 **
Posição (P)	1	1081,73 **	0,01748 **	0,00351 **	310,79 **	12369,84 **	8759,14 **	97280,11 **
Horas de exposição ao frio (H)	4	4,80 ns	0,00056 **	0,00015 **	20,99 **	98,15 **	40,21 **	1862,27 **
C x P	2	20,26 **	0,00038 *	0,00005 ns	51,31 **	163,64 **	40,36 **	1935,08 **
C x H	8	0,71 ns	0,00014 ns	0,00002 ns	1,97 ns	19,66 ns	18,14 *	103,85 ns
P x H	4	13,00 **	0,00013 ns	0,00022 **	5,24 *	316,40 **	252,92 **	680,50 **
C x P x H	8	2,25 ns	0,00011 ns	0,00003 ns	3,86 *	24,80 ns	13,67 ns	123,71 ns
Resíduo	120	2,47	0,00008	0,00003	1,55	13,14	8,22	131,28
Total	149	10,91	0,00024	0,00007	5,76	116,27	79,01	954,41
Média		4,98	0,0412	0,0121	7,44	29,61	22,17	71,81
CV (%)		31,5	21,7	45,4	16,7	12,2	12,9	15,9

Teste F: ** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,05$ e ns = $p > 0,05$.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para a variável tempo médio de brotação (TMB). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Cultivar (C)	2	3320,70 **
Posição (P)	3	998,81 **
Horas de exposição ao frio (H)	7	1744,47 **
C x P	6	24,94 ns
C x H	14	52,36 **
P x H	21	34,38 **
C x P x H	42	20,90 ns
Resíduo	1457	15,37
Total	1552	30,11
Média = 15,3		
CV (%) = 25,6		

Teste F: ** $p \leq 0,01$ e ns = $p > 0,05$.

Apesar da semelhança na dinâmica de dormência entre 'Fuji Suprema' e 'Galaxy' e sua distinção com 'Eva', as variáveis bioquímicas (carboidratos exceto ASNR, proteína e alfa-amilase) em ramos destacados expostos ao frio (Experimento 2, Figura 3 à Figura 9) não seguem o mesmo padrão. Essa condição seria possível se ocorresse efeito significativo da interação CxH (Tabela 1), com comportamento diferente somente para 'Eva'. Como isso não ocorreu, discute-se, de forma geral, o comportamento para a espécie (macieira) em relação a posição do lenho no ramo (ápice e base) ao longo da exposição ao frio.

O teor de proteínas no lenho é maior na porção apical quando comparado com a porção basal para todas as cultivares estudadas (Figura 3). A exposição ao frio teve efeitos diferentes em cada porção. No ápice há aumento no teor de proteínas, enquanto na base houve redução. Há possibilidade de migração de proteínas ao longo do ramo.

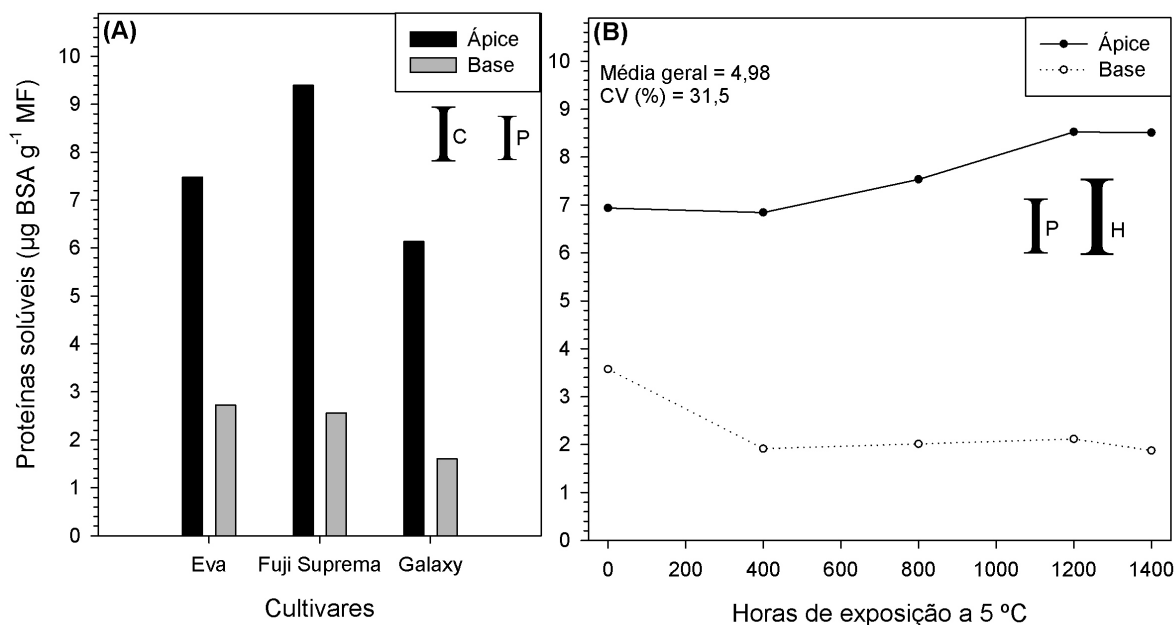


Figura 3 - Concentração de proteínas solúveis no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) e expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

A maior atividade de alfa-amilase foi observada na porção apical do lenho das três cultivares (Figura 4A). Quando comparado o efeito simples da exposição ao frio, observou-se aumento da atividade da alfa-amilase entre 800 a 1400 horas a 5 °C (Figura 4B). Esses resultados corroboram com os encontrados por Witt et al. (1995), em *Populus x canadiensis* em que a ligação (reversível) entre enzima e amido, pré-requisito para reação, é favorecida em temperaturas baixas. Temperaturas baixas estimulam a expressão de alfa-amilase (WEGRZYN et al., 2000).

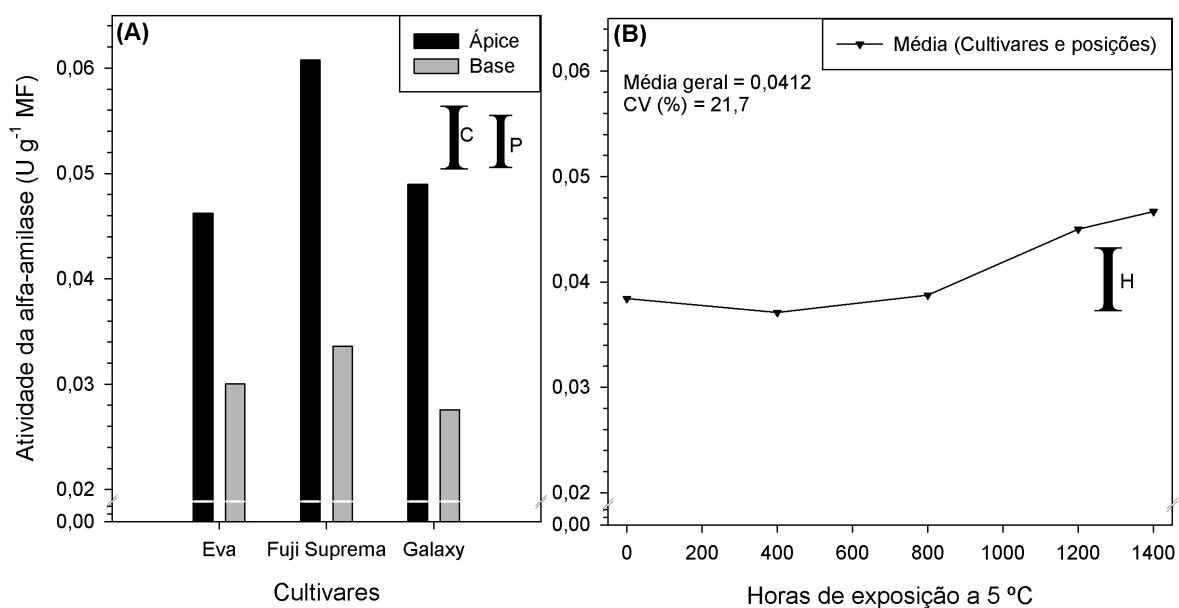


Figura 4 – Atividade da alfa-amilase no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

A maior relação de alfa-amilase/proteína foi observada na 'Galaxy' (Figura 5A). Essa relação se manteve constante para o ápice (0-1400 horas) (Figura 5B). Não há diferença entre ápice e base na coleta de campo (0 horas), mas ocorre aumento, a partir de 400 a 1400 horas a 5 °C para a base. Com o aumento de horas de exposição ao frio, há incremento na atividade de alfa-amilase e redução das proteínas totais para a base, assim, o aumento da relação amilase/proteína indica que o aumento de atividade da alfa-amilase não seja resultado da síntese de novas moléculas da enzima, mas pela melhoria de sua eficiência. Enquanto na porção apical, a atividade aumenta proporcionalmente ao aumento de proteínas (relação constante), parece haver necessidade de um ambiente com síntese proteica para que a atividade permaneça alta (~70% superior a base).

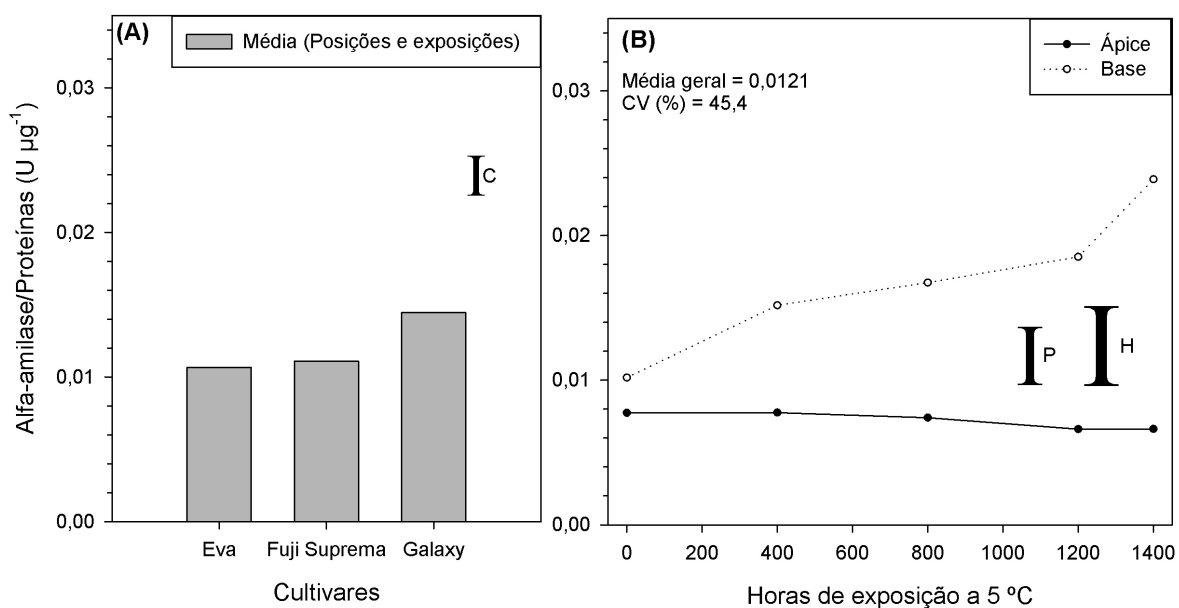


Figura 5 – Relação alfa-amilase/proteínas no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

A concentração de AR no lenho é predominantemente maior no ápice do que na base, exceto para 'Fuji Suprema' que não apresentou diferença (Figura 6). De maneira geral o efeito de exposição ao frio aumentou a concentração de AR, tanto para o ápice quanto para a base.

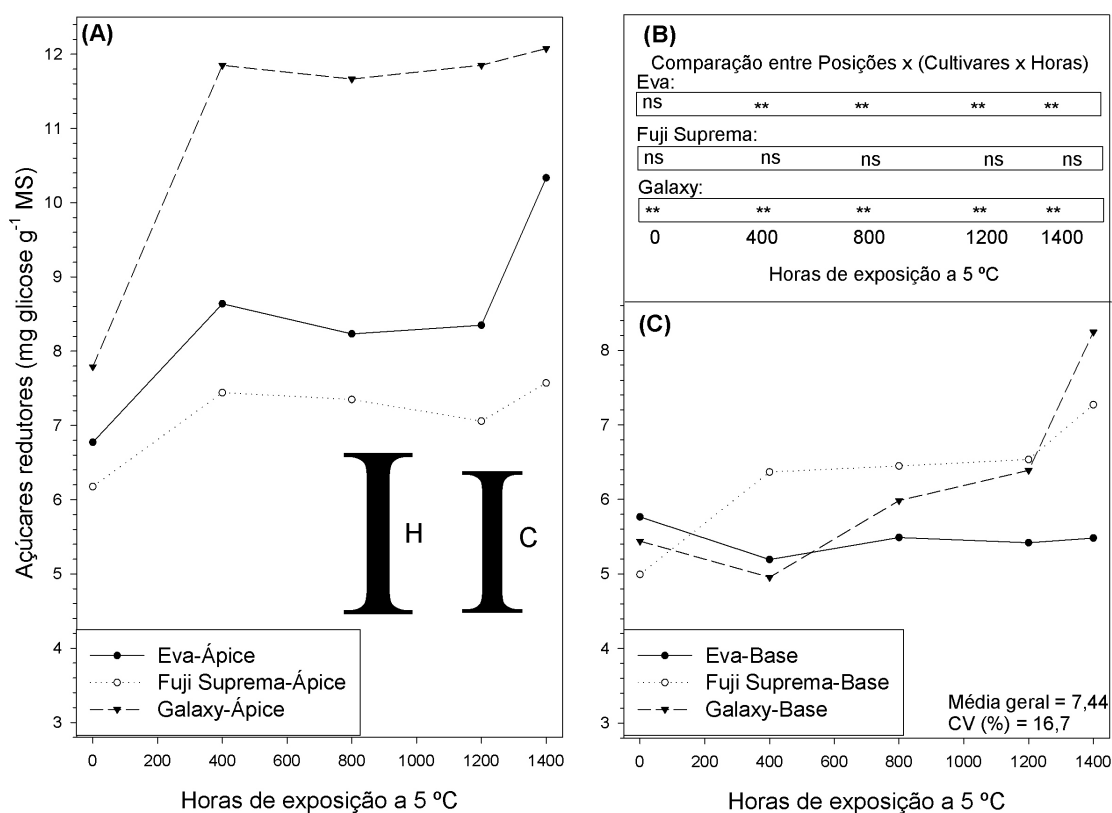


Figura 6 – Concentração de açúcares redutores no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Para AST (Figura 7), os valores foram maiores no ápice do que na base. Também com aumento entre 0 a 1400 horas a 5 °C para ápice e redução entre 0 a 400 horas para a base. Possivelmente houve migração de AST da base para o ápice, já que não existia crescimento visível nesse período.

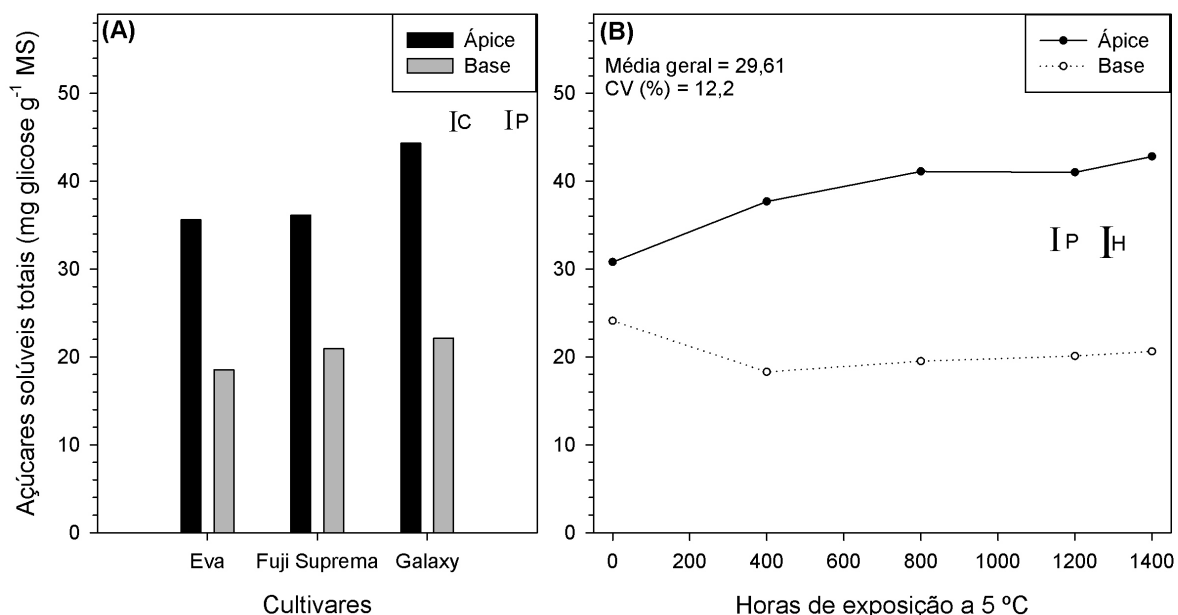


Figura 7 – Concentração de açúcares solúveis totais no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Alterações nos ASNR (Figura 8) foram significativas para as 3 interações (CxP, PxF e CxF). Na interação CxP, o ápice apresentou os maiores valores, independentemente da cultivar. A comparação PxF, no ápice houve aumento de ASNR entre a coleta de campo (0 horas) até 800 horas, enquanto a base apresentou redução no período de 0 a 400 horas, mantendo-se estável até 1400 horas. A interação CxF ocorreu principalmente pelo comportamento distinto de 'Fuji Suprema', que aumentou a concentração entre 0 a 1200 horas, enquanto 'Galaxy' e 'Eva' mantiveram valores sem diferença significativa entre horas de exposição a 5 °C. Igualmente ao observado para AST, observou-se possível migração de ASNR da base para o ápice.

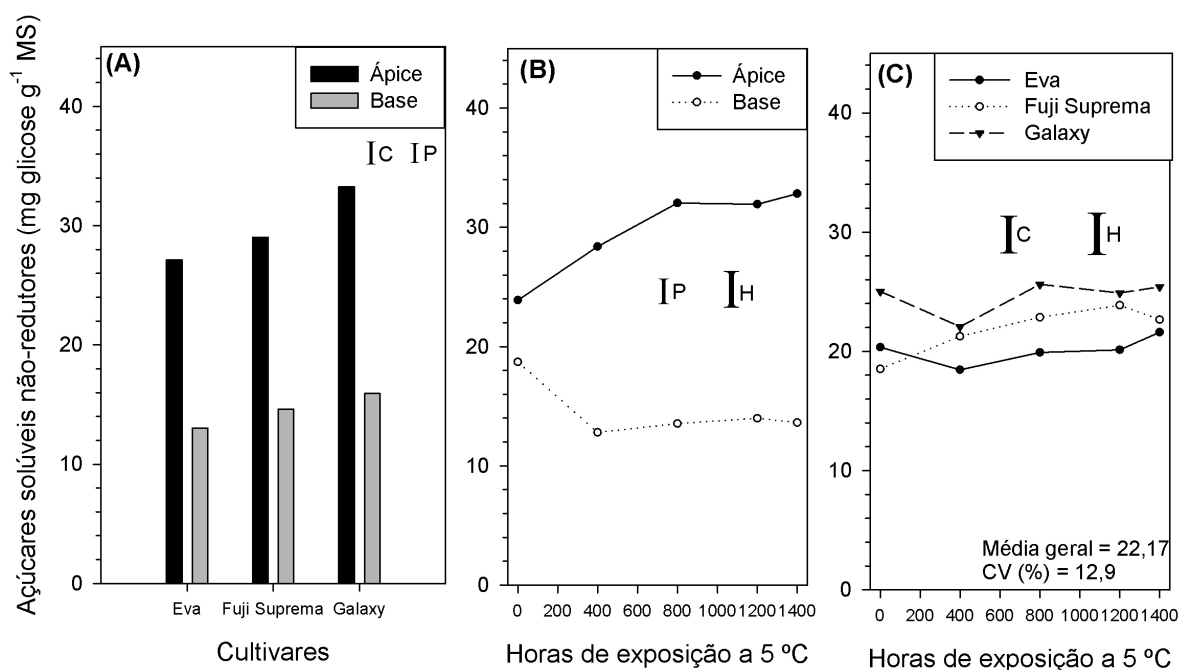


Figura 8 – Concentração de açúcares solúveis não-redutores no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

As porções apicais apresentaram maior concentração de amido (Figura 9) com redução significativa somente em 1400 horas, enquanto para a base a redução ocorreu em 400 horas com reduções não significativas até 1400 horas. Observa-se novamente uma nítida migração de carboidratos da base para o ápice, pois, a redução do amido na base (Figura 9B) foi acompanhada pela redução de AST (Figura 7B) e ASNR (Figura 8B), enquanto que no ápice houve um aumento dos AST (Figura 7B) e ASNR (Figura 8B) sem alterar significativamente a concentração de amido (Figura 9B).

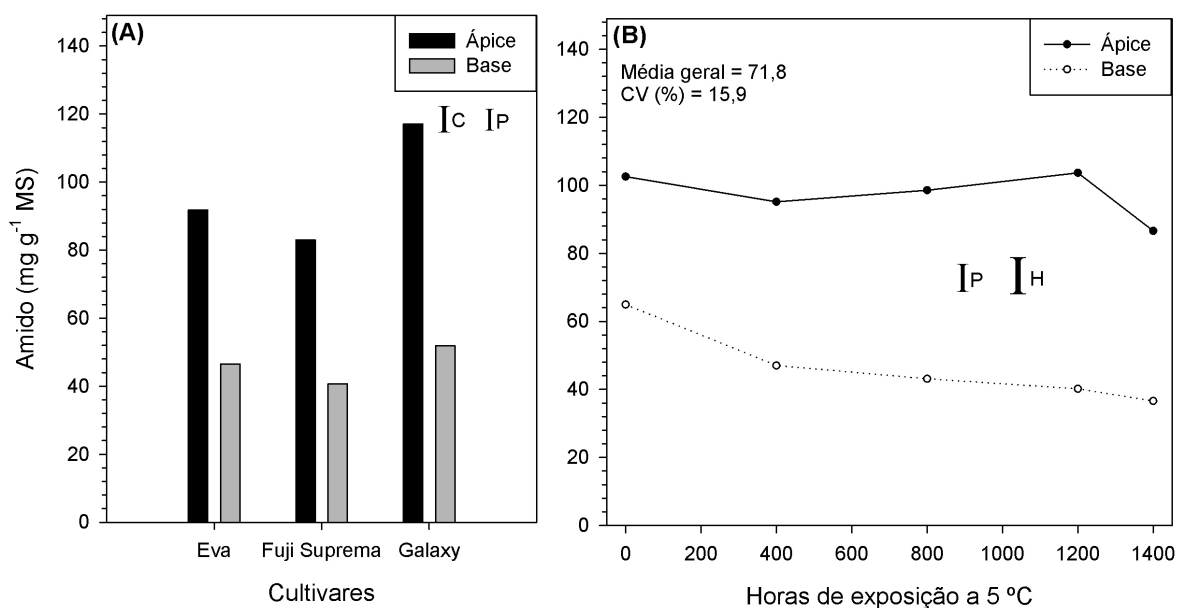


Figura 9 – Concentração de amido no lenho do ápice e base de ramos destacados de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Observou-se um comportamento clássico do TMB com relação a exposição dos ramos ao frio, ou seja, a medida em que há aumento da exposição ao frio há redução proporcional no TMB (Figura 10). 'Eva' apresenta os menores valores de TMB, seguida por 'Fuji Suprema' e 'Galaxy'. A exposição até 200-400 horas para 'Eva', e até 400 horas para 'Fuji Suprema' e 'Galaxy', apresentaram tendência de elevar o TMB, principalmente pela elevação do TMB do ápice e da porção adjacente 3/4. Nesses períodos de exposição ocorreram as menores percentuais de brotação para base e porção adjacente 2/4 (Figura 11). O ápice apresenta os menores valores de TMB e a base os maiores. As porções medianas apresentam valores intermediárias de TMB demonstrando a existência de um gradiente de brotação ao longo do ramo que desaparece em nível alto de exposição ao frio (1400 horas).

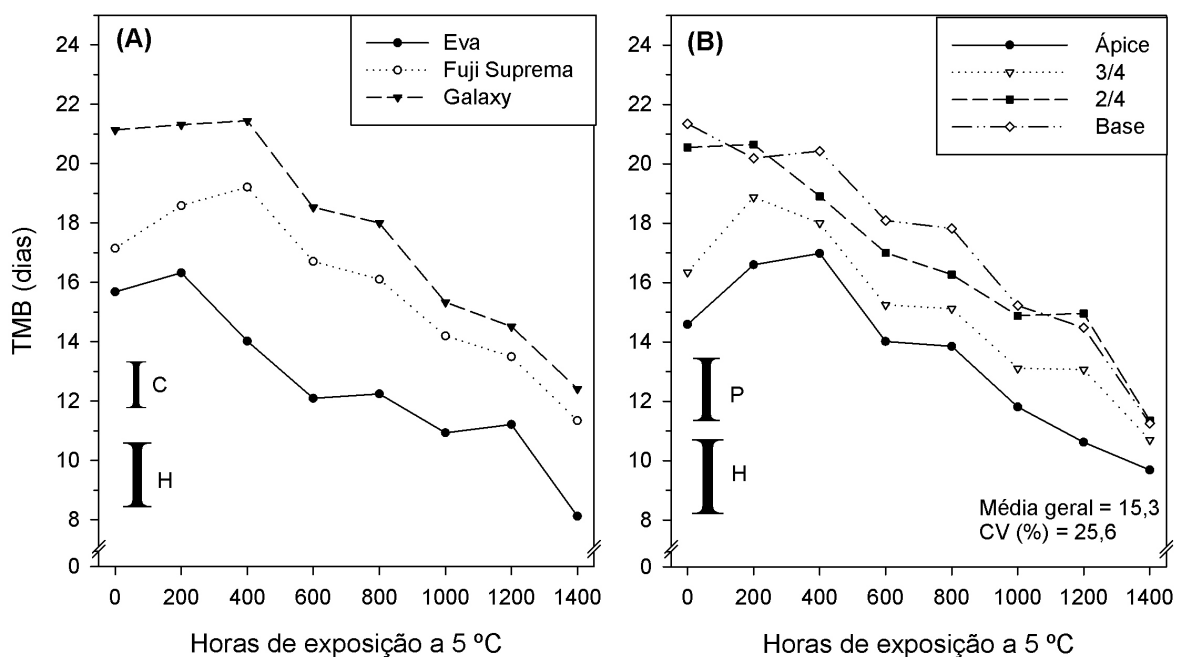


Figura 10 – Tempo médio de brotação em estacas de gema isolada do ápice, 3/4, 2/4 e base de ramos de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

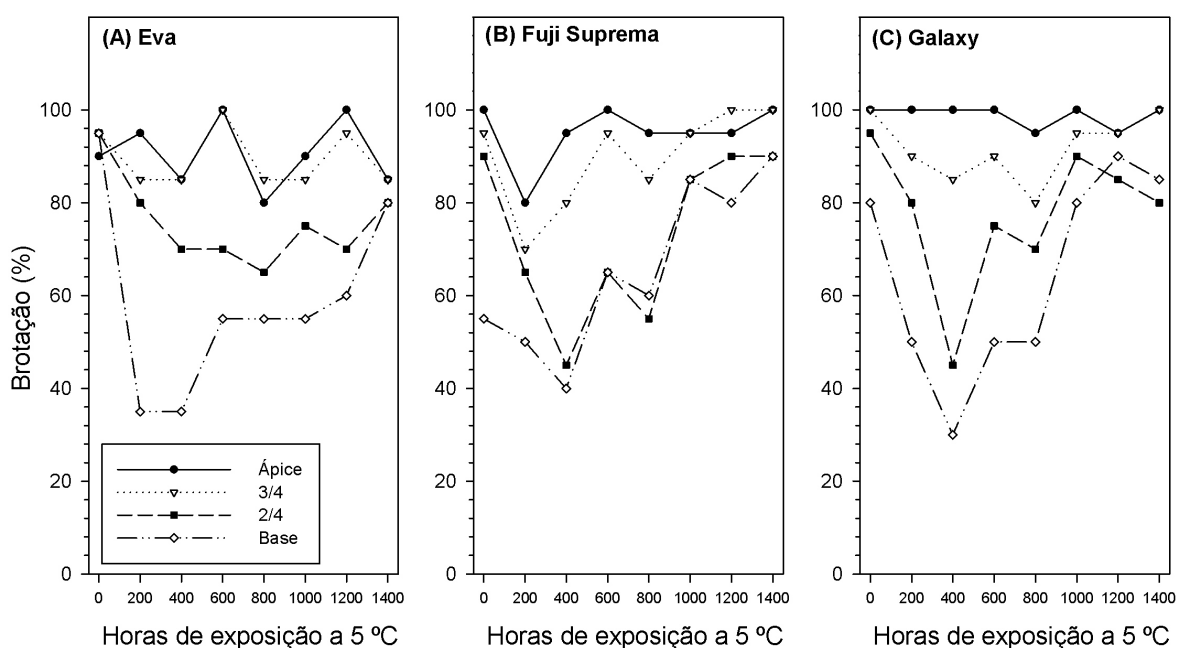


Figura 11 – Brotação de estacas de gema isolada do ápice, 3/4, 2/4 e base de ramos de três cultivares de macieira (Eva, Fuji Suprema e Galaxy) expostos até 1400 horas a 5 °C. Barras verticais representam a diferença mínima significativa de Tukey ($p=0,05$) para comparação entre cultivares (C), entre posições (P) e entre horas de exposição a 5 °C (H). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Em geral, a porção apical do lenho apresenta valores iguais ou superiores de concentração de proteínas solúveis, atividade de alfa-amilase, AR, AST, ASNR, amido e menores ou iguais TMB que a base. Na porção apical é que ocorre o predomínio de brotação em falta de frio (ARORA et al., 2003). Também, é no ápice que se observa aumento de concentrações de açúcares e proteínas ao avançar a exposição ao frio seguido pela redução na base, o que sugere a ocorrência de migração. Outro resultado que suporta a migração é o aumento na concentração de AST e ASNR no ápice mesmo sem ocorrer degradação de amido, enquanto na base, ocorre forte degradação de amido mas os incrementos de AST e ASNR são baixos.

Diferenças entre TMB de ápice e base reduzem com a exposição ao frio. Em níveis altos (1400 horas) o gradiente de TMB no ramo tornou-se não significativo ($p \leq 0,05$). O efeito benéfico do frio, em altos níveis, pode ser considerado por permitir

que todas as gemas no ramo brotem com pouca variação de tempo entre si, e conseqüentemente, evitando a paradormência.

A exposição ao frio (5 °C) apresentou declínio na capacidade de brotação quando expostos a 200-400 horas, com aumento do TMB para as três cultivares, principalmente pelo aumento do TMB da porção apical dos ramos (Figura 10), seguida pela baixa capacidade de brotação das estacas na porção basal (Figura 11). A redução da viabilidade para brotação na base coincide com reduções observadas entre a coleta de campo (0 hora) e 400 horas na concentração de proteínas (Figura 3), AST (Figura 7), ASNR (Figura 8) e amido (Figura 9). Apesar da redução da capacidade de brotação sugerir a associação a restrição de carboidratos e proteínas solúveis em ramos destacados (Experimento 2), esse comportamento não foi observado em ramos coletados nas condições de campo (Experimento 3).

O período de 200-400 horas de frio apresentou efeitos deletérios a brotação das estacas principalmente em 'Fuji Suprema' e 'Galaxy'. Concordando com Putti et al. (2003) que observaram menores taxas de brotação em cultivares com maiores necessidades de frio. Os primeiros períodos de acúmulos de frio forçam a transição de paradormência (condição de campo em junho) para endodormência, assim as coletas sem exposição ao frio (0 hora) brotam com maior facilidade após a retirada das folhas e remoção de estratos superiores, quando se elimina a paradormência. Esse período é caracterizado pelo ajuste do metabolismo para a sobrevivência na estação fria, como a redução de sólidos solúveis (proteínas e açúcares) para reduzir conseqüentemente a hidratação dos tecidos.

4.3 EXPERIMENTO 3

O TMB para a cultivar Eva (Figura 12) foi menor para a porção do ápice em todas as coletas de 2012 (abril-agosto) e 2013 (abril-julho). Os picos de dormência, referem-se as coletas com máximo TMB, ocorreram entre o final de junho e meados de julho em 2012 com TMB máximos de 21 dias na base e 16,6 dias no ápice (Figura 12A). Em 2013, foi observado pico de dormência somente para a base no final de junho, com TMB de 19,7 dias, enquanto no ápice o maior valor observado foi de 12,9 dias (Figura 12B). O percentual de brotação das estacas foram altos, próximos a 100% na maioria das coletas, exceto nas últimas coletas próximo ao estágio de PV em que os valores reduziram até 70% de brotação (Figura 12C e D). Os picos de dormência coincidiram com as datas com alta desfolha (60 a 100%) (Figura 12E e F) e com períodos de alto acúmulo de frio (Figura 12G e H). Dessa forma, também pode se observar diferenças nas dinâmicas da dormência entre os anos, principalmente em 2013, quando o ápice permaneceu em endodormência superficial.

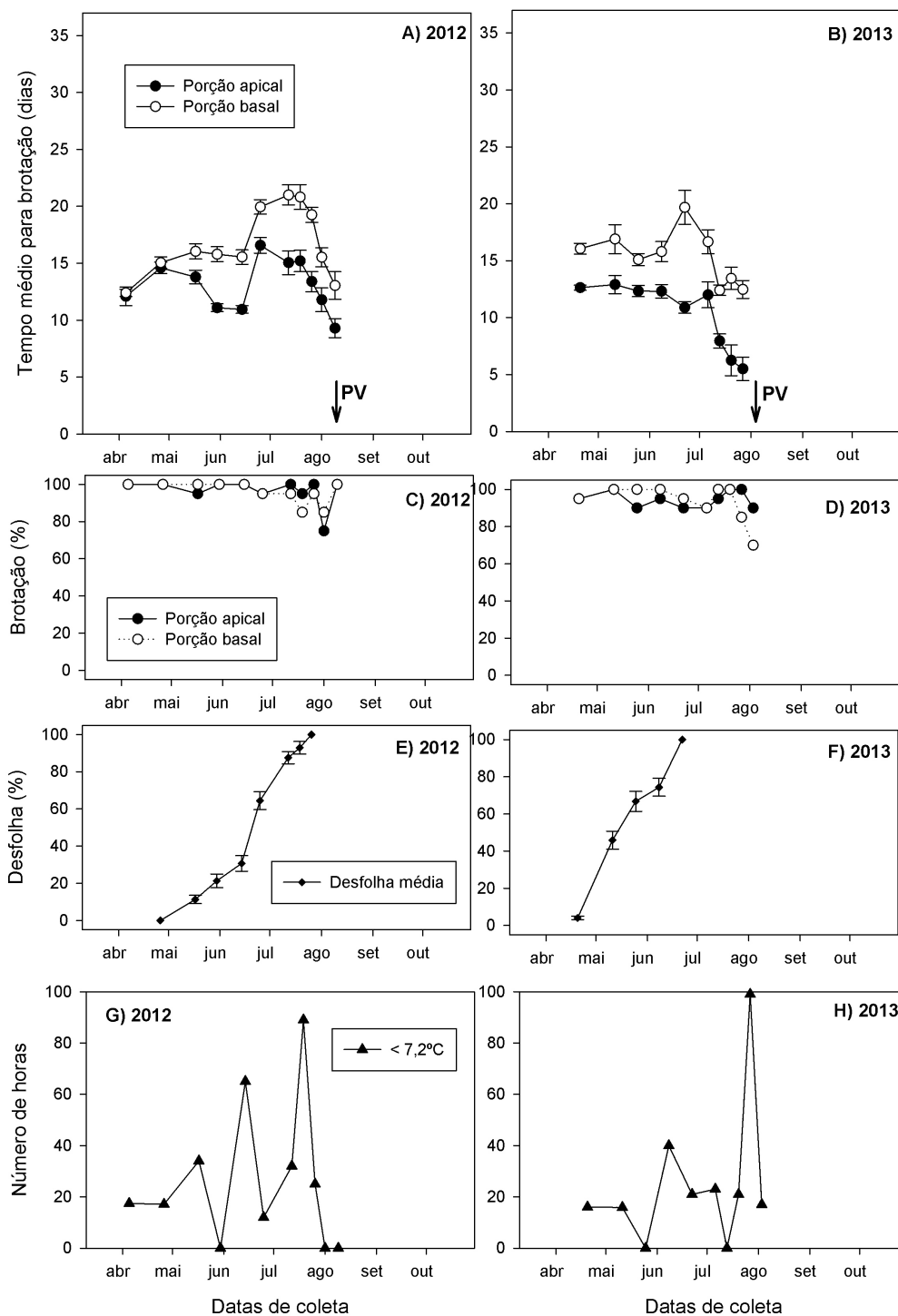


Figura 12 – Tempo médio de brotação (A, B) e percentagem de brotação (C, D) de gemas vegetativas laterais na porção apical e basal de ramos de macieira Eva, desfolha (E, F) e número de horas abaixo de 7,2 °C entre coletas (G, H) realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Para a cultivar Fuji Suprema, o TMB, em 2012 e 2013, para o ápice foi menor ou igual ao da base (Figura 13). Em 2012, o pico de endodormência ocorreu no final de julho não diferindo entre ápice (TMB = 27,0) e base (TMB = 28,6). Nesse ano, o pico coincidiu com o máximo acúmulo de frio entre coletas (89 HF) e com a desfolha total (100%). Após essa data (19/07/2012), acúmulos de frio foram insignificantes, possivelmente predominou o acúmulo de calor, favorecendo a brotação e reduzindo o TMB.

Em 2013, não houve um único ponto que possa ser considerado o pico de endodormência. Entretanto, algumas coletas se destacam pela combinação de alto TMB acompanhado pela redução de percentual de brotação. Como no começo de julho (06/07/2013) quando o ápice apresentou TMB de 17,8 dias e 50% de brotação e a base com TMB de 24 dias e brotação de 60%, e novamente, no final de julho (27/07/2013), com TMB do ápice igual a 17,3 dias e brotação de 70% e TMB de base igual a 22 dias e brotação de 5%. Também, o final de julho coincidiu com o máximo acúmulo de frio entre coletas (99 HF). A partir de agosto, os TMB reduziram e os percentuais de brotações aumentaram.

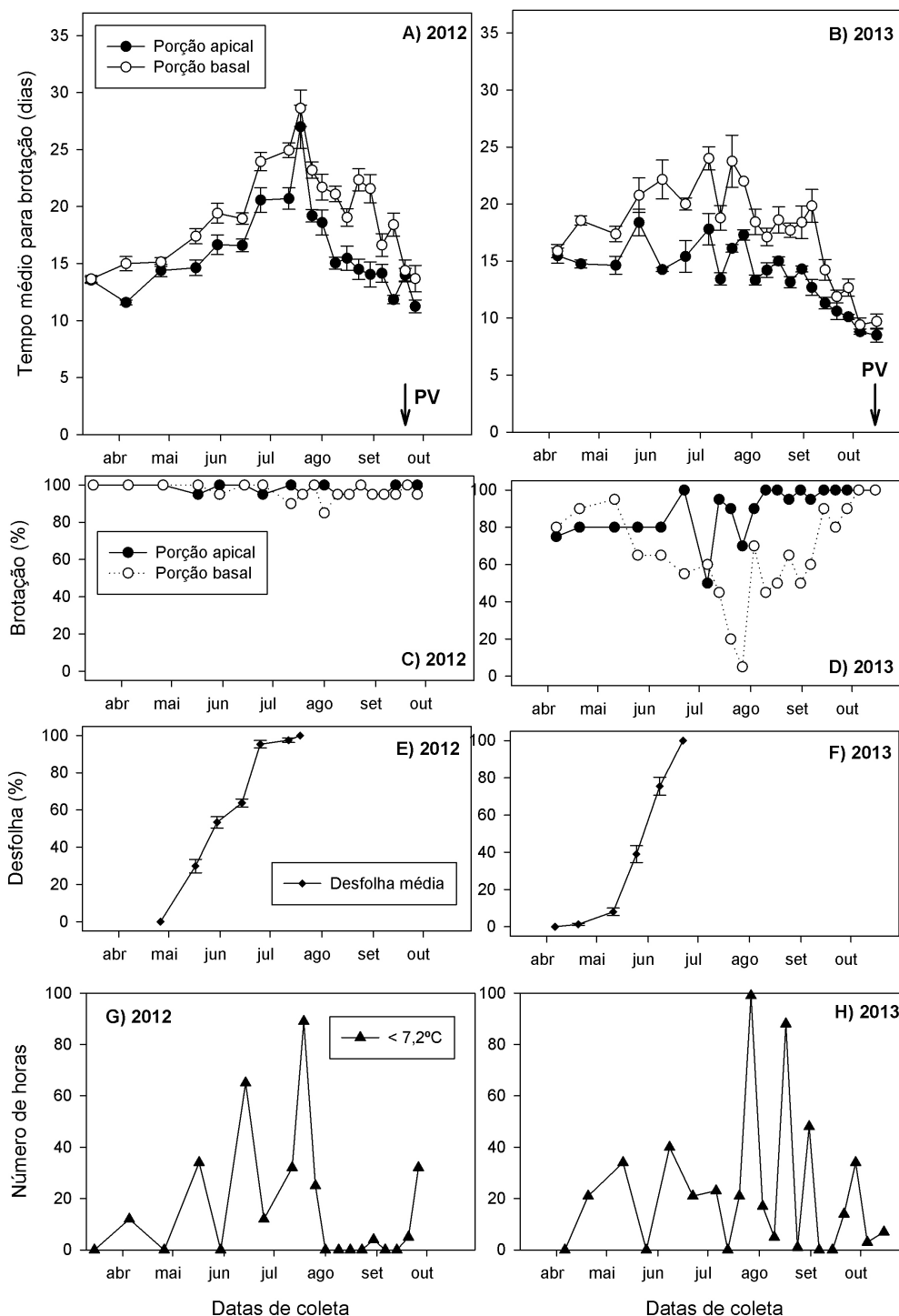


Figura 13 – Tempo médio de brotação (A, B) e percentagem de brotação (C, D) de gemas vegetativas laterais na porção apical e basal de macieira Fuji Suprema, desfolha (E, F) e número de horas abaixo de 7,2 °C entre coletas (G, H) realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

A cultivar Galaxy apresentou comportamento distinto entre 2012 e 2013 (Figura 14). Em 2012, as brotações foram altas (85 a 100%), o ápice apresentou apenas um pico de endodormência (19/07/2012) com TMB igual a 24 dias e brotação de 95%, enquanto a base apresentou valores máximos entre 12/07/2012 e 01/08/2012 com TMB igual a 25,6 dias e brotação de 95%. Esse período coincide com o máximo acúmulo de frio entre coletas (89 HF) e desfolha total (100%). A coleta realizada em março (15/03/2012) apresentou valores de TMB maiores que em abril (05/04/2012), esse fato pode ser associado ao período de paradormência.

Em 2013, não houve um único pico de endodormência. O maior TMB foi observado no final de maio (25/05/2013) para ápice (TB = 22,6) e base (TMB = 29,0) sem reduzir bruscamente a brotação (80%). Apesar de apresentarem TMB menores que observados no final de maio, destaca-se as coletas realizadas no início (06/07/2013) e final de julho (27/07/2013) pela combinação de TMB alto (> 19,5 dias) e baixa brotação (\leq 45%).

A irregularidade observada no comportamento do TMB para 'Galaxy' em 2013 esta relacionada com as alternâncias de temperaturas observadas nesse mesmo período. Observa-se que até a terceira coleta ocorreu 55 HF acumuladas (Figura 14H) o que induziu a entrada em endodormência. Entre a terceira e quarta coleta não ocorreu acúmulo de frio, sendo observado temperaturas relativamente altas para o período, induzindo a um aumento do TMB (Figura 14B).

Nas condições de campo, de forma geral, os picos de endodormência ocorrem próximo a julho. Isso também foi observado por Carvalho e Zanette (2004) com 'Imperial Gala' em Porto Amazonas-PR, região de baixo acúmulo de frio (< 400 HF). Os picos também coincidem com o período de queda de folha, como observado por Hauagge e Cummins (1991a), e precedidos por grande acúmulo de frio. O TMB, novamente, foi menor para ápice de que para a base.

As variações entre 2012 e 2013, nas condições de campo, referem-se ao regime de ocorrência de frio. Em 2012, predominou o acúmulo de frio entre abril e agosto, seguido por baixa ocorrência de frio, distinguindo-se os períodos de acúmulo de frio e de calor. Em 2013, o acúmulo de frio ocorreu predominantemente entre agosto e setembro. Além de ocorrer mais tardiamente que em 2012, o acúmulo de frio foi muito irregular. Esse comportamento irregular de acúmulo de frio, segundo

PETRI et al. (1996), é responsável pelo atraso da brotação, como foi observado para 'Fuji Suprema' e 'Galaxy', em torno de 4 semanas.

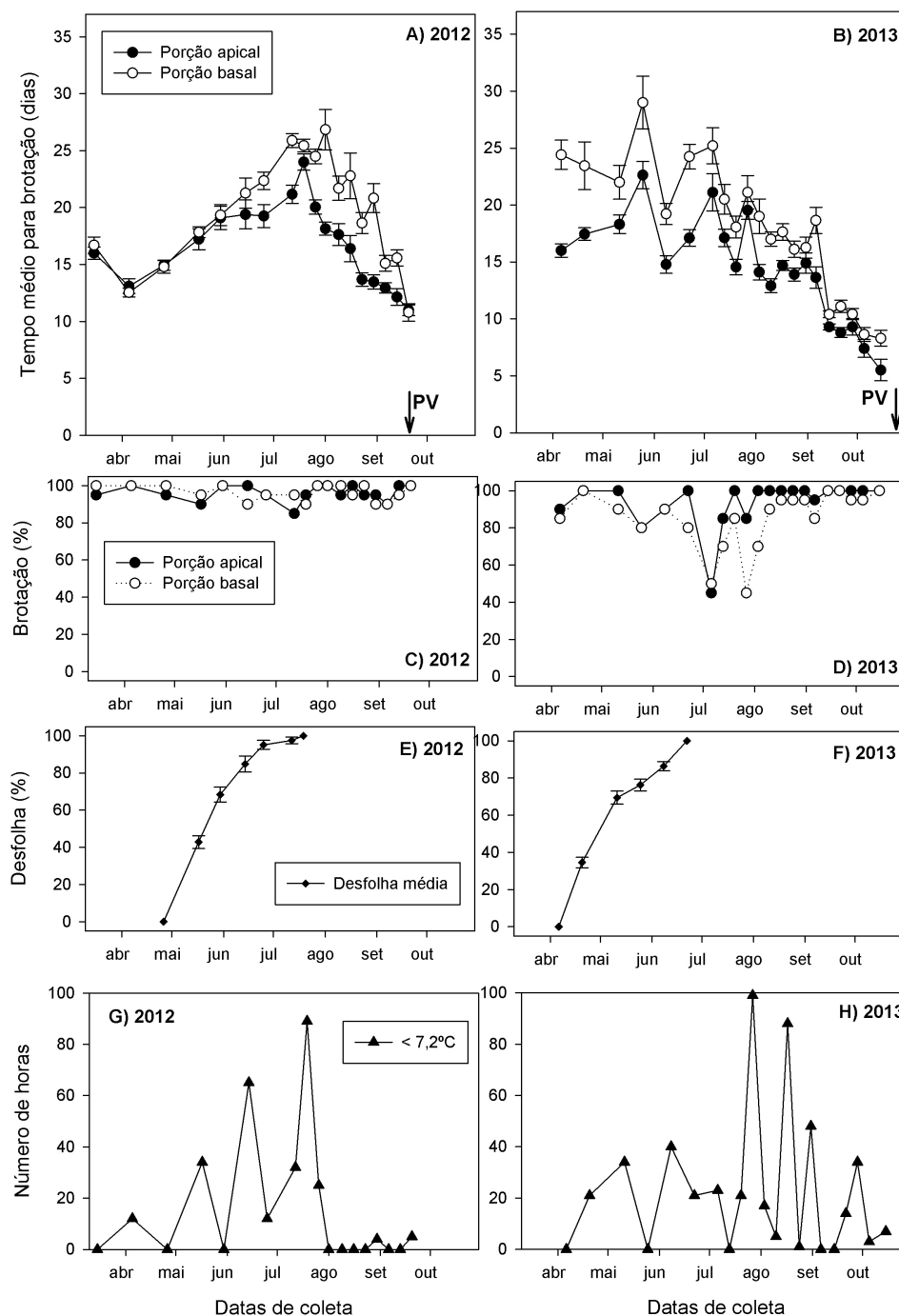


Figura 14 – Tempo médio de brotação (A, B) e percentagem de brotação (C, D) de gemas vegetativas laterais na porção apical e basal de ramos de macieira Galaxy, desfolha (E, F) e número de horas abaixo de 7,2 °C entre coletas (G, H) realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

De forma geral, em 2012, a dinâmica de dormência se comportou semelhante a uma curva normal como determinado em outros estudos em clima temperado com cultivares de média e alta necessidade de frio (MAUGET, 1982; HAUAGGE; CUMMINS, 1991a; HERTER et al., 1993; CITADIN et al., 2009). Enquanto em 2013, o ápice de 'Eva' permaneceu em dormência superficial, semelhante ao apresentado por sua genitora 'Anna' (HAUAGGE; CUMMINS, 1991a), isso pode ter ocorrido por não haver frio suficiente na entrada do inverno para induzir a entrada em endodormência.

Segundo Anzanello (2012), ondas de calor, acima de 36 horas, durante a endodormência anulam parte do frio acumulado, isso pode ser observado em 'Fuji Suprema' e 'Galaxy', o comportamento em 2013 se distinguiu de 2012 por não apresentar um único pico de dormência. Observou-se, em 2012, um comportamento típico de TMB para as cultivares estudadas, com redução inicial seguido de aumento até ponto máximo com decréscimo posterior. Neste ano, observou-se também condição mais homogênea no inverno, com menor flutuação térmica e maior acúmulo de frio, seguido, na saída da dormência, por temperaturas mais quentes (Figura 14G). Já em 2013, há anormalidade no gráfico de TMB para as três cultivares, principalmente para 'Galaxy', esse fato pode ser explicado pela maior flutuação térmica ocorrida, observado pela alternância no acúmulo de frio (Figura 14H). Observa-se ainda que o maior acúmulo de frio em 2012 ocorreu até início de agosto, enquanto que em 2013 ocorreu após início de agosto. Em consequência desse comportamento climático, em 2013, para 'Fuji Suprema' e 'Galaxy' o estágio de PV apresentou atraso de aproximadamente 4 semanas em relação a 2012.

Para proteínas, nas três cultivares, há tendência de maiores concentrações nos lenhos do ápice e maiores concentrações em 2013. A cultivar Eva apresentou aumento de proteínas durante o inverno com forte tendência de redução próximo ao estágio de PV (Figura 15 A, B). A cultivar Fuji Suprema apresentou comportamento semelhante à 'Eva' (Figura 16 A, B). Houve aumento de proteínas durante o inverno com máximos valores em agosto, exceto para base em 2013, quando o pico ocorreu antes (julho), e após essas datas há tendência de redução. A cultivar Galaxy apresentou valores máximos em agosto (2012) para ápice, e em julho (2012 e 2013)

para base, com redução após essas datas. O ápice em 2013 apresentou valores constantes entre maio e agosto com aumento em setembro (Figura 17A e B).

A atividade da alfa-amilase tem comportamento semelhante ao das proteínas, os valores são maiores para os lenhos do ápice e maiores em 2013. A Atividade da alfa-amilase para a cultivar Eva foi constante em 2012 e 2013 com leve tendência de redução próximo ao estágio de PV (Figura 15C e D). Na 'Fuji Suprema' foi observado incremento de atividade no ápice em 2012 entre maio e setembro e em 2013 entre maio e agosto seguido por redução, para os lenhos da base os valores permanecem constantes (Figura 16C e D). Na 'Galaxy', os valores de atividade são constantes no ápice e base em 2012, constantes na base em 2013 e no ápice entre maio e agosto de 2013. O aumento de atividade ocorreu em setembro de 2013 para o ápice (Figura 17C e D).

A relação alfa-amilase/proteínas apresentou valores entre 0,01 a 0,02 U μg^{-1} de proteína (Figura 15, Figura 16, Figura 17, E e F). Observou-se constância dessa relação, independentemente de ano e de cultivar. A tendência de aumentar a relação com avanço na exposição do frio, como observado na base do ramo destacado (Experimento 2: Figura 5), não ocorreu nas condições de campo.

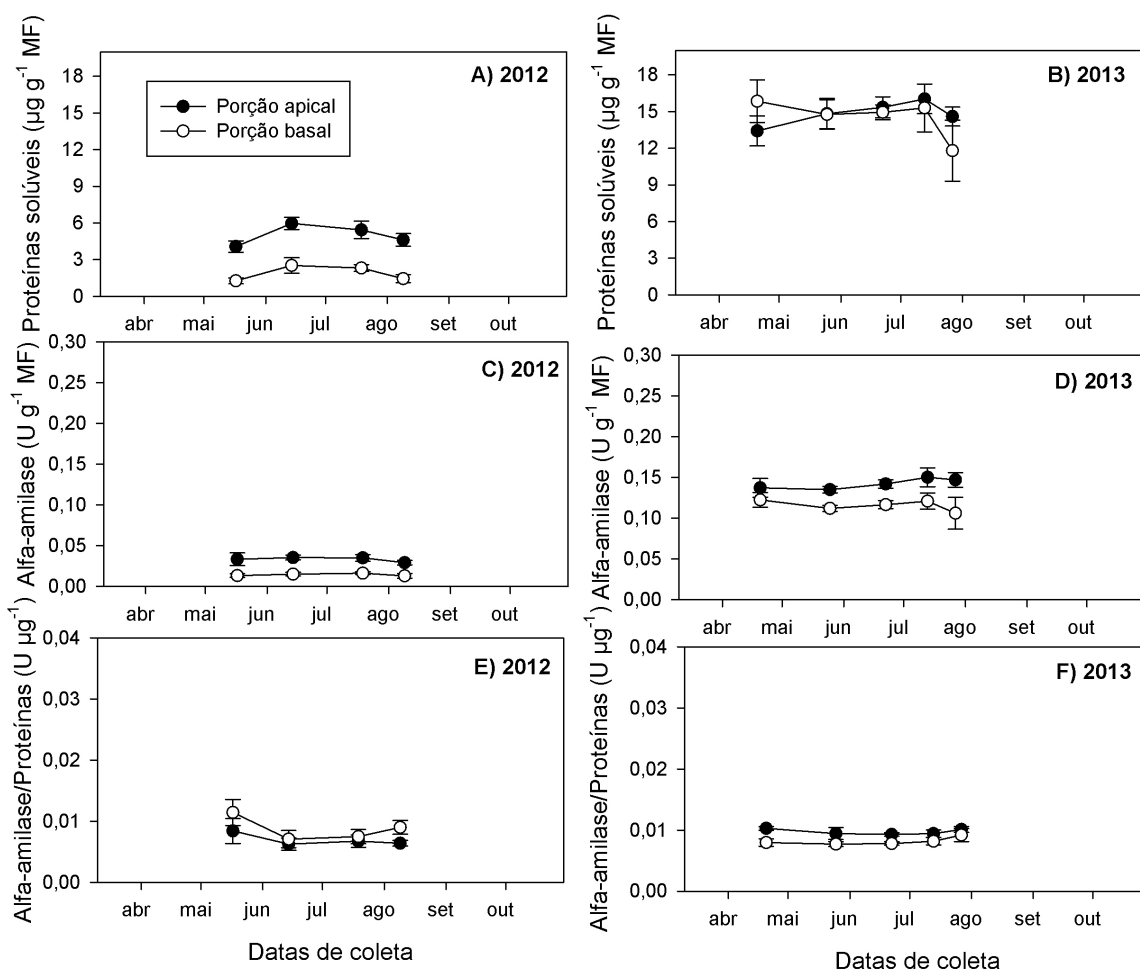


Figura 15 – Concentração de proteínas (A, B), atividade da alfa-amilase (C, D) e relação alfa-amilase/proteínas (E, F) na porção apical e basal de ramos de macieira Eva em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

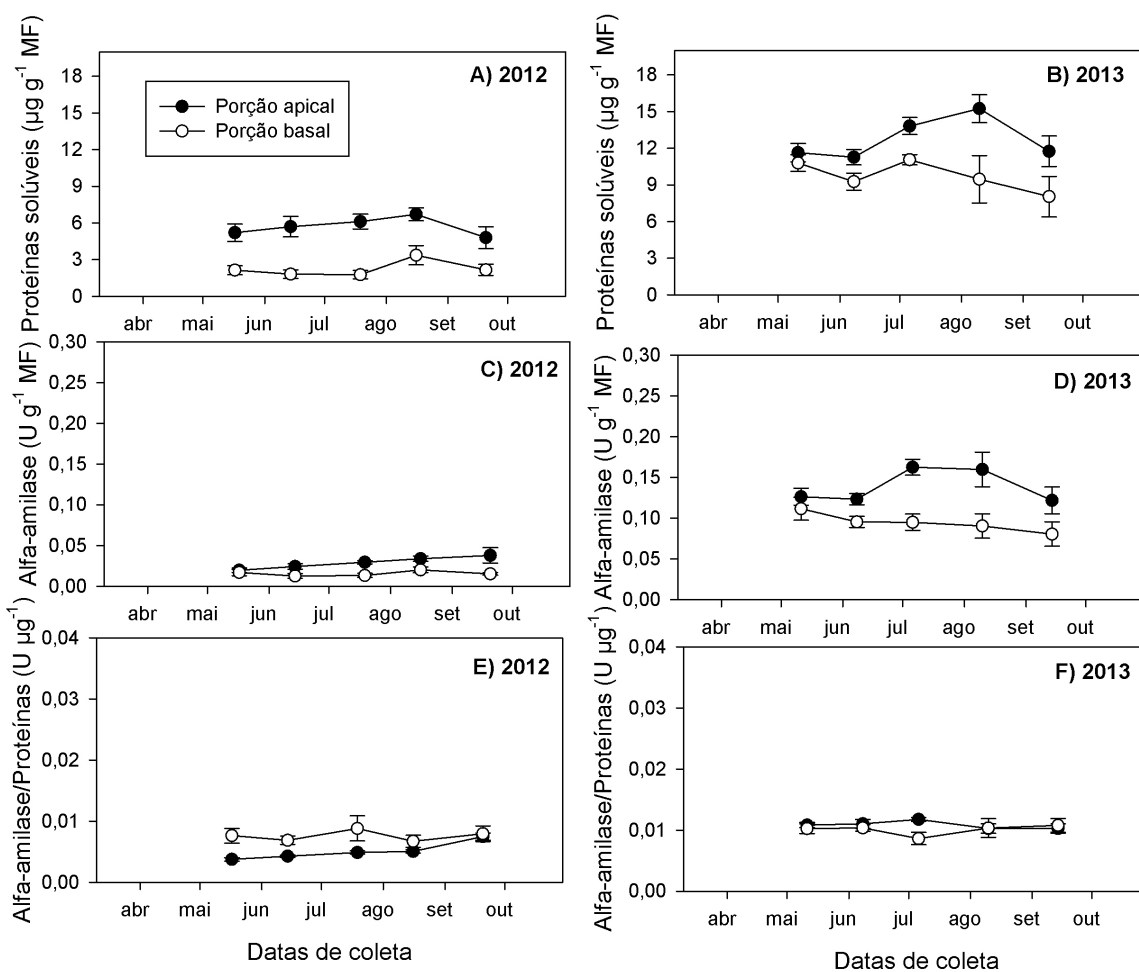


Figura 16 – Concentração de proteínas (A, B), atividade da alfa-amilase (C, D) e relação alfa-amilase/proteínas (E, F) na porção apical e basal de ramos de macieira Fuji Suprema em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

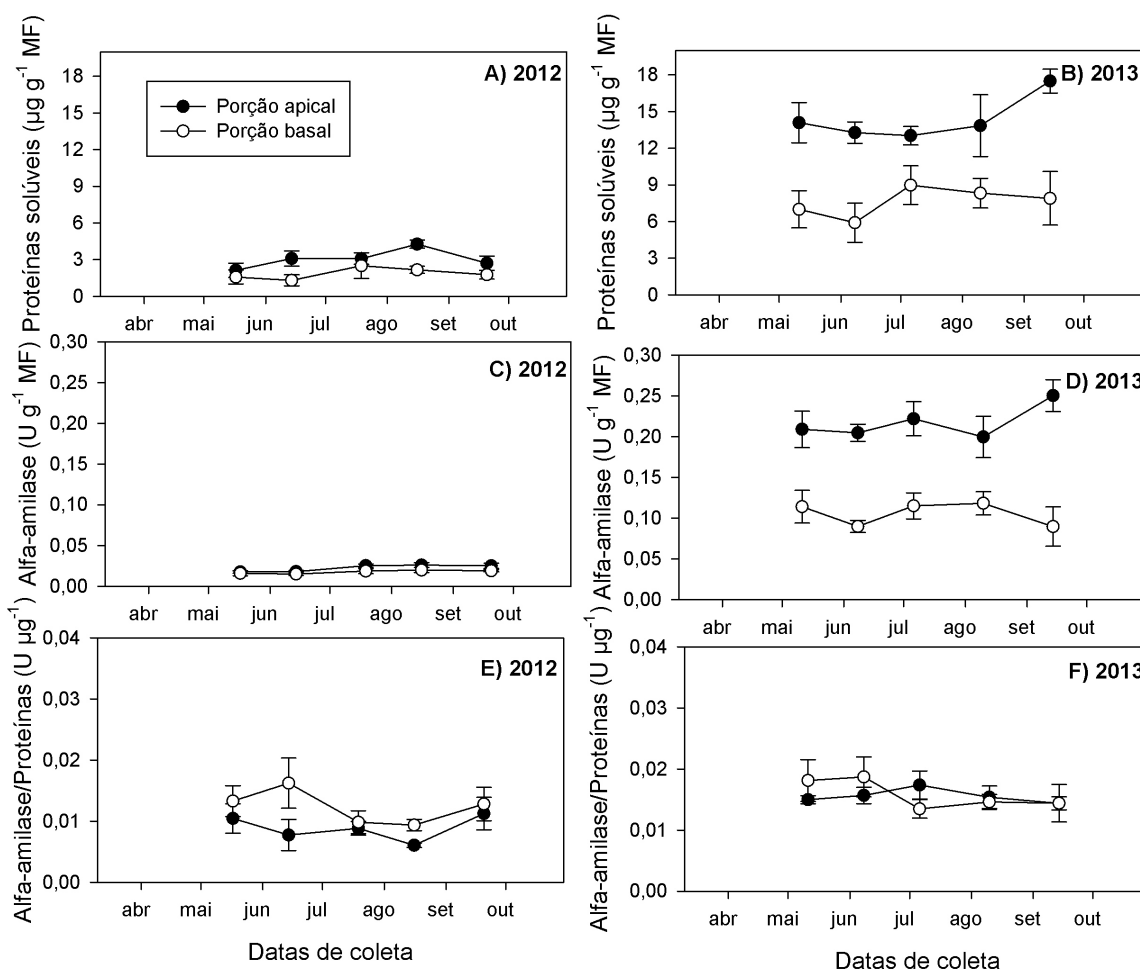


Figura 17 – Concentração de proteínas (A, B), atividade da alfa-amilase (C, D) e relação alfa-amilase/proteínas (E, F) na porção apical e basal de ramos de macieira Galaxy em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

Na análise de carboidratos (Figura 18, Figura 19, Figura 20), 'Eva' apresentou concentrações iguais ou superiores no ápice em relação a base dos ramos (Figura 18). Os AR, em 2012 para 'Eva', não apresentaram variações significativas, mantendo-se entre 9 a 12 mg g⁻¹, enquanto em 2013 os valores entre maio e julho eram próximos a 6 mg g⁻¹ e em agosto aumentou bruscamente no ápice (12 mg g⁻¹). Assim, em ambos os anos, mesmo com dinâmicas diferentes, a concentração final de AR eram semelhantes em datas próximas ao estágio de PV. Isso também se aplica aos AST e ASNR, em que as maiores concentrações são encontradas nos ápices e concentrações semelhantes entre os anos foi observada próximo ao estágio

de PV. Em 2012, houve tendência de redução dos açúcares solúveis e aumento de amido (ressíntese) no ápice em final de julho. Enquanto em 2013, o aumento de açúcares solúveis foi em função da degradação de amido observada em julho. Em 2012, a UP se manteve alta, sendo maior para o ápice, enquanto em 2013, há pouca diferença entre posições de tecido e aumento considerável entre abril a julho.

Para 'Fuji Suprema' e 'Galaxy', em 2012, apresentaram comportamento semelhante entre si. O AR tende a reduzir entre maio e agosto e aumentar em setembro. Há um pico de AST e ASNR em julho, principalmente para o ápice, seguido pelo aumento de UP. Para 'Fuji Suprema' houve também a redução de amido nessa data e coincide com o pico de TMB. Em setembro, ocorre a degradação do amido nos ápices de 'Fuji Suprema' e 'Galaxy' e máxima UP (Figura 13 e Figura 14).

Em 2013, há menor concentração de AST e ASNR de que em 2012, principalmente no ápice, no qual ocorre aumento em julho seguido pelo aumento de UP. A partir de julho, ocorre redução do AST e ASNR e ressíntese de amido em setembro seguido pela redução de UP, sendo a UP da base igual ou superior à do ápice (Figura 13 e Figura 14).

As alternâncias de temperatura principalmente após o mês de agosto induzem a variações na degradação e ressíntese de amido, conseqüentemente, ocorrem variações na disponibilidade de açúcares solúveis. A maior disponibilidade de açúcares solúveis aumentou a UP do lenho dos ramos. Por outro lado, redução dos açúcares solúveis, ocasionado pela ressíntese de amido, provoca redução na UP. Esse comportamento é relacionado com o mecanismo de proteção contra o frio, que em clima temperado ocorre predominantemente no início do inverno. Mas em condições de clima subtropical, observou-se variação entre anos devido ao comportamento climático indefinido.

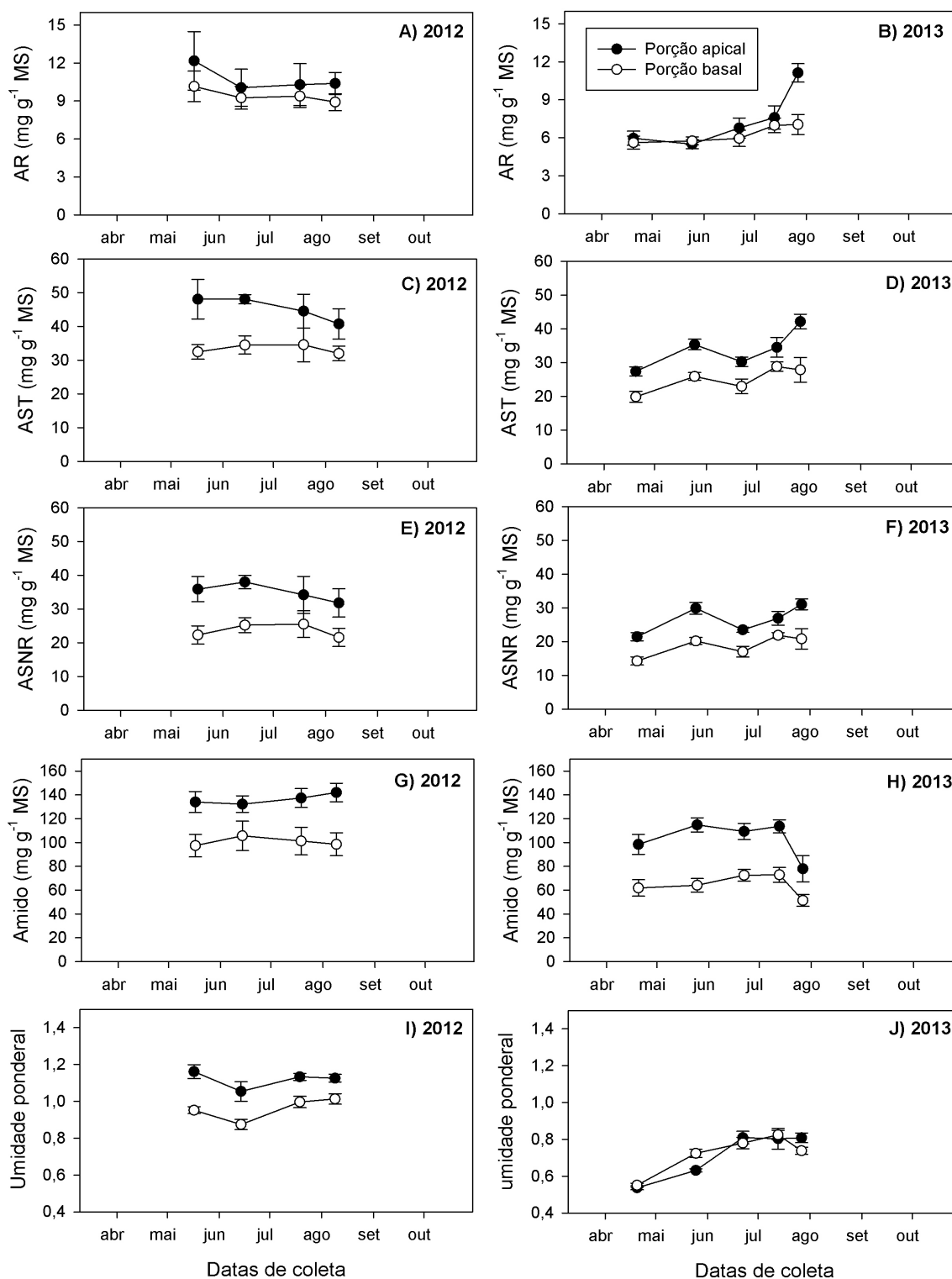


Figura 18 – Concentração de açúcares redutores (A, B), açúcares solúveis totais (C, D), açúcares não-redutores (E, F), amido (G, H) e umidade ponderal (I, J) na porção apical e basal de ramos de macieira Eva em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

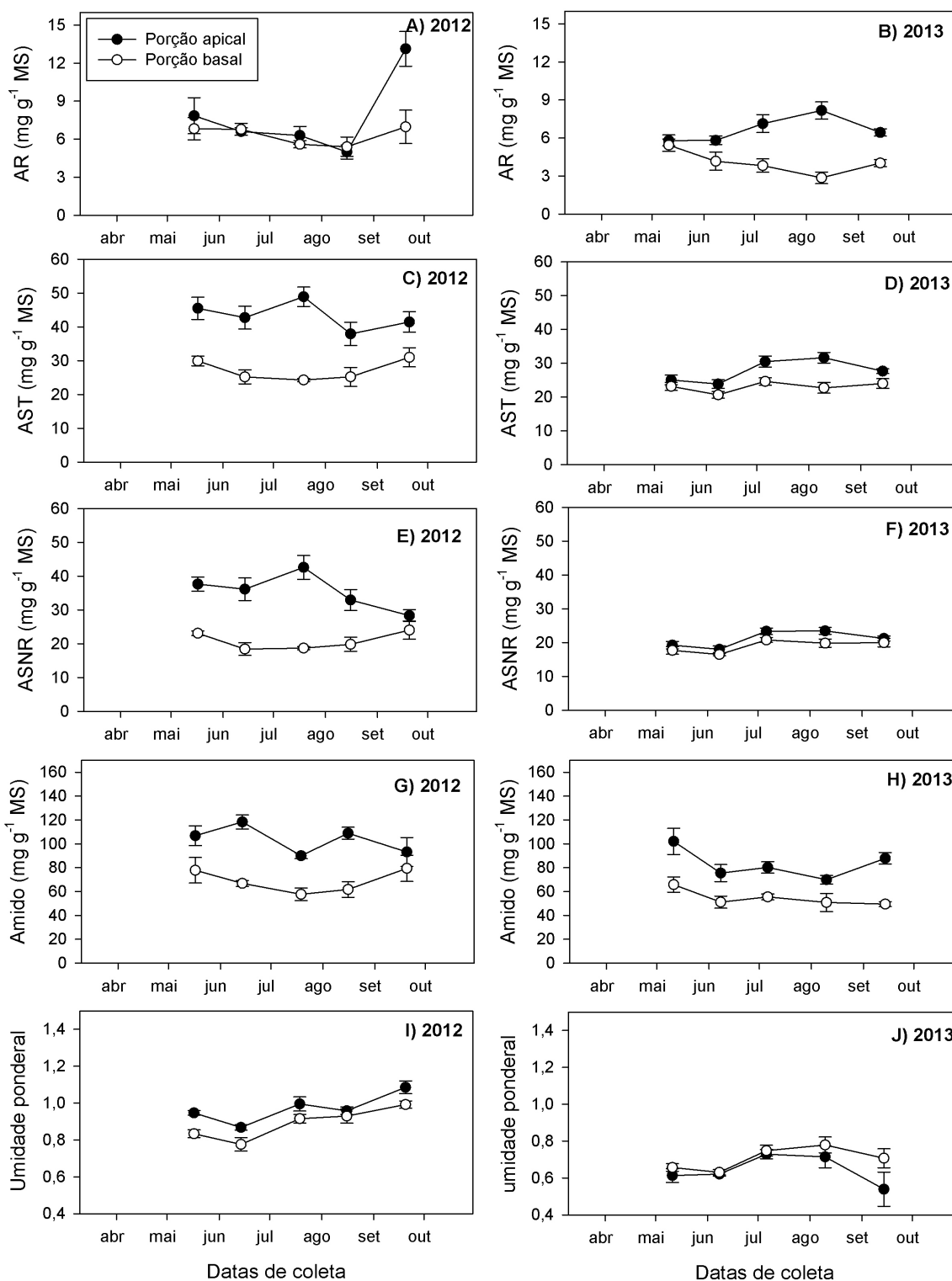


Figura 19 – Concentração de açúcares redutores (A, B), açúcares solúveis totais (C, D), açúcares não-redutores (E, F), amido (G, H) e umidade ponderal (I, J) na porção apical e basal de ramos de macieira Fuji Suprema em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

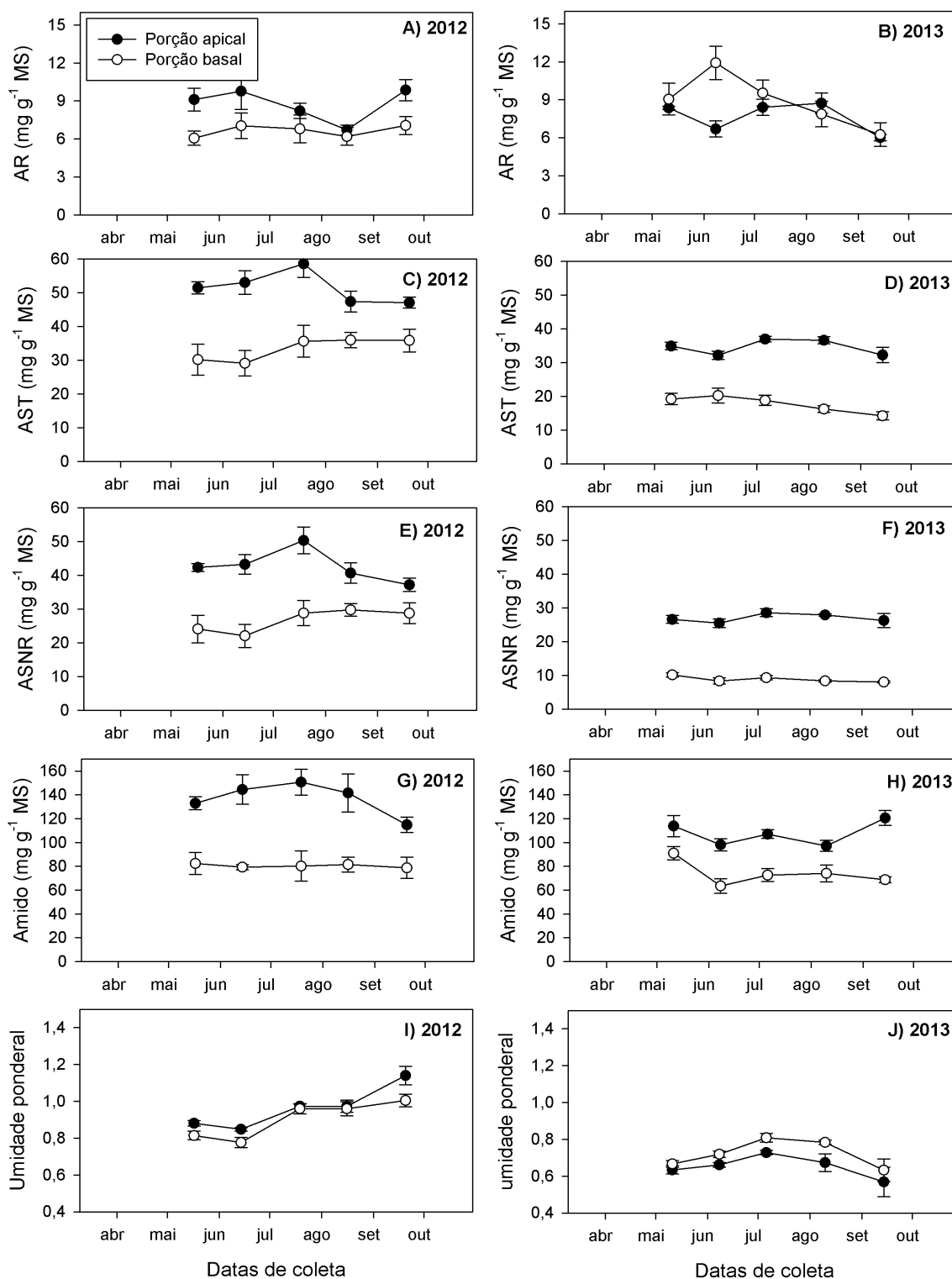


Figura 20 – Concentração de açúcares redutores (A, B), açúcares solúveis totais (C, D), açúcares não-redutores (E, F), amido (G, H) e umidade ponderal (I, J) na porção apical e basal de ramos de macieira Galaxy em coletas realizadas nos anos de 2012 e 2013. Barras verticais representam o erro padronizado (n=5). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2014.

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os experimentos, conclui-se que:

- O teste de Tabuenca (1964) pode ser aplicado como indicador de final de endodormência. Entre as cultivares estudadas, 'Eva' apresenta menor exigência de frio. As cultivares Fuji Suprema e Galaxy são equivalentes.
- A brotação da macieira ocorre em gradiente ao longo do ramo, com maior capacidade de brotação nas gemas laterais do ápice. Em elevada exposição ao frio este deixa de ser significativo.
- A porção apical do lenho de ramos apresenta teores de proteínas solúveis, AST, AR, ASNR, amido e atividade de alfa-amilase maiores que na porção basal.
- Com o avanço na exposição ao frio ocorre aumento da atividade da alfa-amilase.
- A ocorrência de acúmulo de frio irregular promove a ressíntese de amido, redução da UP e atraso na brotação.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes biológicos podem ser empregados em condições subtropicais. Seus resultados servem de base para comparar condições distintas entre cultivares, ambientes e tecidos. Sugere-se, em trabalhos futuros, a utilização de técnicas de quantificação de açúcares por HPLC para determinar o perfil dos carboidratos solúveis. Também seria importante a quantificação em outros tecidos como a gema e a casca dos ramos para poder compor um modelo geral do comportamento da dormência em nossas condições (subtropical). Para caracterizar de forma contundente o fluxo de carboidrato no ramo do ano (brindila) de macieira durante a dormência, sugere-se quantificar também a atividade da enzima invertase ácida, principalmente nas gemas, que caracterizarão o poder de dreno desse órgão. Outra possibilidade seria quantificar o teor sorbitol no lenho e a atividade da enzima sorbitol desidrogenase. Sugere-se também quantificar a atividade da enzima sacarose fosfato sintase (SPS) que pode estar relacionada com o fluxo de sacarose da base para o ápice.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G.; MIO, L. L. M.; ZANETTE, F.; OLIVEIRA, M. C. Ferrugem do pessegueiro e seu efeito na desfolha e na concentração de carboidratos em ramos e gemas. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 5, p. 370-376, 2008.
- AMÉGLIO, T.; BODET, C.; LACOINTE, A.; COCHARD, H. Winter embolism, mechanisms of xylem hydraulic conductivity recovery and springtime growth patterns in walnut and peach trees. **Tree Physiology**, Oxford, v. 22, n. 17, p. 1211-1220, 2002.
- ANZANELLO, R. **Fisiologia e modelagem da dormência de gemas de macieira**, 2012. 281 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
- ARORA, R.; ROWLAND, L. J.; TANINO, K. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: A science comes of age. **HortScience**, Alexandria, v. 38, n. 5, p. 911-921, 2003.
- ATKINSON, C. J.; BRENNAN, R. M.; JONES, H. G. Declining chilling and its impact on temperate perennial crops. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 91, p. 48-62, 2013.
- BALANDIER, P.; GENDRAUD, M.; RAGEAU, R.; BONHOMME, M.; RICHARD, J. P.; PARISOT, E. Bud break delay on single node cuttings and bud capacity for nucleotide accumulation as parameters for endo- and paradormancy in peach trees in a tropical climate. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 55, p. 249-261, 1993.
- 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. Thèse (Doctorat en Physiologie Végétale) - Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, 1998.
- BOTELHO, R. V.; AYUB, R. A.; MÜLLER, M. M. L. Somatória de horas de frio e de unidades de frio em diferentes regiões do estado do Paraná. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 89-96, 2006.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BYRNE, D. H.; SHERMAN, W. B.; BACON, T. A. Stone fruit genetic pool and its exploitation for growing under warm winter conditions. In: **Temperate Fruit Crops in Warm Climates**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 2000. p. 157-230.
- CAMILO, A. P.; DENARDI, F. Cultivares: Descrição e comportamento no Sul do Brasil. In: **A Cultura da Macieira**. 2 ed.. Florianópolis: EPAGRI, 2006. p. 113-168.
- 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**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 65-68, 2004.

CHAGAS, E. A.; CHAGAS, P. C.; PIO, R.; et al. Produção e atributos de qualidade de cultivares de macieira nas condições subtropicais da região leste paulista. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 10, p. 1764-1769, 2012.

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**, Elmsford, 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 da noqueira (*Juglans regia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 305-313, 2009.

CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. CD

CLINE, M. G. Concepts e terminology of apical dominance. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 84, n. 9, p. 1064-1069, 1997.

COUVILLON, G. A.; EREZ, A. Effect of level and duration of high temperatures on rest in the peach. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, n. 4, p. 579-581, 1985.

DOMAGALSKA, M. A; LEYSER, O. Signal integration in the control of shoot branching. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, London, v. 12, n. 4, p. 211-221, 2011.

EGEA, J.; ORTEGA, E.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, P.; DICENTA, F. Chilling and heat requirements of almond cultivars for flowering. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 50, n. 1, p. 79-85, 2003.

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

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 10/1/2014.

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.

FUCHIGAMI, L. H.; WISNIEWSKI, M. E. Quantifying bud dormancy: Physiological approaches. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 4, p. 618-623, 1997.

GHARIANI, K.; STEBBINS, R. L. Chilling requirements of apple and pear cultivars. **Fruit Varieties Journal**, University Park, v. 48, n. 4, p. 215-222, 1994.

GIANFAGNA, T. J.; MEHLENBACHER, S. A. Importance of heat requirement for bud break and time of flowering in apple. **HortScience**, Alexandria, v. 20, n. 5, p. 909-911, 1985.

GUERRIERO, R. L'évolution de l'accroissement des bourgeons a fleur pendant la période de la dormance. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 85, p. 419-440, 1981.

GUIMARÃES, J. C. **Liberção da dormência e dinâmica de carboidratos em gemas de videiras Niagara Rosada (*Vitis labrusca* L.) em região tropical**, 2013. 74 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2013.

GUY, C. Cold acclimation and freezing stress tolerance: Role of protein metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, n. 1, p. 187-223, 1990.

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, 1991a.

HAUAGGE, R.; CUMMINS, J. N. Phenotypic variation of length 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, 1991b.

HAUAGGE, R.; CUMMINS, J. N. Age, growing temperatures, and growth retardants influence induction and length of dormancy in *Malus*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 116, n. 1, p. 116-120, 1991c.

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.

HERTER, F. G.; MAUGET, J. C.; RAGEAU, R.; BONHOMME, M. Effet d'un court séjour à température élevée (45 °C) sur la levée de dormance des bourgeons de pommiers privés de froid. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, Paris, v. 316, n. 3, p. 315-321, 1993.

HORVATH, D. P.; ANDERSON, J. V.; CHAO, W. S.; FOLEY, M. E. Knowing when to grow: Signals regulating bud dormancy. **Trends in Plant Science**, London, v. 8, n. 11, p. 534-540, 2003.

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

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10/1/2014.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 10/1/2014.

KIDDLE, K. W. Apple Tree - Galaxy Cultivar. **United State Patent nº 6955**, 1989.

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.; PETEL, G.; 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**, Budapest, v. 12, n. 4, p. 15-19, 2006.

LOPES, P. R. C.; OLIVEIRA, I. V. D. M.; SILVA-MATOS, R. R. S.; CAVALCANTE, Í. H. L. Caracterização fenológica, frutificação efetiva e produção de maçãs 'Eva' em

clima semiárido no nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1277-1283, 2012.

MALAGI, G.; LEGAVE, J. M. A comparison between two forcing tests for determining the end of apple bud endodormancy. In: XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura. **Anais...** p. 2652-2655, 2012.

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.

MAUGET, J. C. Relation entre dormance et précocité de débourrement des bourgeons du noyer (*Junglans regia* L.): Influence du génotype et du milieu. II Colloque sur les Recherches Fruitières. **Anais...** p. 95-106, 1982.

MCKENZIE, D. W. Apple Tree - Kidd's D-8 Variety. **United State Patent nº 3637**, 1974.

MEIER, U.; GRAF, H.; HACK, H.; et al. Phänologische Entwicklungsstadien des Kernobstes (*Malus domestica* Borkh. und *Pyrus communis* L.), des Steinobstes (*Prunus*-Arten), der Johannisbeere (*Ribes*-Arten) und der Erdbeere (*Fragaria x ananassa* Duch.)—Codierung und Beschreibung nach der erweiterten BB. **Nachrichtenbl Dtsch. Pflanzenschutzdienst**, Berlin, v. 46, p. 141-153, 1994.

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.; LEITE, G. B. Macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 1-3, 2008.

PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; COUTO, M.; FRANCESCOTTO, P. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 48-56, 2011.

PETRI, J. L.; PALLADINI, L. A.; POLA, A. C. Dormência e indução de brotação da macieira. In: **A cultura da macieira**. 2 ed. Florianópolis: EPAGRI, 2006. p. 261-298.

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.

POLA, A. C.; BLEICHER, J.; BERNARDI, J. Avaliação de modelos de unidades e horas de frio para a previsão do início de brotação em macieira, cv. Gala. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 105-108, 1994.

PUTTI, G. L.; MENDEZ, M. E.; PETRI, J. L. Unidades de frio e de calor para a brotação de macieira (*Malus domestica*, Borck.), 'Gala' e 'Fuji'. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 6, n. 3, p. 194-196, 2000.

PUTTI, G. L.; PETRI, J. L.; MENDEZ, M. E. Efeito da intensidade do frio no tempo e percentagem de gemas brotadas em macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 199-202, 2003.

RAGEAU, R. Croissance et débourrement des bourgeons végétatifs de pêcher au cours d'un test classique de dormance. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, Paris, v. 287, Série D, p. 1119-1122, 1978.

RAPILLARD, C.; DESSIMOZ, A. Different mutants de Gala. **Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture**, Nyon, v. 32, n. 4, p. 233-237, 2000.

RIBEIRO, A. K. S.; LOPES, P. R. C.; OLIVEIRA, V. M.; SILVA-MATOS, R. R. S.; SANTOS, L. T. S.; PARENTE, A. G. Fenologia e frutificação efetiva da macieira 'Condessa' no Vale do São Francisco. XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura. **Anais...** p. 3582-3585, 2012.

ROBERTO, S. R.; KAGUEYAMA, M. H.; SANTOS, C. E. Indução da brotação da macieira 'Eva' em região de baixa incidência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 128-130, 2006.

RUIZ, D.; CAMPOY, J. A.; EGEEA, J. Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 61, p. 254-263, 2007.

SAMISH, R. M. Dormancy in woody plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 5, n. 1, p. 183-204, 1954.

SCHRADER, S.; SAUTER, J. J. Seasonal changes of sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase activities in poplar wood (*Populus × canadensis* Moench "robusta") and their possible role in carbohydrate metabolism. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, n. 8, p. 833-843, 2002.

SIVACI, A. Seasonal changes of total carbohydrate contents in three varieties of apple (*Malus sylvestris* Miller) stem cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 109, n. 3, p. 234-237, 2006.

TABUENCA, M. C. Necesidades de frío 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.

TABUENCA, M. C. Necesidades de frío invernal de variedades de albaricoquero. **Anales de la Estación Experimental de Aula Dei**, Zaragoza, v. 9, p. 10-24, 1967a.

TABUENCA, M. C. Necesidades de frío invernal de variedades de ciruelo. **Anales de la Estación Experimental de Aula Dei**, Zaragoza, v. 8, p. 383-391, 1967b.

WEGRZYN, T.; REILLY, K.; CIPRIANI, G.; et al. A novel α -amylase gene is transiently upregulated during low temperature exposure in apple fruit. **European Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 267, n. 5, p. 1313-1322, 2000.

WEINBERGER, J. H. Chilling requirements of peach varieties. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, p. 122-128, 1950.

WIBBE, M.; BLANKE, M.; LENZ, F. Respiration of apple trees between leaf fall and leaf emergence. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 34, n. 1, p. 25-30, 1994.

WITT, W.; BUCHHOLZ, A.; SAUTER, J. J. Binding of endoamylase to native starch grains from poplar wood. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 46, n. 292, p. 1761-1769, 1995.

YOSHIOKA, H.; NAGAI, K.; AOBA, K.; FUKUMOTO, M. Seasonal changes of carbohydrates metabolism in apple trees. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 36, n. 3-4, p. 219-227, 1988.

