

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Área de Concentração em Fruticultura de Clima Temperado



Tese

**Efeito do frio na brotação e níveis de prolina em macieiras e uso de indutores
na quebra de dormência em pereira**

Everton Sozo de Abreu

Pelotas, 2019

Everton Sozo de Abreu
Engenheiro Agrônomo

**Efeito do frio na brotação e níveis de prolina em macieiras e uso de indutores
na quebra de dormência em pereira**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência (área de concentração: Fruticultura de Clima Temperado).

Orientador: Prof. Dr. Flavio Gilberto Herter
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Celso de Mello Farias
Coorientador: Prof. Dr. Juliano Dutra Schmitz
Coorientador: Prof. Dr. Fabiano Simões

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

A162e Abreu, Everton Sozo de

Efeito do frio na brotação e níveis de prolina em macieiras e uso de indutores na quebra de dormência em pereira / Everton Sozo de Abreu ; Flavio Gilberto Herter, orientador. — Pelotas, 2019.

61 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Malus domestica. 2. Pyrus spp. 3. Falta de frio. 4. Formação de mudas. 5. Dormência. I. Herter, Flavio Gilberto, orient. II. Título.

CDD : 634

Everton Sozo de Abreu

Efeito do frio na brotação e níveis de prolina em macieiras e uso de indutores na quebra de dormência em pereira

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 29 de julho de 2019.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Celso de Mello Farias
Departamento de Fitotecnia,
FAEM/UFPeI

Prof. Dr^a Débora Leitzke Betemps
Universidade Federal da Fronteira Sul
- UFFS

Prof. Dr. Valmor João Bianchi
Instituto de Biologia, Departamento de
Botânica/UFPeI

Dr. Mateus da Silveira Pasa
Departamento de Fitotecnia,
FAEM/UFPeI

Agradecimentos

Aos meus pais Adelar e Genecy, que formaram quem eu sou e me apoiaram em todos os momentos desta caminhada.

Às minhas irmãs Eliandre e Juliane, pela amizade e amor em todos os momentos.

À minha noiva Tuane Araldi da Silva, pelo amor e companheirismo, sempre estando ao meu lado me apoiando.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade de realização deste doutorado.

Ao professor Flavio Gilberto Herter pela orientação e confiança a mim depositada durante a realização deste trabalho.

Aos coorientadores Paulo Celso de Mello Farias, Juliano Schmitz e Fabiano Simões pelo apoio na realização dos trabalhos e pelos conhecimentos passados.

Aos colegas Bruno Carra, Maximiliano Dini e Daniel Spagnol, grandes amigos que sempre pude contar com a ajuda e se tornaram irmãos que irei levar para a vida.

Ao professor Luciano do Amarante e a Angelita Celente pelo auxílio na realização deste trabalho.

Aos colegas da fruticultura pelo coleguismo e amizade durante estes anos.

A todos os demais professores, pesquisadores e funcionários do PPGA, principalmente aos professores Márcia Schuch e Marcelo Malgarim.

A todos bolsistas e estagiários da fruticultura que prestaram apoio quando necessário.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa.

E a todos que de alguma forma ou de outra prestaram apoio e foram de grande importância para a realização deste trabalho.

A vocês dedico minha sincera gratidão.

Muito obrigado!

“A vida não dá e nem empresta, não se comove e nem se apieda. Tudo quanto ela faz é retribuir e transferir aquilo que nós lhe oferecemos”. (Albert Einstein)

Resumo

Abreu, Everton Sozo de. **Efeito do frio na brotação e níveis de prolina em macieiras e uso de indutores na quebra de dormência em pereira.** 2019. 61f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O cultivo de frutíferas de clima temperado representa um importante seguimento do agronegócio brasileiro, porém diversos obstáculos devem ser superados para promover o desenvolvimento deste setor. Um dos principais entraves para estas culturas está relacionado as condições de inverno ameno encontradas no Brasil, onde a falta de frio hibernal pode acarretar diversos distúrbios às plantas, prejudicando o desenvolvimento, e conseqüentemente a produtividade e qualidade. Desse modo o presente estudo teve como objetivo estudar aspectos relacionados a brotação de plantas frutíferas de clima temperado e o aminoácido prolina como marcador da superação da dormência. Para tal foram realizados três estudos. No primeiro capítulo foi abordado a brotação para formação de mudas de macieiras 'Eva' e 'Maxi Gala', submetidas a 260, 596 e 932 horas de frio. Foi observado que o maior acúmulo de horas de frio ocasionou diminuição no tempo para brotação e maior brotação em um padrão acropetal, enquanto baixo acúmulo de horas de frio ocasionou brotação esparsa em macieiras 'Gala'. O segundo capítulo foi composto de dois experimentos com o objetivo de avaliar os níveis do aminoácido prolina em gemas dormentes de macieiras 'Eva' e 'Gala'. No primeiro experimento foi determinada a prolina em gemas de ramos submetidos a frio artificial para avaliar os níveis deste aminoácido durante a dormência. A prolina reduziu a níveis baixos após serem submetidos a frio e, após o cessamento deste, houve aumento nos níveis de prolina momentos antes da brotação. No segundo experimento foi avaliado os níveis de prolina em gemas de mudas de macieira após estas serem submetidas a regimes térmicos contrastantes. Quando submetidas a 260 horas de frio, os níveis de prolina permanecerem inalterados em ambas cultivares. Quando submetidas a 596 e 932 horas de frio, os níveis de prolina aumentaram próximo ao momento da brotação. Assim, o aminoácido prolina pode ser um marcador do final da dormência em gemas de macieira. O terceiro capítulo avaliou a brotação e o tempo médio de brotação de estacas de pereira 'Hosui' tratadas com os indutores de brotação cianamida hidrogenada, óleo mineral, cianamida hidrogenada com óleo mineral e Erger submetidas a diferentes regimes térmicos. Os indutores de brotação diminuíram o tempo para brotação e aumentaram a porcentagem de brotação, sendo a cianamida hidrogenada e cianamida hidrogenada com óleo mineral mais efetivo para superação da dormência. Os resultados obtidos permitem concluir que as condições ambientais podem interferir na brotação e formação de plantas de macieira e pereira bem como técnicas para mitigar os efeitos da falta de frio devem ser utilizados, como o uso de cultivares com baixo requerimento em frio e indutores de brotação.

Palavras-chave: *Malus domestica*; *Pyrus spp*; falta de frio; formação de mudas; dormência.

Abstract

Abreu, Everton Sozo de. **Effect of chilling on budbreak and proline levels in apple trees and use of budbreak promoters in pear trees.** 2019. 61f. Thesis (Doctorate degree) – Post-Graduate Program in Agronomy. Federal University of Pelotas, Pelotas.

The cultivation of temperate fruits crops represents an important section of the Brazilian agribusiness, but several obstacles must be overcome to promote the development of this sector. One of the main obstacles for these crops is related to the mild winter conditions found in Brazil, where the lack of winter chilling can cause several disturbances to the trees, harming the development, and consequently, yield and quality of these orchards. Thus, this work aimed to study aspects related to the budbreak of temperate fruit trees. Three studies were carried out. In the first chapter, budbreak for formation of 'Eva' and 'Maxi Gala' apple nursery trees was approached when they were submitted to 260, 596 and 932 chilling hours. Higher accumulation of chilling hours caused a decrease in the time for budbreak, greater budbreak in an acrotony pattern, while low accumulation of chilling hours caused sparse budbreak in 'Gala' trees. The second chapter was composed of two experiments with the objective of evaluating amino acid proline levels in apple dormant buds of 'Eva' and 'Gala' cultivars. In the first experiment, proline was determined in buds of branches subjected to artificial chilling to evaluate the levels of this amino acid during dormancy. Proline reduced to low levels after being subjected to cold and, after its cessation, there was an increase in proline levels just moment before budbreak. In the second experiment, proline levels in apple tree buds were evaluated after being subjected to contrasting thermal regimes. When subjected to 260 chilling hours, proline levels remained unchanged in both cultivars. When submitted to 596 and 932 chilling hours, proline levels increased close to budbreak. Thus, amino acid proline may be a marker of dormancy in dormant buds. The third chapter evaluated the budbreak and the average budbreak time of 'Hosui' pear cuttings treated with budbreak promoters hydrogen cyanamide, mineral oil, hydrogen cyanamide with mineral oil and Erger submitted to different thermal regimes. Budbreak promoters decreased budbreak time and increased budbreak rate with hydrogen cyanamide and hydrogen cyanamide with mineral oil being more effective in overcoming dormancy. Results obtained allow to conclude that the environmental conditions can interfere in apple and pear tree architecture and techniques to mitigate the effects of the lack of chilling should be used, such as the use of cultivars with low chilling requirement and budbreak promoters.

Keywords: *Malus domestica*; *Pyrus spp*; lack of chilling; nursery trees formation; dormancy.

Lista de Figuras

Capítulo I

Figura 1 – Número médio de gemas laterais de diferentes tipos em macieiras 'Eva' e 'Gala' submetidas a diferentes condições de frio para superação da dormência.....20

Figura 2 – Brotação relativa de gemas prolépticas em diferentes porções do ramo de macieiras 'Eva' (A, B e C) e 'Gala' (D, E e F) submetidas a 260 (A e D), 596 (B e E) e 932 (C e F) horas de frio para superação da dormência.....22

Capítulo II

Figura 1 – Tempo médio de brotação para brotação de estacas de uma gema de macieira das cultivares Eva (A) e Gala (B) submetidas a diferentes tratamentos de horas de frio.....30

Figura 2 – Brotação relativa de estacas de uma gema de macieira das cultivares Eva (A) e Gala (B) submetidas a diferentes tratamentos de horas de frio.....31

Figura 3 – Níveis de prolina livre, expressa em mmol g^{-1} de massa fresca (MF) presente nos tecidos de gemas de macieiras das cultivares Eva (A) e Gala (B) submetidas a diferentes tratamentos de horas de frio.....32

Figura 4 – Níveis de prolina livre, expressa em mmol g^{-1} de massa fresca (MF) presente nos tecidos de gemas de macieiras 'Eva' (A, C e E) e 'Gala' (B, D e F), nas porções distal e proximal de plantas, submetidas a 260 (A e B), 532 (C e D) e 960 horas de frio (E e F).....38

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1 – Tempo médio para brotação de gemas (dias) após o tratamento de frio de macieiras 'Eva' e 'Gala' submetidas a diferentes condições de frio para superação da dormência.....	18
---	----

Capítulo II

Tabela 1 – Acúmulo de horas de frio abaixo de 7,2 °C, dia de instalação do tratamento (DIT), dia da avaliação final (DAF), primeira coleta para determinação de prolina (PCDP) e avaliação da brotação (AB) dos respectivos tratamentos.....	35
Tabela 2 – Porcentagem de brotação nas porções distal e proximal de macieiras 'Eva' e 'Gala' submetidas a diferentes horas de frio.....	39

Capítulo III

Tabela 1 – Porcentagem de brotação de pereiras 'Hosui' submetidas a diferentes períodos de frio e indutores de brotação.....	46
Tabela 2 – Tempo médio de brotação (dias após a aplicação dos tratamentos) de pereiras 'Hosui' submetidas a diferentes períodos de frio e indutores de brotação.....	48

Sumário

1. Introdução Geral	10
2. Capítulo I – Brotação de mudas de macieira com diferentes requerimentos em frio hibernar em regimes térmicos contrastantes	14
2.1. Introdução	14
2.2. Materiais e métodos	15
2.3. Resultados e discussão	18
3. Capítulo II – Níveis de prolina em gemas dormentes e seu potencial como marcador da dormência em macieiras	25
3.1. Introdução	25
3.2. Experimento 1	27
3.2.1. Material e métodos	27
3.2.2. Resultados e discussão	29
3.3. Experimento 2	33
3.3.1. Material e métodos	34
3.3.2. Resultados e discussão	36
3.4. Conclusões	42
4. Capítulo III – Indutores de brotação em diferentes condições de acúmulo de frio em pereiras ‘Hosui’	43
4.1. Introdução	43
4.2. Material e métodos	44
4.3. Resultados e discussão	46
4.4. Conclusões	48
5. Considerações finais	50
Referências	52

1. Introdução Geral

O Brasil é 3º maior produtor mundial de frutas, onde no ano de 2017 foram produzidas aproximadamente 43,5 milhões de toneladas destes produtos (KIST et al., 2018). Apenas uma pequena parte desta produção diz respeito a fruticultura de clima temperado (FACHINELLO et al., 2011), porém esta representa uma fatia considerável do valor das exportações efetuadas pelo país, sendo de grande importância para a balança comercial brasileira (ABRAFRUTAS, 2018).

No mundo, a macieira (*Malus domestica* Borkh.) é a principal frutífera de clima temperado cultivada, com uma produção mundial de 83 milhões de toneladas em uma área de 4,9 milhões de hectares no ano de 2017 (FAOSTAT, 2019). No Brasil, assim como em nível mundial, essa cultura representa a principal frutífera de clima temperado, sendo o 11º maior produtor deste fruto no ano de 2017, com uma produção de 1,3 milhões de toneladas em uma área de 33 mil hectares (FAOSTAT, 2019).

Por outro lado, a cultura da pereira (*Pyrus spp*), apesar da considerável produção mundial (24 milhões de toneladas), sua produção no Brasil é insipiente, abastecendo apenas 10% do consumo interno com uma produção de 22 mil toneladas em 1,3 mil hectares (FAOSTAT, 2019). Desse modo, grande parte da fruta é importada, demandando um gasto de 143 milhões de dólares no ano de 2016 (FAOSTAT, 2019).

A pomicultura brasileira se concentra principalmente nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, os quais produziram 638 mil e 578 mil toneladas de maçã respectivamente no ano de 2017 (IBGE, 2019). A cultura da macieira no Brasil é bastante recente, tendo seu início na década de 1970 (PETRI et al., 2011). Atualmente, nos pomares brasileiros, há predominância das cultivares dos grupos 'Gala' e 'Fuji', sendo os clones de coloração vermelha intensa os mais utilizados

(PETRI et al., 2011). Desse modo, a pomicultura brasileira é realizada com cultivares de médio/alto requerimento em frio hibernal para superação da dormência, as quais não são totalmente adaptadas ao inverno ameno do sul do Brasil (POMMER e BARBOSA, 2009).

O cultivo de frutíferas de clima temperado necessita de condições climáticas ideais para o pleno desenvolvimento das plantas (RETAMALES, 2011). Para o cultivo das principais cultivares de macieira utilizadas no Brasil, é ideal que haja o mínimo de 900 horas de frio abaixo de 7,2°C para que haja a superação da dormência (MATZENAUER et al., 2005; MATZENAUER et al., 2007). Porém, no estado do Rio Grande do Sul, existem duas regiões preferenciais ao cultivo da macieira, as quais se caracterizam por apresentarem entre 400 a 600 horas de frio e necessidade de superação de dormência artificial, e marginais a estas, regiões onde o cultivo da macieira seria tolerado com o uso de cultivares de baixo requerimento em frio (MALUF et al., 2011). O município de Vacaria, principal produtor deste fruto no Estado, se enquadra neste grupo, o qual apresenta média de 657 horas de frio abaixo de 7,2°C (CARDOSO et al., 2012), enquanto a segunda região preferencial está localizada na serra do sudeste do Rio Grande do Sul. A região do município de Pelotas, segundo Maluf et al. (2011), apesar do reduzido número de horas de frio, pode ter o cultivo da macieira tolerado, onde o município de Capão do Leão apresenta em média 307 horas de frio abaixo de 7,2°C (EMBRAPA, 2019). Desse modo, apesar do potencial produtivo destas regiões, a falta de frio hibernal pode modificar a dinâmica da dormência, diminuindo a intensidade da brotação das plantas conforme a região de cultivo, ano e cultivar (PETRI e LEITE, 2004).

A arquitetura das plantas é resultado do equilíbrio entre fatores endógenos e exógenos (BARTHÉLÉMY e CARAGLIO, 2007), onde as condições ambientais podem exercer grande influência (COOK; JACOBS, 1999). Desse modo a falta de condições ambientais adequadas para o desenvolvimento de frutíferas de clima temperado pode trazer inúmeras anomalias fisiológicas às plantas, tais como o “erratismo” de brotação primaveril e impedimento da acrotonia, o que implica em desordens na arquitetura das plantas e consequente diminuição do potencial produtivo dos pomares (PETRI e LEITE, 2004; PETRI et al., 2006; COOK, 2010; MAGUYLO et al. 2012; SCHMITZ et al., 2014).

As temperaturas durante o período hibernal têm grande efeito na distribuição das ramificações ao longo do eixo principal, onde plantas que tiveram suas

necessidades de frio completamente satisfeitas tendem a ter uma brotação acrópeta, o qual é de grande importância para a formação da arquitetura (COOK et al., 1998), enquanto plantas com déficit de frio hibernar tendem a ter suas brotações concentradas na parte inferior do ramo principal (SCHMITZ et al., 2014). Desse modo, além de interferir temporalmente na brotação (GUÉDON; LEGAVE, 2008; VITASSE et al., 2011), regimes térmicos também podem influenciar fortemente a arquitetura das plantas, interferindo na formação das mudas (COOK et al., 1998; SCHMITZ et al., 2014; SCHMITZ et al., 2015).

Temperatura e disponibilidade de água são importantes fatores para o desenvolvimento de espécies frutíferas de clima temperado (ANDREINI et al., 2012). A água constitui a maior parte dos tecidos das plantas e tem papel direto com a retomada de crescimento após o período de dormência, pois promove a hidrólise de substâncias de reservas e a atividade de enzimas (De FAÏ et al., 2000). Desse modo, o conteúdo de água pode ser considerado um dos indicadores da atividade metabólica das gemas (MARAFON et al., 2011), além de ser um bom marcador do potencial de brotação, mesmo antes do início desta (LEITE et al., 2006).

A prolina é um aminoácido relatado como de grande importância para plantas em condições de estresse hídrico (FUMIS; PEDRAS, 2002; LIMA et al., 2004; MARIN et al., 2005). Além disso, a prolina tem relação com a resposta aos mais variados tipos de estresses como salinização, altas e baixas temperaturas, toxicidade por metais pesados, infecção de patógenos, anaerobiose, deficiência nutricional, poluição atmosférica e radiação ultravioleta (HARE; CRESS, 1997), onde através da regulação osmótica, este aminoácido teria função protetiva aos tecidos vegetais (LIU; ZHU, 1997). Entre as funções da prolina podemos citar a osmoregulação, estabilização estrutural de membranas e como um estoque de carbono, nitrogênio e energia (KISHOR et al., 2005). Alguns autores citam um possível papel da prolina na superação da dormência em frutíferas de clima temperado (BEN MOHAMED et al., 2010), enquanto outros trabalhos citam aumento nos níveis deste aminoácido em plantas tratadas com indutores de brotação (SEIF EL-YAZAL; RADY, 2013; SEIF EL-YAZAL et al., 2014). Assim, a prolina pode desempenhar papel como um marcador do potencial de brotação em plantas de clima temperado.

Dentre as alternativas para superar as limitações impostas devido as condições ambientais, se destaca em um primeiro momento o uso de cultivares com

baixo requerimento em frio e adaptadas as condições da região (POMMER; BARBOSA, 2009). Em condições de inverno ameno, também é de grande importância o uso de indutores de brotação, os quais tem por função substituir parcialmente as horas de frio necessárias para a superação da dormência (PETRI et al., 2008). Dentre estas substâncias se destaca a cianamida hidrogenada, sendo esta comercializada sob o nome comercial Dormex® (MOHAMED, 2008), a qual pode ser utilizada conjuntamente com óleo mineral, acarretando melhoria de resultados e diminuição de gastos (HAWERROTH et al., 2009; MARCHI et al., 2017). Outra substância utilizada para esta finalidade é comercializada sob a marca comercial Erger®, o qual é um composto nitrogenado que demonstra bons resultados para a superação da dormência (HAWERROTH et al., 2010). Desse modo, estas substâncias representam importante ferramenta para o adequado manejo e desenvolvimento das culturas frutíferas nas condições ambientais de nosso país.

A partir destas informações, este trabalho teve por objetivo geral estudar fatores ligados a dormência que podem interferir na formação e desenvolvimento de culturas frutíferas de clima temperado em regiões de inverno ameno. Os objetivos específicos foram: 1) Analisar a brotação de plantas de macieiras das cultivares Eva e Gala em diferentes regimes térmicos; 2) Estudar o aminoácido prolina em gemas de plantas dormentes e analisar a potencialidade deste ser um marcador do fim da dormência em plantas frutíferas temperadas; 3) Estudar a eficiência de indutores de brotação em pereiras da cultivar 'Hosui' conforme o acúmulo de horas de frio.

2. Capítulo I – Brotação de mudas de macieira com diferentes requerimentos em frio hibernal em regimes térmicos contrastantes

2.1. Introdução

A macieira é uma frutífera de clima temperado que tem seu desenvolvimento altamente influenciado pelas condições climáticas das regiões de cultivo (PETRI, 2006). Durante o inverno, plantas de macieira necessitam ser submetidas a condições de temperatura baixas que induzam estas a entrar em dormência e posteriormente a superar a mesma, sendo isto um fator de grande importância para o pleno desenvolvimento desta cultura (PETRI et al., 2006).

A arquitetura de plantas de macieira depende de diversos fatores endógenos e exógenos, sendo as condições ambientais de grande influência (COOK; JACOBS, 1999). Um padrão de brotação acropetal desempenha grande importância na formação da arquitetura destas plantas (COOK et al., 1998), sendo este determinado pela interação da paradormência e endodormência (COOK et al., 1998; FAUST et al., 1995). Condições climáticas onde não há acúmulo suficiente de horas de frio podem impedir o desenvolvimento da acrotonia, resultando na tendência de um padrão de brotação basípeto (SCHMITZ et al., 2015a).

A falta de frio durante o período hibernal pode trazer diversas anomalias a macieira, como brotação reduzida e irregular e falta de compatibilidade de floração entre cultivares e polinizadoras (PETRI; LEITE, 2004; PETRI et al., 2006; COOK, 2010; MAGUYLO et al., 2012; SCHMITZ et al., 2014), fatores que podem ter interferência negativa para a produtividade e longevidade dos pomares. Desse modo, medidas para mitigar os efeitos da falta de frio devem ser tomadas quando a macieira é cultivada em regiões de clima ameno, entre estas se destacam o uso de

cultivares de baixo requerimento em frio (POMMER; BARBOSA, 2009) e a aplicação de indutores de brotação (MOHAMED, 2008; PETRI et al., 2008).

Atualmente, há a expectativa que devido mudanças climáticas, ocorra uma redução na disponibilidade de horas de frio durante o período hibernar nas principais zonas produtoras de maçã (CAMPOY et al., 2011). Este cenário pode causar mudanças no ciclo de dormência das plantas de clima temperado, podendo afetar a fenologia em geral das plantas (FEEHAN et al., 2009), acarretando em consequências negativas às mais variadas culturas (GUÉDON; LEGAVE, 2008; ORLANDI et al., 2010; PÉREZ-LÓPEZ et al., 2008). As zonas pomicultoras brasileiras estão situadas em condições de inverno ameno, desse modo, este contexto pode agravar problemas presentes nos pomares, podendo diminuir a área onde é possível o cultivo desta frutífera.

Diversos trabalhos têm analisado o efeito da falta de frio e seus impactos em espécies frutíferas de clima temperado, sendo que os padrões de temperatura exercem grande influência no padrão de brotação de culturas frutíferas de clima temperado (MALAGI et al., 2015). Desse modo, visando contribuir com informações sobre o assunto, este estudo teve por objetivo avaliar a brotação de mudas de macieira classificadas como de baixo e médio requerimento em frio, submetidas a simulação de diferentes condições de frio hibernar.

2.2. Materiais e métodos

Local e material vegetal

O experimento foi realizado em Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil, nas dependências da Universidade Federal de Pelotas, no período de junho a dezembro de 2016. As cultivares de macieira utilizadas foram Eva e Maxi Gala, as quais possuem requerimento de 350 e 750 horas de frio abaixo de 7,2°C respectivamente. Mudas de vareta destas cultivares enxertadas sobre porta-enxerto Marubakaido com inter-enxerto de M.9 com 20cm, provenientes de viveiro certificado e que haviam previamente acumulado 260 horas de frio a campo, foram plantadas em vasos de 14 litros, com substrato composto de 3 partes de húmus de serapilheira de eucalipto com esterco bovino, 2 partes de cinza de casca de arroz, 1 parte de

casca de arroz natural e 1 parte de areia média. As mudas foram conduzidas em sistema de líder central e após o plantio foram armazenadas em ausência de luz, temperatura de 12°C e umidade entre 90 e 95% até o início dos tratamentos de frio.

Tratamentos de frio

Durante o período de dormência, no mês de junho, 15 mudas de cada cultivar, as quais haviam acumulado 260 horas de frio a campo, foram separadas em três lotes, cada lote representou a simulação de uma condição de ambiente em relação ao acúmulo de horas de frio (HF). O lote 1 não recebeu frio suplementar, sendo transferido diretamente para a casa de vegetação, onde permaneceu até o final das avaliações. Os lotes 2 e 3 foram mantidos em câmara fria a temperatura de 4°C durante períodos de 14 e 28 dias respectivamente, representando acúmulo de 596 e 932 HF, respectivamente, depois desse período estas mudas foram mantidas em casa de vegetação, até o final das avaliações.

Tempo Médio para brotação

Após o período de acumulação de frio, foi realizada a avaliação do tempo médio para brotação, em cada uma das gemas, onde a cada dois dias era verificada se a gema havia brotado, situação a qual foi considerada quando a mesma apresentava o estágio fenológico de ponta verde (C3) segundo escala fenológica apresentada por Fleckinger (1948). No momento que foi constatado este estágio fenológico, foi estimado o número de dias para brotação após o tratamento de frio. Para a avaliação desta variável, a planta foi dividida em duas porções: distal, que compreende da primeira gema lateral a partir da gema apical até a 30º, e proximal, que compreende da 31º até o porta-enxerto.

Tipologia da brotação

No final de outubro de 2016, cada gema da planta foi avaliada conforme o tipo de brotação: proléptica (brotação vegetativa originada da gema), siléptica (brotação vegetativa originada de tecidos adjacentes a gema), reprodutiva (brotação de gemas mistas) e latente (ausência de brotação). A partir destes dados, foi estimado a brotação e o número médio de cada tipo de gema conforme cada cultivar e tratamento de frio, sendo que a análise estatística desta variável levou em conta apenas o número de gemas vegetativas prolépticas.

Topologia da brotação

A partir da brotação de gemas prolépticas foi realizada uma análise topológica, onde a planta foi dividida em porções de 12 gemas, e em cada uma destas porções foi estimada a brotação relativa de gemas prolépticas.

Análise estatística

Os dados de cada cultivar foram analisados separadamente. Em todas as variáveis foi considerado o fator tratamento de frio, com três níveis, sendo que para a variável número médio de gemas laterais foi considerado apenas este fator. Para as variáveis tempo médio para brotação e brotação relativa de gemas prolépticas também foi considerado o fator posição no ramo, onde estes apresentavam 2 e 6 níveis respectivamente. Foi realizada ANOVA e quando detectada diferença significativa entre os fatores foram realizados testes de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico R Core Team (2017) com o pacote 'ExpDes' (Ferreira et al., 2014).

2.3. Resultados e discussão

Na tabela 1 são apresentados os dados referentes ao tempo médio para brotação (TMB) em cada uma das cultivares, porção do ramo e tratamentos de frio. Observa-se que houve diferença significativa entre os fatores tratamento de frio e porção da planta. A cultivar Eva não apresentou diferença significativa entre os tratamentos de frio na porção distal, porém na porção proximal, o tratamento com 932 HF apresentou brotação antecipada quando comparada com o tratamento com 260 HF, e o tratamento com 596 HF não diferiu dos demais. Nesta cultivar, a porção distal apresentou brotação antecipada em relação a porção proximal em todos os tratamentos. Em 'Gala', não houve diferença significativa entre as duas porções da planta. O tratamento de 932 HF apresentou brotação antecipada quando comparada aos demais tratamentos em ambas porções da planta.

Tabela 1 – Tempo médio para brotação de gemas (dias) após o tratamento de frio de macieiras 'Eva' e 'Gala' submetidas a diferentes condições de frio para superação da dormência.

	Eva		Gala	
	Distal	Proximal	Distal	Proximal
260 HF	25,72 Aa	40,57 Bb	78,32 Ab	76,54 Ac
596 HF	21,45 Aa	38,01 Bab	71,60 Ab	66,68 Ab
932 HF	22,26 Aa	30,28 Ba	48,77 Aa	53,94 Aa
Média	29,71 A		65,97 B	
CV (%)	19,84		6,73	
p	0,0001		0,0001	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha, e médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os regimes térmicos influenciam o tempo para brotação. Estes resultados foram mais evidentes na cultivar Gala, enquanto na cultivar Eva somente na porção proximal do ramo houve diferenças para esta variável. Estes resultados se devem possivelmente a maior necessidade de frio para superação da dormência na cultivar Gala e para a porção proximal do ramo (EREZ, 2000), sendo que estes dados indicam que estas plantas, quando nestas condições climáticas, ainda se encontravam na fase de endodormência (EL YAACOUBI et al., 2016).

Assim, devido a menor exigência em frio na cultivar Eva, as plantas desta cultivar mesmo não tendo todo o seu requisito de horas de frio satisfeito na condição do primeiro tratamento de frio, demonstraram baixo tempo médio para brotação nas gemas distais. Enquanto na cultivar Gala, foram observados maiores valores de TMB nos dois tratamentos com menor acúmulo de frio, diminuindo no tratamento com maior acúmulo de frio, demonstrando uma brotação tardia quando não há acúmulo de frio suficiente, sendo este resultado esperado em regiões de inverno ameno (CAMPOY et al., 2011).

No momento da avaliação do tipo de gemas, podemos observar que para estas cultivares de macieira, a maior parte das gemas se encontravam latentes em todos os tratamentos de frio, porém em menor proporção nos tratamentos onde houve maior acúmulo de HF (Figura 1). Os tratamentos apresentaram baixa incidência de gemas silépticas, onde na cultivar Eva submetida a 596 HF houve média de 3,6 gemas deste tipo de brotação, enquanto em 'Gala' submetida a 932 HF não houve brotações nesta categoria. Foi observada a ocorrência de gemas mistas somente em plantas de 'Eva' submetidas a 932 HF, a qual ainda assim, foi inferior a uma por planta (Figura 1).

A proporção de gemas prolépticas vegetativas mostrou diferença conforme os tratamentos de frio. Na cultivar Eva, as plantas submetidas à 260 HF apresentaram apenas 13,6% de gemas deste tipo, e ao serem submetidas a 932 HF, esta proporção aumentou para 31%, enquanto as plantas do tratamento intermediário não apresentaram diferença significativa das demais (Figura 1). Em 'Gala', as plantas submetidas a 260 e 596 HF apresentaram 10,2 e 11% de gemas prolépticas, enquanto o tratamento com 932 HF apresentou resultados superiores, os quais chegaram a 17,1% de brotação deste tipo de gemas (Figura 1).

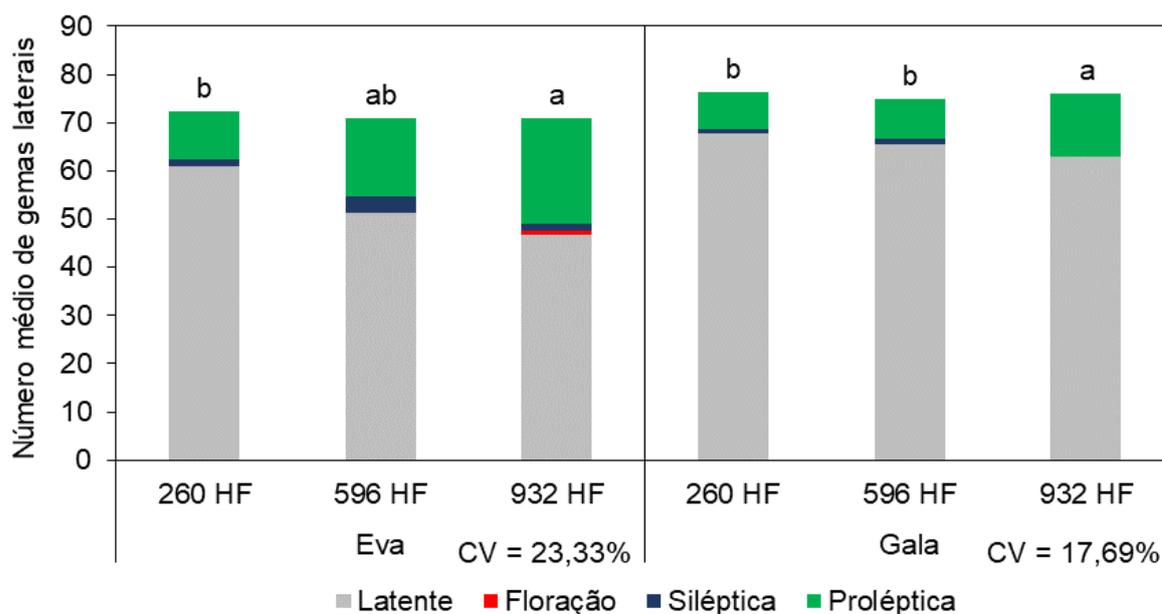


Figura 1 – Número médio de gemas laterais de diferentes tipos em macieiras ‘Eva’ e ‘Gala’ submetidas a diferentes condições de frio para superação da dormência. Médias seguidas da mesma letra minúscula dentro da cultivar não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para a variável número médio de gemas prolépticas.

Para a brotação, foram consideradas as gemas vegetativas prolépticas, devido estas serem quase a totalidade das gemas vegetativas e possuírem maior impacto para a formação do dossel de plantas jovens (SCHMITZ et al., 2014), e a quase inexistência de gemas floríferas nas condições deste estudo. Apesar de macieiras ‘Eva’ terem apresentado pouca ou nenhuma diferença no tempo de brotação, houve diferença significativa para a brotação de gemas prolépticas. Podemos observar que conforme as plantas foram submetidas a um maior número de horas de frio, houve aumento na brotação para esta cultivar, corroborando com outros trabalhos (MALAGI et al., 2015; SCHMITZ et al., 2015b). A cultivar Eva, apesar do seu baixo requerimento em frio, em condições de inverno ameno necessita da aplicação de indutores de brotação para atingir níveis ideais de brotação (ROBERTO et al., 2006; ABREU et al., 2018), fato que pode ter relação com este resultado.

Para macieiras ‘Gala’, somente foi possível observar resposta no aumento da brotação a partir do acúmulo de 932 HF, sendo este ainda discreto. Gemas laterais vegetativas necessitam de uma maior quantidade de horas de frio quando comparadas a gemas apicais mistas (EREZ, 2000), assim, junto com a maior necessidade de frio desta cultivar, baixos níveis de brotação de gemas prolépticas em plantas jovens é um resultado esperado nas condições do experimento. Em

trabalhos anteriores, apesar de terem sido realizados nas principais regiões produtoras, onde há um número elevado de horas de frio, ainda foi necessário o uso de indutores de brotação para se atingir elevados níveis deste parâmetro (HAWERROTH et al., 2009).

A análise topológica de brotação apresentou resultados significativamente distintos conforme porção da planta e tratamento de frio (Figura 2). Para 'Eva', quando à 260 HF, as gemas 1-12, 25-36 e 13-24 apresentaram brotação de 40, 22 e 15% das gemas respectivamente, as quais foram significativamente diferentes entre si. Enquanto as porções 37-48, 49,60 e 61,72 apresentaram valores de 0 a 3%, os quais não apresentaram diferenças significativas (Figura 2). No tratamento de 596 HF apenas as porções 49-60 e 61-72 não apresentaram diferenças significativas entre si, 3 e 0% respectivamente, os quais foram os menores valores. As porções 1-12, 13-24, 25-36 e 37-48 apresentaram os valores de 58, 35, 27 e 12% respectivamente. No tratamento com maior acúmulo de horas de frio, as porções 1-12 e 13-24 apresentaram brotação de 67 e 63% das gemas respectivamente, as quais não apresentaram diferenças significativas. As porções 25-36 e 37-38 apresentaram valores decrescentes, 35 e 17% respectivamente, e por fim as porções 49-60 e 61-72 com 2 e 0% não apresentaram diferenças significativas (Figura 2).

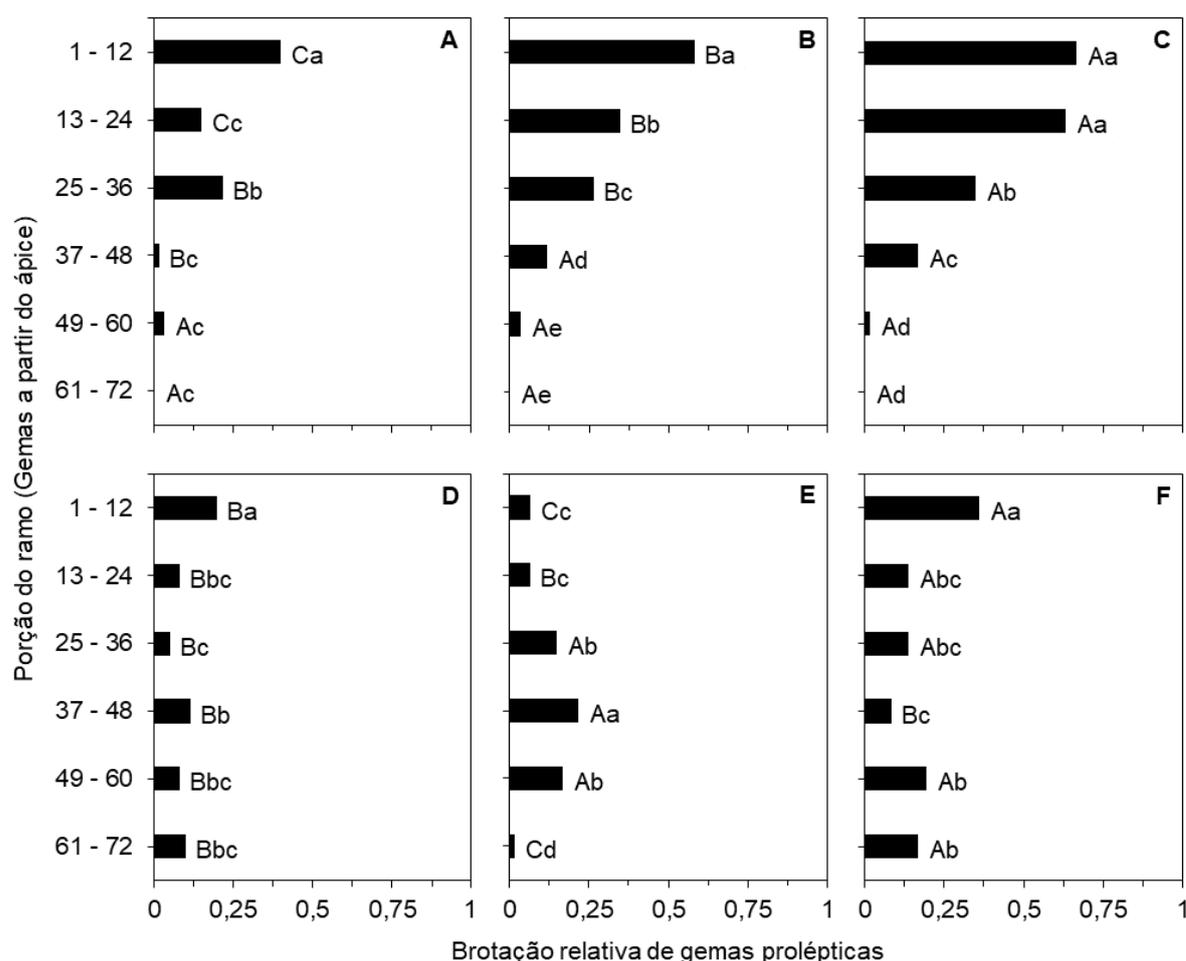


Figura 2 – Brotação relativa de gemas prolépticas em diferentes porções do ramo de macieiras ‘Eva’ (A, B e C) e ‘Gala’ (D, E e F) submetidas a 260 (A e D), 596 (B e E) e 932 (C e F) horas de frio para superação da dormência.

Médias seguidas da mesma letra maiúscula entre gráficos na horizontal, e médias seguidas da mesma letra minúscula dentro do gráfico na vertical, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Quanto aos resultados entre os diferentes tratamentos, as plantas submetidas a condição de 932 HF apresentaram resultados superiores em todas as porções da planta, não diferindo nas três porções proximais das plantas do tratamento de 592 HF e das duas porções inferiores do tratamento de 260 HF. O tratamento de 596 HF apresentou valores intermediários nas três porções distais, sendo que na porção 25-36, não houve diferença em relação ao tratamento de 260 HF. O tratamento de 260 HF apresentou os menores valores nas porções 1-12 e 13-24 em relação aos demais tratamentos (Figura 2).

Na cultivar Gala, quando as plantas foram submetidas a 260 HF, a porção 1-12 apresentou a maior brotação (20%), seguida da porção 37-48 com 12%, a qual não diferiu das porções 13-24, 49-60 e 61-72, sendo que estas também não

diferiram da porção 25-36. No tratamento de 596 HF, a porção 37-48 apresentou maiores índices de brotação (22%), seguida pelas porções 25-36 e 49-60 com valores de 15 e 17% respectivamente, enquanto as porções 1-12 e 13-24 apresentaram brotação relativa baixa (7% em ambas), e a porção 61-72 apresentou o menor valor observado. Por fim, no tratamento que recebeu 932 HF, o maior valor observado foi na porção 1-12 (36%), seguida das porções 49-60 e 61-72 que apresentaram os valores de 19 e 17%, os quais não diferiram das porções 13-24 e 25-36, ambas com 14%, valor que também não diferiu da porção 37-48, menor valor para este tratamento (Figura 2).

Quando comparamos entre os diferentes tratamentos, o tratamento de 932 HF apresentou os melhores resultados em todas as porções com exceção da 37-48, não diferindo nas porções 25-36 e 49-60. Enquanto isso o tratamento de 596 HF apresentou o melhor resultado na porção 37-48 e os piores resultados na porção 1-12 e 61-72, e no tratamento de 260 HF foram observados valores inferiores aos demais tratamentos nas porções 13-24, 37-48, 49-60 e 25-36, sendo que nesta última, não houve diferença significativa com o tratamento de 596 HF (Figura 2).

A partir da análise topológica, podemos observar que em 'Eva', a brotação se concentrou principalmente nas porções distais da planta, reduzindo conforme se aproxima do porta-enxerto, sendo estes resultados observados nas três condições de frio, diferindo apenas a porcentagem de brotação, fato que pode ter relação com a ação de dominância apical juntamente com o baixo requerimento de frio das gemas situadas na porção mais terminal dos ramos, que podem suprimir o efeito do frio sobre as demais gemas laterais (NAOR et al., 2003) acarretando na brotação concentrada nesta região da planta. Estes resultados corroboram com os obtidos por Schmitz et al. (2015b), onde plantas de 'Eva' apresentaram brotação concentrada na porção terminal dos ramos em condições de inverno ameno. Enquanto em 'Gala', o menor número de horas frio proporcionou brotações esparsas ao longo do ramo, condições intermediárias de frio proporcionaram brotação levemente superior nas porções inferiores da planta e o maior número de horas de frio proporcionou brotação distribuída ao longo do ramo com uma maior tendência na porção apical da planta. Este comportamento em ambas cultivares, se deve principalmente a menor necessidade de horas de frio das gemas situadas nas porções distais da planta (EREZ, 2000).

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por trabalhos anteriores, onde plantas de macieira que foram submetidas a condições ideais apresentaram brotação acropetal, enquanto plantas em condições de inverno ameno, apresentaram brotação basípeta (COOK et al., 1998; SCHMITZ et al., 2015a). Segundo Cook e Jacobs (1999), a macieira quando exposta a condições ótimas de frio para entrada e superação da endodormência, apresenta tendência de acrotonia na brotação de gemas laterais, sendo isto resultante da interação entre a paradormência e endodormência (FAUST et al., 1997). Enquanto isso, em locais onde não há o acúmulo de horas de frio ideal, o baixo requerimento em frio das gemas apicais, leva a uma brotação precoce desta, inibindo a brotação de gemas laterais superiores através da paradormência (COOK, 2010) levando a um padrão de brotação basípeta e irregular, prejudicando a formação da arquitetura destas plantas em condições de inverno ameno (COOK et al., 1998; COOK; JACOBS 1999).

2.4. Conclusões

Na cultivar Eva há pouca influência das condições de frio na variável tempo médio para brotação, enquanto na cultivar Gala, as condições com maior acúmulo de horas de frio diminuiram o tempo médio para brotação.

Nas condições onde há maior acúmulo de horas de frio, as mudas das cultivares Eva e Gala apresentam maior brotação de gemas prolépticas. Na cultivar Eva, essa brotação se concentra principalmente na porção apical da planta, enquanto na cultivar Gala, a brotação de gemas prolépticas demonstra um padrão uniforme, porém com baixos índices.

3. Capítulo II – Níveis de prolina em gemas dormentes e seu potencial como marcador da dormência em macieiras

3.1. Introdução

A cultura da macieira e outras frutíferas de clima temperado quando cultivadas em regiões de inverno ameno, devido à falta de horas de frio, tendem a exibir várias anomalias e desordens fisiológicas (MAGUYLO et al., 2012; PETRI; LEITE, 2004; SCHMITZ et al., 2014) as quais podem limitar o potencial produtivo. Horas de frio durante o inverno estão diretamente relacionadas a arquitetura de plantas, controlando a entrada e posteriormente a superação da dormência em gemas de plantas (HEIDE; PRESTRUD, 2005). Arora et al. (2003) cita diversos mecanismos que podem estar relacionados a superação da dormência, entre eles está a regulação hídrica, onde as conexões vasculares podem estar intimamente ligadas ao processo de retomada de crescimento. Lauri et al. (2008) sugerem que a habilidade de brotação de uma gema é controlada por sua conexão hidráulica com o ramo, onde com a superação da dormência, a gema se conecta ao xilema da planta, portanto, com um aumento no teor de água neste tecido após esta fase (SCHMITZ et al., 2015a).

A água é um fator de grande importância para o desenvolvimento de espécies frutíferas (ANDREINI et al., 2012). Ela é constituinte da maior parte dos tecidos vegetais e tem um papel direto na retomada do crescimento após a dormência, pois promove a hidrólise de substâncias de reserva e a atividade de enzimas (de FAÏ et al., 2000). Desse modo, o conteúdo de água pode ser considerado um bom indicador da atividade metabólica de tecidos vegetais

(MARAFON et al., 2011), e pode ser um bom marcador do potencial de brotação antes mesmo de seu início (LEITE et al., 2006).

A prolina é um amino ácido relacionado a mecanismos de tolerância a vários tipos de estresses abióticos em tecidos vegetais (WANG et al., 2007), tendo um importante papel na manutenção da homeostase nestes tecidos (KISHOR; SREENIVASALU, 2014). A função da prolina está ligada a osmoregulação, estabilização estrutural de membranas e como um estoque de carbono, nitrogênio e energia (KISHOR et al., 2005), fatores que são responsáveis pela proteção dos tecidos vegetais durante condições adversas. O potencial hídrico em tecidos vegetais é altamente influenciado pelo ajuste osmótico (JONGDEE et al., 2002), sendo a prolina um dos principais amino ácidos livre relacionados ao ajuste osmótico das células vegetais (JAMIL et al., 2015). Estudos anteriores relataram baixos níveis de prolina em gemas de plantas frutíferas durante o período de dormência profunda, com subsequente aumento no acúmulo deste aminoácido no período após a superação da dormência (SEIF EL-YAZAL et al., 2014).

O acúmulo de horas de frio durante o inverno, além do efeito temporal, tem grande efeito espacial na brotação da macieira, onde plantas submetidas a horas de frio suficientes tendem a apresentar brotação acrotônica. Nesse caso, a porção distal dos ramos da planta tende a brotar mais cedo e mais homoganeamente em relação à porção proximal (SCHMITZ et al., 2015b). Quando o acúmulo de frio não é suficiente, a brotação é basípeta, ocorrendo de forma moderada na porção proximal da planta (SCHMITZ et al., 2015b). Desse modo, é importante isolar essas duas porções da planta quando se pretende avaliar o potencial de brotamento de macieiras.

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a quantidade do aminoácido prolina livre presente em gemas de macieira nas porções distal e proximal e variáveis relacionadas a brotação de duas cultivares com a finalidade de inferir se este aminoácido pode ser marcador do potencial de brotação nas cultivares estudadas. Para isso foram realizados dois experimentos, onde o primeiro utilizou estacas de gema única (estacas de nó-isolado) e o segundo utilizou mudas de um ano de idade para simular os níveis de prolina durante a dormência em diferentes condições de frio.

3.2. Experimento 1

3.2.1. Material e métodos

Local e material vegetal

O experimento foi realizado no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil, nas dependências da Universidade Federal de Pelotas, no período de março a maio de 2016. Ramos de macieiras 'Eva' e 'Royal Gala', as quais possuem requerimento de 350 e 750 horas de frio, respectivamente, foram coletados em pomar comercial situado no município de Antônio Prado no final do mês de março de 2016. Os ramos foram acondicionados enrolados em papel umedecido e dentro de sacos plásticos, sendo posteriormente transportados para as dependências do LabAgro, laboratório de fruticultura de clima temperado da Universidade Federal de Pelotas.

Tratamentos de frio

Os ramos de cada cultivar foram separados em seis lotes, sendo que o primeiro lote foi analisado para as variáveis estudadas no dia posterior à coleta e cinco destes foram armazenados em câmara fria a temperatura de 4°C para acumulação de frio. A cada 10 dias foi realizada a retirada de um destes lotes de ramos da câmara fria para avaliação resultando na simulação de 0, 240, 480, 720 e 960 horas de frio, sendo que para esta última situação, dois destes lotes permaneceram na câmara fria.

Brotação e Tempo médio para brotação

Após retirada da câmara fria, cada lote foi separado em duas partes. A partir de uma destas parte, os ramos foram divididos em porção proximal e distal e então foram cortados em estacas de gema única de aproximadamente

4 cm. 40 estacas de cada porção, de ambas cultivares em cada tratamento de frio foram colocadas em bandejas com espuma fenólica úmida e então armazenadas em câmara de crescimento a temperatura de 21°C e fotoperíodo de 14 horas.

A cada dois dias foi realizada avaliação para verificar a brotação das estacas, a qual foi considerada quando a gema apresentou o estágio de ponta verde (C3) segundo escala fenológica apresentada por Fleckinger (1948). A partir disto foi possível estimar o Tempo Médio para Brotação (TMB) em dias e a Brotação relativa de gemas.

Extração e quantificação de prolina

A partir da segunda metade de cada lote foi realizada a avaliação da quantidade de prolina presente nos tecidos vegetais das gemas. Para esta avaliação, além das simulações de frio de 0, 240, 480, 720 e 960, um segundo lote que permaneceu na câmara fria até o acúmulo de 960 HF, foi submetido a câmara de crescimento a temperatura de 21°C e fotoperíodo de 14 horas durante 10 dias. Os ramos foram separados em porção distal e proximal, para então serem coletadas as gemas, as quais foram armazenadas em ultra freezer até a avaliação.

A prolina foi determinada por espectrometria pelo método de Bates et al. (1973) e modificada por Bezerra Neto e Barreto (2011). Amostras com 0,250 g de gemas foram maceradas em cadinho, seguida da adição de 3 mL de ácido sulfossalicílico a 3% em homogeneizador. O extrato obtido foi centrifugado por 10 minutos a 2.000g. Após a centrifugação, em cada tubo de ensaio rosqueável foi adicionado 1,0 mL do sobrenadante; 2,0 mL de ninhidrina ácida (30mL de ácido acético glacial e 20mL de ácido fosfórico 6M em agitador); 2,0 mL de ácido acético glacial e 2,0 mL de água destilada. Em seguida os tubos foram tampados e colocados em banho-maria, por uma hora a 90°C e, posteriormente, transferidos para banho de gelo. Após esse procedimento, foram acrescentados 4,0 mL de tolueno e agitados vigorosamente, por 20 segundos, para a separação das fases. O sobrenadante foi aspirado da fase

aquosa, para ser feita a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 520 nm. A concentração de prolina foi determinada usando-se a curva padrão, preparada com concentrações conhecidas de prolina: 0; 0,10; 0,25; 0,50; 1, 1,50 e 2 mg L⁻¹.

Análise estatística

Os dados foram analisados considerando os efeitos dos fatores porção do ramo e acúmulo de horas de frio na resposta ao TMB, brotação relativa e níveis de prolina através de uma ANOVA para cada cultivar. Regressões polinomiais foram realizadas para determinar o efeito do acúmulo de frio nas variáveis amostradas. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico R (R Core Team, 2017) com o pacote 'ExpDes' (FERREIRA et al., 2014).

3.2.2. Resultados e discussão

A partir dos resultados obtidos, houve interação significativa para as variáveis brotação, tempo médio para brotação e quantidade de prolina para as cultivares Eva e Gala.

Podemos observar que para a variável Tempo Médio para Brotação (TMB) houve tendência de redução conforme maior acúmulo de horas de frio para ambas cultivares e porções do ramo (Figura 1). Na cultivar Eva, quando submetidas a 0 HF, a brotação ocorreu após 20,6 e 19,3 dias para as porções de ramo distal e proximal respectivamente, enquanto que com o acúmulo de 960 HF, estes valores foram de 14,6 e 15,6 dias para as porções de ramo distal e proximal respectivamente. Para as condições de 240, 480 e 720, os valores para TMB obtidos foram intermediários às condições anteriores. Nesta cultivar não houve diferença significativa entre as diferentes porções do ramo (Figura 1).

A cultivar Gala apresentou resultado semelhante a cultivar Eva, porém a porção proximal apresentou valores de TMB inferiores a porção distal. Nesta cultivar, com o acúmulo de 0 HF, o TMB foi de 25,5 e 20,9 dias para as porções distal e proximal respectivamente, enquanto com o acúmulo de 960 HF, os valores de TMB foram de 14,7 e 13,3 dias para as porções distal e proximal respectivamente (Figura 1).

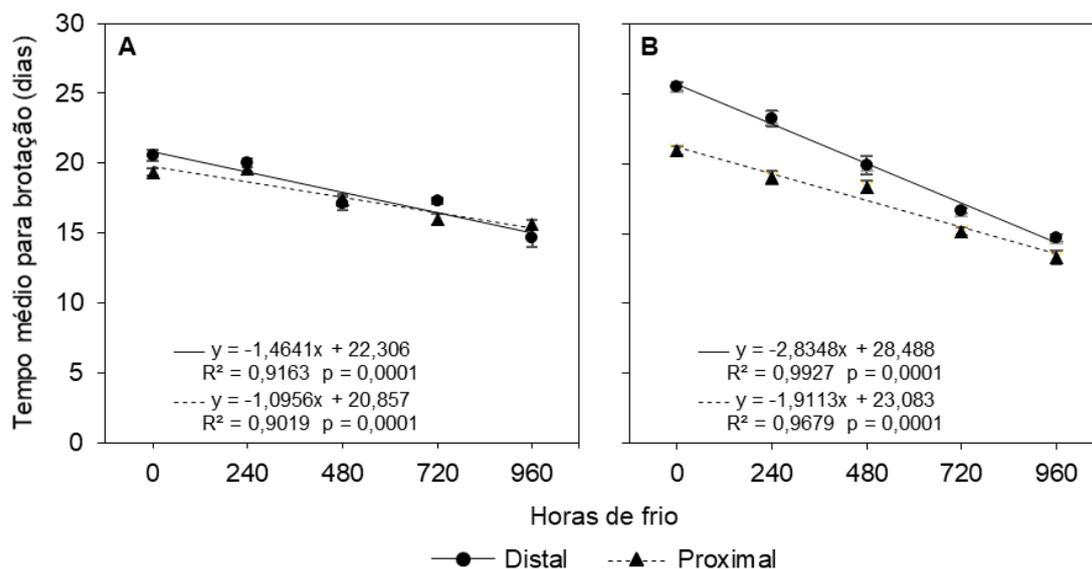


Figura 1 – Tempo médio de brotação para brotação de estacas de uma gema de macieira das cultivares Eva (A) e Gala (B) submetidas a diferentes tratamentos de horas de frio.

A partir dos resultados obtidos, podemos observar uma tendência na redução do TMB em ambas cultivares conforme há aumento de horas de frio, sendo esta redução mais acentuada em ‘Gala’ (Figura 1). Trabalhos anteriores mostram que estas cultivares tendem a uma redução no TMB conforme há maior acúmulo de frio, porém ‘Eva’, no geral apresenta baixos valores de TMB durante todo o período de dormência (MALAGI et al., 2015). Esse fato pode ter sido ocasionado devido a baixa profundidade de dormência das gemas dessa cultivar (MALAGI et al., 2015). Para a cultivar Gala, estudos mostram que os maiores valores de TMB coincidem com o período de maior profundidade de dormência quando em condições de clima ameno, porém sobre condições de forçagem de frio, os valores de TMB se mantiveram praticamente constantes (CARVALHO; ZANETTE, 2004).

Quanto a brotação relativa de gemas, ambas cultivares apresentaram altas taxas quando não havia nenhum acúmulo de horas de frio, diminuindo

após a aplicação de frio e voltando a aumentar quando houve o maior acúmulo de horas de frio (Figura 2). Em 'Eva', tanto a porção distal quanto a proximal apresentaram valores entre 0,7 e 0,95. Para a cultivar Gala, os valores observados ficaram entre 0,75 e 0,95 para a porção distal, enquanto a porção proximal apresentou os valores entre 0,675 e 0,875 (Figura 2).

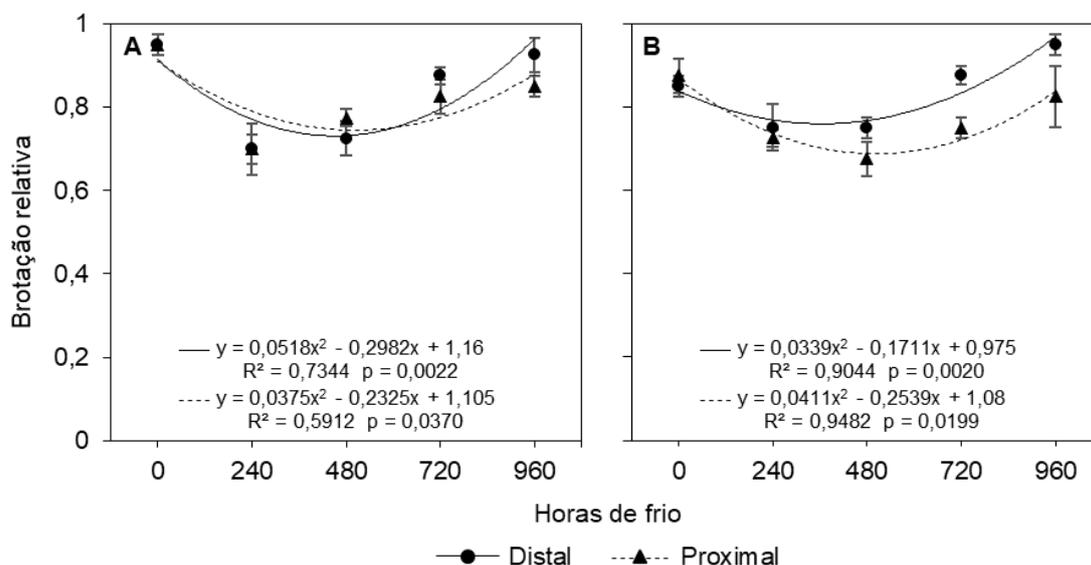


Figura 2 – Brotação relativa de estacas de uma gema de macieira das cultivares Eva (A) e Gala (B) submetidas a diferentes tratamentos de horas de frio.

Em testes de estacas, a brotação pode não ser um marcador ideal para a profundidade de dormência devido a inexistência da interação de dominância exercida pela gema apical (MALAGI et al., 2015), porém neste trabalho houve redução na brotação nas condições com acúmulo de 240 e 480 horas de frio, que juntamente com o TMB, mostra uma profundidade de dormência maior no período.

Os níveis de prolina livre nos tecidos vegetais das gemas apresentaram valores semelhantes para ambas cultivares e porções do ramo, onde houve níveis elevados no período que antecede o frio, diminuindo durante o período em que os tecidos foram submetidos a condições de baixa temperatura, e aumentando após cessado o frio e submetidos a um período de forçagem de brotação (Figura 3).

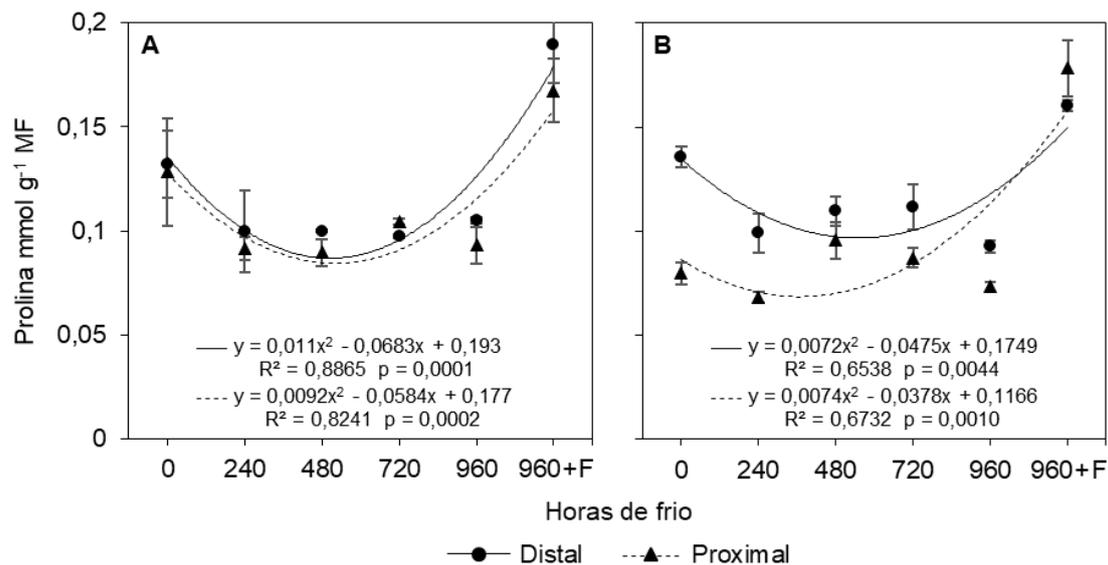


Figura 3 – Níveis de prolina livre, expressa em mmol g^{-1} de massa fresca (MF) presente nos tecidos de gemas de macieiras das cultivares Eva (A) e Gala (B) submetidas a diferentes tratamentos de horas de frio.

Na cultivar Eva, quando não havia sido acumuladas horas de frio, os níveis de prolina ficaram em torno de $0,13 \text{ mmol g}^{-1}$ de massa fresca (MF) para as porções proximal e distal, porém quando submetidas ao frio e durante todo o tempo de baixas temperaturas, esses níveis caíram para valores entre $0,09$ e $0,1 \text{ mmol g}^{-1}$ MF. Após 10 dias em condições ideais para o início de brotação, os níveis de prolina subiram para $0,19$ e $0,17 \text{ mmol g}^{-1}$ MF nas porções distal e proximal respectivamente (Figura 3).

Em macieiras Gala, os níveis de prolina foram de $0,14$ e $0,08 \text{ mmol g}^{-1}$ MF nas porções distal e proximal respectivamente. Durante o período de frio, a porção distal apresentou valores entre $0,09$ e $0,11 \text{ mmol g}^{-1}$ MF e na porção proximal estes valores ficaram entre $0,07$ e $0,09 \text{ mmol g}^{-1}$ MF. Após acúmulo de frio e período de forçagem de brotação, estes valores subiram para valores de $0,16$ e $0,18 \text{ mmol g}^{-1}$ MF para as porções distal e proximal respectivamente (Figura 3).

Durante o processo de indução e superação da dormência, ocorrem diversas alterações nos componentes químicos dos tecidos vegetais, principalmente nas gemas. Além de alterações nos hormônios vegetais (QIN et al., 2009), os quais tem papel fundamental no controle deste processo, ocorrem também alterações em compostos nitrogenados como aminoácidos (SEIF EL-YAZAL; RADY, 2012).

A prolina tem sido relacionada como resposta a diversos estresses abióticos (HARE; CRESS, 1997), entre estes, está o estresse causado pelo frio (YAISH, 2015). Segundo Seif El-Yazal e Rady (2012), a prolina se apresenta em altos níveis no período de início da dormência, com redução durante a endodormência e aumento no período que antecede a superação da dormência. Neste caso a prolina estaria relacionada a mecanismos de resistência ao frio e ao congelamento (GRIFFITH; YAISH, 2004).

Alguns trabalhos mostram que a aplicação de indutores de brotação aumenta a concentração de prolina em gemas de macieira, ocorrendo um pico deste aminoácido logo antes da brotação (BEN MOHAMED et al., 2011; SEIF EL-YAZAL; RADY, 2013; SEIF EL-YAZAL et al., 2014). Neste trabalho foi possível observar níveis elevados de prolina no período anterior a entrada de dormência e após, durante todo o período de frio, os níveis foram baixos. Após período de frio e forçagem de brotação houve um aumento significativo nos níveis de prolina, sendo isto observado de 6 a 8 dias antes da brotação.

A prolina tem importante papel para manutenção da razão NADP+/NADPH na via das pentoses fosfato (HARE; CRESS, 1997), sendo está o principal meio de suprir energia em tecidos que não realizam fotossíntese, assim, este aminoácido desempenha função de reserva de energia para o desenvolvimento de novos tecidos (KISHOR; SREENIVASALU, 2014). Desse modo, o acúmulo de prolina em gemas de macieira pouco antes da brotação é esperado devido o aporte energético deste aminoácido para se iniciar o processo de brotação.

3.3. Experimento 2

3.3.1. Material e métodos

Local e material vegetal

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fruticultura de Clima Temperado da Universidade Federal de Pelotas, no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. A região apresenta inverno ameno característico da região Sul do Brasil, com uma média de 320 horas de frio abaixo de 7,2°C durante o período hibernal.

Em junho de 2016, mudas de macieira 'Eva' e 'Maxi Gala', com um ano de idade e enxertadas sobre o inter-enxerto 'M.9' de 20 cm e porta-enxerto 'Marubakaido' provenientes de viveiros certificados foram plantadas em sacos de polietileno preto de 7 litros contendo 1/6 de areia, 1/6 de casca de arroz, 2/6 de cinza de casca de arroz e 2/6 de serapilheira de eucalipto e solo. As macieiras 'Eva' e 'Gala' têm necessidade de 400 e 750 horas de frio <7,2°C (HF) respectivamente (HAUAGGE; TSUNETTA, 1999; FIORAVANÇO et al., 2010).

Tratamentos de frio

Durante o período de dormência, em junho, essas macieiras foram separadas em três lotes para receber diferentes tratamentos de frio (Tabela 1). Um desses lotes permaneceu em casa de vegetação, acumulando 260 horas de frio <7,2°C, enquanto os outros dois lotes foram acondicionados em câmara de refrigeração a 4°C para acúmulo de horas de frio. Após 14 e 28 dias, o segundo e terceiro lotes foram retirados da câmara de resfriamento, totalizando um acúmulo de 596 e 932 HF <7,2°C, respectivamente, resultando em três condições de tratamento de frio (Tabela 1). Após esse período, as plantas permaneceram em casa de vegetação até as coletas para quantificações dos níveis de prolina e brotação.

Tabela 1 - Acúmulo de horas de frio abaixo de 7,2 °C, dia de instalação do tratamento (DIT), dia da avaliação final (DAF), primeira coleta para determinação de prolina (PCDP) e avaliação da brotação (AB) dos respectivos tratamentos.

Tratamento	Horas de frio	DIT	DAF	PCDP	AB
1	260	-	-	08-Jul	21-Dez
2	596	21-Jul	05-Jul	08-Jul	21-Dez
3	932	21-Jul	19-Jul	22-Jul	21-Dez

Quantificação de prolina

Três dias após o término do período de acumulação de horas de frio, foi realizada a primeira determinação de prolina de gemas em cada tratamento e, em seguida, em intervalos semanais (7 dias) até o 31º dia. Para isso, três repetições, ou seja, plantas, foram usadas em cada cultivar e em cada tratamento. As plantas foram cortadas logo acima do inter-enxerto, divididas nas porções proximal e distal, onde, para análise de prolina, uma amostra homogênea de gemas foi coletada em cada porção do ramo. Foram consideradas quarenta gemas a partir do porta-enxerto e trinta gemas a partir do ápice de cada planta como porções proximal e distal, respectivamente.

A prolina foi determinada por espectrometria pelo método de Bates et al. (1973) e modificada por Bezerra Neto e Barreto (2011). Amostras com 0,250 g de gemas foram maceradas em cadinho, seguida da adição de 3 mL de ácido sulfossalicílico a 3% em homogeneizador. O extrato obtido foi centrifugado por 10 minutos a 2.000 g. Após a centrifugação, em cada tubo de ensaio rosqueável foi adicionado 1,0mL do sobrenadante; 2,0mL de ninhidrina ácida (30mL de ácido acético glacial e 20mL de ácido fosfórico 6M em agitador); 2,0mL de ácido acético glacial e 2,0mL de água destilada. Em seguida os tubos foram tampados e colocados em banho-maria, por uma hora a 90°C e, posteriormente, transferidos para banho de gelo. Após esse procedimento, foram acrescentados 4,0mL de tolueno e agitados vigorosamente, por 20 segundos, para a separação das fases. O sobrenadante foi aspirado da fase aquosa, para ser feita a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 520nm. A concentração de prolina foi determinada usando-se a curva padrão, preparada com concentrações conhecidas de prolina: 0; 0,10; 0,25; 0,50; 1, 1,50 e 2mg L⁻¹.

Brotação

Após o período de acúmulo de frio, cinco plantas de cada cultivar em cada tratamento permaneceram na casa de vegetação para avaliar a brotação em cada condição de horas de frio. Em dezembro, 5 meses após o início das avaliações, foram contadas as gemas laterais brotadas e, em seguida, foi estimada a porcentagem de brotação, que consistiu no número total de gemas brotadas em relação aos brotos totais nas porções distal e proximal das plantas conforme o tratamento de frio.

Análise estatística

Os dados foram analisados considerando os efeitos dos fatores porção ao longo do ramo e acúmulo de horas de frio na resposta a brotação através de uma ANOVA (teste F) para cada cultivar. A porcentagem de brotação foi transformada pelo arco seno [raiz quadrada (n + 1)] antes da análise e quando interações significativas foram encontradas, as médias foram submetidas ao teste de Tukey para separar os níveis de tratamentos ($P < 0,05$). Regressões polinomiais foram realizadas para determinar o efeito do acúmulo de frio e tempo de amostragem nos níveis de prolina. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico R (R Core Team, 2017) com o pacote 'ExpDes' (FERREIRA et al., 2014).

3.3.2. Resultados e discussão

Os resultados da determinação do teor de prolina livre e da porcentagem de brotação para cada tratamento de frio, cultivar e porção da planta são apresentados na figura 4 e na tabela 2.

A quantidade de prolina livre presente nas gemas de macieira variou de acordo com as cultivares e o número de horas de frio a que estas plantas foram submetidas (Figura 4).

Em macieiras 'Eva', os níveis de prolina foram maiores nas gemas da porção distal do que na porção proximal (Figura 4A, C e E). Quando as plantas receberam apenas 260 HF, a prolina permaneceu estável desde o início até o final das avaliações (Figura 4A). Com o acúmulo de 596 e 932 HF, ocorreu inicialmente uma redução nos níveis de prolina nas porções distal e proximal, até aproximadamente 15 dias, onde a partir disto houve um aumento significativo até o 31º dia após o término do período de acúmulo de frio, o que foi mais pronunciado no tratamento, onde houve o acúmulo de 932 HF (Figura 4C e E).

Nas macieiras 'Gala', os níveis de prolina nas gemas de ambas as porções foram semelhantes, com os da porção proximal moderadamente superior à porção distal (Figura 4B, D e F). Com o acúmulo de 260 HF, como nas macieiras 'Eva', a prolina permaneceu estável, com discreto aumento na porção proximal da planta aos 31 dias após o acúmulo de frio (Figura 4B). Em plantas submetidas a 596 e 932 horas de frio, a prolina aumentou tanto nas porções distal e proximal da planta aos 31 dias após o acúmulo de frio, sendo este aumento maior quando as plantas receberam 932 HF (Figura 4D e F).

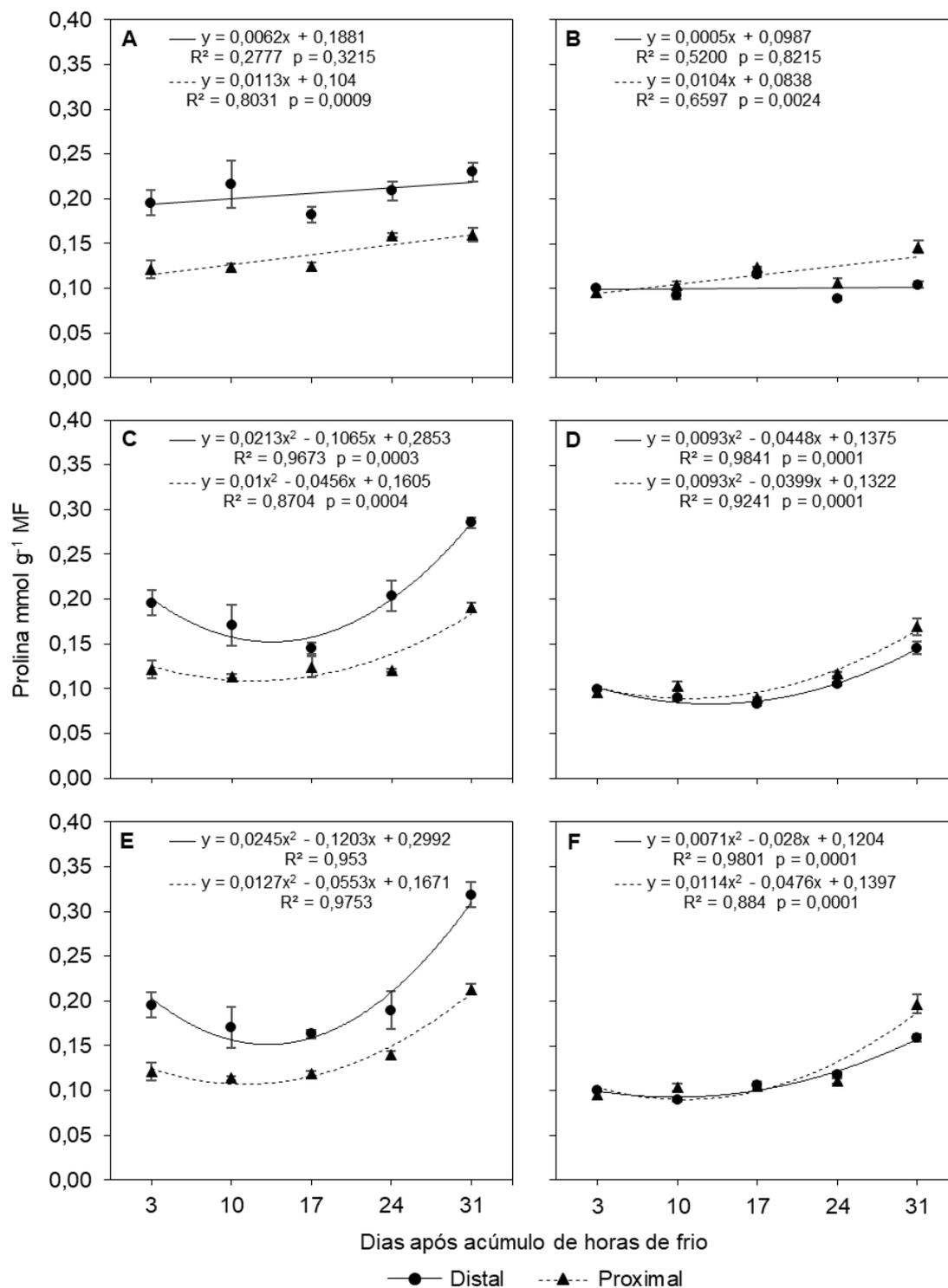


Figura 4 – Níveis de prolina livre, expressa em mmol g⁻¹ de massa fresca (MF) presente nos tecidos de gemas de macieiras 'Eva' (A, C e E) e 'Gala' (B, D e F), nas porções distal e proximal de plantas, submetidas a 260 (A e B), 532 (C e D) e 960 horas de frio (E e F).

Em macieiras 'Eva', a brotação foi superior na porção distal em todos os tratamentos, sendo que nesta porção a brotação aumentou proporcionalmente ao aumento do número de horas de frio. As taxas de brotação foram 30,34;

48,96 e 64,14% para 260, 596 e 932 HF respectivamente (Tabela 2). Na porção proximal, o tratamento de 260 HF, que foi de 8%, foi menor que os demais tratamentos, que foram 18 e 19,33% para 596 e 932 HF, respectivamente (Tabela 2).

Em 'Gala', a brotação foi menor do que 'Eva' (Tabela 2), e no tratamento 260 HF não houve diferença na brotação entre as porções proximal e distal (Tabela 2). O tratamento com 596 HF apresentou aumento significativo apenas na porção proximal, que obteve um índice de brotação de 14,86%, contra 10,28% quando submetido a 260 HF (Tabela 2). Quando as plantas foram submetidas a 932 HF, a brotação foi superior na porção distal, que apresentou 20,51%, e na porção proximal, 15,24%, não diferindo em relação ao tratamento anterior (Tabela 2).

Tabela 2 – Porcentagem de brotação nas porções distal e proximal de macieiras 'Eva' e 'Gala' submetidas a diferentes horas de frio.

Tratamentos de frio	Brotação (%)			
	Eva		Gala	
	Distal	Proximal	Distal	Proximal
260 HF	30,34 Ac	8,00 Bb	11,80 Ab	10,28 Ab
596 HF	46,90 Ab	18,01 Ba	11,79 Bb	14,86 Aa
932 HF	64,14 Aa	19,33 Ba	20,51 Aa	15,24 Ba
Média	31,12 A		14,08 B	
p	<0.0001		<0.0001	
CV (%)	23,07		14,73	

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% da probabilidade de erro.

A variação nos níveis de prolina e outros aminoácidos em gemas de macieira tem sido relacionada à dormência e sua superação. Assim, de acordo com Seif El-Yazal e Rady (2012), níveis elevados de prolina em gemas de macieira podem ser observados no início do período de dormência, com uma diminuição desse aminoácido até o momento de superação da dormência. A partir deste momento, ocorre novamente um aumento nos níveis de prolina, onde os níveis relativos mais altos de prolina nos tecidos vegetais serão

observados. O aumento dos níveis de aminoácidos na seiva das plantas após superar a dormência ocorre devido à remobilização de nitrogênio na planta (Millard et al., 1998), um fator que é de grande importância para a superação da dormência (Millard et al., 2007), e que pode influenciar os níveis de prolina na planta.

A partir dos resultados obtidos, podemos observar que macieiras submetidas a 260 HF ainda estavam dormentes no final do período de avaliação. A cultivar Eva necessita de cerca de 400 horas de frio para superar a dormência (HAUAGGE; TSUNETA, 1999), portanto, quando submetidas a 596 HF, estas plantas haviam superado a dormência, o que pode ser comprovado pelo aumento dos níveis de prolina e brotação. Quando submetidas a uma maior quantidade de frio (932 HF), os níveis de prolina foram semelhantes aos da condição anterior, mas a brotação foi maior nessa condição. Nesta cultivar, pode-se observar que a porção distal da planta apresentou maiores níveis de prolina e brotação, devido ao fato de que essa porção tende a apresentar uma menor exigência de frio nessa condição (SCHMITZ et al., 2015a).

A plantas da cultivar 'Gala', que possui maior necessidade de frio (PETRI et al., 2011), quando submetidas a 596 HF ainda estavam dormentes, porém houve um pequeno aumento nos níveis de prolina e a brotação aumentou na porção proximal, resultado esperado devido à tendência brotação basípeta quando não há horas de frio suficiente para esta cultivar (SCHMITZ et al., 2015b). No entanto, quando submetidos a 932 HF, não houve aumento significativo dos níveis de prolina em relação ao tratamento anterior, mas houve aumento de brotação na porção distal, resultado que nos mostra o início da superação da dormência nessa cultivar. Esse resultado pode ter ocorrido devido ao fato de as macieiras 'Gala' apresentarem maior necessidade de horas de calor após a superação da dormência (PUTTI et al., 2000), o que levaria essa cultivar a demorar mais a brotar (dados não mostrados), portanto, seria esperado que o aumento nos níveis de prolina ocorresse mais tarde.

Segundo Yaish (2015), vários estresses abióticos podem levar ao acúmulo de prolina nas folhas e raízes das plantas, dentre elas o estresse causado pelo frio. Esse comportamento estaria diretamente relacionado aos

mecanismos de resistência ao frio e ao congelamento (GRIFFITH; YAISH, 2004). Outros estudos indicam que a prolina desempenha um papel na reserva energética, sendo um substrato para manutenção da razão NADP⁺/NADPH, através da via oxidativa das pentoses fosfatas (OPPP) (KISHOR; SREENIVASALU, 2014), fornecendo energia para a divisão de células jovens, com grande importância na retomada do crescimento vegetativo. A partir disso, pode-se inferir que as horas de frio a que cada planta é submetida durante o período de inverno e são necessárias para superar a dormência, levam ao acúmulo de prolina nos tecidos da planta, uma reação que a princípio teria uma função protetora, e após a superação da dormência, teria uma função energética para o desenvolvimento de novos tecidos vegetais.

Pode-se observar que os maiores níveis de prolina no período final de avaliação coincidiram com as maiores taxas de brotação nas condições em que houve maior acúmulo de horas de frio. Trabalhos anteriores mostraram que os indutores de brotação aumentam os níveis de prolina e aceleram a brotação de macieiras, e esse aumento pode ser devido ao fato de que este aminoácido é um subproduto da via das pentoses-fosfato (SEIF EL-YAZAL; RADY, 2013; SEIF EL-YAZAL et al., 2014). Assim, aumentos progressivos nos níveis de prolina podem indicar a superação da dormência das gemas dessas plantas.

Segundo Yoshida et al. (1997), a biossíntese de prolina depende principalmente de dois genes, sendo que a expressão desses genes pode depender do estado hídrico dos tecidos. O primeiro gene tem sua expressão controlada pela condição de desidratação, o que resultaria em aumento na biossíntese desse aminoácido. Segundo, ao atingir altos níveis de umidade nos tecidos, a expressão de outro gene levaria à degradação da prolina, controlando o potencial osmótico dos tecidos. Assim, ao receber o estímulo para superar a dormência, a combinação de condições de alto metabolismo e desidratação levaria a um aumento na biossíntese de prolina com consequente reidratação desses tecidos.

3.4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos, observa-se que com o acúmulo de 260 horas de frio, os níveis de prolina permanecem inalterados durante o período de avaliação para as cultivares Eva e Gala. Com o acúmulo de 532 e 960 horas de frio há uma redução nos níveis de prolina após 17 dias do início das avaliações seguido de um grande aumento, atingindo altos valores. Este resultado é mais evidente na cultivar Eva em relação a cultivar Gala.

Na cultivar Eva os níveis de prolina são maiores na porção distal em relação a porção proximal, enquanto na cultivar Gala não há diferenças entre as porções estudadas.

A brotação aumenta conforme os maiores acúmulos de horas de frio na cultivar Eva, sendo a brotação maior na porção distal. Para a cultivar Gala, há aumento de brotação somente com o acúmulo de 932 horas de frio, sendo esta inferior a cultivar Eva.

4. Capítulo III – Indutores de brotação em diferentes condições de acúmulo de frio em pereiras ‘Hosui’

4.1. Introdução

A pereira é uma cultura de grande importância no mundo com uma produção de 27,3 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2018), mas seu cultivo é insignificante no Brasil, onde, dessa fruta consumida, em torno 90% é importada e apenas 10% produzida internamente (FAOSTAT, 2018). O Rio Grande do Sul é o principal produtor de pera no Brasil (MUNIZ et al., 2012). Uma das principais razões para a baixa produção são as condições climáticas do país, que se caracterizam pelo baixo número de horas de frio durante o período de inverno; fato que leva a uma reduzida brotação das plantas, causando baixo rendimento (FAORO; ORTH, 2010). A cultivar 'Hosui' requer aproximadamente 800 horas de frio para superar a dormência (FAORO, 2001). Assim, as regiões produtoras do Rio Grande do Sul não apresentam horas de frio suficientes para proporcionar a quebra de dormência adequada na cultura (MATZENAUER et al., 2005) e, conseqüentemente, afetando o desenvolvimento (KRETZSCHMAR et al., 2011).

Para superar este problema e possibilitar a produção de frutos de clima temperado em regiões de inverno ameno, uma das principais alternativas é o uso de indutores de brotação (CITADIN et al., 2006); produtos que, quando aplicados na planta durante a dormência, causam reações na gema, levando a sua brotação. No entanto, vários fatores podem interferir na sua eficácia, e deve-se levar em conta que os indutores de brotação podem apresentar resultados diferentes, dependendo da dose e do tempo de aplicação (BRIGHENTI, 2012). Outro fator que pode ter grande influência na eficácia dos indutores de brotação é a quantidade de horas de

frio que essas plantas foram submetidas antes da aplicação dos produtos (ZANOL et al., 2010).

O principal indutor de brotação utilizado é a cianamida hidrogenada, cujo nome comercial é Dormex[®] (MOHAMED, 2008), podendo ser utilizado em conjunto com óleo mineral, que tem a função de diminuir a dose de cianamida hidrogenada, otimizando a brotação e reduzindo custos (HAWERROTH et al., 2009). Estudos anteriores mostraram que esses produtos podem ser aplicados para superar a dormência em pereiras asiáticas (PETRI; HERTER, 2002; OLIVEIRA et al., 2008). Em macieiras, a cianamida hidrogenada é amplamente utilizada para superar a dormência (PETRI et al., 2011), apresentando vários resultados positivos, como aumento de brotação e sincronização de floração com a cultivar polinizadora; fatores que levam a aumento na produtividade do pomar (HAWERROTH et al., 2009; ABREU et al., 2018).

Devido à alta toxicidade da cianamida hidrogenada (HARO, 2009), novos produtos para superação de dormência têm sido procurados, e entre eles podemos citar o produto Erger[®], que é um composto à base de nitrogênio e usado conjuntamente com o nitrato de cálcio (PETRI et al., 2008). Estudos anteriores mostraram que Erger pode apresentar resultados semelhantes aos da cianamida hidrogenada quanto a brotação em plantas frutíferas de clima temperado (HAWERROTH et al., 2010).

Devido aos poucos dados sobre os indutores de brotação na cultura da pereira para condições de inverno ameno do sul do Brasil, este estudo tem como objetivo avaliar a eficiência de indutores de brotação em pereiras em diferentes situações de acúmulo de horas de frio.

4.2. Material e métodos

O experimento foi realizado utilizando-se material vegetal proveniente de um pomar experimental de pereiras 'Hosui' da Universidade Federal de Pelotas, localizado no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul (31°52'S, 52°21'O, alt 13m) coletado na safra 2016/2017. Segundo a classificação de Köppen-Geiger, o clima da região estudada é Cfa, subtropical úmido com as seguintes médias anuais: precipitação pluviométrica de 1.367mm, temperatura média de 17,8°C, umidade

relativa de 80,7% e 238 horas de frio abaixo de 7,2°C. Dados fornecidos pela estação meteorológica da Embrapa Clima Temperado estação Terras Baixas (EMBRAPA, 2018). Ramos foram coletados em julho de 2017, quando as plantas haviam acumulado 103 horas de frio ($\leq 7,2^\circ\text{C}$). Após a coleta, os ramos foram embrulhados em papel úmido, separados em seis porções e transportados para o laboratório da Embrapa Clima Temperado, onde foram armazenadas em câmara fria a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ para acumular horas de frio.

Logo após a coleta e a cada seis dias, uma porção de ramos foi removida da câmara fria para montagem do experimento, o que resultou em seis diferentes tratamentos de frio de acordo com o tempo que os ramos permaneceram na câmara fria: 103 HF (0 dias), 247 HF (6 dias), 391 HF (12 dias), 535 HF (18 dias), 679 HF (24 dias) e 823 HF (30 dias). Após o período de acumulação de frio, os ramos de cada porção foram cortados em 200 estacas, de aproximadamente 4 cm, onde apenas a gema intermediária foi mantida e as demais retiradas. Em seguida, nestas estacas foi realizada a aplicação de parafina na ponta superior para evitar a desidratação, sendo posteriormente acondicionadas em bandejas plásticas (50cm x 35cm x 10cm) com espuma fenólica umedecida, previamente lavada.

Em seguida, foram aplicados os seguintes tratamentos com indutores de brotação: controle (água), cianamida hidrogenada 1% (CH), cianamida hidrogenada 1% + óleo mineral 5% (CH + OM), óleo mineral 5% O (M) e Erger® 5% + nitrato de cálcio 5% (Erger). Assim, 40 estacas em cada tratamento de frio recebeu o tratamento de cada indutor de brotação, onde a aplicação foi realizada individualmente com o auxílio de um pincel até que as gemas fossem completamente umedecidas, simulando uma aplicação de escoamento superficial. Em seguida, foram armazenadas em câmara de crescimento a 21°C, umidade relativa do ar a 75% e fotoperíodo de 16 horas até a brotação.

As avaliações foram realizadas a cada dois dias, onde o dia da brotação foi determinado, o qual foi considerado quando observado o estágio de ponta verde, porém sem as folhas abertas. A partir disso, foi possível determinar as variáveis porcentagem de brotação e tempo médio de brotação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 10 estacas cada, e o esquema de tratamento foi bifatorial, com seis tratamentos de frio e cinco tratamentos com indutores de brotação. Os resultados para porcentagem de brotação e tempo médio de brotação foram submetidos à

análise de variância e, quando significativos, foram comparados pela análise de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.3. Resultados e discussão

A partir dos resultados obtidos, houve diferenças significativas nas diferentes condições de horas de frio e nos tratamentos com indutores de brotação, assim como a interação entre essas duas variáveis foi significativa.

Para o percentual de brotação, houve baixos níveis com o acúmulo de 103 e 247 HF (42,5 a 55,0% e 50,0 a 57,5%, respectivamente), e não houve diferenças significativas entre os indutores de brotação (Tabela 1). Com a aplicação dos tratamentos de CH e CH + OM com 391 HF, houve os maiores níveis de brotação (75% para ambos os tratamentos), atingindo, nestes casos, níveis ideais para o desenvolvimento da cultura. Enquanto com 535 e 679 HF, os melhores percentuais foram observados por esses tratamentos (CH e CH + OM), mas sem diferir com o controle. A partir do 823 CH, o tratamento testemunha apresentou altos níveis de brotação, sendo estes iguais ou superiores aos tratamentos dos indutores de brotação (Tabela 1).

Tabela 1 – Porcentagem de brotação de pereiras 'Hosui' submetidas a diferentes períodos de frio e indutores de brotação.

Horas de frio	Controle	CH	CH + OM	OM	Erger	Média
103 HF	52,5 Ab	42,5 Ac	55,0 Ab	45,0 Aa	50,0 Aab	49,0
247 HF	55,0 Ab	55,0 Ac	55,0 Ab	50,0Aa	57,5 Aa	54,5
391 HF	65,0 Bab	75,0 Aa	75,0 Aa	50,0 Cb	40,0 Cb	61,0
535 HF	75,0 Aa	72,5 Aab	75,0 Aa	55,0Bab	45,0 Bab	64,5
679 HF	67,5 Aab	57,5 Abc	65,0 Aab	55,0 Bc	25,0 Bc	54,0
823 HF	75,0 Aa	50,0 BCc	60,0 ABab	40,0 Ca	35,0 Cbc	52,0
Média	65,0	58,8	64,2	49,2	42,1	
CV (%)	19,39					
p	<0,0001					

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% ($p \leq 0,05$). HF = horas de frio; Controle = água; HC = cianamida hidrogenada 1%; CH + OM = cianamida hidrogenada 1% + óleo mineral 5%; OM = óleo mineral 5%; Erger = Erger® 5% + nitrato de cálcio 5%.

Durante a safra 2017/2018, apenas 132 horas de frio ($<7,2^{\circ}\text{C}$) foram registradas no município de Capão do Leão, de acordo com dados fornecidos pelo Laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Clima Temperado (EMBRAPA, 2018). Em plantas de mirtilo, a maior ou menor quantidade de horas de frio acumuladas teve um efeito sobre a eficácia do indutor de brotação cianamida hidrogenada (ARIAS et al., 2010). Assim, estes resultados evidenciaram a necessidade de indutores de brotação para a cultura da pereira nas condições climáticas das zonas de produção brasileiras. Isso se deve à brotação que apresentou níveis satisfatórios sem o uso destes produtos apenas a partir do acúmulo de 535 HF. Esses resultados corroboram com os obtidos por Carvalho et al. (2014), onde as pereiras 'Hosui' apresentaram níveis satisfatórios de brotação a partir da acumulação de 300 HF na safra de 2008.

Estudos anteriores mostraram que a cianamida hidrogenada, o óleo mineral e a combinação destes, têm efeitos benéficos sobre a brotação de pereiras asiáticas quando cultivadas em regiões de inverno ameno (PETRI; HERTER, 2002; OLIVEIRA et al., 2008). Embora o tratamento controle tenha altas taxas de brotação, o uso do de cianamida hidrogenada e a combinação com óleo mineral reforçaram a brotação quando as plantas acumularam uma quantidade baixa de horas de frio. A cianamida hidrogenada, em regiões de clima quente, desempenha importante papel na viabilização da produção de frutos de clima temperado, não só aumentando a brotação, mas também melhorando a produtividade e qualidade dos frutos (ZANOL et al., 2010).

O tempo médio de brotação foi inversamente proporcional à quantidade de horas de frio acumuladas e, em geral, os tratamentos brotaram antes do controle (Tabela 2). Com o acúmulo de 391 HF, o tratamento com cianamida hidrogenada apresentou o menor valor desta variável quando comparado aos demais tratamentos. Com 823 HF acumulados, os tratamentos com CH, CH + OM e Erger não diferiram significativamente, enquanto o controle teve os maiores valores e o tratamento com OM não diferiu dos demais.

Tabela 2 – Tempo médio de brotação (dias após a aplicação dos tratamentos) de pereiras 'Hosui' submetidas a diferentes períodos de frio e indutores de brotação.

Horas de frio	Controle	CH	CH + OM	OM	Erger	Média
103 HF	40,83 Bc	37,25 Ab	37,88 ABc	37,27 Ad	39,06 ABc	38,46
247 HF	40,00 Ac	37,00 Ab	37,50 Ac	36,77 Ad	38,81 Ac	38,02
391 HF	35,79 Bb	27,50 Aa	33,91 Bb	35,24 Bcd	31,14 Bb	32,72
535 HF	33,14 Cab	27,38 Aa	29,05 ABa	31,83 BCab	30,21 ABCb	30,32
679 HF	33,14 Cab	25,98 Aa	30,38 Ba	32,60 Cbc	24,67 Aa	29,35
823 HF	31,36 Ba	25,92 Aa	28,37 ABa	28,75 ABa	26,90 Aa	28,26
Média	35,71	31,84	32,85	33,74	31,8	
CV (%)			7,12			
p			<0,0001			

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% ($p \leq 0,05$). HF = horas de frio; Controle = água; HC = cianamida hidrogenada 1%; CH + OM = cianamida hidrogenada 1% + óleo mineral 5%; OM = óleo mineral 5%; Erger = Erger® 5% + nitrato de cálcio 5%.

A quantidade de horas de frio acumuladas durante o período de inverno afeta diretamente o tempo médio de brotação em pereiras (HERTER et al., 2001). Resultados anteriores mostram que a aplicação de cianamida hidrogenada em pereiras pode não aumentar a brotação final, mas ainda assim, diminui o tempo médio de brotação (CHABCHOUB et al., 2010), fator de grande importância para a homogeneidade da produção e sincronização da floração entre cultivares produtivas e polinizadoras.

As estacas tratadas com Erger apresentaram alta incidência de contaminação fúngica (dados não apresentados), fato que pode ter influenciado negativamente os resultados obtidos com este produto. Assim, este trabalho pode não representar o resultado de campo esperado ao utilizar este produto.

4.4. Conclusões

O uso de indutores de brotação em pereiras 'Hosui' aumenta a taxa de brotação e diminui o tempo médio de brotação quando estas plantas foram submetidas a poucas horas de frio durante o período hibernal, sendo os melhores resultados obtidos pelo uso da cianamida hidrogenada e sua combinação com óleo mineral.

Em situações em que há um acúmulo de quantidade de horas de frio suficiente para a brotação ocorrer, os indutores de brotação utilizados demonstram resultados semelhantes a testemunha, porém diminuem o tempo médio de brotação em pereiras 'Hosui'.

5. Considerações finais

A fruticultura de clima temperado é um importante setor do agronegócio brasileiro, e tem um grande potencial para desenvolver-se cada vez mais em nosso país. Porém, para tal, diversos obstáculos devem ser superados, para aumentar a produtividade dos pomares e a qualidade dos frutos. Dessa forma é imprescindível o investimento em pesquisas para aperfeiçoar o manejo das culturas nos diferentes cenários de produção e transferir novos conhecimentos para os agricultores.

O planejamento adequado é considerado um ponto chave para o sucesso de um pomar. Desse modo é de suma importância a escolha da cultivar que melhor se adapte as condições ambientais da região em questão, além de um porta-enxerto que seja adequado para as condições edafoclimáticas a que está sujeito. Outro fator importante é o uso das práticas culturais adequadas para cada cultura e cultivar no momento ideal, desde a adubação, poda, tratamentos fitossanitários, quebra da dormência entre outros. Desse modo, este trabalho abordou alguns desses pontos, visando trazer mais informações e esclarecimentos para a fruticultura.

No primeiro capítulo podemos observar os efeitos que a escolha da cultivar podem trazer para o desenvolvimento das plantas de um pomar. Plantas com alto requerimento em frio para superação da dormência quando cultivadas em condições de inverno ameno tendem a ter dificuldades para a formação do dossel da planta nos primeiros anos após o plantio, situação que irá resultar em atraso para início da produção, além da baixa produtividade. Assim uma alternativa para a produção de maçãs em regiões de inverno ameno é a utilização de cultivares com baixo requerimento em frio, as quais foram desenvolvidas para serem adaptadas a estas condições, demonstrando bom potencial produtivo mesmo nestas condições adversas.

A avaliação do estado de dormência de plantas frutíferas tem papel importante no manejo dessas culturas. Porém, a dormência de plantas frutíferas é um processo de alta complexidade dependente de diversos fatores intrínsecos e extrínsecos à planta e que ainda não foi completamente elucidado. Desse modo, o segundo capítulo estudou o aminoácido prolina e seu comportamento em gemas de plantas dormentes, onde foi possível observar que os níveis deste aminoácido apresentam tendência de aumento alguns dias antes da brotação das gemas em plantas que foram expostas a condições de frio ideais para o desenvolvimento da

cultivar em questão. Assim, estes resultados além de demonstrar que este aminoácido está relacionado ao processo de superação da dormência, também que a mesma pode ser utilizada como um marcador da dormência de gemas.

Este trabalho tinha inicialmente o intuito de estudar juntamente com a prolina, o potencial osmótico de gemas de macieira como um marcador da dormência. Apesar de haver sido coletado material para tal análise, devido problemas no armazenamento deste material, não foi possível realizar esta análise. Assim, para trabalhos futuros, o potencial osmótico e níveis de prolina em gemas dormentes podem constituir um estudo com grande potencial na busca por conhecimentos relacionados a dormência de plantas frutíferas de clima temperado.

O uso de indutores de brotação é uma das principais práticas culturais que possibilitam o cultivo de frutíferas temperadas em regiões de inverno ameno, sendo que mesmo cultivares de baixo requerimento em frio em algumas condições necessitam destes produtos para ter uma brotação ideal.

Assim, o terceiro capítulo avaliou diferentes indutores de brotação em pereiras 'Hosui'. Os melhores resultados foram obtidos com a cianamida hidrogenada e a combinação desta com óleo mineral. O produto Erger®, apesar de apresentar bons resultados em outros trabalhos, neste estudo demonstrou potencial inferior para induzir a brotação, porém este resultado pode ter sido causado devido a alta incidência de infecções fúngicas nas estacas tratadas com este produto, fato que pode ter ocorrido devido a alta umidade da câmara de crescimento onde as estacas ficaram armazenadas.

Desse modo, este trabalho conclui que as condições de inverno ameno a qual estamos sujeitos podem ter grande interferência na formação de plantas frutíferas de clima temperado, podendo prejudicar a produtividade e a qualidade de nossos pomares. Por isso, é de grande importância o uso de cultivares que irão se adaptar as condições edafoclimáticas da região e o emprego dos tratamentos culturais ideais, bem como o aprofundamento de estudos relacionados ao mecanismo da dormência.

Referências

- ABRAFRUTAS. Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados. Estatísticas de exportações de frutas 2017. 2018. Disponível em: < abrafrutas.org/2018/08/04/estatisticas-de-exportacoes-de-frutas-2017>. Acesso em 15 mai. 2019.
- ABREU, E. S.; CARRA, B.; SPAGNOL, D.; SCHMITZ, J. D.; SILVA, T. A.; HELLWIG, C. G.; FACHINELLO, J. C. Evaluation of the effect of different budbreak promoters on apple trees 'Eva' and 'Castel Gala' in mild winter climate conditions. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 20, n. 1, p. 1–7, 2018.
- ANDREINI, L.; VITI, R.; BARTOLINI, S.; et al. The relationship between xylem differentiation and dormancy evolution in apricot flower buds (*Prunus armeniaca* L.): The influence of environmental conditions in two Mediterranean areas. **Trees - Structure and Function**, v. 26, n. 3, p. 919–928, 2012.
- ARIAS, M.; DARINO, E.; ASTESSIANO, R.; SEVERINO, V. Hydrogen cyanamide on budbreak and yield of 'O'neal' highbush blueberry in south Uruguay. **Acta Horticulturae**, v. 872, p. 245–252, 2010.
- ARORA, R.; ROWLAND, L. J.; TANINO, K. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: A science comes of age. **HortScience**, v. 38, n. 5, p. 911–921, 2003.
- BARTHÉLÉMY, D.; CARAGLIO, Y. Plant architecture: A dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. **Annals of Botany**, v. 99, n. 3, p. 375–407, 2007.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205–207, 1973.
- BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas**. Recife: Editora Universitária da UFRPE, 2011. 267 p.
- Brighenti, Livia Mattos. Dormência da pereira. In: RUFATO, Leo.; KRETZSCHMAR, Aike A.; BOGO, Amauri. (Org.). **A Cultura da Pereira**. Florianópolis: DIOESC, 2012. p.112-122.
- CARDOSO, L. S.; BERGAMASCHI, H.; BOSCO, L. C.; et al. Disponibilidades climáticas para macieira na região de Vacaria, RS. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p.

1960–1967, 2012.

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 Frut**, v. 26, n. 1, p. 65–68, 2004.

CARVALHO, R. I. N. DE; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; et al. Dormancy of ‘Imperial Gala’ apple and ‘Hosui’ pear tree buds in a region of low chill occurrence. **Acta Scientiarum**, v. 36, n. 4, p. 429–434, 2014.

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

CHABCHOUB, M. A.; AOUNALLAH, M. K.; SAHLI, A. Effect of hydrogen cyanamide on bud break, flowering and fruit growth of two pear cultivars (*Pyrus communis*) under Tunisian condition. **Acta Horticulturae**, v. 884, p. 427–432, 2010.

CITADIN, I.; BASSANI, M. H.; DANNER, M. A.; MAZARO, S. M.; GOUVÊA, A. D. E. Uso de cianamida hidrogenada e óleo mineral na floração, brotação e produção do pessegueiro ‘chiripá’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 32–35, 2006.

COOK, N. C.; RABE, E.; KEULEMANS, J.; JACOBS, G. The expression of acrotony in deciduous fruit trees: A study of the apple rootstock M.9. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 1998.

COOK, N. C.; JACOBS, G. Suboptimal winter chilling impedes development of acrotony in apple shoots. **HortScience**, v. 34, n. 7, p. 1213–1216, 1999.

COOK, N. C.; JACOBS, G. Progression of apple (*Malus x domestica* Borkh.) bud dormancy in two mild winter climates. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 75, n. 2, p. 233–236, 2000.

COOK, N. C. Apple production under conditions of sub-optimal winter chilling in South Africa. **Acta Horticulturae**, v. 872, p. 199–204, 2010.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Laboratório de Agrometeorologia. 2019. Disponível em: < <http://agromet.cpact.embrapa.br>>. Acesso em 16 mai. 2019.

EREZ, A. Bud dormancy; phenomenon, problems and solutions in the tropics and subtropics. In: EREZ, A. (Org.). **Temperate fruit crops in warm climates**. Dordrecht: Springer, 2000. p. 17-48.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. D. S.; SCHMITZ, J. D.; BETEMPS, D. L. Situation and perspectives of temperate fruit crops in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 109–120, 2011.

FAORO, Ivan Dagoberto. Cultivares e porta-enxertos. In Epagri. (Org.). **Nashi, a pêra japonesa**, Florianópolis: Epagri/JICA), 2001. p. 95-138. ().

FAORO, I. D.; ORTH, A. I. The pear tree culture in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 32, n. 1, p. 001-002, 2010.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statical Databases. 2019. Disponível em < <http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em 15 mai. 2019.

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**, v. 32, n. 4, p. 623–629, 1997.

FAUST, M.; LIU, D.; WANG, S. Y.; STUTTE, G. W. Involvement of apical dominance in winter dormancy of apple buds. **Acta Horticulturae**, v. 395, p. 47–56, 1995.

DE FAY, E.; VACHER, V.; HUMBERT, F. Water-related phenomena in winter buds and twigs of *Picea abies* L. (Karst.) until bud-burst: A biological, histological and NMR study. **Annals of Botany**, v. 86, n. 6, p. 1097–1107, 2000.

FEEHAN, J.; HARLEY, M.; MINNEN, J. Climate change in Europe. 1. Impact on terrestrial ecosystems and biodiversity. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, n. 3, p. 409–421, 2009.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes: An R package for Anova and experimental designs. **Applied Mathematics**, v. 5, p. 2952–2958, 2014.

FLECKINGER, J. Les stades végétatifs des arbres fruitiers, en rapport avec le traitements. **Pomologie Française**, v. Supplément, p. 81-93, 1948.

FUMIS, T. DE F.; PEDRAS, J. F. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 449–453, 2002.

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

GRIFFITH, M.; YAISH, M. W. F. Antifreeze proteins in overwintering plants : a tale of two activities. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 8, p. 399–405, 2004.

HARE, P. D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 21, n. 2, p. 79–102, 1997.

HARO, L. Disulfiram-Like syndrome after hydrogen cyanamide professional skin exposure: Two case reports in France. **Journal of Agromedicine**, v. 14, n. 3, p. 382–384, 2009.

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

HAWERROTH, F. J.; PETRI, J. L.; HERTER, F. G.; LEITE, G. B.; LEONETTI, J. F.; MARAFON, A. C.; SIMÕES, F. Fenologia, brotação de gemas e produção de frutos de macieira em resposta à aplicação de cianamida hidrogenada e óleo mineral. **Bragantia**, v. 68, n. 4, p. 961–971, 2009.

HAWERROTH, F. J.; PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; HERTER, F. G. Budbreak in “Imperial Gala” and “Fuji Suprema” apples by using Erger and calcium nitrate. **Revista Brasileira do Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 343–350, 2010.

HEIDE, O. M.; PRESTRUD, A. K. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. **Tree Physiology**, v. 25, n. 1, p. 109–114, 2005.

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

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA. 2019. Disponível em:<
<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em 15 mai. 2019.

JAMIL, S.; ALI, Q.; IQBAL, M.; et al. Modulations in plant water relations and tissue-specific osmoregulation by foliar-applied ascorbic acid and the induction of salt tolerance in maize plants. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 38, n. 3, p. 527–538, 2015.

JONGDEE, B.; FUKAI, S.; COOPER, M. Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. **Field Crops Research**, v. 76, p. 153–163, 2002.

KISHOR, P. B. K.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; et al. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, n. 3, p. 424–438, 2005.

KISHOR, P. B. K.; SREENIVASULU, N. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? **Plant, Cell and Environment**, v. 37, p. 300–311, 2014.

KIST, B. B. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz: Gazeta, 2018. 88 p.

KRETZSCHMAR, A. A.; BRIGHENTI, L. M.; RUFATO, L.; et al. Chilling requirement for dormancy bud break in European Pear. **Acta Horticulturae**, v. 909, p. 85–88, 2011.

LAURI, P. É.; BOURDEL, G.; TROTTIER, C.; COCHARD, H. Apple shoot architecture: Evidence for strong variability of bud size and composition and hydraulics within a branching zone. **New Phytologist**, v. 178, n. 4, p. 798–807, 2008.

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

LIMA, M. D. G. DE S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do

estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, v. 63, n. 3, p. 335–340, 2004.

LIU, J.; ZHU, J. Proline Accumulation and Salt-Stress-Induced Gene Expression in a Salt-Hypersensitive Mutant of Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 114, n. 2, p. 591–596, 1997.

MAGUYLO, K.; COOK, N. C.; THERON, K. I. Environment and position of first bud to break on apple shoots affects lateral outgrowth. **Trees - Structure and Function**, v. 26, n. 2, p. 663–675, 2012.

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

MALUF, J. R. T.; MATZENAUER, R.; STEINMETZ, S.; MALUF, D. E. **Zoneamento agroclimático da macieira no estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2011. Boletim FEPAGRO, n.19, 80p.

MARAFON, A. C.; HERTER, F. G.; HAWERROTH, F. J. Umidade ponderal em tecidos de pereira durante o período de dormência sob condições de inverno ameno. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1006–1012, 2011.

MARCHI, T.; OLIARI, I. C. R.; MAIA, A. J.; SATO, A. J.; BOTELHO, R. V. Indução da brotação de gemas de macieiras com aplicação de óleos vegetais e mineral. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 48, n. 3, p. 501–512, 2017.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M. DOS; BANZATTO, D. A.; CODOGNOTTO, L. M. Influência da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no teor de prolina livre de guandu. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 355–358, 2006.

MATZENAUER, R.; BUENO, A. C.; CARGNELUTTI FILHO, A.; et al. Horas de frio no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 11, n. 1–2, p. 71–76, 2005.

MATZENAUER, R.; BUENO, A. C.; MALUF, J. R. T.; et al. Regime anual e estacional de horas de frio no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 13, n. 1–2, p. 11–16, 2007.

MILLARD, P.; SOMMERKORN, M.; GRELET, G. A. Environmental change and carbon limitation in trees: A biochemical, ecophysiological and ecosystem appraisal. **New Phytologist**, v. 175, n. 1, p. 11–28, 2007.

MILLARD, P.; WENDLER, R.; HEPBURN, A.; SMITH, A. Variations in the amino acid composition of xylem sap of *Betula pendula* Roth . trees due to remobilization of stored N in the spring. **Plant, Cell and Environment**, v. 21, p. 715–722, 1998.

MOHAMED, A. K. A. The effect of chilling, defoliation and hydrogen cyanamide on dormancy release, bud break and fruiting of Anna apple cultivar. **Scientia Horticulturae**, v. 118, n. 1, p. 25–32, 2008.

BEN MOHAMED, H.; VADEL, A. M.; GEUNS, J. M. C.; KHEMIRA, H. Effects of hydrogen cyanamide on antioxidant enzymes' activity, proline and polyamine contents during bud dormancy release in Superior Seedless grapevine buds. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 2, p. 429–437, 2012.

MUNIZ, Jaqueline N., KRETZSCHMAR, Aike A.; RUFATO, Leo. Importância econômica da cultura. In: RUFATO, Leo.; KRETZSCHMAR, Aike A.; BOGO, Amauri. (Org.). **A Cultura da Pereira**. Florianópolis: DIOESC, 2012. p.21-29.

NAOR, A.; FLAISHMAN, M.; STERN, R.; MOSHE, A.; EREZ, A. Temperature effects on dormancy completion of vegetative buds in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 128, n. 5, p. 636–641, 2003.

OLIVEIRA, O. R.; PERESSUTI, R. A.; SKALITZ, R.; et al. Quebra de dormência de pereira “hosui” com uso de óleo mineral em dois tipos de condução. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 409–413, 2008.

ORLANDI, F.; GARCIA-MOZO, H.; GALÁN, C.; ROMANO, B.; DE LA GUARDIA, C. D.; RUIZ, L.; TRIGO, M. M.; DOMINGUEZ-VILCHES, E.; FORNACIARI, M. Olive flowering trends in a large Mediterranean area (Italy and Spain). **International journal of biometeorology**, v. 54, n. 2, p. 151–63, 2010.

PÉREZ-LÓPEZ, D.; RIBAS, F.; MORIANA, A.; RAPOPORT, H. F.; DE JUAN, A. Influence of temperature on the growth and development of olive (*Olea europaea* L.) trees. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 83, n. 2, p. 171–176, 2008.

PETRI, J. L.; HERTER, F. G. Nashi pear (*Pyrus pyrifolia*) dormancy under mild temperate climate conditions. **Acta Horticulturae**, v. 587, p. 353–361, 2002.

PETRI, J. L.; LEITE, G. B. Consequences of insufficient winter chilling on apple tree bud-break. **Acta Horticulturae**, v. 662, n. 1, p. 53–60, 2004.

PETRI, J. L. Fatores edafoclimáticos. In: EPAGRI (Org.). **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/Epagri. 2006. p. 105-112.

PETRI, J. L.; PALLADINI, L. A.; POLA, A. C. Dormência e indução da brotação da macieira. In: EPAGRI (Org.). **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/Epagri. 2006. p. 261-298.

PETRI, J. L.; BERENHAUSER LEITE, G.; PUTTI, G. L. Apple tree budbreak promoters in mild winter conditions. **Acta Horticulturae**, v. 774, p. 291–296, 2008.

PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; COUTO, M.; P, F. Advances of the apple crop in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 48–56, 2011.

POMMER, C. V.; BARBOSA, W. The impact of breeding on fruit production in warm climates of Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 612–634, 2009.

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

QIN, D.; WANG, J. ZHENG; GUO, J. MIN; ZHAI, H. The Relation Between Endogenous Hormones and Late-Germination in Buds of Avrolles Apple. **Agricultural Sciences in China**, v. 8, n. 5, p. 564–571, 2009.

R core team R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em 22 fev. 2019.

RETAMALES, J. B. World temperate fruit production: characteristics and challenges. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. spe1, p. 121–130, 2011.

ROBERTO, S. Indução da brotação da macieira ‘Eva’ em região de baixa incidência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 128–130, 2006.

SCHMITZ, J. D.; BONHOMME, M.; COCHARD, H.; HERTER, F. G.; LEITE, G. B.; REGNARD, J. L.; LAURI, P. É. Are the effects of winter temperatures on spring budburst mediated by the bud water status or related to a whole-shoot effect? Insights in the apple tree. **Trees - Structure and Function**, v. 29, n. 3, p. 675–682, 2015a.

SCHMITZ, J. D.; GUÉDON, Y.; HERTER, F. G.; LEITE, G. B.; LAURI, P. É. Exploring bud dormancy completion with a combined architectural and phenological analysis: The case of apple trees in contrasting winter temperature conditions. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 3, p. 398–407, 2014.

SCHMITZ, J. D.; HERTER, F. G.; REGNARD, J. L.; LEITE, G. B.; BONHOMME, M.; COCHARD, H.; LAURI, P. É. Is acrotonic budburst pattern in spring a typical behavior of the low-chilling apple cultivar “Eva” in mild winter conditions? An approach combining ex planta single-node cutting test and in planta bud water content during dormancy. **Scientia Horticulturae**, v. 188, p. 84–88, 2015b.

SEIF EL-YAZAL, M. A. S.; EL-YAZAL, S. A. S.; RADY, M. M. Exogenous dormancy-breaking substances positively change endogenous phytohormones and amino acids during dormancy release in ‘ Anna ’ apple trees. **Plant Growth Regul**, v. 72, p. 211–220, 2014.

SEIF EL-YAZAL, M. A. S.; RADY, M. M. Changes in nitrogen and polyamines during breaking bud dormancy in “ Anna ” apple trees with foliar application of some compounds. **Scientia Horticulturae**, v. 136, p. 75–80, 2012.

SEIF EL-YAZAL, M. A. S.; RADY, M. M. Foliar-applied Dormex™ or thiourea-enhanced proline and biogenic amine contents and hastened breaking bud dormancy in “Ain Shemer” apple trees. **Trees - Structure and Function**, v. 27, n. 1, p. 161–169, 2013.

VITASSE, Y.; FRANÇOIS, C.; DELPIERRE, N.; et al. Assessing the effects of climate change on the phenology of European temperate trees. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 151, n. 7, p. 969–980, 2011.

WANG, Z. Q.; YUAN, Y. Z.; OU, J. Q.; LIN, Q. H.; ZHANG, C. F. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to different salinity. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 6, p. 695–701, 2007.

EL YAACOUBI, A.; MALAGI, G.; OUKABLI, A.; CITADIN, I.; HAFIDI, M.; BONHOMME, M.; LEGAVE, J. M. Differentiated dynamics of bud dormancy and

growth in temperate fruit trees relating to bud phenology adaptation, the case of apple and almond trees. **International Journal of Biometeorology**, v. 60, n. 11, p. 1695–1710, 2016.

YAISH, M. W. Proline accumulation is a general response to abiotic stress in the date palm tree (*Phoenix dactylifera* L .). **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 3, p. 9943–9950, 2015.

YOSHIBA, Y.; KIYOSUE, T.; NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. **Plant and Cell Physiology**, v. 38, n. 10, p. 1095–1102, 1997.

ZANOL, G. C.; SEKOZAWA, Y.; SUGAYA, S.; GEMMA, H. Effect of hydrogen cyanamide on dormancy release, budbreak and fruiting in japanese pear. **Acta Horticulturae**, v. 884, p. 363–370, 2010.