

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**INDUÇÃO DA BROTAÇÃO E ATIVIDADE
ENZIMÁTICA DE GEMAS DE MACIEIRA MEDIANTE
APLICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS E MINERAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

THIAGO MARCHI

GUARAPUAVA-PR

2014

THIAGO MARCHI

**INDUÇÃO DA BROTAÇÃO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE GEMAS DE
MACIEIRA MEDIANTE APLICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS E MINERAL**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho

Orientador

Dra. Aline José Maia

Co-orientadora

GUARAPUAVA-PR

2014

Thiago Marchi

**INDUÇÃO DA BROTAÇÃO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE GEMAS DE MACIEIRA
MEDIANTE APLICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS E MINERAL**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

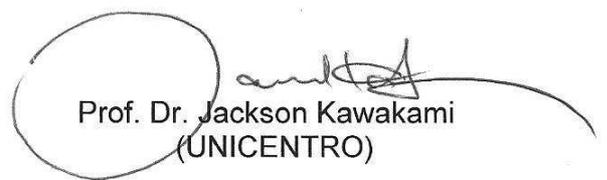
Aprovada em 27 de janeiro de 2015.



Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho
(UNICENTRO)



Prof. Dr. Ricardo Antônio Ayub
(UEPG)



Prof. Dr. Jackson Kawakami
(UNICENTRO)



Prof.ª Dr.ª Lilian Yukari Yamamoto
(UNICENTRO)

GUARAPUAVA-PR

2015

à minha noiva Mirley,
à minha família Odete, Felício e Felipe,
e à especial Dilma (*in memoriam*),
Dedico...

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente.

Nada acontece por acaso, cada coisa tem seu motivo e seu tempo certo!

Aos meus pais Felício e Odete e meu irmão Felipe, pela educação que recebi e por todo o apoio que sempre tive, pois sem ele eu não teria condições de obter este título.

À minha noiva Mirley, agradeço todo o apoio, incentivo, compreensão e carinho. Você sempre confiou em meus sonhos, sendo fundamental em mais esta conquista.

À especial Dilma, que acreditou muito na realização dos meus sonhos e que infelizmente não pode ver minhas últimas conquistas.

Ao professor Renato que além de me orientar durante a condução dos trabalhos foi um exemplo de ética, profissionalismo e companheirismo. Com certeza agregou muito na minha formação profissional!

Não posso deixar de agradecer também aos professores Leo e Aike, que me deram a primeira oportunidade de trabalho, me ensinaram a dar os primeiros passos no mundo da pesquisa.

E um agradecimento especial aos meus amigos e colegas do Grupo de Fruticultura Sustentável da Unicentro, em especial à Ires e ao Piva; aos bolsistas: Zé, Letícia, Bia e Vinicius; e ao Professor Sato e minha co-orientadora Aline. Foi muito gratificante fazer parte deste grupo. Vocês tornaram a rotina do trabalho mais interessante e divertida!

Aos meus colegas da República Cabrito: Bruno, Roni e Cabrito. Bééééééé!

Às instituições: CAPES pelo auxílio financeiro, ao SIMEPAR pelo fornecimento de dados climáticos e à UNICENTRO, que através do Programa de Pós-graduação em Agronomia propiciou minha formação.

Ao senhor Rafael Hamada, que gentilmente cedeu seu pomar.

A vocês minha admiração e gratidão!

SUMÁRIO

Lista de Símbolos e Abreviaturas	i
Resumo	ii
Abstract	iii
1. Introdução	1
2. Objetivos	2
3. Referencial Teórico	3
3.1. A cultura da macieira no Brasil	3
3.2. Fisiologia da dormência em frutíferas	3
3.3. Utilização de indutores de brotação	7
3.4. Metabolismo de enzimas no processo de dormência em gemas	10
4. Material e Métodos	16
4.1. Experimento 1: Teste biológico de ramos destacados	16
4.2. Experimento 2: Macieiras em fase de produção	18
4.3. Experimento 3: Macieiras em fase de formação e início da produção	21
4.4. Atividade das enzimas catalase e peroxidase em gemas de macieira	23
5. Resultados	25
5.1. Experimento 1: Teste biológico de ramos destacados	25
5.2. Experimento 2: Macieiras em fase de produção	28
5.3. Experimento 3: Macieiras em fase de formação e início da produção	32
6. Discussões	46
6.1. Brotação de gemas	46
6.2. Atividade das enzimas catalase e peroxidase	48
6.3. Comprimento dos ramos e área média de folhas	50
6.4. Frutificação efetiva e fenologia da floração	51
6.5. Produção de frutos	53
6.6. Características físico-químicas dos frutos	55
7. Conclusões	56
8. Referências Bibliográficas	57

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

OM	Óleo mineral
OVS	Óleo vegetal de soja
OVM	Óleo vegetal de milho
OVG	Óleo vegetal de girassol
OVR	Óleo vegetal de reuso
OVE	Óleo vegetal emulsionável
Det.	Detergente
Test.	Testemunha
ha	Hectare
%	Porcentagem
+	Soma
μL	Microlitro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
Mn ⁺²	Manganês
rpm	Rotações por minuto
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Adenosina trifosfato
°C	Graus Celsius
M	Molar
mM	Milimolar
i.a.	Ingrediente ativo
O ₂ ⁻	Radical superóxido
NADP	Nicotinamida adenosina dinucleótido fosfato
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzido
p.c.	Produto comercial
et al.	“e outros”
≤	menor igual

RESUMO

Thiago Marchi. Indução da brotação e atividade enzimática de gemas de macieira mediante aplicação de óleos vegetais e mineral

A indução da brotação de fruteiras de clima temperado em regiões de baixo acúmulo de frio hibernal é realizado principalmente com cianamida hidrogenada, composto que possui alta toxicidade aguda e que está sendo restringido dos mercados. Portanto novas alternativas necessitam ser estudadas. Neste sentido, experimentos foram desenvolvidos para verificar a eficiência de diferentes óleos vegetais, em mistura com óleo mineral, na indução da brotação e na alteração da atividade das enzimas catalase e peroxidase, em gemas de macieira. Os seguintes produtos foram utilizados para composição dos tratamentos: cianamida hidrogenada (Dormex®, 520 g L⁻¹ i.a.), óleo mineral (Assist®, 756 g L⁻¹ i.a.), óleo vegetal emulsionável (Natur'óleo®, 930 g L⁻¹ i.a.), e ainda óleos vegetais de soja, milho, girassol e de reuso. Como agente emulsionante de óleos vegetais não emulsionáveis foi utilizado detergente. Os diferentes tratamentos foram testados em condições controladas, utilizando a metodologia do teste biológico de ramos destacados; em plantas adultas, com 13 anos de idade; e em plantas em formação e início de produção com dois anos. A aplicação da mistura de cianamida hidrogenada e óleo mineral resultou em alto percentual de brotação de gemas, reduziu a atividade da enzima catalase e o vigor das plantas, porém este tratamento diminuiu a frutificação efetiva, fator que pode casualmente acarretar em menor produção. O óleo vegetal, em mistura com o óleo mineral, pode ser uma alternativa interessante para indução da brotação, no entanto há uma resposta positiva para o aumento da sua concentração, que deve ser melhor estudada. As diferentes fontes de óleo vegetal apresentaram eficiência equivalente na indução da brotação de gemas de macieira. A indução da brotação com a aplicação de óleo vegetal e mineral não alterou a atividade da enzima catalase, 24 horas após a aplicação. Cianamida hidrogenada, óleo mineral e óleos vegetais não influenciaram a atividade da enzima peroxidase, 24 horas após a aplicação. A indução da brotação com óleo vegetal e mineral tem potencial para produzir de forma semelhante a mistura cianamida hidrogenada e óleo mineral. A condução de novos estudos de readequação de dosagem devem considerar a frutificação efetiva e a produtividade, além do percentual de brotação.

Palavras-Chave: Cianamida hidrogenada; Quebra da dormência; *Malus domestica* Borkh.

ABSTRACT

Thiago Marchi. Induction of budding and enzymatic activity of apple tree buds by applying vegetable oils and mineral

The bud breaking of temperate fruit trees in low wintry chill accumulation regions is mainly carried out with hydrogen cyanamide, a compound that has a high acute toxicity and being restricted markets. Therefore new alternatives need to be studied. Field experiments were designed to verify the efficiency of vegetable oils mixed with mineral oil in the bud breaking and changing the activity of catalase and peroxidase enzymes in apple tree buds. The following products were used for the treatment mix: hydrogen cyanamide (Dormex®, 520 g L⁻¹ a.i.), mineral oil (Assist®, 756 g L⁻¹ a.i.), emulsifiable vegetable oil (Natur'óleo®, 930 g L⁻¹ a.i.) and also vegetable oils of soybean, corn, sunflower and reuse. Since no emulsifier was used emulsifiable vegetable oils detergent. The different treatments were tested under controlled conditions, using the methodology of biological testing detached branches; in adult plants of 13 years old; and plants in training and start of production two years. The application of the mixture of hydrogenated cyanamide and mineral oil resulted in a high percentage of bud break, reduced the catalase enzyme activity and reduced plant vigor, but this treatment reduces fruit set, a factor that may result in lower production. The vegetable oil, mixed with mineral oil, can be a good alternative to induce sprouting, however there is a positive response to the increase in concentration which should be further investigated. The different vegetable oil sources did not appear to influence differently the percentage of shooting. The induction of budding by the application of vegetable and mineral oil did not alter the activity of the enzyme catalase 24 hours after application. Hydrogen cyanamide, mineral oil and vegetable oils did not affect the peroxidase activity 24 hours after application. The bud breaking with vegetable and mineral oil has the potential to produce similar as to mixture of hydrogen cyanamide and mineral oil. New studies of dosage readjustment should consider reducing fruit set and productivity, as well as the percentage of shooting.

Keywords: Hydrogen cyanamide; Dormancy breaking; *Malus domestica* Borkh.

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais características de frutíferas de clima temperado é apresentar no período do outono e inverno uma fase de diminuição do metabolismo conhecida como dormência. Durante esta fase, o crescimento é reduzido drasticamente e a planta adquire resistência ao frio, desta forma este mecanismo auxilia na sobrevivência de espécies em regiões com invernos rigorosos.

Para que a planta supere este período de dormência e retome seu crescimento, são necessárias certas condições ambientais como por exemplo, um período de exposição ao frio pelas gemas e fotoperíodo adequado. Quando satisfeitas estas exigências climáticas, estando a planta em ambiente favorável, ocorrerá a brotação das gemas. Caso estas condições não sejam plenamente satisfeitas, a planta desenvolverá uma série de anomalias, como falhas na brotação, baixo enfolhamento, aumento do vigor, distúrbios na floração e na frutificação, entre outros.

Com a expansão da fruticultura de clima temperado para regiões com baixo acúmulo de frio hibernal, houve a necessidade de se utilizar técnicas para compensar a falta de frio. Estas técnicas compreendem o uso de cultivares com menores exigências em frio, uso de porta enxertos ananizantes ou com baixa afinidade com a cultivar copa, o arqueamento e dobra de ramos, a poda, a desfolha, o anelamento e a aplicação de agentes químicos denominados de indutores de brotação, sendo este último o mais usual para tal fim.

Atualmente os únicos produtos registrados para esta finalidade no Brasil são a cianamida hidrogenada e sua mistura com óleo mineral. Porém a tendência é que este produto seja banido do mercado pela sua alta toxicidade aguda, tal como já ocorrido na União Européia em 2008. Deste modo, uma das preocupações dos fruticultores de regiões de clima subtropical e tropical que cultivam espécies de clima temperado é descobrir uma alternativa eficaz para indução da brotação de gemas, principalmente se este produto for retirado do mercado. Além disto, o uso de substâncias eficazes, porém com baixa toxicidade ao homem e ao meio ambiente, é uma das diretrizes das produções integrada e orgânica, amplamente adotadas na cadeia frutícola brasileira.

Neste contexto, alguns testes preliminares indicaram resultados satisfatórios para a mistura óleo mineral e óleo vegetal na promoção da brotação de gemas de frutíferas. No entanto faltam bases científicas para indicar tal recomendação nos cultivos comerciais.

2. OBJETIVOS

- Avaliar a eficiência da mistura de óleo mineral e vegetal na indução da brotação de gemas de macieira em regiões com baixo acúmulo de frio hibernar, bem como a produtividade e o vigor das plantas;
- Descobrir se há diferenças na eficiência de diferentes óleos vegetais na indução da brotação de gemas;
- Constatar se a aplicação de óleos vegetais e mineral influenciam a atividade das enzimas catalase e peroxidase das gemas de macieira.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. A cultura da macieira no Brasil

O agronegócio da maçã localiza-se principalmente na região sul do Brasil, envolvendo seus três estados, notadamente nas regiões mais frias dos mesmos, destacando-se a região de Vacaria, no Rio Grande do Sul, São Joaquim e Fraiburgo, no Estado de Santa Catarina, e de Palmas e Porto Amazonas, no Estado do Paraná (PETRI et al., 2011).

O cultivo comercial desta frutífera no Brasil se iniciou após a década de 1970 (PETRI et al., 2011) e atualmente possui aproximadamente 38.500 ha plantados, com uma produção de mais de 1.335 mil toneladas, sendo que nos últimos dez anos apresentou um crescimento de 22% em área de cultivo, 55,8% em produção e de 27,7% em rendimento (FAO, 2014). Desde 1994, o Brasil passou a exportador de maçãs, sendo que a partir do ano 2000, as exportações vêm superando as importações (PETRI et al., 2011). Os fatores responsáveis por esse grande crescimento devem-se ao desenvolvimento das tecnologias utilizadas nos cultivos, pela logística implantada, pela definição de cultivares (Gala e Fuji) e clones capazes de atender às exigências dos consumidores (FACHINELLO et al., 2011).

No Brasil, os grupos Gala e Fuji representam entorno de 60 e 30% da produção, respectivamente. Estas cultivares necessitam de mais de 600 horas de frio ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$) para brotarem e florescerem uniformemente. Geralmente esta condição não é plenamente satisfeita, ocorrendo brotação e floração desuniformes, com reflexos negativos na produtividade, sendo imprescindível nestes casos o uso de indutores de brotação para viabilizar o cultivo, propiciando regularidade de produção (PETRI et al., 2011; PETRI et al., 2006).

3.2. Fisiologia da dormência em frutíferas

A dormência é um fenômeno biológico complexo, em que são verificadas grandes modificações no metabolismo vegetal, afim de adquirir resistência a condições ambientais desfavoráveis ao desenvolvimento das plantas (HAWERROTH et al., 2010a; CAMPOY et al., 2011). Durante este período as atividades fisiológicas das plantas ocorrem em níveis mínimos (PETRI et al., 2006).

Durante a ocorrência deste fenômeno adaptativo são verificadas grandes alterações no

balanço hormonal da planta (EL-YAZAL et al., 2014). Um dos hormônios que se acredita que possa influenciar em grande parte esse processo é o ácido abscísico (ABA), que atua como regulador primário na iniciação da dormência de sementes e de gemas e nas respostas de plantas ao estresse, particularmente o estresse hídrico. Em adição, o ABA influencia vários aspectos do desenvolvimento da planta, atuando como antagonista da ação de promotores do crescimento (giberelinas, auxinas e citocininas) e inibindo determinados tipos de RNA (ácido ribonucleico), que impedem a formação de proteínas necessárias ao crescimento (SAURE, 1985; POWELL, 1987; PETRI et al., 2006; EL-YAZAL et al., 2014). No entanto, para Pinto et al. (2007) correlações positivas entre teor de ABA, o número de horas de frio e dormência de gemas de diferentes espécies levaram a considerar erroneamente o envolvimento direto deste composto no controle da dormência de gemas.

Apesar de a dormência ser extensivamente estudada, o conhecimento dos mecanismos fisiológicos envolvidos neste processo ainda são limitados (OLSEN, 2006; CAMPOY et al., 2011), devido ao grande número de fatores, ambientais e relativos à planta, envolvidos e às dificuldades metodológicas em estudos dessa natureza (HAWERROTH et al., 2010a).

Sabe-se que a dormência é um mecanismo que é adquirido como um processo de desenvolvimento progressivo que tem início durante o outono, aumentando sua intensidade até alcançar a chamada dormência profunda ou endodormência (LANG et al., 1987; POWELL, 1987; RUIZ et al., 2007), conferindo a capacidade de sobrevivência em temperaturas inadequadas ao desenvolvimento vegetal.

Este processo é caracterizado por três períodos sucessivos: paradormência, endodormência e ecodormência (LANG et al., 1987). A paradormência, também chamada de inibição correlativa, é resultante da influência de outro órgão vegetal sobre a gema, causando a inativação do meristema floral ou vegetativo. Como exemplo disto cita-se a dominância apical, ocasionado pelo fluxo basipetal do fitohormônio auxina, que inibe a brotação de gemas laterais (LAVEE e MAY, 1997). Este fenômeno antecede a endodormência. Já a ecodormência consiste na não brotação de gemas, advindas de fatores ambientais limitantes ao desenvolvimento, como temperaturas extremas, deficiência de nutrientes e estresses hídricos que mantêm as gemas num estado quiescente, embora a mesma esteja fisiologicamente apta a se desenvolver (HORVATH et al., 2003; HAWERROTH et al., 2010a). Após a suspensão dos fatores limitantes sobre a planta, ocorre a brotação.

A endodormência, intermediária nas fases anteriores, consiste na paralização do

desenvolvimento da gema como forma de sobrevivência em condições ambientais desfavoráveis ao crescimento. Quando as gemas encontram-se neste estágio, a exposição a condições ótimas de desenvolvimento não é suficientemente capaz de induzir sua brotação. As gemas devem ser expostas previamente a condições ambientais que estimulem a superação do estado endodormiente, para que então recuperem a sua capacidade de brotação (HORVATH et al., 2003; PEREZ e LIRA, 2005; HAVERROTH et al., 2010a).

Em se tratando de condições ambientais, para macieiras e pereiras sabe-se que a suspensão do crescimento e a indução da dormência não estão relacionadas ao fotoperíodo como em grande parte das fruteiras de clima temperado, sendo as baixas temperaturas determinantes em ambos os processos, independentemente das condições fotoperiódicas (COOK et al., 2005; HEIDE e PRESTRUD, 2005; CAMPOY et al., 2011). Estando as plantas em dormência, a ação contínua de baixas temperaturas por determinado período permite a superação da dormência, sendo a quantidade de frio necessária para que isso ocorra variável entre espécies, cultivares e até mesmo gemas dentro de uma mesma planta (PETRI et al., 2006; CAMPOY et al., 2011).

Sabendo da grande importância da temperatura sobre o fenômeno da dormência, diversos trabalhos foram desenvolvidos visando determinar as condições térmicas preferenciais à indução e superação da dormência (HAVERROTH et al., 2010a; PETRI et al., 2012). O primeiro modelo a ser utilizado, e que tem sido aplicado até hoje pela facilidade de cálculo, é a soma diária das horas com temperaturas iguais ou inferiores a $7,2^{\circ}\text{C}$, durante o período de maio a setembro (BOTELHO et al., 2006). Entretanto, segundo Hauagge (2007) o efeito da temperatura para superação da dormência tem efeito positivo em uma faixa muito mais ampla (entre 0°C e 15°C), com máxima próxima de 7°C , e com valores negativos crescentes acima de $15-18^{\circ}\text{C}$. Para acomodar estas temperaturas modelos tem sido propostos onde uma unidade de frio (UF) é definida como o equivalente a 1 hora de exposição a temperatura de máxima eficiência (7°C) (PETRI et al., 2006). Entre os modelos desenvolvidos, destacam-se os de Utah e Carolina do Norte, com resultados satisfatórios obtidos pelos autores para pessegueiro e macieira, respectivamente (RICHARDSON et al., 1974; SHALTOUT e UNRATH, 1983). A partir desta metodologia de correlações entre unidades de frio e a brotação das gemas é possível prever com antecedência a data de floração e, por conseguinte, a época de maturação dos frutos (PETRI et al., 2012), se tornando esta uma importante ferramenta para o fruticultor.

Uma das maiores limitações de produção de fruteiras de clima temperado em regiões onde a quantidade de frio hibernal não é suficiente, é a superação do período de dormência. Nestes casos, a incompleta superação da dormência, determina atraso na brotação de gemas vegetativas e floríferas, baixos índices de brotação e falta de uniformidade no enfolhamento e na floração de plantas, e em decorrência disto, ocorre redução da produção e da qualidade dos frutos (EREZ, 2000; ALLAN, 2004; PETRI et al., 2004).

Erez e Zur (1974) representaram de maneira esquemática o que ocorre com macieiras em condições de baixo acúmulo de frio hibernal (Figura 1). Nestas condições nota-se que a planta fica muito vigorosa pela baixa produção de drenos (principalmente brotos e frutos), e conseqüentemente as condições pioram ano a ano, com a formação de poucas estruturas de frutificação e poucos frutos, o que aumenta ainda mais o vigor e o requerimento em frio pela planta.

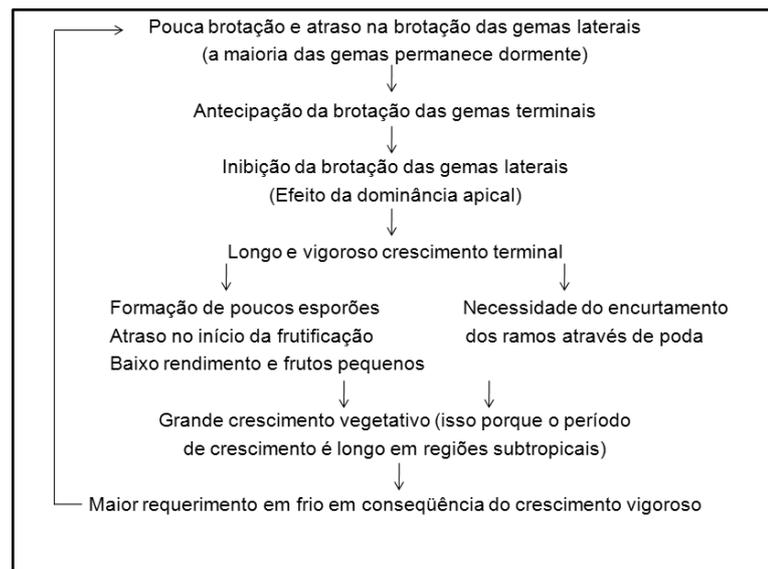


Figura 1. Fluxograma das conseqüências da falta de frio em macieiras (adaptado de EREZ E ZUR, 1974).

Neste contexto, alguns métodos culturais que restringem o crescimento das plantas e/ou controlam o vigor da planta, tais como uso de porta enxertos ananizantes ou com baixa afinidade com a cultivar copa, arqueamento e dobra de ramos, poda, desfolha, anelamento e outras práticas podem favorecer a brotação de gemas (CAMPOY et al., 2011; EL-YAZAL, 2008), embora a mais usual seja a aplicação de agentes químicos denominados de indutores de brotação (PETRI et al., 2006).

3.3. Utilização de indutores de brotação

A utilização de substâncias indutoras de brotação é uma estratégia que pode ser utilizada para reduzir o requerimento de frio de cultivares com baixa e média exigências e para modificar o período de brotação, floração e maturação dos frutos de espécies de frutíferas de clima temperado (GEORGE et al., 2002).

A primeira referência da ação de produtos na indução de brotação remonta de 1918, quando se verificou que macieiras pulverizadas com óleo de linhaça misturado em água durante o período de dormência para combater afídeos, floresciam primeiro e por um período menor (PETRI et al., 2006).

Mesmo em locais onde a dormência é superada normalmente o uso de indutores de brotação pode ser benéfico, já que pode-se conseguir modelar a época de colheita dos frutos, conseguir uniformidade de brotação e elevar o número de gemas brotadas em plantas com elevada dominância apical (HAVERROTH et al., 2010a). Iuchi et al. (2002) estudando a necessidade de indutores de brotação em pomares de macieira, situados em diferentes altitudes no município de São Joaquim-SC (900 a 1400 m de altitude), onde ocorre alto acúmulo de frio hibernal, constataram que sua adoção é uma boa estratégia para plantas jovens (em qualquer altitude) e para plantas adultas situadas em pomares abaixo de 1360 m de altitude.

Muitos agentes químicos apresentam eficiência na indução da brotação, porém poucas são as substâncias aceitas comercialmente (EREZ, 2000). Petri et al. (2006) citam várias substâncias que apresentam efeito na indução da brotação, tais como: óleo mineral, cálcio cianamida, nitrato de potássio, cianamida hidrogenada, dinitro-ortho-cresol (DNOC), dinitro-ortho-butyl-fenol (DNOPB), dinitro-butyl-fenol (DNBP), thiouréia, pentaclorofenolato de sódio, thidiazuron (TDZ) e ácido giberélico. Salienta-se que os sais dinitro foram banidos do mercado na década de 80, devido a sua alta toxicidade.

No Brasil, a cianamida hidrogenada tem sido utilizada conjuntamente ao óleo mineral, constituindo a principal estratégia para indução da brotação de macieiras (HAWERROTH et al., 2010b). Por meio desta mistura é possível reduzir os custos da aplicação, já que o óleo mineral permite diminuir as doses de cianamida hidrogenada.

A cianamida hidrogenada (H_2CN_2) é a única molécula registrada para indução da brotação no Brasil, sendo comercializada com o nome de Dormex[®], contendo 52% de

princípio ativo. Durante a dormência correlativa a cianamida hidrogenada não promove brotação e é fitotóxica; no início da endodormência há estímulo crescente com a dose, durante seu desenvolvimento, progressivamente, sendo necessário aumentar a concentração para promover brotação, enquanto que durante sua saída cada vez é requerida uma concentração menor; e na pós-dormência a cianamida hidrogenada não é efetiva e pode retardar a brotação ou ser fitotóxica (PETRI et al., 2006). É importante salientar que para a indução da brotação, todas as gemas devem ser atingidas, visto que o efeito é localizado, não havendo translocação do produto.

O modo de ação da cianamida hidrogenada ainda não está totalmente esclarecido, podendo estar relacionado aos seus efeitos no sistema respiratório das células e pela interferência em alguns processos enzimáticos que controlam o repouso das plantas, como, por exemplo, na atividade da catalase (SHULMAN et al., 1986). Já o efeito do óleo, segundo Erez et al. (1980), deve-se a condição anaeróbica temporária nas gemas, resultantes da privação de oxigênio pela cobertura do óleo, que acarreta o efeito de Pasteur e por consequência a produção de etanol, substância responsável pela superação da dormência. Apesar deste efeito, o uso de óleo mineral de forma isolada somente tem um bom efeito sobre a brotação das gemas apicais, porém seu efeito na brotação das gemas laterais é inferior à associação de óleo mineral com cianamida hidrogenada (PETRI et al., 2006).

A cianamida hidrogenada apresenta uma rápida degradação no solo em ureia, nitrato e amônia, comportando-se como um fertilizante nitrogenado, não deixando resíduos no solo e na planta (PRAMANIK et al., 2009; GOLDBACH et al., 1988). Estudos indicam que a meia-vida deste produto, após a aplicação, ocorra em menos de 2 dias (CAI et al., 2012). Apesar da baixa persistência no ambiente, a calda obtida com este produto é extremamente cáustica, podendo causar irritação nos olhos e na pele, hipotensão, aceleração do pulso, náuseas, sensação de calor e dores de cabeça em aplicadores desprotegidos. A ingestão de álcool, antes ou após o contato com o produto, intensifica estes sintomas. Frente a isto, a União Europeia restringiu o uso de Dormex[®], excluindo este composto do Anexo 1 das Diretrizes 91/414/CEE no ano de 2008 (HERNÁNDEZ e CRAIG, 2011). Desta forma, muitos fruticultores de outras partes do mundo temem que este produto seja banido, e preocupam-se pela falta de produtos com efeito similar no mercado.

Para McCartney e Walker (2004) uma das necessidades iminentes para a fruticultura orgânica é descobrir uma alternativa para a quebra de dormência de gemas, principalmente

para as culturas de kiwi e maçã. No Brasil, a necessidade de restringir cada vez mais o uso de substâncias sintéticas na condução de pomares, preconizada pelos programas de Produção Integrada de Frutas, torna a questão da indução da brotação de plantas frutíferas um fator limitante para a atividade no Brasil (SANHUEZA et al., 2003).

Frente a isto a busca de alternativas têm sido almejada, a fim de descobrir produtos com menor toxicidade ao homem e ao meio ambiente, aliado a eficiência na indução da brotação de gemas.

Nestas diretrizes, pesquisas foram desenvolvidas nos últimos anos, apontando resultados positivos para substâncias como: extrato de alho (KUBOTA et al., 1999; BOTELHO, 2007; BOTELHO e MULLER, 2007a; BOTELHO e MULLER, 2007b); extrato de cebola (EL-YAZAL e RADY, 2014; EL-YAZAL, 2014); a mistura de Erger® (composto à base de nitrogênio) e nitrato de cálcio (PETRI, 2005; HAWERROTH et al., 2010c), ácido glutâmico (PETRI et al., 2014), entre outros.

A utilização de óleos vegetais na agricultura cresceu nos últimos anos, principalmente com o lançamento de mais produtos na forma emulsionável. Para Haverroth et al. (2010b) as informações quanto ao uso de óleos para indução da brotação de frutíferas de clima temperado restringem-se a óleos minerais, havendo poucas informações quanto ao uso de óleos vegetais para tal fim.

Haverroth et al. (2010b) avaliaram diferentes concentrações de cianamida hidrogenada (0,00; 0,29; 0,39; 0,49; e 0,59%) associadas ao óleo mineral 3,2%, e cianamida hidrogenada 0,29% associada ao óleo vegetal 3,9% na indução da brotação de gemas de macieira. Os resultados indicaram que o óleo vegetal associado à cianamida hidrogenada apresentou desempenho inferior quanto à brotação de gemas laterais e terminais, quando comparado ao óleo mineral associado à cianamida hidrogenada na mesma concentração. Diferentemente, Couto et al. (2012) em trabalho semelhante, encontraram um potencial de utilização do óleo vegetal em substituição ao óleo mineral para tal fim. Para este autor macieiras 'Fuji Suprema' são mais responsivas aos tratamentos com óleo vegetal, que as da cv. Imperial Gala. Cabe ressaltar que o óleo utilizado por este autor é registrado como fertilizante foliar, pois contém nitrogênio (1%) e boro (0,2%), elementos estes que podem ter influenciado nos resultados obtidos.

Além destes trabalhos em que foram testadas a substituição do óleo mineral por vegetal na mistura com cianamida hidrogenada, algumas pesquisas preliminares tem indicado

eficiência na mistura de óleo vegetal com óleo mineral na superação da dormência de gemas.

Uber et al. (2012) verificaram a eficiência na brotação de gemas de macieiras 'Maxi Gala', no município de Vacaria-RS, com a utilização da mistura óleo vegetal 2% e óleo mineral 3%, sendo que as plantas atingiram um percentual de brotação semelhante a mistura de cianamida hidrogenada com óleo mineral.

Sato et al. (2012b) avaliaram o efeito de produtos alternativos na indução da brotação de gemas da pereira 'Abate Fetel' nas condições climáticas da região Centro-Oeste do Paraná, bem como em condições de ambiente controlado. Os tratamentos com óleo vegetal 4% associado com óleo mineral 4% e o extrato de cebolinha 6% associado com óleo mineral 4% apresentaram maior porcentagem de brotação final tanto em campo como em ambiente controlado. Em macieiras 'Fuji Kiku', Sato et al. (2012a) verificaram que a associação de óleo vegetal 2% e óleo mineral 2% promoveram melhor desempenho produtivo, entre diversos produtos alternativos testados para indução da brotação.

Mais recentemente, Sato et al. (2014) chegaram a resultados semelhantes com a videira 'BRS Carmem' em região de clima subtropical. Neste trabalho foi possível verificar que tratamentos com cianamida hidrogenada e óleo vegetal associado ao óleo mineral apresentaram as maiores médias de brotação de gemas, número de cachos, produção, produtividade, bem como maior redução da atividade da enzima catalase. Ainda pode-se salientar que neste trabalho foram encontradas diferenças significativas para duas fontes de óleo vegetal.

Neste sentido, pesquisas mais aprofundadas para esta associação de óleos são necessárias, afim de buscar comprovações científicas da sua influência na brotação de gemas, além de aprimorar o desenvolvimento desta tecnologia.

3.4. Metabolismo de enzimas no processo de dormência em gemas

Para compreender como funciona o metabolismo de enzimas no processo de dormência é necessário primeiramente compreender como surge no organismo vegetal as espécies reativas de oxigênio (EROs).

As EROs são compostos naturalmente formados em todos os organismos aeróbicos eucariontes como subprodutos da respiração mitocondrial (CARMEL-HAREL et al., 2001). Várias reações que ocorrem no metabolismo das células vegetais podem levar a produção de

ERO, como radicais hidroxilas ($\text{OH}\cdot$), radicais superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrogênio e oxigênio atômico. Geralmente, essas espécies formam-se pela transferência de um elétron a partir de uma molécula de oxigênio doadora, gerando um radical superóxido, que posteriormente é oxireduzida em H_2O_2 (PINTO et al., 2007). Um dos casos mais conhecidos da geração de radicais O_2^- , é a ferredoxina no fotossistema I da fotossíntese, que na ausência de NADP disponível transfere um elétron para o O_2 (TAIZ e ZEIGER, 2013). No entanto, existem muitas outras possíveis fontes de EROs que são resumidas no esquema a seguir.

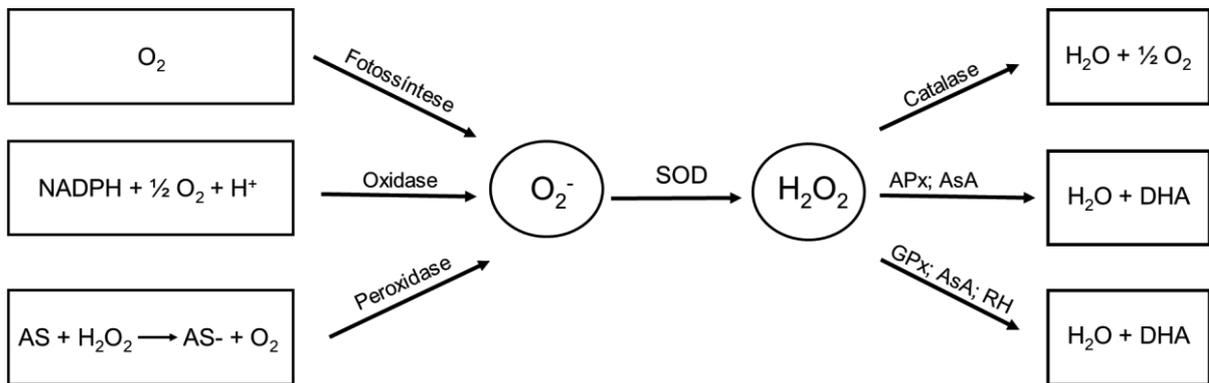


Figura 2. Origem dos radicais superóxidos (O_2^-) em célula vegetais (adaptado de PINTO et al., 2007).

Nesta figura se observa que a principal fonte de H_2O_2 para as células vegetais provém da dismutação do radical superóxido pela ação da enzima superóxido dismutase (SOD). Em vegetais o radical O_2^- pode se originar de diversas fontes. Uma delas é o processo de fotossíntese já mencionado, principalmente sob altas intensidades luminosas (TAIZ e ZEIGER, 2013). Outra origem de O_2^- deve-se ao dano de tecidos ocasionados por patógenos e elicitores que ativam uma NADPH-oxidase da membrana, originando as chamadas respostas de hipersensibilidade e a resistência sistêmica adquirida (LAMB e DIXON, 1997). Uma terceira possível fonte de O_2^- pode se originar da oxidação do ácido salicílico (AS) pela ação de peroxidases, gerando a transferência do seu elétron para o O_2 (KAWANO e MUTO, 2000). As peroxidases também podem catalisar a formação de O_2^- e H_2O_2 por meio de uma reação complexa no qual o NADH é oxidado em $\text{NAD}\cdot$ que por sua vez se reduz em O_2 , reação esta que é estimulada por monofenóis e Mn^{+2} (HALLIWELL, 1978). Em gemas de frutíferas de clima temperado em estado de endodormência a atividade da fotossíntese é praticamente nula, desta maneira, acredita-se que a origem do H_2O_2 nos tecidos provenha de reações catalisadas

por peroxidases. Além desta função, Hiraga et al. (2000) explicam que esta enzima está também envolvida na lignificação e na suberização da parede celular, o que poderia explicar a mudança de aspecto das gemas em decorrência do processo de dormência.

O duplo papel do H_2O_2 como molécula tóxica e sinalizadora sugere que pequenas variações na sua concentração nos tecidos devem ser suficientes para ativar o sistema de transdução de sinais que conduziriam a respostas fisiológicas, e que aumentos maiores poderiam ter efeitos tóxicos. Assim, há evidências que indicam que a tolerância ao estresse abiótico em plantas, seria induzido por pequenos aumentos nos níveis de H_2O_2 (WILLEKENS et al., 1995).

As plantas dispõe de uma bateria de enzimas destinadas a reduzir os níveis de H_2O_2 nos tecidos, como a catalase (CAT) que não utiliza um redutor adicional (WILLEKENS et al., 1995), a ascorbato peroxidase (APx) que utiliza o ácido ascórbico (AsA) como redutor (DURNER e KLESSIG, 1995) e as guaiacóis peroxidases (GPx) que na presença de AsA e de fenóis ou de flavonoides reduzem o H_2O_2 (PÉREZ et al., 2002). Em consequência, os níveis de H_2O_2 nos tecidos vegetais podem aumentar pela ação de algum tipo de estresse que acarrete na diminuição da atividade das enzimas detoxificadoras.

A catalase é uma enzima tetramérica que contém grupo heme e que converte o H_2O_2 presente em células em água e oxigênio molecular. A função principal da catalase é prevenir os efeitos potencialmente danosos causados por mudanças na homeostase do H_2O_2 . As catalases são as principais enzimas que detoxificam H_2O_2 em plantas, podendo dismutar H_2O_2 diretamente ou oxidar substratos tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (VAN BREUSEGEM et al., 2001).

Para Pérez e Lira (2005) tanto o frio hibernal quanto a aplicação da cianamida hidrogenada tem um efeito inibitório na enzima catalase. Estes autores verificaram um aumento transitório nos níveis de H_2O_2 precedendo a saída de gemas da endodormência. Além disso, o pico de H_2O_2 e o início da brotação ocorreu mais cedo em videiras que receberam a aplicação de cianamida hidrogenada. Para Pinto et al. (2007) este aumento nos níveis de H_2O_2 poderia iniciar um processo de transdução de sinais que resultariam no fim da endodormência das gemas e iniciaria a brotação.

Entre os produtos utilizados na indução da brotação de gemas, alguns são conhecidos por afetar diretamente a respiração pela inibição da fosforilação oxidativa, como a cianamida hidrogenada (PÉREZ e LIRA, 2005); outros afetam a respiração por criar condições

anaeróbicas criando o efeito de Pasteur, como o óleo mineral (EREZ et al., 1980); e existem ainda os processos que não afetam diretamente a respiração, tal como a exposição a baixas temperaturas (NIR et al., 1984; ZELLEKE e KLIEWER, 1989). Entretanto, como todos podem levar a um aumento na relação AMP/ATP, este aumento pode ser o primeiro sinal comum na resposta das gemas, levando a transcrição de uma cascata de sinais em comum, a qual finalmente levaria a superação da dormência (OR et al., 2000).

Em gemas de videira foi identificado um transcrito que é induzido pela aplicação de cianamida que corresponderia a uma proteína quinase do tipo SNF (OR et al., 2000). Estes autores mostraram que uma nova proteína quinase chamada GDBRPK (grape dormancy-breaking-related protein kinase) pode estar envolvida na percepção do sinal gerado pela injúria oxidativa, causada por este composto. Este sinal pode ser o próprio peróxido de hidrogênio ou alguma outra molécula pequena.

Pinto et al. (2007) explicam que o aumento dos níveis de H_2O_2 provocaria alterações respiratórias transitórias inibindo enzimas da glicólise e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos, favorecendo deste modo a via fermentativa e provocando também uma reorientação do fluxo de carbono para o ciclo das pentoses (Figura 3). Todas estas alterações metabólicas teriam como consequência o aumento dos níveis da relação AMP/ATP intracelular que induziria a expressão de proteínas quinases do tipo SNF, as quais fazem parte do sistema de transdução de sinais, que acarretaria no término da endormência de gemas. Portanto, é provável que a ativação de genes relacionados à biossíntese de hormônios como giberelinas e citocininas sejam ativados durante este processo, pois durante a brotação das gemas há um aumento gradativo da divisão celular e do consumo de amido e ocorre o crescimento de órgãos da planta, processos estes que em geral são regulados por esses hormônios.

Alguns trabalhos desenvolvidos sustentam todo este conjunto de hipóteses acima citados.

OR et al. (2000) analisaram a influência da aplicação de cianamida hidrogenada em gemas de videira da cv. Perlette, nos níveis das enzimas piruvato descarboxilase (PDC) e álcool desidrogenase (ADH), envolvidas no metabolismo fermentativo. Foi verificado que a aplicação acarretou em uma simultânea e notável indução destas enzimas, um dia após o tratamento, sustentando a ideia de que esta substância poderia de fato levar a um distúrbio respiratório, aumentando a relação AMP/ATP.

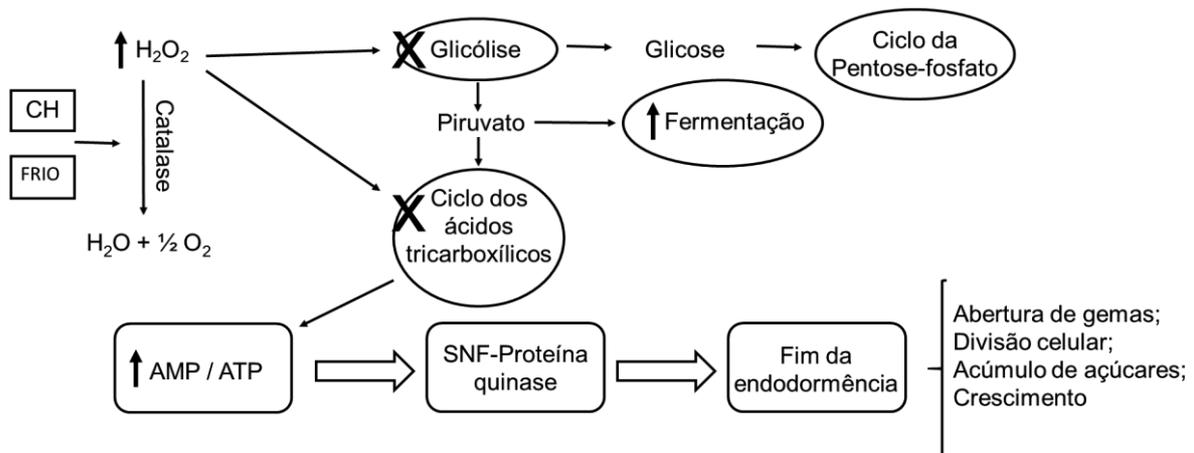


Figura 3. Possível ação do peróxido de hidrogênio na superação da dormência de gemas de frutíferas de clima temperado (adaptado de PINTO et al., 2007).

Nir et al. (1986) monitoraram a atividade da catalase em gemas de videira ‘Perlette’, cultivada em Israel (hemisfério norte), do outono até a primavera. A atividade desta enzima aumentou marcadamente no outono, alcançando um nível máximo no final de outubro, quando então começou a decrescer, atingindo um mínimo em janeiro. Deste modo a intensidade do dormência de gemas é positivamente relacionada à atividade da catalase. Esses resultados podem explicar ainda os efeitos inibidores de altas temperaturas durante o inverno na superação da dormência de gemas.

Bajji et al. (2007), estudando o envolvimento do peróxido de hidrogênio na superação da dormência e germinação de tubérculos de batata, verificaram uma redução de 50% na atividade da enzima catalase em rebentos apicais, enquanto que a atividade da ascorbato peroxidase permaneceu alta, demonstrando apenas mudanças durante o tempo de armazenamento.

Shulman et al. (1986) constataram que a aplicação de cianamida hidrogenada em gemas de videira resultam na redução da atividade da catalase, enquanto que a atividade da peroxidase permaneceu inalterada. A manutenção de videiras à temperatura de 4°C por 5 semanas para induzir brotação, resultou em expressiva redução da atividade da catalase, sem afetar a peroxidase. Estes autores sugerem que ocorrendo isto, o processo oxidativo ocasionado pelas peroxidases e radicais de oxigênio podem aumentar, os quais acarretam em manutenção do NADP na forma oxidada, podendo conduzir à ativação da via pentose-fosfato e resultar na indução da brotação. Para Nir et al. (1984) a intensidade da dormência está

diretamente relacionada à atividade da catalase, a qual apresenta acentuada redução com o declínio da temperatura no inverno. Estes autores afirmam que indutores de brotação menos eficientes como dinitro-orto-cresol, não causam decréscimo da atividade da catalase.

Mohamed et al. (2012) estudando o efeito da cianamida hidrogenada (CH) na superação da dormência de videiras 'Superior Seedless', verificaram que este composto reduziu acentuadamente a atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e, diferentemente do ocorrido nos estudos supracitados, causou um estímulo transitório durante os 5 primeiros dias após o tratamento na atividade da peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) e ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11). Isso coincidiu com uma acumulação de poliaminas totais livres, especialmente a putrecina (Put), fato correlacionado com ocorrências de estresse em vegetais. Houve uma forte correlação entre a atividade da APX e POD e o total de poliaminas totais livres e o conteúdo de putrecina, o que implica num possível efeito estimulante destes compostos nestas enzimas. Estas observações indicam que a CH desencadeia um estresse oxidativo importante para a liberação da dormência de gemas. Posteriormente, durante a brotação, estes autores observaram uma rápida degradação da putrecina, fato considerado como um marcador bioquímico confiável da retomada do crescimento de gemas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para compreender o efeito dos óleos vegetais e mineral na indução da brotação e atividade das enzimas catalase e peroxidase em gemas de macieira foram realizados três experimentos:

- Experimento 1: utilizando teste biológico de ramos destacados de macieiras cv. Maxi Gala;
- Experimento 2: utilizando macieiras adultas da cv. Maxi Gala;
- Experimento 3: utilizando macieiras jovens em formação e início da produção, das cvs. Gala Real II e Fuji Suprema.

Para compor os tratamentos foram utilizados os seguintes produtos: cianamida hidrogenada (Dormex®, 520 g L⁻¹ H₂CN₂, Basf S.A.), óleo mineral (Assist®, 756 g L⁻¹, Basf S.A.), óleo vegetal emulsionável (Natur'óleo®, 930 g L⁻¹, Stoller S.A.), óleos vegetais de soja, de milho, de girassol e de soja já utilizado (reuso), além de detergente líquido neutro, utilizado como agente emulsionante.

4.1. Experimento 1: Teste biológico de ramos destacados

O experimento foi realizado no laboratório de Fruticultura e Pós-colheita da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná – Unicentro. Ramos de macieira da cv. Maxi Gala, foram coletados na data de 15/08/2013 em pomar comercial localizado no município de Guarapuava-PR (25°33'S e 51°29'O, 1.095m de altitude). Foram selecionados ramos de um ano com 20-25 cm de comprimento (brindilas), com as gemas em estágio dormente. Em laboratório as estacas foram reduzidas a 10 cm com 5 gemas (1 apical e 4 laterais).

A quantidade de frio acumulada, em horas de frio ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$) e em unidades de frio pelo método Carolina do Norte Modificado (SHALTOUT e UNRATH, 1983), foi calculada através da metodologia descrita por Braga et al. (1987) com as temperaturas das 21 h, temperaturas máximas e mínimas, cedidas pela estação meteorológica da Unicentro, utilizando uma planilha eletrônica. No período de abril até o dia da coleta dos ramos, em 15 de agosto de 2013, acumularam-se 276 horas de frio (HF) e 556 unidades de frio (UF).

Após a preparação das estacas, estas foram mergulhadas em soluções de 1.000 mL por 5 segundos. As soluções utilizadas foram às seguintes:

- T1: Testemunha (água);
 T2: Detergente (2%);
 T3: Óleo mineral (4% p.c.);
 T4: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de soja (2%) + Detergente (2%);
 T5: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de milho (2%) + Detergente (2%);
 T6: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de girassol (2%) + Detergente (2%);
 T7: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de soja de reúso (2%) + Detergente (2%);
 T8: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo vegetal emulsionável (2% p.c.);
 T9: Óleo mineral (4% p.c.) + Cianamida hidrogenada (2% p.c.).

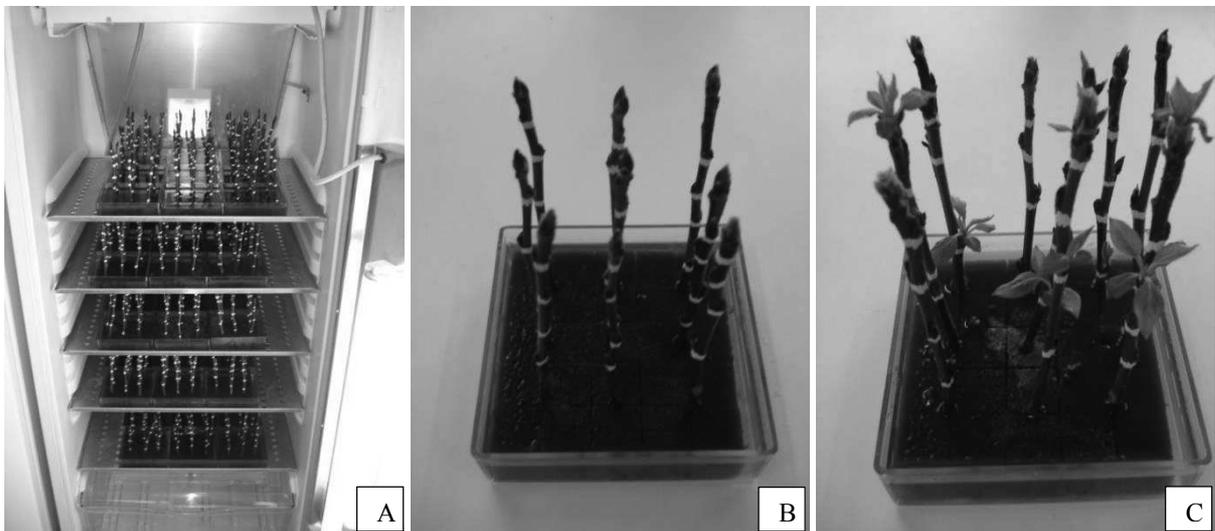


Figura 4. Experimento ‘Eficiência de óleos vegetais e mineral na indução da brotação e atividade enzimática de gemas de macieiras submetidas ao teste biológico de ramos destacados’. Início do experimento (A), parcela experimental (B) e parcela experimental em avaliação (C), Guarapuava-PR, 2013.

Após a aplicação dos tratamentos as estacas foram colocadas em bandejas com espuma fenólica umedecidas e mantidas em câmara de crescimento BOD (Biological Oxygen Demand) a 25°C (\pm 1°C) durante o dia e 20°C (\pm 1°C) durante a noite, com fotoperíodo de 12 horas de luz.

As gemas foram acompanhadas individualmente a cada 2 dias até os 40 dias após a aplicação dos tratamentos de acordo com o estágio “Ponta Verde” (PV) (aparecimento de modificações na coloração da gema, ficando esta com o ápice esverdeado), distinguindo-se gemas laterais de apicais, para a definição das seguintes características:

- Velocidade de brotação (VB): ocorrência de brotação das gemas em função do tempo para brotação dada pela equação $VB = \sum (ni/ti)$ (gemas/dia) em que ni = número de gemas que atingiram o estágio PV no tempo “i”, e ti = tempo após instalação do teste ($i = 1 \rightarrow 40$);
- Número de dias em dormência (NDD): média do número de dias em que as gemas ficaram no estágio dormente, durante os 40 dias de acompanhamento do experimento;

Aos 50 dias após a aplicação dos tratamentos, foi realizada uma avaliação das gemas que atingiram o estágio PV, afim de determinar a ‘Porcentagem Final de Brotação’ (PFB).

Para avaliação da atividade das enzimas catalase e peroxidase, parcelas extras foram confeccionadas para coleta de gemas 24 horas após as aplicações e avaliadas conforme o item 4.4. (pág. 23) deste trabalho.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições e 9 estacas por repetição, totalizando 36 gemas laterais e 9 gemas apicais por repetição. A característica PFB de gemas laterais e apicais foi transformada para $\text{arc. sen } (x/100)^{1/2}$ com a finalidade de atender as pressuposições da análise de variância. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativa as diferenças, as médias foram comparados pelo teste de SNK (Student Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011).

4.2. Experimento 2: Macieiras em fase de produção

O estudo foi conduzido no município de Palmas-PR (26°42’32” S, 51°00’50” O e altitude de 1.180 m) e consistiu na aplicação de diferentes tratamentos para indução da brotação de macieiras, durante o ciclo 2013/2014. Foram utilizadas macieiras com 13 anos de idade da cv. Maxi Gala, enxertadas sobre o porta enxerto Maruba, em filtro EM-9, conduzidas no sistema de líder central no espaçamento 3,8 m entre linhas e 0,8 m entre plantas, totalizando uma densidade de 3.290 plantas por hectare, na Fazenda Pomar Lovo. O clima desta região é considerado subtropical mesotérmico-úmido (Cfb), sem estação seca, com verões frescos e inverno moderado segundo classificação de Köppen (CAVIGLIONE et al., 2000).

Os tratamentos utilizados foram:

T1: Testemunha (água);

T2: Detergente (2%);

- T3: Óleo mineral (4% p.c.);
- T4: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de soja (2%) + Detergente (2%);
- T5: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de milho (2%) + Detergente (2%);
- T6: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de girassol (2%) + Detergente (2%);
- T7: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo de soja de reuso (2%) + Detergente (2%);
- T8: Óleo mineral (4% p.c.) + Óleo vegetal emulsionável (2% p.c.);
- T9: Óleo mineral (4% p.c.) + Cianamida hidrogenada (2% p.c.).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com nove tratamentos e cinco repetições, sendo cada unidade experimental composta por uma planta e utilizando uma planta como bordadura. A aplicação dos tratamentos foi efetuada com pulverizador manual até o ponto de escorrimento, utilizando-se volume médio de calda de 1.000 mL planta⁻¹.

A quantidade de frio acumulada, em horas de frio ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$) e em unidades de frio pelo método Carolina do Norte Modificado (SHALTOUT e UNRATH, 1983), foram calculadas conforme o primeiro experimento, com dados de temperaturas das 21 h, máximas e mínimas diárias fornecidos pelo Simepar. Até o dia da aplicação dos tratamentos, em 7 de setembro de 2013, acumularam-se 422 horas de frio e 717 unidades de frio.

As avaliações realizadas consistiram na determinação das seguintes características:

- Porcentagem de brotação de gemas laterais: por meio da contagem das gemas brotadas e não brotadas, de seis ramos laterais de ano previamente selecionados por planta, aos 25, 50 e 90 dias após a aplicação dos tratamentos;
- Porcentagem de brotação de gemas apicais: por meio da contagem das gemas apicais brotadas e não brotadas, de uma ramificação lateral secundária previamente selecionada, localizada no terço médio da planta, aos 25, 50 e 90 dias após a aplicação dos tratamentos;
- Frutificação efetiva: por meio da contagem do número de cachos florais e após do número de frutos, de uma ramificação lateral secundária previamente selecionada, localizada no terço médio da planta. Os resultados foram convertidos em porcentagem [(número de frutos/cachos florais) x 100].
- Comprimento dos ramos: por meio da medição com fita métrica de dez ramos do ano, aos 85 dias após a aplicação dos tratamentos;
- Área média de folhas: por meio da amostragem de 20 folhas plenamente desenvolvidas por parcela, aos 145 dias após a aplicação dos tratamentos, avaliados em um medidor de área

foliar (LI-3100C area meter);

- Atividade das enzimas catalase e peroxidase: conforme descrito no item 4.4. (pág. 23), 24 horas após a aplicação dos tratamentos;

- Diâmetro de frutos: utilizando paquímetro digital, através de duas medidas na região equatorial, de uma amostra de 10 frutos;

- Número de frutos por planta: por meio da contagem no momento da colheita, em 09/02/2014;

- Massa média de frutos: com a pesagem de uma amostra de 10 frutos em balança digital;

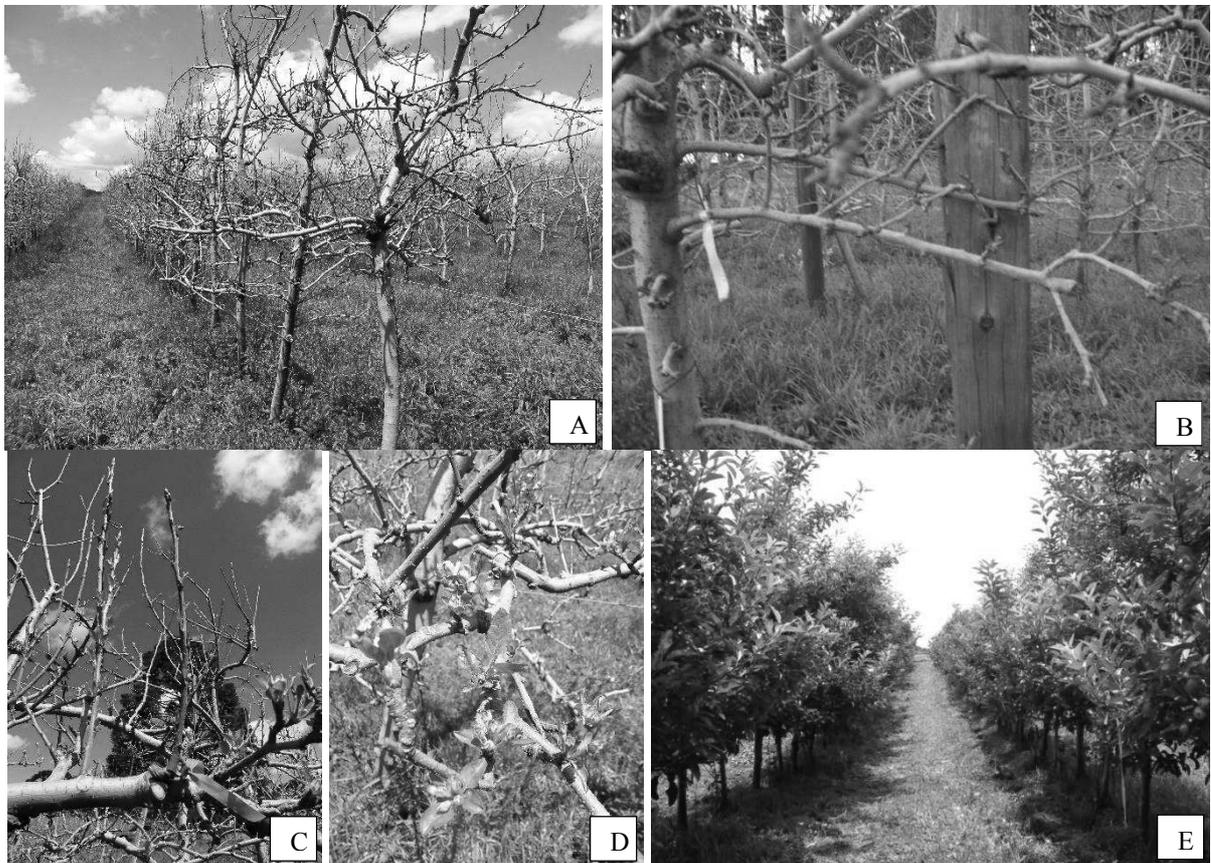


Figura 5. Experimento ‘Eficiência de óleo vegetais e mineral na indução da brotação e atividade enzimática em gemas de macieiras em fase de produção’. Implantação do experimento (A), ramo lateral para avaliação da brotação de gemas apicais e frutificação efetiva (B), brotação de gemas laterais (C), avaliação da florada (D) e área experimental na última avaliação, 90 dias após a aplicação (E), Palmas-PR, 2013.

- Número de frutos por cm² de caule: através da relação da variável anterior com a área da secção do caule, calculado a partir da circunferência medida a 20 cm do solo;
- Produção por planta: mensurado por meio da multiplicação do número de frutos por planta com a massa média de frutos;
- Massa de frutos por cm² de caule: calculado através da relação do item anterior com a área da secção do caule;
- Ângulo Hue da epiderme: utilizando colorímetro (Hunter Lab Mini Scan XE Plus, modelo 45/0-L), com três leituras na região equatorial dos frutos, em uma amostra de 10 maçãs;
- Firmeza de polpa: determinada utilizando-se penetrômetro manual, com ponteira de 11 mm de diâmetro, em dois lados opostos da região equatorial de 10 frutos, sendo o resultado expresso em Newton (N);
- Sólidos solúveis: avaliado com auxílio de refratômetro de mesa (Atago-Pocket refractometer Pal1), com autocompensação de temperatura, com resultado expresso em °Brix;
- pH: determinado por potenciometria utilizando-se o pHmetro digital (Marconi, MA 522);
- Acidez titulável: por titulação em uma alíquota de 5 ml do suco com NaOH 0,1M, com resultado expresso em porcentagem de ácido málico no suco.

Os dados de frutificação efetiva foram transformados por meio da equação $\text{arc. sen}(x/100)^{1/2}$, enquanto o comprimento médio dos ramos pela equação $(x+1)^{1/2}$, afim de atender as pressuposições da análise de variância. As características significativas pelo teste F ($p \leq 0,05$) foram comparados pelo teste SNK (Student Newman-Keuls) a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa de análises estatísticas Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011).

4.3. Experimento 3: Macieiras em fase de formação e início de produção

Este experimento foi conduzido no pomar experimental da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), no município de Guarapuava-PR, localizado nas coordenadas geográficas 25°23'36" Sul e 51°27'19" Oeste, com aproximadamente 1.120 m de altitude, durante as safras 2013/2014 e 2014/2015. O clima desta região é considerado subtropical mesotérmico-úmido (Cfb), sem estação seca, com verões frescos e inverno moderado segundo classificação de Köppen (CAVIGLIONE et al., 2000). O solo da área experimental é um Latossolo Bruno distroférico.

Foram utilizadas macieiras das cvs. Gala Real II e Fuji Suprema, sobre o porta-enxerto

Maruba e filtro de EM-9, conduzidas no sistema líder central e distribuídas no espaçamento 4 m x 1 m, totalizando uma densidade de 2.500 plantas ha⁻¹. O pomar foi implantado ao final do inverno de 2012.

A quantidade de frio acumulada, em horas de frio ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$) e em unidades de frio pelo método Carolina do Norte Modificado (SHALTOUT e UNRATH, 1983), foram calculadas conforme o experimento anterior. Na safra 2013/2014 até o dia da aplicação dos tratamentos, em 15 de setembro de 2013, acumularam-se 328 HF e 641 UF. Já na safra seguinte, até 4 de setembro de 2014 acumularam-se 166 HF e 553 UF.

Estando as gemas entre os estádios fenológicos A (gema dormente) e B (gema inchada, ponta prata), foram realizadas pulverizações com os seguintes tratamentos, na safra 2013/2014:

T1: Testemunha (água);

T2: Detergente (2%);

T3: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’);

T4: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Óleo de soja (2%) + Detergente (2%);

T5: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Óleo vegetal emulsionável (2% p.c.);

T6: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Cianamida hidrogenada (2% p.c.).

Com base nos resultados mais promissores de experimentos da safra anterior, na safra 2014/2015, foram utilizados os seguintes tratamentos:

T1: Testemunha (água);

T2: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Óleo de girassol (2%) + Detergente (2%);

T3: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Óleo de girassol (4%) + Detergente (4%);

T4: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Óleo vegetal emulsionável (2% p.c.);

T5: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Óleo vegetal emulsionável (4% p.c.);

T6: Óleo mineral (4% p.c. para ‘Gala Real II’ e 2% p.c. para ‘Fuji Suprema’) + Cianamida

hidrogenada (2% p.c.).

A aplicação foi realizada com pulverizador manual, até próximo do ponto de escorrimento, utilizando aproximadamente 500 mL de solução por planta.

As avaliações consistiram na determinação das seguintes características:

- Porcentagem de brotação de gemas laterais: por meio da contagem das gemas brotadas e não brotadas, de 6 ramos laterais previamente selecionados por planta, com 1 ano de idade e tamanho entre 20-35 cm (brindilas), aos 25, 50 e 80 dias após a aplicação dos tratamentos;
- Porcentagem de brotação de gemas apicais: por meio da contagem das gemas apicais brotadas e não brotadas, aos 25, 50 e 80 dias após a aplicação dos tratamentos;
- Comprimento dos ramos: por meio da medição com fita métrica dos ramos do ano, aos 85 dias após a aplicação dos tratamentos;
- Área média de folhas: por meio da amostragem de 20 folhas plenamente desenvolvidas por parcela, avaliados em um medidor de área foliar (LI-3100C area meter);
- Atividade das enzimas catalase e peroxidase: conforme descrito no item 4.4. (pág 23), 24 horas após a aplicação dos tratamentos;
- Fenologia da floração: avaliação realizada através da contagem do número de flores entre o estágio botão rosado e flor aberta, 2 vezes por semana, durante o período de floração, na segunda safra do experimento;
- Número de frutos por planta: através de contagem na planta, na segunda safra do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições, utilizando uma planta por parcela e uma planta como bordadura. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste SNK (Student Newman-Keuls) à 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa de análises estatísticas Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011).

4.4. Atividade das enzimas catalase e peroxidase em gemas de macieira

As avaliações da atividade das enzimas catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (EC 1.11.1.7) nas gemas, 24 horas após a aplicação dos tratamentos, foi realizada para todos os experimentos. Aproximadamente 5 gemas foram retiradas dos ramos com uma lâmina de bisturi e envolvidas em papel-alumínio, colocadas em caixas de isopor com gelo em escamas

e transportadas ao laboratório, onde ficaram armazenadas a -20°C , em freezer, até o momento da maceração das mesmas. O extrato enzimático foi obtido por meio da maceração de cinco gemas laterais de cada parcela, com nitrogênio líquido e homogeneizado em almofariz com 2 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), contendo 0,1 mM EDTA e 1% (p/p) de PVP (polivinilpirrolidona). O extrato obtido foi centrifugado a 13.000 rpm a 4°C , durante 30 minutos, e o sobrenadante foi armazenado a -20°C até a realização dos ensaios.

A atividade da peroxidase do guaiacol foi realizada segundo Lusso e Pascholati (1999), medindo a conversão do guaiacol em tetraguaiacol. A mistura da reação continha 1 mL do extrato enzimático e 2,0 mL da solução com 250 μL de guaiacol (97 %) e 306 μL de peróxido de hidrogênio (34 %), em 100 mL de tampão fosfato 0,01M (pH 6,0), e a mistura ficou em banho-maria a 30°C . A atividade da peroxidase foi determinada por meio do método espectrofotométrico direto, a 470 nm, por um período de 2 min, com leituras a cada 10 segundos. O diferencial entre as leituras menores e maiores foi utilizado para a determinação da atividade. Os resultados foram expressos em absorvância $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

A atividade da catalase foi quantificada pelo método de Góth (1991), modificado por Tomanková et al. (2006), por meio da formação de um complexo estável entre o molibdato de amônio e o peróxido de hidrogênio. O extrato enzimático (0,2 mL) foi incubado em 1 mL de mistura de reação contendo 60 mM de peróxido de hidrogênio em tampão fosfato de potássio 60 mM pH 7,4, a 38°C , por 4 minutos. A adição de 1 mL de 32,4 mM de molibdato de amônio, após 4 minutos de incubação, foi feita para deter o consumo de peróxido de hidrogênio pela enzima presente no extrato. Foi preparado um branco para cada amostra através da adição de molibdato de amônio à mistura de reação, omitindo o período de incubação. O complexo amarelo de molibdato e de peróxido de hidrogênio foi medido em espectrofotômetro a 405 nm. A diferença entre a absorvância do branco e a amostra incubada indicou a quantidade de peróxido de hidrogênio utilizado pela enzima. A concentração de H_2O_2 , foi determinada, utilizando-se do coeficiente de extinção $\epsilon = 0,0655 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A determinação do conteúdo proteico foi realizada conforme Bradford (1976), onde, em 2,5 mL do reagente de Bradford, foram adicionados 50 μL do extrato enzimático. Após 5 minutos, foi efetuada a leitura da absorvância a 595 nm em espectrofotômetro. A concentração de proteínas, expressa em mg mL^{-1} de amostra ($\text{mg proteína mL}^{-1}$), foi determinada, utilizando-se da curva-padrão de concentrações de albumina de soro bovino (BSA), de 0 a $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$.

5. RESULTADOS

5.1. Experimento 1: Teste biológico de ramos destacados

Na Tabela 1 pode-se observar a tabela da análise de variância do experimento 1.

Tabela 1. Tabela da análise de variância (Anova) do experimento 1, Guarapuava-PR, 2013.

Característica Avaliada	Causas da variação		Média	CV (%)
	Tratamento	Resíduo		
PFB ¹ de gemas laterais	466,2384 **	7,7943	10,25	16,69
VB ² de gemas laterais	0,0015 **	0,0003	0,032	56,52
NDD ³ de gemas laterais	46,1588 **	0,7884	38,28	2,32
PFB ¹ de gemas apicais	984,4259 **	26,5646	13,20	29,61
VB ² de gemas apicais	0,0029 **	0,0004	0,024	79,80
NDD ³ de gemas apicais	104,9329 **	6,1494	37,40	6,63
Atividade da catalase	0,9854 **	0,3121	2,09	26,78
Atividade da peroxidase	0,0447 *	0,0171	0,45	28,96

¹ PFB: Porcentagem final de brotação; ² VB: Velocidade de brotação; ³ NDD: Número de dias em dormência;

*Diferença significativa a 5% de probabilidade; **Diferença significativa a 1% de probabilidade.

Neste experimento a porcentagem final de brotação (PFB) apresentou maior aumento com a aplicação de CH + OM, diferindo dos demais tratamentos, tanto para gemas laterais (41,1%) como para gemas apicais (53,4%) (Figura 6). Os demais tratamentos com o uso de óleos também aumentaram a brotação em relação à testemunha, mas em menor magnitude, tanto para gemas laterais (4,3 a 11,1%) como para gemas apicais (3,8 a 17,0%). A inclusão dos diferentes tipos de óleos vegetais ao óleo mineral não incrementou o percentual de brotação, ocorrendo em alguns destes tratamentos reduções, como é o caso do óleo de milho. As testemunhas com aplicação de água ou detergente apresentaram a menor brotação, com percentuais abaixo de 1,8% de brotação, para gemas laterais e apicais.

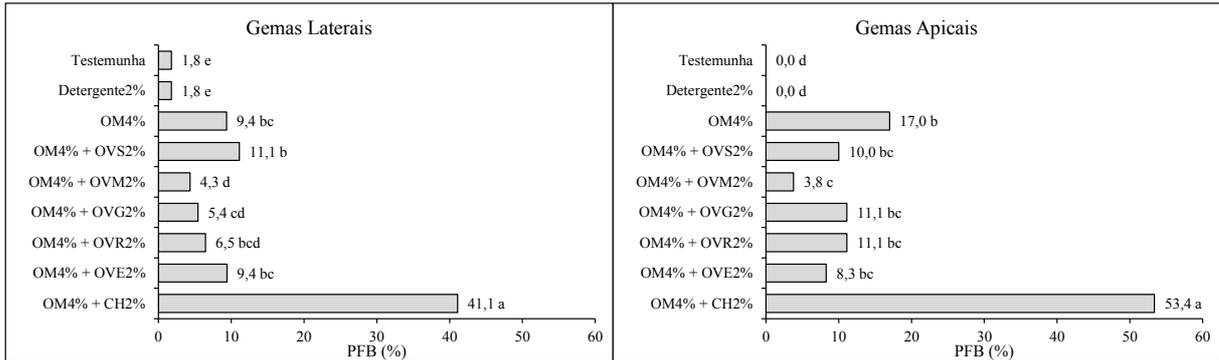


Figura 6. Porcentagem final de brotação (PFB) de gemas laterais e apicais de macieira cv.

Maxi Gala, submetidas ao teste biológico de ramos destacados, com diferentes tratamentos para indução da brotação, Guarapuava-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVM: óleo vegetal de milho; OVG: óleo vegetal de girassol; OVR: óleo vegetal de reuso; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Para as características velocidade de brotação (VB) e número de dias em dormência (NDD) o único tratamento que apresentou diferença estatística dos demais foi a mistura de OM + CH, que ocasionou maior velocidade de brotação e menor número de dias em dormência das gemas, após a aplicação, nos dois tipos de gemas estudados (Figura 7).

A atividade da enzima catalase foi reduzida apenas com a aplicação dos tratamentos CH + OM e OM + OVR, sendo que este segundo não diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos. A atividade da enzima peroxidase não foi influenciada pelos diferentes tratamentos, sendo que a avaliação resultou em uma atividade média de $0,45 \text{ abs min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ (Figura 8).

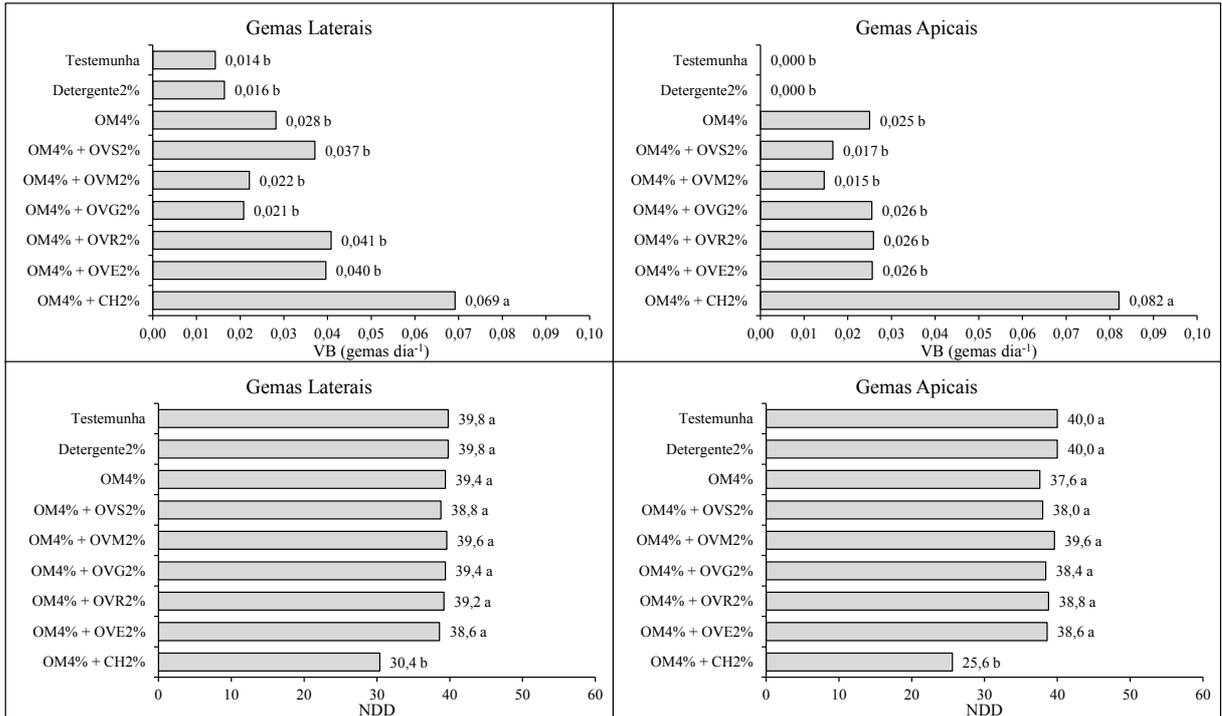


Figura 7. Velocidade de brotação (VB) e número de dias em dormência (NDD) de gemas laterais e apicais de macieira cv. Maxi Gala, submetidas ao teste biológico de ramos destacados, com tratamentos para indução da brotação, Guarapuava-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVM: óleo vegetal de milho; OVG: óleo vegetal de girassol; OVR: óleo vegetal de reuso; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

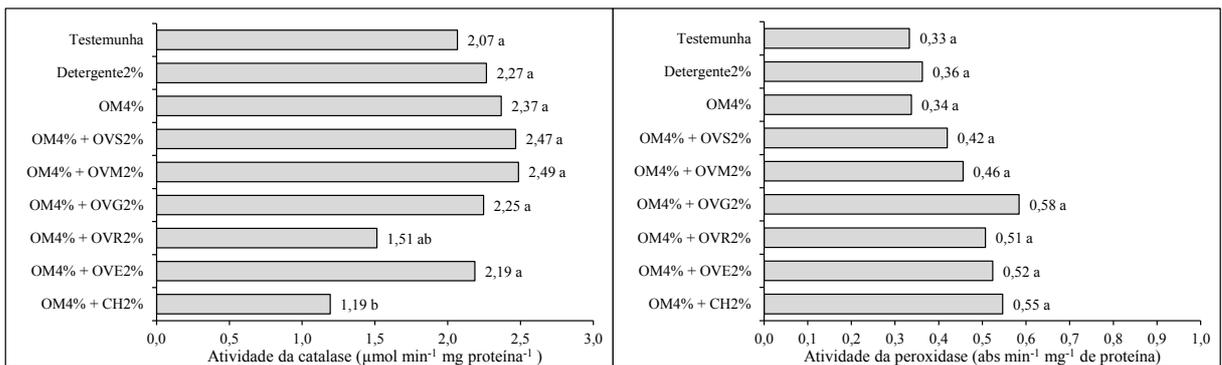


Figura 8. Atividade das enzimas catalase e peroxidase de gemas laterais de macieira cv. Maxi Gala, 24 h após a aplicação de tratamentos para indução da brotação, Guarapuava-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVM: óleo vegetal de milho; OVG: óleo vegetal de girassol; OVR: óleo vegetal de reuso; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

5.2. Experimento 2: Macieiras em fase de produção

Na tabela 2 pode-se visualizar os resultados das análises de variância do experimento 2, com macieiras em fase de produção. Não foram verificadas diferenças significativas para as características: atividade da enzima peroxidase; área média de folhas; diâmetro de frutos; massa média de frutos; número de frutos por planta; número de frutos por cm² de caule; produção por planta; massa de frutos por cm² de caule; sólidos solúveis e pH dos frutos.

Tabela 2. Tabela da análise de variância (Anova) do experimento 2, Palmas-PR, 2013.

Característica Avaliada	Causas da variação			Média	CV (%)
	Tratamento	Bloco	Resíduo		
Brotação de gemas laterais (25 dias)	702,7157 **	312,3523	160,2546	32,54	38,90
Brotação de gemas laterais (50 dias)	1396,0223 **	166,0119	113,3832	41,18	25,86
Brotação de gemas laterais (90 dias)	1415,3301 **	119,4085	125,4326	45,02	24,88
Brotação de gemas apicais (25 dias)	525,3368 **	70,3370	59,9573	85,33	9,07
Brotação de gemas apicais (50 dias)	200,1710 **	28,1284	31,8050	91,45	6,17
Brotação de gemas apicais (90 dias)	107,4446 **	22,1231	22,0590	93,01	5,05
Atividade da catalase	0,7780 *	0,3050	0,4124	1,129	11,72
Atividade da peroxidase	0,0149 n.s.	0,0226	0,0138	0,7454	15,75
Frutificação efetiva	351,3239 *	352,9336	114,8167	41,31	27,13
Área média de folhas	16,3989 n.s.	13,7609	15,3795	31,66	12,39
Comprimento de ramos do ano	0,6954 *	1,6571	0,3000	16,00	13,48
Diâmetro dos frutos	0,0163 n.s.	0,0818	0,0812	6,79	4,20
Massa média de frutos	109,1161 n.s.	292,7120	318,9343	145,50	12,27
Número de frutos por planta	1398,9845 n.s.	723,1167	1.039,0473	105,22	30,63
Número de frutos por cm ² de caule	0,8946 n.s.	1,8694	1,1596	3,14	34,26
Produção por planta	25,5472 n.s.	24,9089	25,5945	15,22	33,23
Massa de frutos por cm ² de caule	0,0134 n.s.	0,0363	0,0213	0,45	32,36
Ângulo Hue da epiderme dos frutos	381,3462 **	103,4791	117,9212	78,96	13,75
Firmeza de polpa	81,3773 *	56,0405	30,0972	69,41	7,90
Sólidos solúveis	0,4273 n.s.	0,2353	0,4858	10,45	6,67
pH	0,0273 n.s.	0,0121	0,0469	3,52	6,16
Acidez titulável	0,001749 **	0,000582	0,000358	0,233	8,10

*Diferença significativa a 5% de probabilidade; **Diferença significativa a 1% de probabilidade; n.s. Diferença não significativa.

Para gemas laterais, aos 25 DAA, a maior porcentagem de brotação foi verificada para o tratamento com OM + CH (52,1%), que não diferiu dos demais tratamentos com o uso de óleo mineral e/ou óleo vegetal (34,0 a 39,7%), mas diferiu das testemunhas do tratamento com água (14,2%) ou com detergente (18,3%) (Figura 9). Com o avanço do tempo, o tratamento OM + CH continuou apresentando os maiores valores de brotação, diferindo estatisticamente de todos os demais tratamentos.

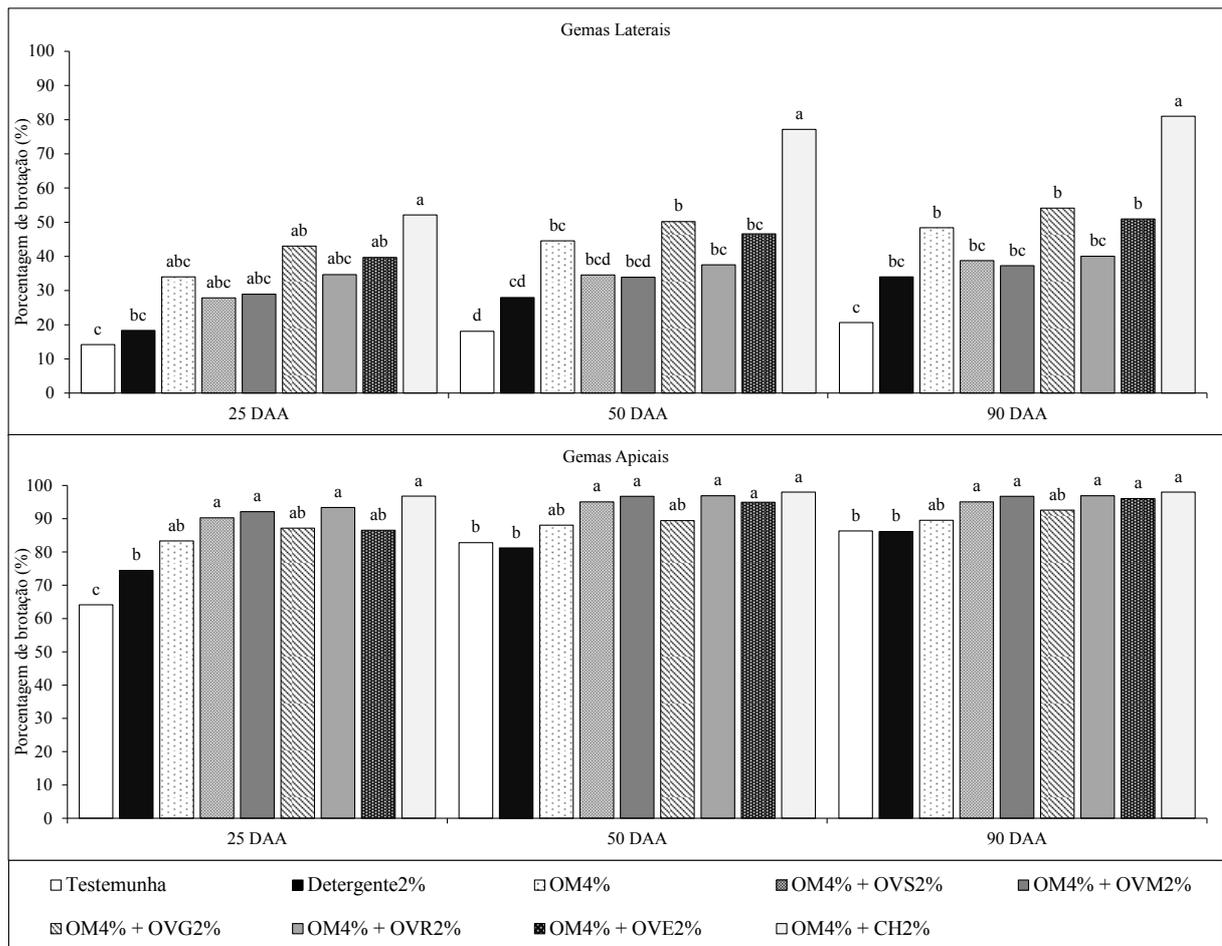


Figura 9. Porcentagem de brotação de gemas laterais e apicais, aos 25, 50 e 90 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos para indução da brotação de gemas de macieira cv. Maxi Gala, Palmas-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVM: óleo vegetal de milho; OVG: óleo vegetal de girassol; OVR: óleo vegetal de reuso; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Na segunda avaliação, aos 50 DAA, somente o tratamento OM + OVG diferiu

estatisticamente das testemunhas, com aumento de 32,1%. Aos 90 DAA, o tratamento com óleo mineral, aplicado isoladamente ou em conjunto com os óleos vegetais de girassol ou emulsionável, apresentaram valores intermediários (48,4 a 54,1%), diferindo-se do tratamento testemunha com água e do tratamento com OM + CH. Para as gemas apicais, todos os tratamentos com utilização de algum indutor, promoveram aumento significativo da brotação.

A atividade da enzima catalase em gemas de macieiras cv. Maxi Gala foi significativamente reduzida 24 horas após a aplicação de OM + CH, não diferindo estatisticamente dos tratamentos com OM + OVR e OM + OVM, no entanto estes não diferiram dos demais tratamentos (Figura 10).

A aplicação de OM + CH reduziu drasticamente a frutificação efetiva, com média de 19% contra 57,8% verificado na testemunha. A maior frutificação efetiva foi verificada para o tratamento OM + OVG (59,6%), que diferiu significativamente do tratamento OM + CH (Figura 10).

A aplicação de OM + CH foi o tratamento que mais reduziu o comprimento de ramos do ano. No entanto, não houve diferença significativa entre este tratamento e os demais com utilização de óleos (Figura 10).

A aplicação de OM + CH para indução da brotação das gemas resultou em menores valores de ângulo Hue da epiderme dos frutos, o que representa maior coloração, e maiores valores de firmeza de polpa, sem no entanto diferir estatisticamente dos demais tratamentos com óleo mineral e óleos vegetais. Este tratamento também acarretou em maior teor de ácido málico nos frutos, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Figura 10).

Salienta-se que a testemunha apresentou os maiores valores para comprimento de ramos do ano (19,4 cm), e menores para ângulo Hue da epiderme dos frutos (91,2°) e firmeza de polpa (66,5 N).

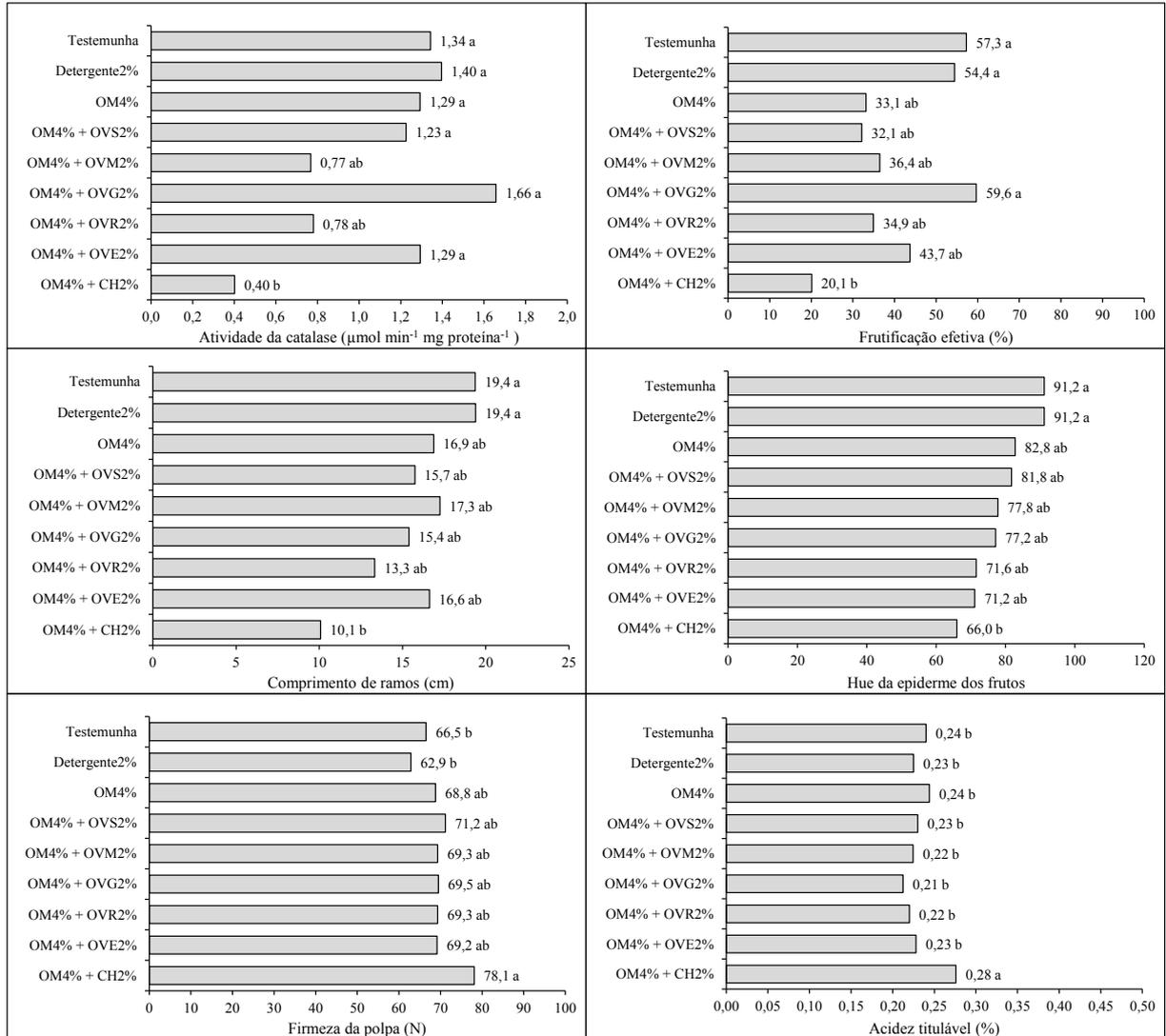


Figura 10. Atividade da enzima catalase em gemas, frutifica\u00e7\u00e3o efetiva, comprimento de ramos e caracter\u00edsticas f\u00edsico-qu\u00edmica de frutos de macieiras cv. Maxi Gala, submetidas a diferentes tratamentos para indu\u00e7\u00e3o da brota\u00e7\u00e3o de gemas, Palmas-PR, 2013. M\u00e9dias seguidas de mesma letra n\u00e3o diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: \u00f3leo mineral; OVS: \u00f3leo vegetal de soja; OVM: \u00f3leo vegetal de milho; OVG: \u00f3leo vegetal de girassol; OVR: \u00f3leo vegetal de reuso; OVE: \u00f3leo vegetal emulsion\u00e1vel; CH: cianamida hidrogenada.

5.3. Experimento 3: Macieiras em fase de formação e início de produção

a) Safra 2013/2014

Na tabela 3 estão os resultados da análise de variância. Não foram encontradas diferenças significativas para a característica atividade da enzima peroxidase, nas duas cultivares avaliadas.

Tabela 3. Tabela da análise de variância (Anova) do experimento 3, safra 2013/2014, Guarapuava-PR, 2013.

Cultivar	Característica Avaliada	Causas da variação			Média	CV (%)
		Tratamento	Bloco	Resíduo		
Gala Real II	Brotação de gemas laterais (25 dias)	812,7446 **	13,1532	7,7253	7,63	36,41
	Brotação de gemas laterais (50 dias)	2.210,6249 **	70,9750	36,6630	20,22	29,95
	Brotação de gemas laterais (80 dias)	1.989,5997 **	82,6305	38,2055	24,75	24,98
	Brotação de gemas apicais (25 dias)	3.687,2011 **	86,6086	14,7736	18,55	20,72
	Brotação de gemas apicais (50 dias)	4.060,1148 **	89,9252	61,8035	35,38	22,22
	Brotação de gemas apicais (80 dias)	3.802,5303 **	65,1727	53,7402	44,14	16,61
	Comprimento de ramos do ano	552,5548 **	30,5291	86,2837	40,10	23,17
	Área média de folhas	164,1181 **	21,3794	9,0005	39,18	7,66
	Atividade da catalase	0,0749 *	0,0073	0,0197	0,5358	26,19
Atividade da peroxidase	0,0336 n.s.	0,0263	0,0321	0,4575	39,16	
Fuji Suprema	Brotação de gemas laterais (25 dias)	746,8779 **	5,0682	3,9063	6,71	29,45
	Brotação de gemas laterais (50 dias)	2.267,0908 **	107,7796	19,3865	21,90	20,11
	Brotação de gemas laterais (80 dias)	1.892,1647 **	74,0988	34,2014	29,54	19,80
	Brotação de gemas apicais (25 dias)	2.160,6651 **	5,5558	50,7612	38,53	18,49
	Brotação de gemas apicais (50 dias)	2.449,1677 **	43,6748	73,7531	65,26	13,16
	Brotação de gemas apicais (80 dias)	1.898,6797 **	11,4402	56,7208	71,11	10,59
	Comprimento de ramos do ano	161,3441 **	19,5018	6,7693	29,90	8,70
	Área média de folhas	89,2169 **	12,6701	4,8945	32,49	6,81
	Atividade da catalase	0,1242 **	0,0052	0,0164	0,7642	16,74
Atividade da peroxidase	0,0686 n.s.	0,0541	0,1050	0,6900	46,97	

*Diferença significativa a 5% de probabilidade; **Diferença significativa a 1% de probabilidade; n.s. Diferença não significativa.

Diferentemente ao que foi visto no experimento em macieiras adultas, para a cv. Gala

Real II, ficou evidente que a inclusão de óleos vegetais ao óleo mineral favoreceu o aumento da brotação de gemas laterais, na segunda e terceira avaliação, aos 50 e 80 DAA, em relação ao uso isolado do óleo mineral (Figura 11), com incrementos médios de 25% e 18,9%, para os óleo de soja e emulsionável, respectivamente, em relação à testemunha. No entanto, para gemas apicais, somente houve uma resposta de aumento com a utilização do óleo vegetal emulsionável. Em todas as avaliações, a mistura OM + CH apresentou os maiores resultados, com incrementos em relação à testemunha de 36,3, 62,9 e 62,4%, para gemas laterais; e 77,8, 87,5 e 81,3% para gemas apicais, aos 25, 50 e 80 DAA, respectivamente.

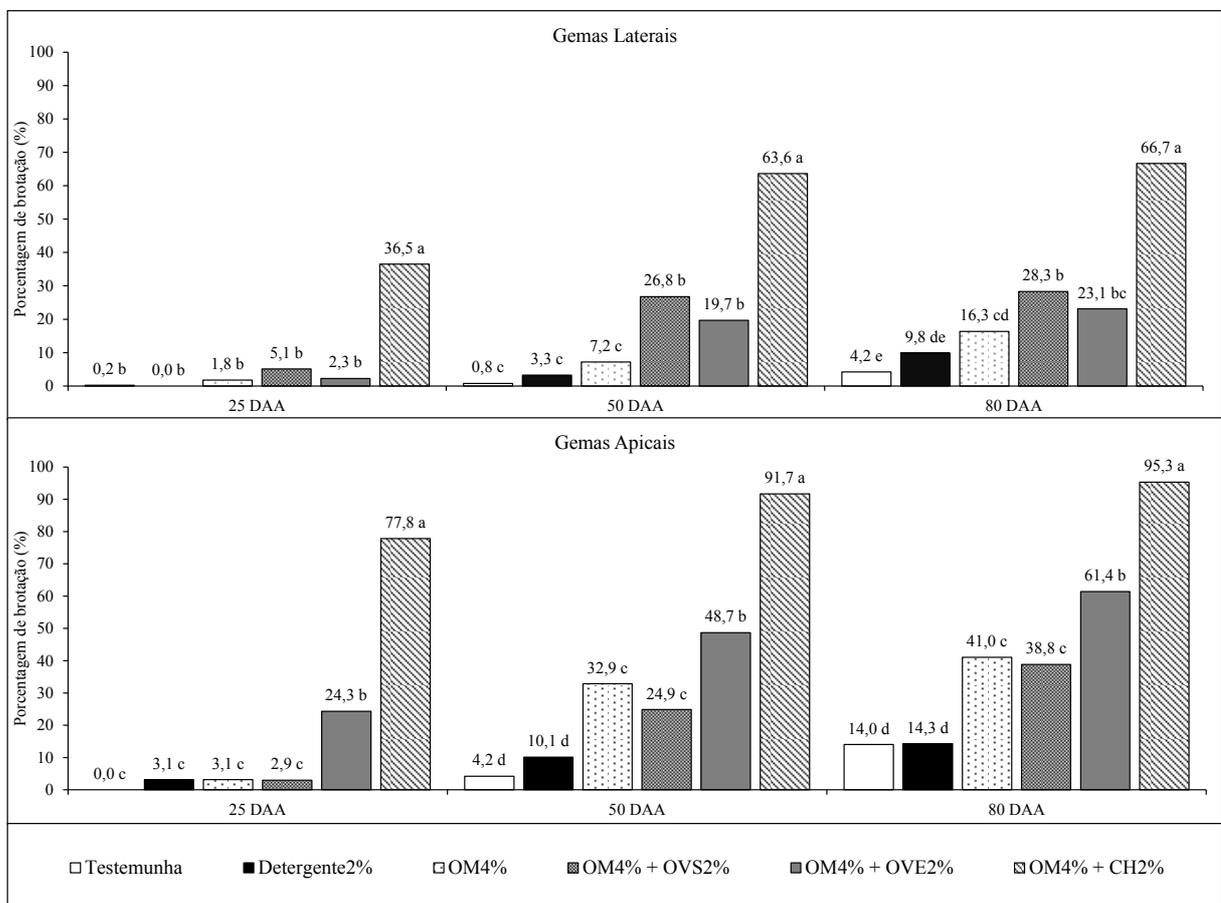


Figura 11. Porcentagem de brotação de gemas laterais e apicais, aos 25, 50 e 80 dias após a aplicação (DAA) de diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas de macieira da cv. Gala Real II, Guarapuava-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

A cultivar Fuji Suprema apresentou maiores porcentagens de brotação das gemas

laterais com a utilização do tratamento com cianamida hidrogenada e óleo mineral, para todos os períodos de avaliação. Para os demais tratamentos, apenas a mistura de óleo de soja com óleo mineral superaram significativamente a testemunha, na avaliação das gemas laterais aos 50 DAA, com um incremento de 15,4% em relação a testemunha (Figura 12). Para as gemas apicais, aos 25 DAA, o tratamento OM + CH superou os demais tratamentos, seguido pelos tratamentos com óleos, que obtiveram valores intermediários, diferindo das testemunhas. Com o avanço do tempo, aos 50 e 80 DAA, foi verificado efeito da aplicação de óleos, com brotações acima de 70%, não se diferindo do tratamento com cianamida hidrogenada e óleo mineral.

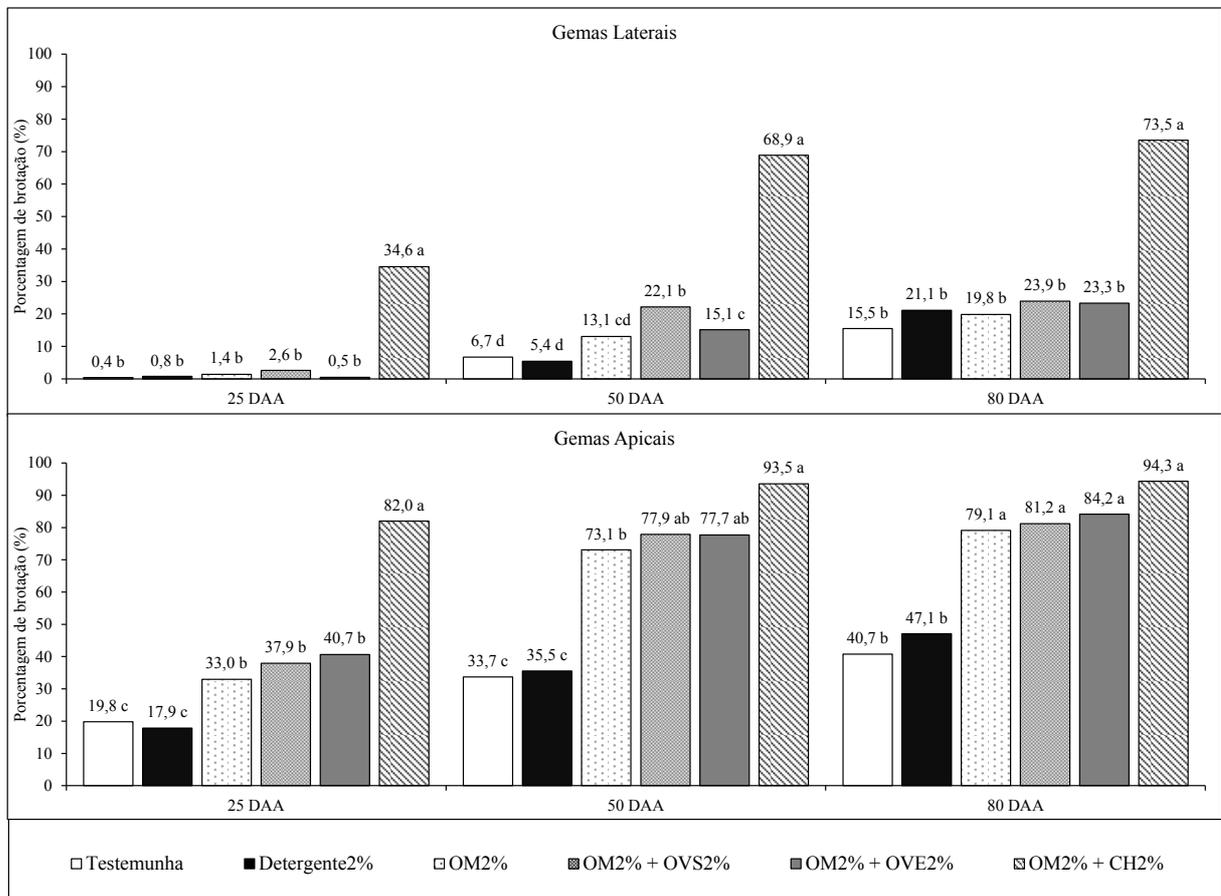


Figura 12. Porcentagem de brotação de gemas laterais e apicais, aos 25, 50 e 80 dias após a aplicação (DAA) de diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas de macieira da cv. Fuji Suprema, Guarapuava-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Macieiras tratadas com OM + CH apresentaram os menores valores para as características comprimento dos ramos e área média de folhas, enquanto que as testemunhas os maiores valores (Figura 13). Não foram encontradas diferenças significativas para comprimento dos ramos entre o tratamento com OM + CH e aqueles com utilização de óleos na cv. Gala Real II, enquanto que para a cv. Fuji Suprema somente o tratamento OM + OVS não diferiu do tratamento OM + CH. Os tratamentos compostos apenas por óleos não diferiram entre si para a característica área média de folhas, apresentando valores intermediários entre o tratamento com OM + CH e a testemunha, nas duas cultivares estudadas.

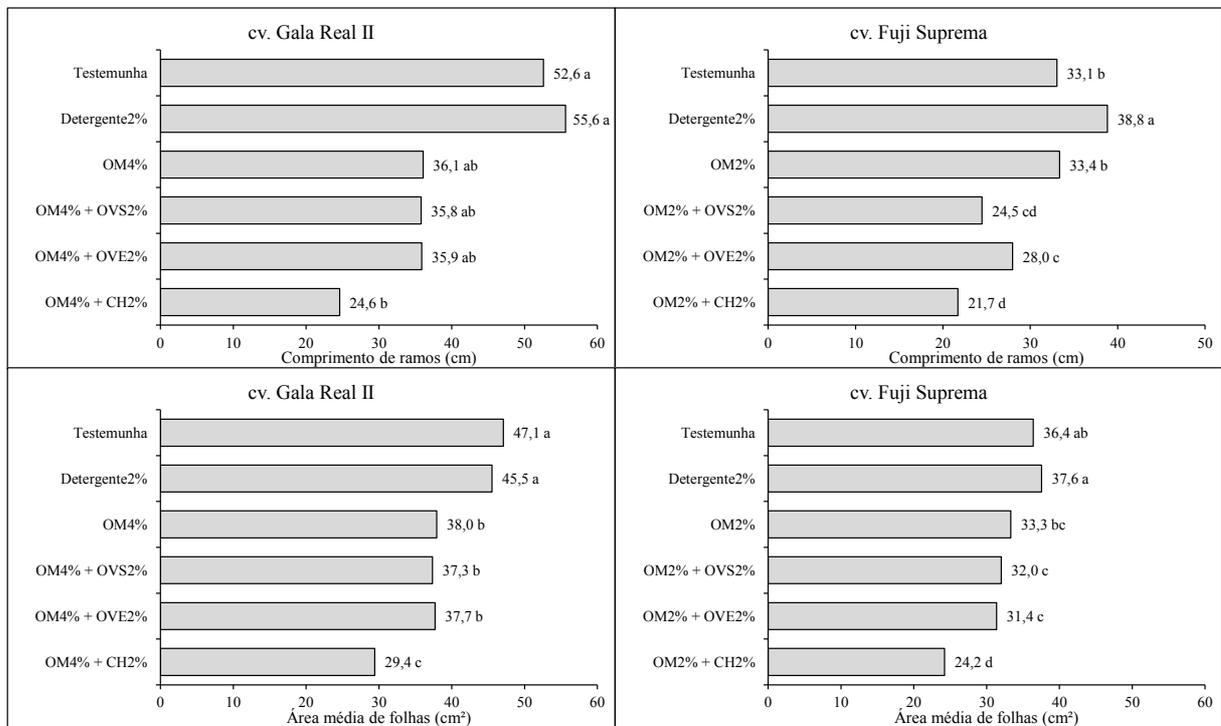


Figura 13. Comprimento dos ramos e área média de folhas de macieiras submetidas a diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas, Guarapuava-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

A atividade da enzima catalase nas gemas de macieira diminuiu 24 horas após a aplicação de OM + CH, na ordem de 48,4% e 48,5% para as cultivares Gala Real II e Fuji Suprema, respectivamente (Figura 12). Para a cultivar Gala Real II, os tratamentos OM e OM + OVS, apresentaram redução em menor magnitude e não se diferiram do tratamento com

OM + CH e da testemunha que apresentou a maior atividade enzimática.

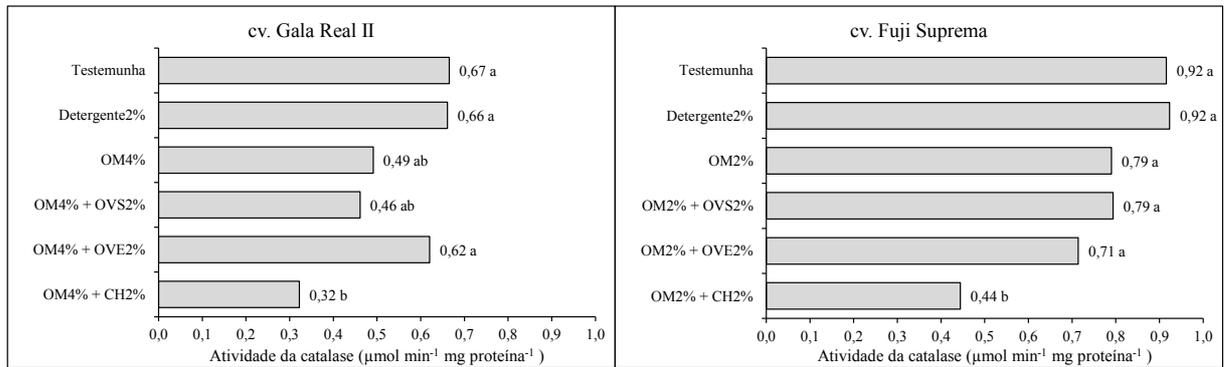


Figura 14. Atividade da enzima catalase em gemas de macieira, 24 h após a aplicação de diferentes tratamentos para indução da brotação, Guarapuava-PR, 2013. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVS: óleo vegetal de soja; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

b) Safra 2014/2015

Os resultados da análise de variância do experimento 3 da safra 2014/2015 são apresentados na Tabela 4. Novamente não foram encontradas diferenças significativas para a característica atividade da enzima peroxidase, nas duas cultivares avaliadas.

Tabela 4. Tabela da análise de variância (Anova) do experimento 3, safra 2014/2015, Guarapuava-PR, 2014.

Cultivar	Característica Avaliada	Causas da variação			Média	CV (%)
		Tratamento	Bloco	Resíduo		
Gala Real II	Brotação de gemas laterais (25 dias)	2.279,1061 **	93,1514	160,5086	22,00	57,59
	Brotação de gemas laterais (50 dias)	2.260,2897 **	132,2456	187,6833	25,52	53,68
	Brotação de gemas laterais (80 dias)	2.020,4867 **	82,0595	183,1764	28,00	48,34
	Brotação de gemas apicais (25 dias)	2583,3667 **	15,4105	108,0235	20,83	49,89
	Brotação de gemas apicais (50 dias)	2798,4862 **	320,1775	125,7330	64,58	17,36
	Brotação de gemas apicais (80 dias)	3576,0111 **	42,4321	162,7951	77,08	16,55
	Comprimento de ramos do ano	790,3577 **	6,3077	23,6116	31,30	15,52
	Área média de folhas	334,8901 **	14,3681	10,0568	32,74	9,69
	Número de frutos	160,2417 **	20,4861	10,8861	9,46	34,88
	Atividade da catalase	0,3149 *	0,0656	0,0894	1,59	18,76
	Atividade da peroxidase	0,1516 n.s.	0,6030	0,2004	0,98	45,88
Fuji Suprema	Brotação de gemas laterais (25 dias)	1.532,6082 **	100,5048	73,2311	22,94	37,31
	Brotação de gemas laterais (50 dias)	1.662,7321 **	219,2421	148,1951	31,83	38,24
	Brotação de gemas laterais (80 dias)	1.207,4982 **	142,2254	162,9110	36,18	35,28
	Brotação de gemas apicais (25 dias)	3.601,7815 **	77,1451	336,4025	56,94	32,21
	Brotação de gemas apicais (50 dias)	1.472,2611 **	416,6111	138,9056	79,17	14,89
	Brotação de gemas apicais (80 dias)	650,3120 **	104,2083	76,4194	88,19	9,91
	Comprimento de ramos do ano	120,4407 *	10,1139	33,0636	28,56	20,13
	Área média de folhas	144,4657 **	2,1414	8,5768	29,87	9,80
	Número de frutos	242,7417 *	77,1528	83,3194	20,04	45,54
	Atividade da catalase	0,5178 **	0,0398	0,0518	1,54	14,83
	Atividade da peroxidase	0,0219 n.s.	0,3106	0,4276	1,20	54,60

*Diferença significativa a 5% de probabilidade; **Diferença significativa a 1% de probabilidade; n.s. Diferença não significativa.

A aplicação de OM + CH aumentou significativamente o percentual de brotação de gemas laterais e apicais, na cultivar Gala Real II, em até 62,5 e 81,3%, respectivamente em relação à testemunha (Figura 15). Entre os tratamentos com as misturas de óleos, verificaram-

se os maiores valores para as dosagens mais altas de óleos vegetais, juntamente com óleo mineral, apesar de não diferirem estatisticamente da testemunha. Para gemas apicais, nas avaliações dos 50 e 80 DAA, todas as aplicações de óleos vegetais em mistura com óleo mineral não se diferiram do tratamento mais efetivo (OM + CH).

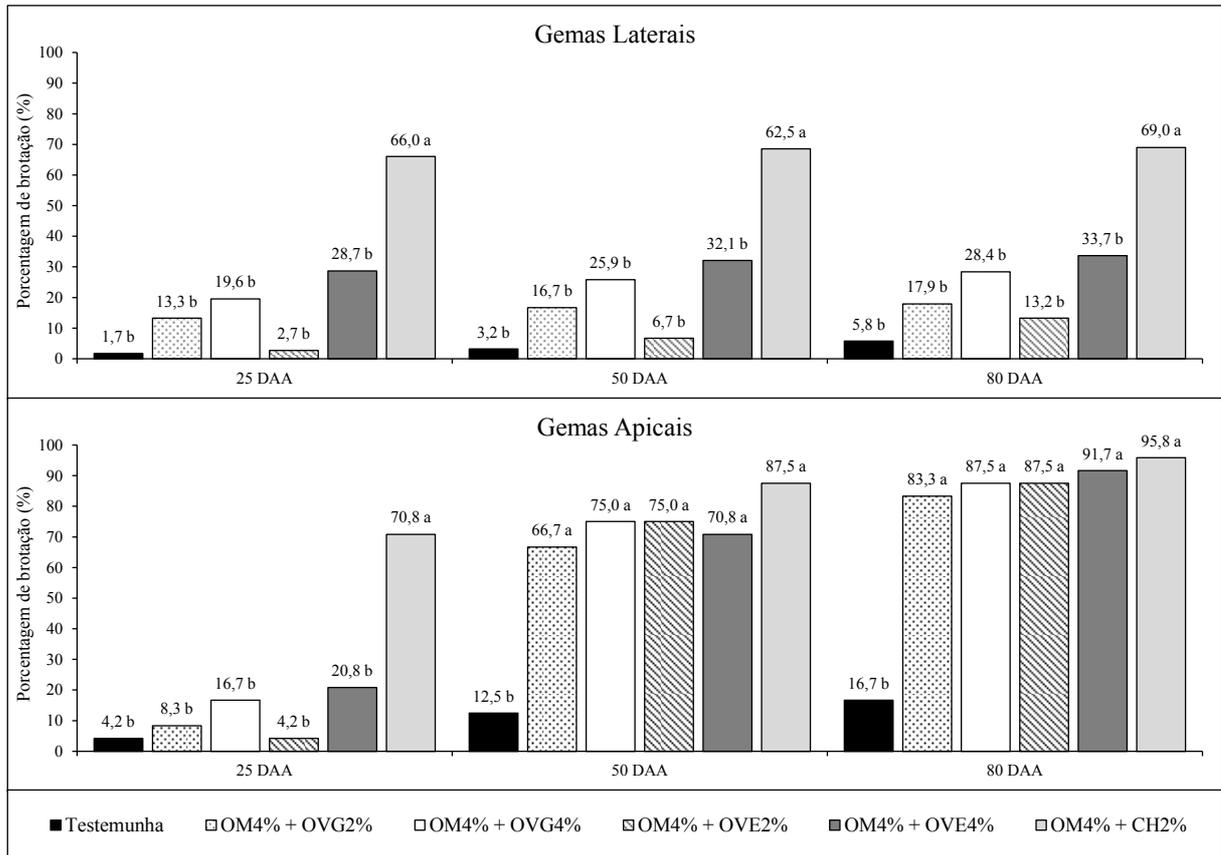


Figura 15. Porcentagem de brotação de gemas laterais e apicais, 25, 50 e 80 dias após a aplicação (DAA) de diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas de macieira cv. Gala Real II, Guarapuava-PR, 2014. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVG: óleo vegetal de girassol; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Para a cultivar Fuji Suprema, o tratamento com OM + CH também foi superior aos demais, para o percentual de brotação de gemas laterais e apicais em todas as avaliações. Verificou-se que para gemas laterais aos 25 DAA, as misturas OM + OVG e OM + OVE nas maiores concentrações diferiram estatisticamente da testemunha (0,3%), com valores de 28,6 e 25,7%, enquanto o tratamento OM + CH atingiu 57% de gemas brotadas. Estes três tratamentos não diferiram entre si na segunda e terceira avaliação, aos 50 e 80 DAA (Figura

16). Todos os tratamentos foram efetivos no aumento do percentual de brotação de gemas apicais da cv. Fuji Suprema.

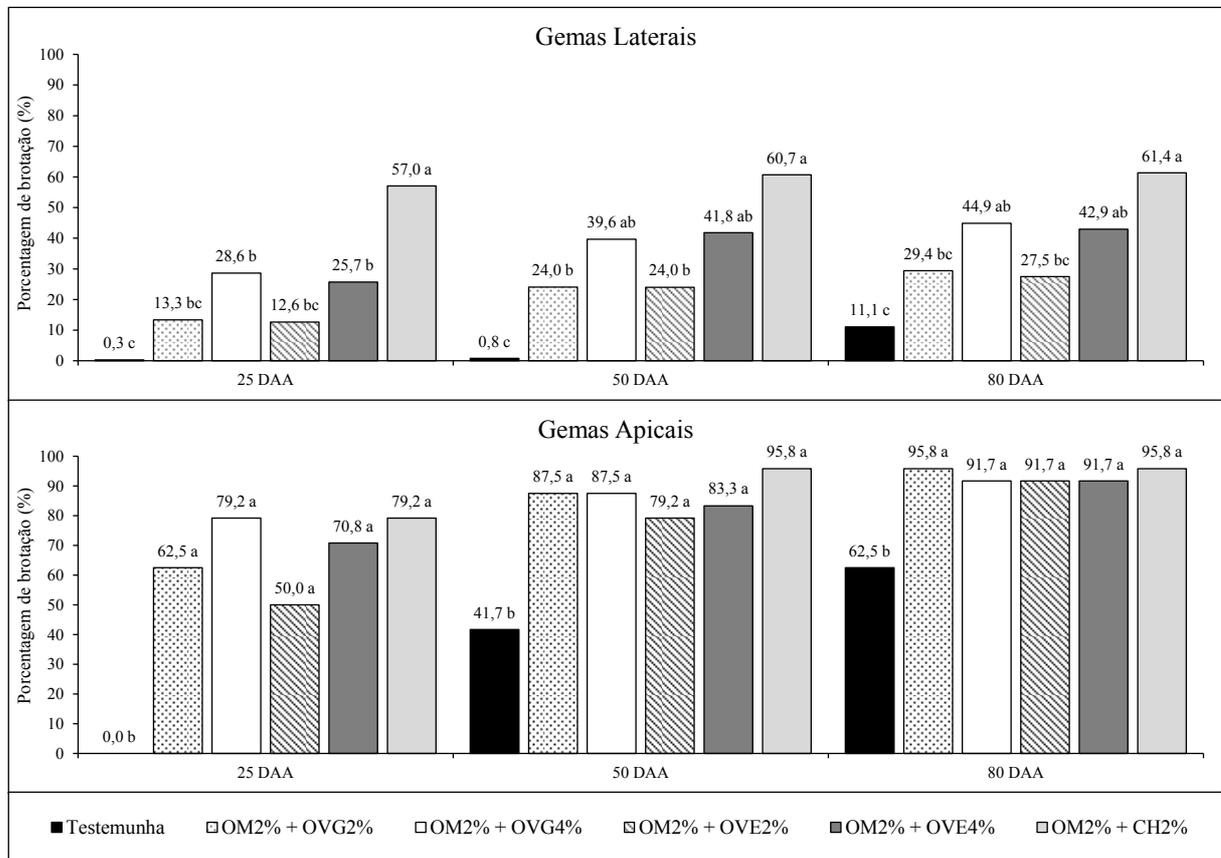


Figura 16. Porcentagem de brotação de gemas laterais e apicais, 25, 50 e 80 dias após a aplicação (DAA) de diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas de macieira cv. Fuji Suprema, Guarapuava-PR, 2014. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVG: óleo vegetal de girassol; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Houve um efeito negativo do aumento do percentual de brotação de gemas, no comprimento de ramos do ano e na área média de folhas (Figura 17). De maneira geral, o tratamento testemunha acarretou em maiores comprimentos de ramos e áreas médias de folhas, enquanto que o tratamento OM + CH em valores menores. Este tratamento reduziu 71,9% do comprimento dos ramos do ano e 58,9% da área média de folhas da cv. Gala Real II, enquanto que na cv. Fuji Suprema estas reduções foram de 40,4% para comprimento dos ramos do ano e 47,1% para área média de folhas. As aplicações de tratamentos compostos por óleos vegetais e mineral acarretaram em valores intermediários para estas características em

ambas cultivares, com diferentes magnitudes. Ressalta-se o efeito das diferentes concentrações de óleo vegetal foi verificado para área média de folhas, onde foram verificadas reduções na ordem de 25,4 e 9,9% para as menores concentrações e 36,1 e 22,2% para as maiores, para as cultivares Gala Real II e Fuji Suprema, respectivamente, em relação a testemunha.

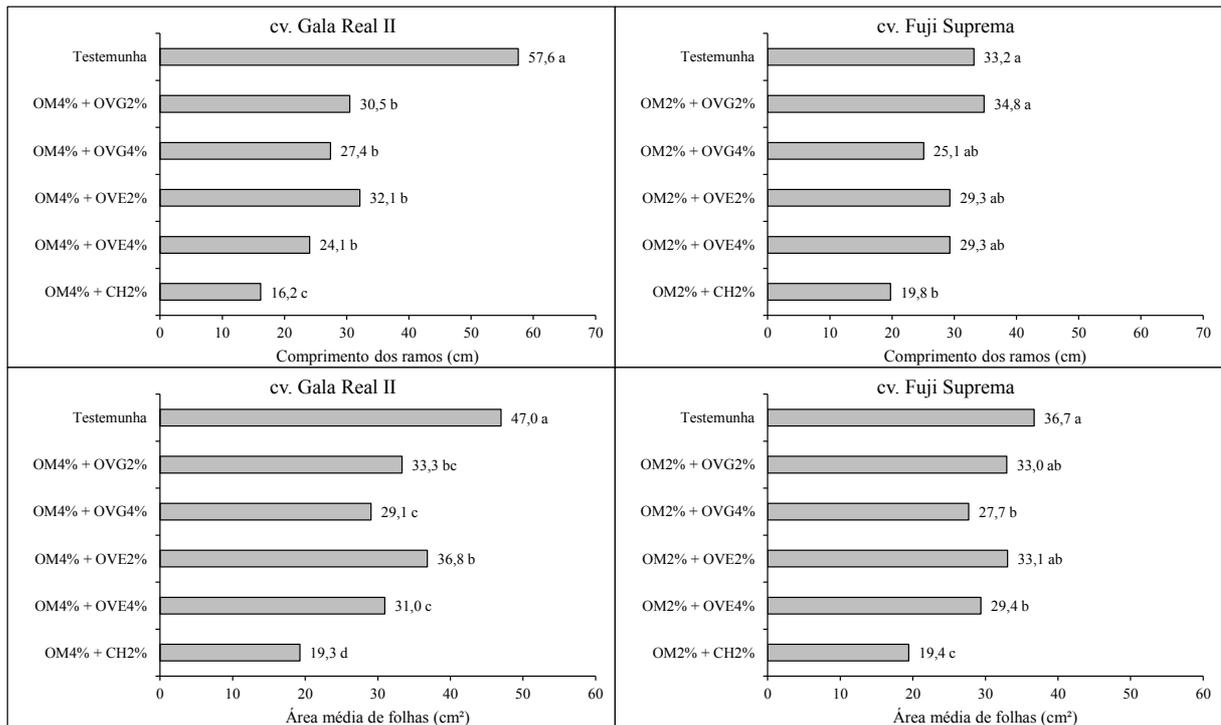


Figura 17. Comprimento dos ramos e área média de folhas de macieiras submetidas a diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas, Guarapuava-PR, 2014. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVG: óleo vegetal de girassol; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Somente o tratamento com óleo mineral e cianamida hidrogenada reduziu a atividade da enzima catalase, 24 h após a aplicação dos tratamentos, nas duas cultivares estudadas. Foi observada uma redução média de 38,9% da atividade da enzima, para a cultivar Gala Real II, e de 55,3%, para a cultivar Fuji Suprema (Figura 18).

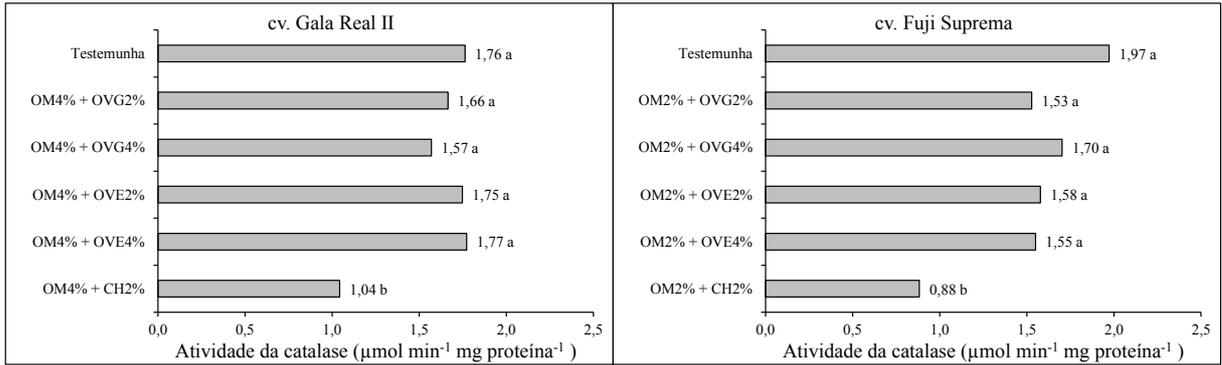


Figura 18. Atividade da enzima catalase em gemas de macieira, 24 h após a aplicação de diferentes tratamentos para indução da brotação, Guarapuava-PR, 2014. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVG: óleo vegetal de girassol; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Nas figuras 18 e 19 são apresentadas a evolução semanal da antese de flores nas macieiras tratadas com os diferentes tratamentos para indução de brotação. É notável verificar maior concentração e antecipação da floração para o tratamento com CH+OM.

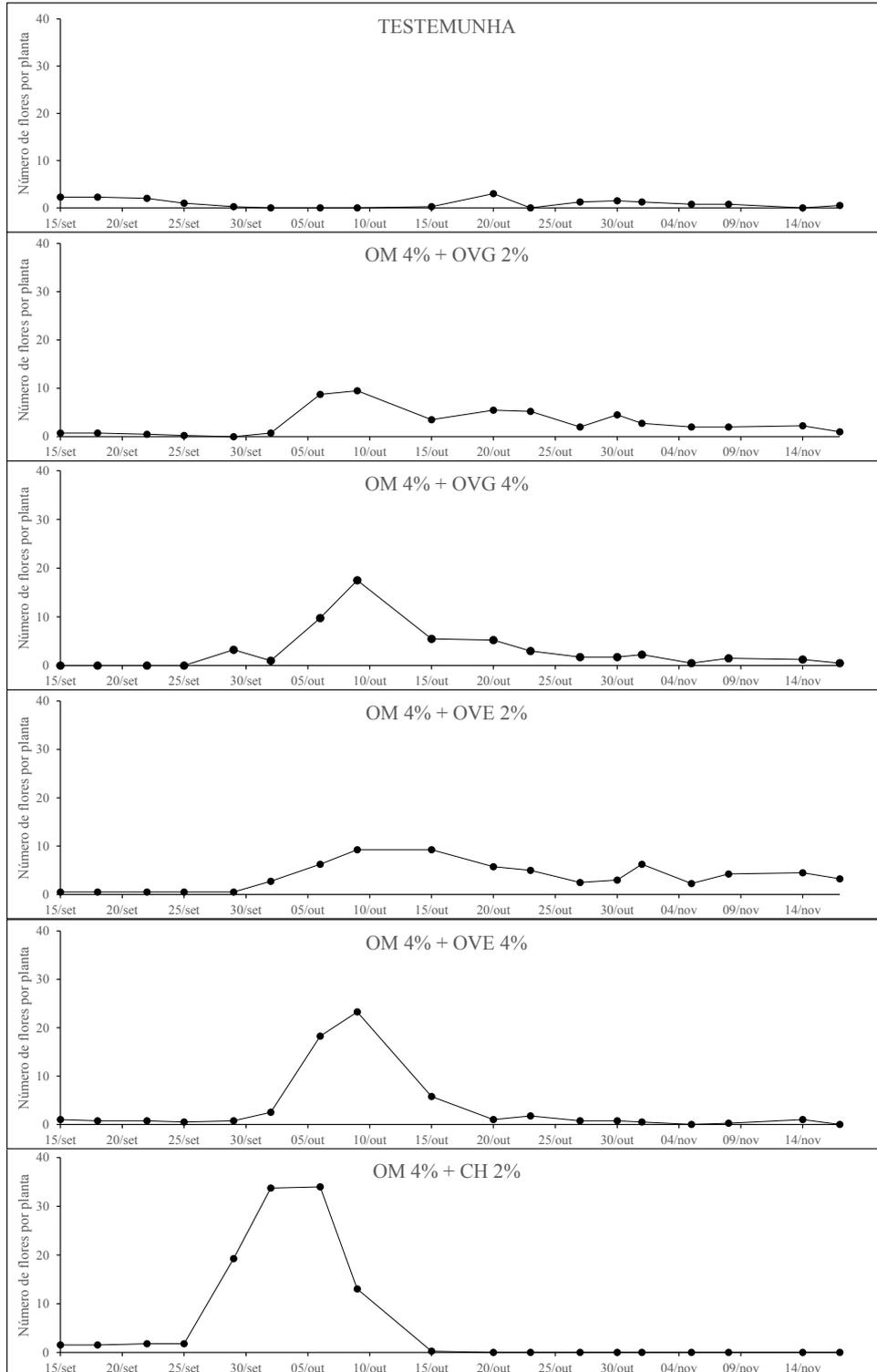


Figura 19. Acompanhamento do número de flores entre os estádios botão rosado e flor aberta em plantas de macieiras ‘Gala Real II’ submetidas a diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas, Guarapuava-PR, 2014. OM: óleo mineral; OVG: óleo vegetal de girassol; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

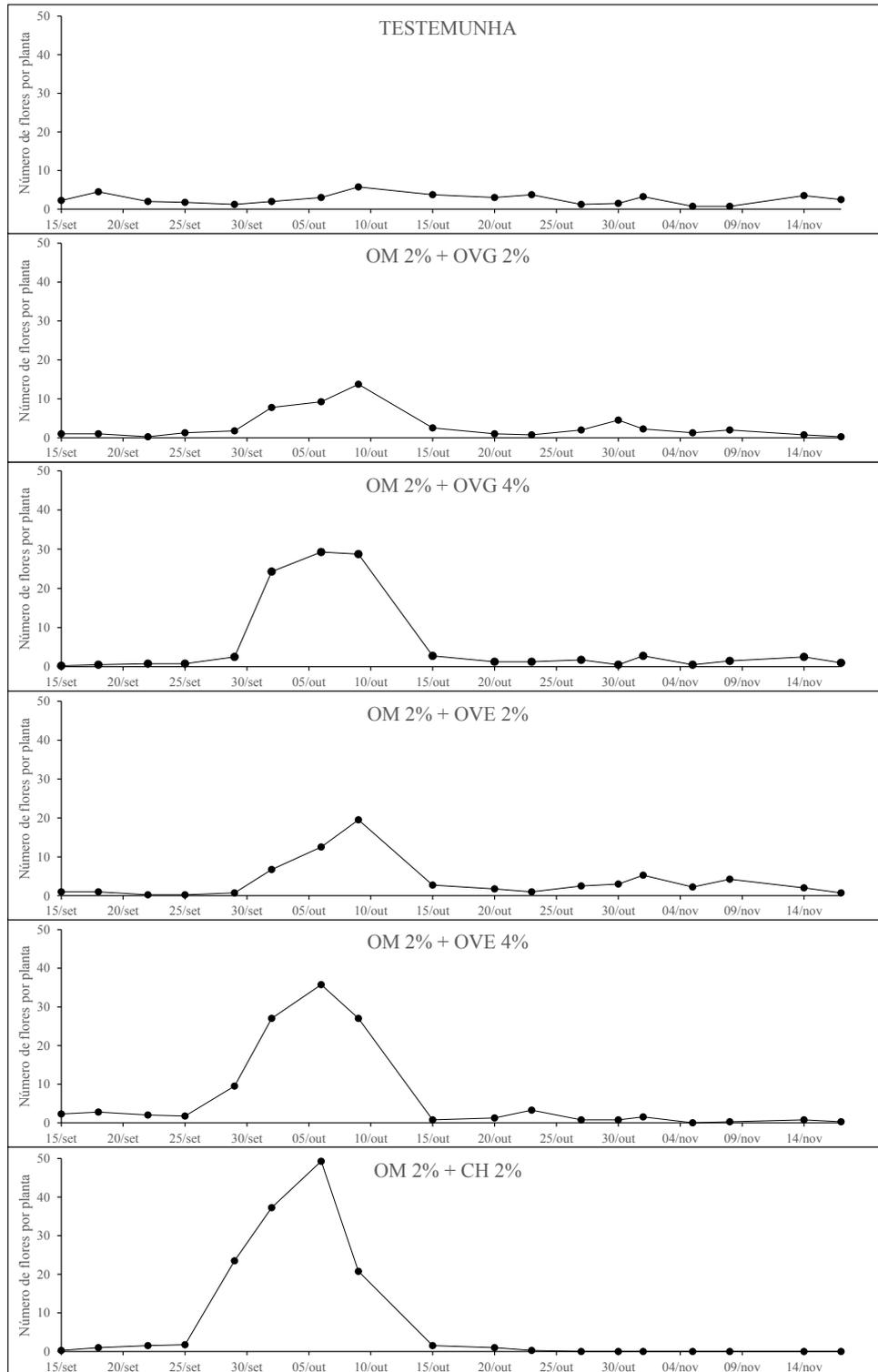


Figura 20. Acompanhamento do número de flores entre os estádios botão rosado e flor aberta em plantas de macieiras ‘Fuji Suprema’ submetidas a diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas, Guarapuava-PR, 2014. OM: óleo mineral; OVG: óleo vegetal de girassol; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

Dados climáticos de precipitação diária, umidade relativa do ar, velocidade do vento e temperaturas ocorridos durante o período de floração das macieiras são apresentados na Tabela 21. Estes são os principais fatores que influenciam na polinização e fertilização da macieira.

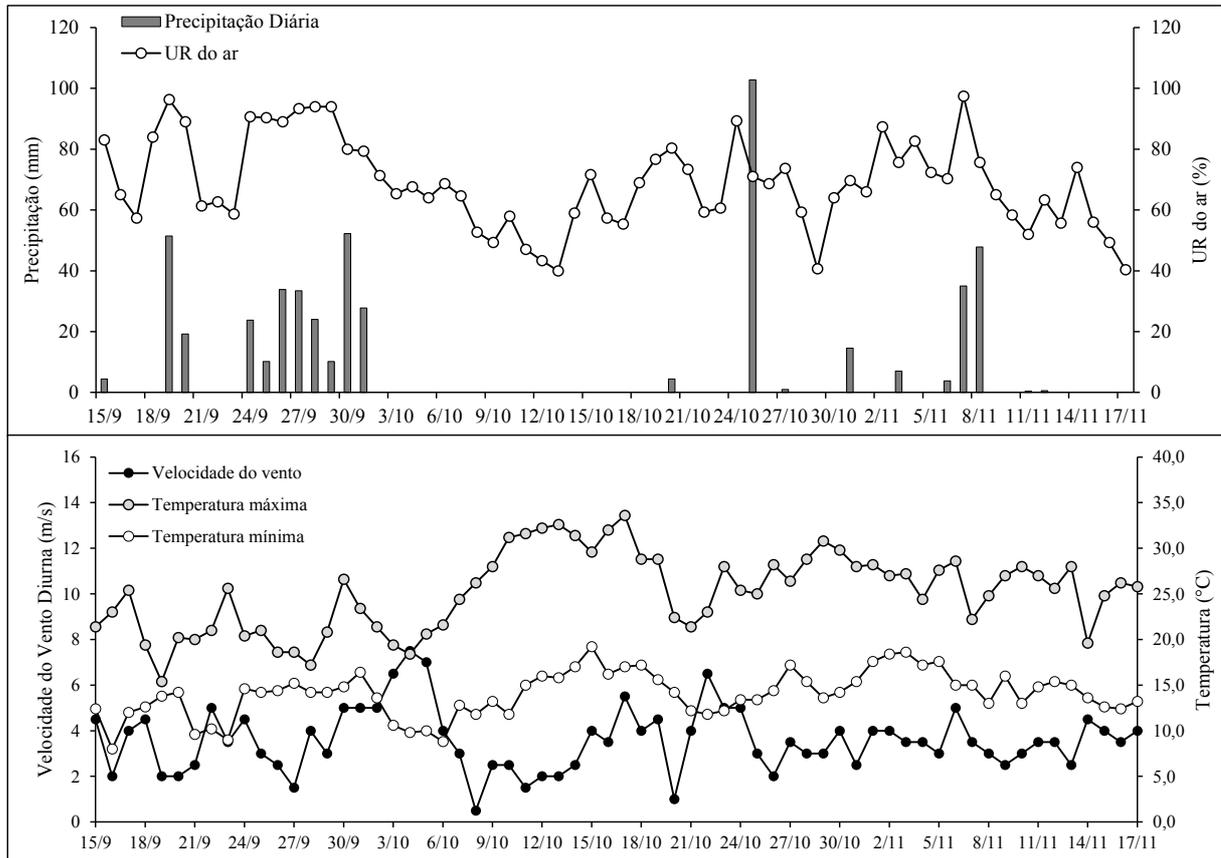


Figura 21. Dados meteorológicos durante o período de floração das macieiras, Guarapuava-PR, 2014.

Neste experimento, o número de frutos por planta foi influenciado pela aplicação dos diferentes tratamentos para indução da brotação (Figura 21). Na cultivar Gala Real II, o maior número de frutos por planta foi verificado nas plantas que receberam o tratamento OM + CH. Destaca-se também os tratamentos com OM e as menores dosagens de óleos vegetais, que apresentaram valores intermediários e também se diferiram estatisticamente da testemunha que obteve os menor número de frutos. Para a cultivar Fuji Suprema, o tratamento com maior número de frutos foi o OM 2% + OVE 4%. No entanto, este tratamento não diferiu dos tratamentos OM 2% + OVG 2%, OM 2% + OVE 2% e OM 2% + CH 2%.

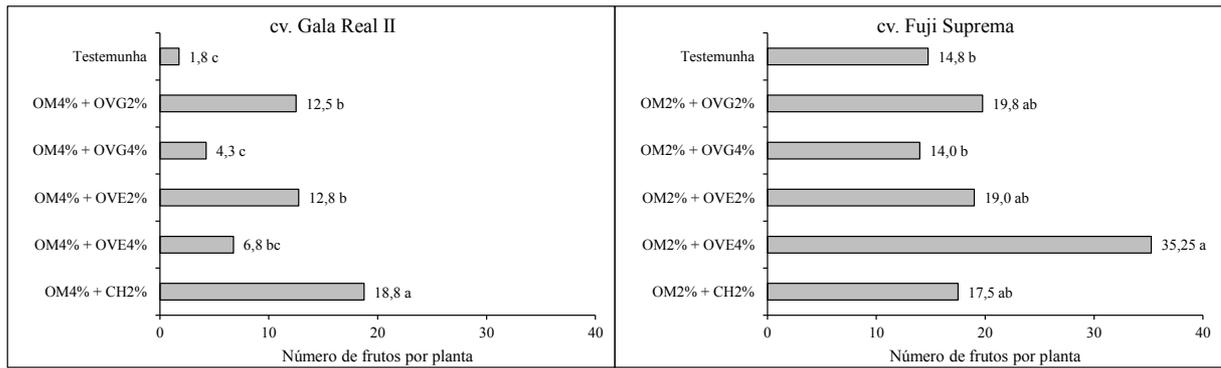


Figura 22. Número de frutos de macieiras Gala Real II e Fuji Suprema submetidas a diferentes tratamentos para indução da brotação de gemas, Guarapuava-PR, 2014. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste SNK, a 5% de probabilidade. OM: óleo mineral; OVG: óleo vegetal de girassol; OVE: óleo vegetal emulsionável; CH: cianamida hidrogenada.

6. DISCUSSÕES

6.1. Brotação de gemas

A necessidade de frio de macieiras ‘Gala’ e ‘Fuji’ e suas mutações estão acima de 600 horas de frio ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$) ou entre 1000-1100 UF, justificando a aplicação de indutores de brotação nos experimentos realizados, já que a quantidade de frio acumulada pelas gemas foi de aproximadamente 276, 422, 328 e 166 HF e 556, 717, 641 e 553 UF pelo método de Carolina do Norte Modificado, respectivamente, para os experimentos com teste biológico, no pomar em produção e no pomar em formação para o primeiro e segundo ciclo (PETRI et al., 2011; HAUAGGE, 2007).

No primeiro experimento, utilizando o teste biológico de ramos destacados, somente o tratamento com OM + CH diferenciou-se dos demais, nas variáveis porcentagem final de brotação (PFB), velocidade de brotação (VB) e número de dias em dormência (NDD) das gemas. Ressalta-se que mesmo neste tratamento padrão, o percentual de brotação foi baixo, com apenas 41,1% de gemas laterais e 53,4% de gemas apicais brotadas. Carvalho e Zanete (2004) estudando a dinâmica da dormência de macieiras ‘Imperial Gala’ em Porto Amazonas-PR, verificaram que as macieiras encontram-se num estado de dormência profunda no mês de julho, necessitando neste período de fortes estímulos para que ocorra a brotação, com ação de promotores e o transporte de água até as gemas. Possivelmente na região de Guarapuava-PR este período de dormência profunda seja estendido até agosto, já que o acúmulo de frio nesta região normalmente é maior (BOTELHO et al., 2006). Erez (1995) sugere que as aplicações de CH para brotação, aplicados neste momento podem ter um efeito negativo. Acredita-se que este fator, somado ao fato da baixa quantidade de frio acumulados pelas gemas no período (276 HF; 556 UF), tenham influenciado nestes resultados.

No segundo experimento, realizado em pomar adulto, com 13 anos de idade, além do tratamento com OM + CH, bons resultados foram observados com a aplicação de OM + OVG, que apresentou mais de 50% de brotação de gemas laterais a partir da segunda avaliação, diferindo estatisticamente das testemunhas com aplicação de água ou detergente. Cabe ressaltar que em nenhuma das avaliações foi verificada uma diferença entre as fontes de óleo vegetal para esta variável.

Para brotação de gemas apicais, todos os tratamentos com indutores foram efetivos no

aumento da porcentagem de brotação. Isso se deve ao fato de que as gemas apicais são menos exigentes em quantidade acumulada de frio durante o inverno, apresentando maior facilidade para a saída de dormência (CRUZ JÚNIOR e AYUB, 2002; PETRI et al., 2006).

No terceiro experimento, safra 2013/2014, realizado com plantas em formação, a inclusão de óleo vegetal ao óleo mineral incrementou em algumas avaliações a brotação de gemas. A cultivar Gala Real II foi a que obteve mais resultados significativos para esta mistura, com incrementos médios na ordem de 16% aos 50 dias e 9,4% aos 80 dias de avaliação, em comparação ao tratamento utilizando somente OM. No entanto, nenhum resultado com a utilização de óleos ultrapassou os 30% de brotação de gemas laterais, enquanto que a mistura OM + CH acarretou em brotações acima de 60%, a partir da segunda avaliação, nas duas cultivares estudadas.

Mesmo gemas apicais que necessitam de um menor estímulo para brotarem, onde a aplicação somente de OM deveria ser suficiente (PETRI et al., 2006), uma elevada brotação de gemas só ocorreu com OM + CH para a 'Gala Real II'. Diferentemente, um melhor potencial de resposta foi observado para a cultivar Fuji Suprema para estas gemas, que apresentaram alta porcentagem de brotação com a utilização de óleos vegetais e óleo mineral aos 50 e 80 dias após a aplicação, igualando-se ao tratamento com OM + CH.

Para Iuchi et al. (2002) além das condições climáticas, fatores como vigor e idade das plantas devem ser levados em consideração pois influenciam a exigência em frio de macieiras. Neste sentido, sabe-se que plantas jovens apresentam maior requerimento em frio do que plantas adultas da mesma cultivar (CAMPOY et al., 2011), necessitando neste caso de indutores de brotação mais eficazes. Salienta-se que este período de formação da planta, é de importância fundamental para o sucesso de um cultivo, sendo que uma boa brotação das gemas permite selecionar ramos bem formados e melhor distribuídos, favorecendo a penetração de luz, condição importantíssima para diferenciação de gemas e formação de órgãos de frutificação (HAWERROTH et al., 2010a; CAMPOY et al., 2011).

No terceiro experimento, safra 2014/2015, com as plantas em início de produção, destaca-se a cultivar Fuji Suprema, com a utilização da mistura de óleo mineral e óleo vegetal, independente da fonte, nas maiores concentrações, que igualou-se ao tratamento mais efetivo para brotação (OM + CH) nas avaliações dos 50 e 80 dias após as aplicações. Isto demonstra que apesar de uma resposta postergada, a utilização desta mistura pode ser uma alternativa interessante para indução da brotação, bem como parece haver uma resposta positiva para o

aumento das concentrações de óleo vegetal.

Diferentemente, a cultivar Gala Real II não apresentou desempenho satisfatório com a utilização de óleos vegetais, apesar de numericamente ser possível verificar um aumento com a utilização das maiores concentrações de óleo vegetal. Estes resultados refletem a maior dificuldade de brotação de gemas nos clones de ‘Gala’ do que nos clones de ‘Fuji’, necessitando de indutores de brotação mais eficientes (HAWERROTH et al., 2009).

Nesta segunda safra, a brotação de gemas apicais com a utilização de qualquer indutor de brotação, foi eficaz para o aumento efetivo do percentual de brotação, com exceção da primeira avaliação, aos 25 dias, para a cultivar Gala Real II, reiterando novamente as dificuldades de brotação desta cultivar.

De maneira geral, os experimentos foram realizados em gemas com níveis distintos de necessidade de frio, quantidade de frio acumulados e condições ambientais, acarretando em alguns resultados considerados insatisfatórios, até mesmo por tratamentos eficientes na indução da brotação. Considera-se que o óleo vegetal, em mistura com o óleo mineral, pode ser uma alternativa interessante para indução da brotação, no entanto parece haver uma resposta positiva para o aumento da sua concentração, que deve ser melhor estudada. A princípio, as diferentes fontes de óleo vegetal apresentam efeitos similares na brotação de macieiras.

6.2. Atividade das enzimas catalase e peroxidase

As gemas que receberam a aplicação de OM + CH apresentaram as maiores reduções na atividade da enzima catalase em todos os experimentos. Mohamed et al. (2012) indicam que a aplicação de CH tem um forte efeito inibitório na atividade da catalase, enzima esta que desencadeia um estresse oxidativo importante para a liberação da dormência de gemas. Desta forma, este efeito pode estar associado a aumentos transitórios nos níveis de H₂O₂, substância que pode estar associada com o início do processo de transdução de sinais que resultaria no fim da endodormência e iniciaria a brotação das gemas (PÉREZ & LIRA, 2005; PINTO et al., 2007).

Ressalta-se ainda que na atividade da enzima catalase, 24 horas após as aplicações dos indutores de brotação, o tratamento OM + CH não diferiu estatisticamente do tratamento com OM + OVR no experimento com teste biológico; do OM + OVM e OM + OVR no

experimento com plantas adultas e, do OM e OM + OVS para a cultivar Gala Real II no experimento com plantas em formação; entretanto nenhum destes tratamentos diferenciou-se estatisticamente das testemunhas, com aplicação de água e detergente, demonstrando diferenças de magnitude da ação na atividade enzimática.

Cabe ressaltar que entre os produtos utilizados tradicionalmente na indução da brotação de gemas, alguns são conhecidos por afetar diretamente a respiração pela inibição da fosforilação oxidativa, como a cianamida hidrogenada (PÉREZ e LIRA, 2005); outros afetam a respiração por criar condições anaeróbicas, criando o efeito de Pasteur, como o óleo mineral (EREZ et al, 1980); e existem ainda os processos que não afetam diretamente a respiração, tal como a exposição a baixas temperaturas (ZELLEKE e KLIEWER, 1989; NIR et al., 1984).

Em nenhum dos experimentos foi observada alteração da atividade da enzima peroxidase após a aplicação dos tratamentos. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Shulman et al. (1986), que verificaram redução da atividade da catalase com a aplicação de cianamida hidrogenada em gemas de videira, enquanto que a atividade da peroxidase permaneceu inalterada. Estes autores sugerem que ocorrendo isto, o processo oxidativo ocasionado pelas peroxidases e radicais de oxigênio podem aumentar, os quais acarretam em manutenção do NADP na forma oxidada, podendo conduzir à ativação da via pentose-fosfato e resultar na indução da brotação. Da mesma forma, Bajji et al. (2007), estudando o envolvimento do peróxido de hidrogênio na superação da dormência e germinação de tubérculos de batata, verificaram uma redução de 50% na atividade da enzima catalase em rebentos apicais, enquanto que a atividade da enzima ascorbate peroxidase permaneceu alta, demonstrando apenas mudanças durante o tempo de armazenamento.

Diferentemente, Mohamed et al. (2012) verificaram um estímulo transitório durante os cinco primeiros dias após o tratamento com CH em gemas de videira na atividade da peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) e ascorbate peroxidase (APX, EC 1.11.1.11). Este aumento coincidiu com uma acumulação de poliaminas totais livres, especialmente a putrecina (Put), fato correlacionado com ocorrências de estresse em vegetais. Houve ainda uma forte correlação entre a atividade da APX e POD e o total de poliaminas totais livres e o conteúdo de putrecina, o que implica num possível efeito estimulante destes compostos nestas enzimas. Posteriormente, durante a brotação, estes autores observaram uma rápida degradação da putrecina, fato considerado como um marcador bioquímico confiável da retomada do crescimento de gemas.

6.3. Comprimento dos ramos e área média de folhas

De maneira geral a aplicação de indutores de brotação resultou na diminuição do comprimento dos ramos e da área média de folhas, indicando uma redução do vigor das plantas ocasionado pelo maior número de gemas brotadas.

Para Rufato et al. (2012) o crescimento de frutíferas como a macieira é influenciado por fenômenos de competição por fotoassimilados entre a parte vegetativa, órgãos de frutificação e o restante da planta. Os ramos, brotos e folhas são drenos fortes de fotoassimilados, o que prejudica toda a parte reprodutiva, como a formação de gemas florais e frutos. Desta forma, excesso de crescimento vegetativo pode acarretar numa escassa diferenciação floral e uma planta pouco produtiva no próximo ciclo de produção, o que reitera a importância na utilização de indutores de brotação eficazes.

A aplicação de OM + CH foi o tratamento que mais reduziu o vigor das plantas, acarretando na formação de ramos em média 49,6% mais curtos do que as testemunhas. No entanto, na maioria dos experimentos não houve diferença significativa deste tratamento para os demais com utilização de óleos, que resultaram em reduções entre 21,5 a 35,5% do tamanho dos ramos, em comparação com as testemunhas.

Iuchi (2006) afirma que brotos longos (extensões) e brotos curtos (brindilas) somente diferem entre si pelo tamanho do entrenó, fator este dependente principalmente da taxa e duração da divisão celular. Quando manejamos a planta de forma a produzir mais brotos curtos (brindilas), aumentamos as chances de diferenciar gemas vegetativas em gemas floríferas. Além disso, este tipo de estrutura origina maior área foliar, maior frutificação efetiva, maior número de flores por cacho e cachos na estrutura, o que acarreta em mais frutos e frutos de melhor qualidade (MADAIL et al., 2012).

Em plantas em formação e início da produção também foram encontradas diferenças no tamanho das folhas, onde houve reduções de até 58,9% para ‘Gala Real II’ e até 47,1% para ‘Fuji Suprema’, nas plantas que receberam aplicação de OM + CH. As diferentes concentrações de óleo vegetal, em mistura com óleo mineral, influenciaram de maneira diferenciada esta característica, onde as maiores concentrações reduziram mais estes valores.

6.4. Frutificação efetiva e fenologia da floração

Além do efeito de indutores de brotação em gemas vegetativas é importante considerar sua ação na brotação e desenvolvimento de gemas floríferas. Durante a condução dos experimentos pode-se verificar uma redução significativa da frutificação efetiva de macieiras, principalmente com a utilização do tratamento OM + CH, no experimento 2, realizado com plantas adultas. Além disso, através do acompanhamento do período de floração das macieiras em início da produção, pode-se verificar o efeito de indutores na fenologia da floração.

A redução da frutificação efetiva, com a utilização de indutores de brotação, pode estar associada a diferentes causas. Hernández e Craig (2011) observaram que a aplicação de cianamida hidrogenada em kiwizeiro ocasionou menor duração da floração, devido à instantaneidade da brotação de gemas floríferas. Para estes autores a curta duração deste período possui a vantagem de reduzir a variação da qualidade dos frutos na colheita, porém, se ocorrer em um período muito curto pode aumentar o risco de má polinização, principalmente se houver condições climáticas ruins para a flor e para a atividade das abelhas, como precipitações, temperaturas extremas e alta velocidade de ventos.

Para Erez et al. (2000), pode haver ainda uma correlação negativa entre a brotação e a frutificação em determinados anos, em razão da competição por nutrientes e fotoassimilados.

Outra hipótese também encontrada é o efeito fitotóxico da cianamida hidrogenada em gemas floríferas, conforme discutido por Citadin et al. (2006). Este efeito estaria relacionado com o acúmulo de peróxido de hidrogênio (substância tóxica às gemas) advindo da diminuição da atividade da enzima catalase (NIR et al., 1984; SHULMAN et al., 1986; PÉREZ et al., 2005). Este fato também foi verificado neste experimento. A aplicação do tratamento OM + CH reduziu significativamente a atividade da enzima catalase, com posterior redução da frutificação efetiva. Em contrapartida, o tratamento OM + OVG apresentou maior média para atividade desta enzima, sendo este também o tratamento com maior percentual de frutificação efetiva, corroborando com esta hipótese.

Correlacionado com a maioria destas discussões tem-se o efeito dos indutores de brotação no processo de abertura de gemas floríferas, que foi avaliado no experimento 3.

Primeiramente fica claro o efeito da não aplicação de indutores de brotação no desenvolvimento irregular da floração. As plantas testemunhas deste experimento apresentaram uma floração esparsa, com baixo número de flores abertas. Sabe-se que

macieiras cultivadas em condições de inverno ameno, onde as exigências de frio não são totalmente satisfeitas, podem apresentar grande variabilidade no período da floração, causando falhas de polinização principalmente por problemas relacionados à não-sincronização do florescimento entre cultivares produtoras e suas respectivas polinizadoras, afetando assim a produção de frutos (SOLTÉSZ, 2003; PETRI et al., 2004; HAWERROTH et al., 2009; PETRI et al., 2012). Neste caso a utilização de indutores tem um efeito positivo na frutificação efetiva.

O pico da floração, caracterizado pelo momento em que as plantas apresentaram maior quantidade de flores entre os estádios botão rosado e flor aberta, atingiu diferentes valores entre os tratamentos utilizados, nas duas cultivares estudadas. De forma geral, este pico foi maior e mais precoce no tratamento com OM + CH, seguido das plantas que receberam OM em mistura com as maiores concentrações de óleo vegetal (emulsionável ou de girassol) e após das menores concentrações. No tratamento testemunha este momento não ficou claro.

Outro fator observado foi que a utilização de indutores de brotação reduziu o período de floração, corroborando com as observações de Hernández e Craig (2011) supracitadas. A florada das plantas que receberam o tratamento OM + CH apresentaram uma duração de aproximadamente 20 dias, com início em 25 de setembro e fim em 15 de outubro, nas duas cultivares estudadas. Na cultivar Fuji Suprema, os tratamentos com OM 2% + OVG 4% e OM 2% + OVE 4% apresentaram uma duração da florada semelhante. Ademais, o início das floradas foi postergado e sua duração foi maior. Para Hawerroth et al. (2009) a aplicação de indutores de brotação, sobretudo a combinação de cianamida hidrogenada e óleo mineral, antecipa e reduz o período de florescimento.

Além do efeito do indutor na brotação de gemas floríferas, sabe-se que a frutificação efetiva pode ser influenciada pelas condições climáticas, que afetam a atividade de polinizadores e a viabilidade do pólen. As principais condições ambientais que interferem neste período são a precipitação, a umidade relativa do ar, a velocidade do vento e a temperatura (PETRI, 2006; RAMÍREZ e DAVENPORT, 2013). Segundo os critérios destas literaturas, a partir de 25 de setembro, quando efetivamente iniciou a floração das macieiras, pode-se destacar dois momentos críticos, considerados desfavoráveis aos processos de polinização e fecundação:

- De 24/09 a 01/10: devido a precipitação pluviométrica;
- De 09/10 a 19/10: devido as altas temperaturas registradas.

6.5. Produção de frutos

Em geral, o uso de indutores de brotação tendem a melhorar a produtividade pela maior capacidade de produção de fotoassimilados ocasionado pelo melhor enfolhamento (NUNES et al., 2001), mas nem sempre isto ocorre. Algumas hipóteses podem ter acarretado a inexistência de diferenças significativas entre as características de produção analisadas no experimento com plantas adultas em fase de produção.

Primeiramente os valores de frutificação efetiva foram, de forma geral, negativamente correlacionados com o aumento no percentual de brotação. Neste caso, apesar do maior número de gemas floríferas abertas, uma menor quantidade de frutos se originaram destas flores. Este fato também foi verificado por Hawerroth et al. (2010b) em seu experimento, onde o aumento das concentrações de cianamida hidrogenada para superação da dormência promove aumento dos percentuais de brotação de gemas laterais, porém acarretam em redução da frutificação efetiva e da produção de frutos por planta.

Outro fator que poderia estar envolvido seria a alta quantidade de esporões e a baixa quantidade de brindilas das macieiras em estudo, como pode ser visualizado na figura 23. Para Iuchi (2006) isto se deve basicamente à idade avançada do pomar e ao manejo de poda e condução adotados que favorecem estas estruturas. Como o esporão é basicamente composto por uma gema apical e apresenta maior facilidade em brotar, uma intensa produção de frutos ocorreu nesta estrutura. Para Hawerroth et al. (2009), em estudos com indutores de brotação muitas vezes as diferenças na produção das plantas, tratadas ou não, podem não ser verificadas nos primeiros ciclos devido ao predomínio da produção em gemas apicais de brindilas e em esporões.



Figura 23. Alta quantidade de esporões e baixa quantidade de brindilas das macieiras em estudo, Palmas-PR, 2013.

Apesar de verificada a produção de frutos similar em plantas tratadas e não tratadas neste experimento, não se dispensam os tratamentos para indução da brotação (HAWERROTH et al., 2009). Como relatado por PETRI et al. (2006), a resposta dos indutores de brotação na produção de frutos é diferenciada ao longo dos anos, porém os mesmos devem ser utilizados regularmente, visto que a falta de brotação de gemas apicais e laterais tem efeito cumulativo ao longo dos anos, reduzindo a formação de novas estruturas de frutificação, podendo acarretar em diminuição da produção.

No experimento 3, com plantas em início da produção, observamos duas situações distintas entre as cultivares. Na cultivar Fuji Suprema, o maior número de frutos por planta foi observado no tratamento OM 2% + OVE 4% (35,25 frutos), não diferindo das misturas de OM 2% + OVG 2% (19,8 frutos), OM 2% + OVE 2% (19,0 frutos) e OM + CH (17,5 frutos); no entanto estas últimas não diferiram da testemunha. Acredita-se que o melhor desempenho das misturas de óleos vegetais com óleo mineral, em comparação com o tratamento padrão de OM + CH, possa estar relacionado a fatores como a concentração da florada em um período muito curto, às condições climáticas inadequadas no período da florada, à correlação negativa entre a brotação e a frutificação e/ou ao efeito tóxico do acúmulo de peróxido de hidrogênio em gemas floríferas, pela diminuição da atividade da catalase, conforme discutido anteriormente (EREZ et al., 2000; CITADIN et al., 2006; HERNÁNDEZ e CRAIG, 2011).

Na cultivar Gala Real II, o maior número de frutos foi observado nas plantas que receberam os tratamentos com OM + CH, com média de 18,8 frutos por planta. Nesta cultivar os tratamentos com óleo mineral e óleos vegetais não foram tão eficientes para indução da brotação de gemas laterais, sendo que a vantagem de maior número de gemas floríferas abertas e da sincronia com a cultivar polinizadora, foram fatores preponderantes no maior número de frutos por planta desta cultivar (HAWERROTH et al., 2009). Além deste tratamento, observa-se que as misturas de OM + OVG e OM + OVE nas menores concentrações, diferiram estatisticamente dos demais, inclusive da testemunha. É possível que as condições climáticas ocorridas na época da florada, tenham originado esta vantagem destes tratamentos frente as misturas de OM com maiores concentrações de óleo vegetal, isto porque houve uma condição de escape da abertura de flores destes tratamentos.

Vale salientar que neste experimento não foi verificado uma diferença significativa na floração e na produção de frutos do óleo de girassol, comparativamente ao óleo vegetal emulsionável, o que põe em dúvida sua real vantagem produtiva.

6.6. Características físico-químicas dos frutos

Apesar de não significativas as diferenças entre os tratamentos para as características sólidos solúveis e pH das maçãs, é possível que os tratamentos mais efetivos na indução da brotação tenham acarretado numa maturação mais precoce (GEORGE et al., 2002), com frutos mais coloridos e com maior teor de ácido málico no suco.

No entanto, para a característica firmeza de polpa isto parece contraditório, pois os tratamentos mais efetivos foram mais firmes. Uma possível explicação para isso poderia estar relacionada a um maior teor de cálcio nos frutos, nutriente responsável pela formação de ligações entre as pectinas da parede celular e a lamela média, além de contribuir para a inibição da hidrólise da pectina durante o amadurecimento (POOVAIAH, 1988; HUBER et al., 2001). Como este nutriente movimenta-se para o fruto através do xilema, especialmente antes e durante a fase de divisão celular, a brotação antecipada poderia estender o período de suprimento, aumentando seu conteúdo no fruto e conseqüentemente a firmeza da polpa.

7. CONCLUSÕES

A aplicação da mistura de cianamida hidrogenada e óleo mineral para indução da brotação resulta em alto percentual de brotação de gemas, reduz a atividade da enzima catalase e reduz o vigor das plantas. Porém este tratamento diminui a frutificação efetiva, fator que pode casualmente acarretar em menor produção.

O óleo vegetal, em mistura com o óleo mineral, pode ser uma alternativa interessante para indução da brotação, no entanto há uma resposta positiva para o aumento da sua concentração, fato que deve ser melhor estudada.

As diferentes fontes de óleo vegetal estudados demonstraram ter efeitos similares no percentual de brotação.

A indução da brotação com a aplicação de óleo vegetal e mineral não altera a atividade da enzima catalase 24 horas após a aplicação. Possivelmente sua alteração ocorra em um momento diferente do avaliado e/ou o mecanismo de indução da brotação seja outro.

Cianamida hidrogenada, óleo mineral e óleos vegetais não influenciaram a atividade da enzima peroxidase, 24 horas após a aplicação para indução da brotação.

A indução da brotação com óleo vegetal e mineral tem potencial pra produzir de forma semelhante a mistura de cianamida hidrogenada e óleo mineral. A condução de novos estudos de readequação de dosagem devem considerar a redução da frutificação efetiva e a produtividade, além do percentual de brotação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN, P. Winter chilling in areas with mild winters: its measurement and supplementation. **Acta Horticulturae**, Nauni, v.662, p.47-52, 2004.
- BAJJI, M.; M'HAMDI, M.; GASTINY, F.; ROJAS-BELTRAN, J.A.; JARDIN, P. D. Catalase inhibition accelerates dormancy release and sprouting in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. **Biotechnologie Agronomie Société et Environnement**, Liège, v. 11, n. 2, p. 121-131, 2007.
- BOTELHO, R. V. Efeito do extrato de alho na quebra de dormência de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 403-405, 2007.
- BOTELHO, R. V.; MULLER, M. M. L. Evaluation of garlic extract on bud dormancy release of Royal Gala apple trees. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 47, n. 6, p. 738-741, 2007a.
- BOTELHO, R.V.; AYUB, R.A.; MULLER, M.M.L. Somatória de horas de frio e de unidades de frio em diferentes regiões do estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v.7, n.1-2, p.89-96, 2006.
- BOTELHO, R. V.; MULLER, M. M. L. Extrato de alho como alternativa na quebra de dormência de gemas em macieiras. cv. Fuji Kiku. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 37-41, 2007b.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** v.72, p.248-254, 1976.
- BRAGA, H.J.; SILVA, L.M. Sistema agrometeorológico para microcomputador. In: Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 4., 1987, Belém. **Anais...** Belém: Coletânea de trabalhos apresentados no 4º Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 1987. v.1. p. 380-385.
- CAI, X.; ZHAO, H.; WU, M.; HU, X.; HE, H.; ZHANG, C.; ZHANG, C.; LI, Z. Determining Hydrogen Cyanamide in Fruit by Derivatization with 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate and HPLC with Fluorescence Detection. **Chromatographia**, v.75, p.1069-1074, 2012.
- CAMPOY J.A.; RUIZ, D.; EGEEA, J. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming contexto: a review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.130, p.357-372, 2011.
- CARMEL-HAREL, O.; STEARMAN, R.; GASCH, A.P.; BOTSTEIN, D.; BROWN, P.O.; STORTZ, G. Role of thioredoxin reductase in the Yap1pdependent response to oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular Microbiology**, v.39, p.595-605, 2001.
- CARVALHO, R. I. N. de; ZANETTE, F. Dinâmica da dormência de gemas de macieira

'Imperial Gala' durante o outono e inverno em região de baixa ocorrência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p. 65-68, 2004.

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

CITADIN, I.; BASSANI, M.H.; DANNER, M.A.; MAZARO, S.M.; GOUVÊA, A. Uso de cianamida hidrogenada e óleo mineral na floração, brotação e produção do pessegueiro 'Chiripá'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.1, p.32-35, 2006.

COOK, N.C. et al. Freezing temperature treatments induces bud dormancy in 'Granny Smith' apple shoots. **Science Horticulture**, Amsterdam, v.106, p.170-176, 2005.

COUTO, M.; LEITE, G.B.; PETRI, J.L.; GABARDO, G.C. Utilização de óleo vegetal em substituição ao óleo mineral para superação da dormência e indução da brotação em macieiras 'Imperial Gala' e 'Fuji Suprema'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Resumos...** Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2012. p. 4273- 4277.

CRUZ JÚNIOR, A.O.; AYUB, R. A. Quebra de dormência de gemas de macieira cv. Eva tratadas com cianamida hidrogenada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.576-578, 2002.

DURNER, J.; KLESSIG, D.F. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.92, p.11312-11316, 1995.

EL-YAZAL, M.A.S. The effect of chilling, defoliation and hydrogen cyanamide on dormancy release, bud break and fruiting of Anna apple cultivar. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.118, p.25-32, 2008.

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, 2014a.

EL-YAZAL, M.A.S.; RADY, M.M. Exogenous onion extract hastens bud break, positively alters enzyme activity, hormone, amino acids and phenol contents, and improves fruit quality in 'Anna' apple trees. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.169, p.154-160, 2014b.

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

EREZ, A. Means to compensate for insufficient chilling to improve bloom and leafing. **Acta Horticulturae**, v.395, p.81-95, 1995.

EREZ, A.; COUVILLON, G.A.; KAYS, S.J. The effect of oxygen concentration on the release of peach leaf buds from rest. **HortScience**, v.15, p.39-41, 1980.

EREZ, A.; YABLOWITZ, Z.; KORCINSKI, R. Temperature and chemical effects on competing sinks in peach bud break. *Acta Horticulturae*, Brussels, v. 1, n. 514, p. 51-58, 2000.

EREZ, A.; ZUR, A. Recent advances in breaking the dormancy of deciduous fruit trees. In: **Internacional horticultural congress**, 19, 1974. Warszawa, 1974, p. 69-78.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. S.; SCHMTIZ, J. D.; BETEMPS, D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, Volume Especial, p.109-120, 2011.

FAO. **FAOSTAT**: production-crops. Disponível em: < http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/*/E>. Acesso em: 06 jun. 2014.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GEORGE, A. P., BROADLEY, R. H., NISSEN, R. J.; WARD, G. Effects of new rest-breaking chemicals on flowering, shoot production and yield of subtropical tree crops. **Acta Horticulturae**, v. 575, p. 835-840, 2002.

GOLDBACH, H.; THALER, C.H.; WÜNSCH, A.; AMBERGER, A. Decomposition of ¹⁴C-labelled cyanamide in *Vitis vinifera* cuttings. **Journal of Plant Physiology**, v.133, p.299-303, 1988.

GÓTH, L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v.196, n.2-3, p.143-151, 1991.

HALLIWELL, B. Lignin synthesis: the generation of hydrogen peroxide and superoxide by horseradish peroxidase and its stimulation by manganese (II) and phenols. **Planta**, v.140, p.81-88, 1978.

HAUAGGE, R. Potencialidade para a pomicultura no Estado do Paraná. In: Encontro Paranaense de Fruticultura, 1., 2007, Guarapuava. **Anais...** Guarapuava: Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2007. p.50-60.

HAWERROTH, F. J.; HERTER, F. G.; PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; PEREIRA, J. F. M. **Dormência em frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, documento 310, 2010a. 56p.

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**, Campinas, v.68, n.4, p. 961-971, 2009.

HAWERROTH, F. J.; PETRI, J. L.; LEITE, G. B. Cianamida hidrogenada, óleos mineral e vegetal na brotação de gemas e produção de macieiras 'Royal Gala'. **Semina: Ciências**

Agrárias, Londrina, v. 31, suplemento 1, p. 1145-1154, 2010b.

HAWERROTH, F. J.; PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; HERTER, F. G. Brotação de gemas em macieiras 'Imperial Gala' e 'Fuji Suprema' pelo uso de Erger® e nitrato de cálcio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p.343-350, 2010c.

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, p.109-114, 2005.

HERNÁNDEZ, G; CRAIG, R.L. Effects of alternatives to hydrogen cyanamide on commercial kiwifruit production. **Acta Horticulturae**, v.913, p.357-363, 2011.

HIRAGA, S.; ITO, H.; YAMAKAWA, H.; OHTSUBO, N.; SEO, S.; MITSUHARA, I.; MATSUI, H.; HONMA, M.; OHASHI, Y. An HR-induced tobacco peroxidase gene is responsive to spermine, but not to salicylate, methyl jasmonate and ethephon. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.13, p. 210-216, 2000.

HORVATH, D.P.; ANDERSON, J.V.; CHAO, W.S.; FOLEY, M.E. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. **Trends in Plant Science**, London, v.8, p.534-540, 2003.
HUBER, D.J. et al. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v.13, n.2, p.224-241, 2001.

IUCHI, V. L.; IUCHI, T.; BRIGHENTI, E.; DITRICH, R. Quebra da dormência da macieira (*Malus domestica* borkh) em São Joaquim-SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 168-174, 2002.

IUCHI, V.L. Botânica e fisiologia. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2006. p. 59-104.

KAWANO, T.; MUTO, S. Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.685-693, 2000.

KUBOTA, N.; YASUSHI, Y.; KOJI, T.; KAZUYOSHI, K.; TESUO, H.; SHOJI, N. Identification of active substances in garlic responsible for breaking bud dormancy in grapevines. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v. 68, p. 1111-1117, 1999.

LAMB, C.; DIXON, R.A. The oxidative burst in plant disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.48, p.251-275, 1997.

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

LAVEE, S.; MAY, P. Dormancy of grapevines buds: facts and speculation. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.3, p.31-46, 1997.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 244-249, 1999.

MADAIL, R. H.; HERTER, F. G.; LEITE, G. B. Influência das estruturas florais e qualidade da gema floral na produtividade e formato do fruto em diferentes cultivares de macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.3, p.686-694, 2012.

McARTNEY, S.J.; WALKER, J.T.S. Current situation and future challenges facing the production and marketing of organic fruit in Oceania. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.638, p.387-396, 2004.

MOHAMED, H. B. Effects of hydrogen cyanamide on antioxidant enzymes' activity, proline and polyamine contents during bud dormancy release in Superior Seedless grapevine buds. **Acta Physiol Plant**, v.34, p.429-437, 2012.

NIR, G.; SHULMAN, Y.; FANBERSTEIN, L.; LAVEE, S. Changes in the activity of catalase in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. **Plant Physiology**, v.81, p.1140-1142, 1986.

NIR, G.; SHULMAN, Y.; FANBERSTEIN, L.; LAVEE, S. The involvement of catalase in the dormancy of grapevine buds. In.: International seminar of bud dormancy in grapevines: potencial and practical uses of hydrogen cyanamide on grapevines, 1984. Davis, **Proceedings...** Davis: University of California, p. 40-43, 1984.

NUNES, J. L. S.; MARODIN, G. A.; SARTORI, I. A. Cianamida hidrogenada, thidiazuron e óleo mineral na quebra da dormência e na produção do pessegueiro cv. Chiripá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 93-496, 2001.

OLSEN, J. E. Mechanisms of dormancy regulation. **Acta Horticulturae**, Saltillo, v. 727, p. 157-166, 2006.

OR, E.; VILOZNY, I.; EYAL, Y.; OGRODOVITCH, A.; The transduction of the signal for grape bud dormancy breaking induced by hydrogen cyanamide may involve the SNF-like protein kinase GDBRPK. **Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 483-494, 2000.

PÉREZ, F. J.; LIRA, W. Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.301-308, 2005.

PÉREZ, F.J.; VILLEGAS, D.; MEJIA, N. Ascorbic acid and flavonoid-peroxidase reaction as a detoxifying system for H₂O₂ in grapevine leaves. **Phytochemistry**, v.60, p.573-580, 2002.

PETRI, J. L. ; LEITE, G. B. ; COUTO, M. ; GABARDO, G. C. ; HAWERROTH, F. J. Chemical induction of budbreak: new generation products to replace hydrogen cyanamide. **Acta Horticulturae**, v. 1042, p. 159-166, 2014.

PETRI, J. L. Alternativas para quebra de dormência em fruteiras de clima temperado. In:

Encontro Nacional Sobre Fruticultura de Clima Temperado, 8., 2005, Fraiburgo. **Anais... Caçador: Epagri**, vol.1(Palestras), 2005. p.125-133.

PETRI, J. L.; HAWERROTH, F. J.; LEITE, G. B.; COUTO M.; FRANCESCATTO, P. Apple Phenology in Subtropical Climate Conditions, Phenology and Climate Change. In: ZHANG, X. **Phenology and Climate Change**. Shanghai, 2012. p. 195-216.

PETRI, J. L.; LEITE, G. B. Consequences of insufficient Winter Chithing on Apple Tree Bud Beak. **Acta Horticulturae**, p. 53-60, 2004.

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

PETRI, J.L. Formação de flores, polinização e fertilização. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2006. p.229-260.

PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; POLA, A.C. Dormência e indução a brotação em macieira. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2006. p.261-297.

PINTO, M.; LIRA, W.; UGALDE, H.; PÉREZ, F. Fisiologia de la latência de lãs yemas de vid: hipótesis actuales. Grupo de Investigación Enológica (GIE). Universidad de Chile, **Facultad de Ciências Agronómicas, Santiago**, Chile. 2007. 16p. Disponível em: <<http://www.gie.uchile.cl/publicaciones/index.html>> Acesso em 02 Ago. 2014.

POOVAIAH, B.W. Molecular cellular aspects of calcium action in plants. **HortScience**, Alexandria, v.23, n.2, p.267-271, 1988.

POWELL, L. E. Hormonal aspects of bud and seed dormancy in temperate zone woody plants. **HortScience**, Alexandria, v. 22, p. 845-850, 1987.

PRAMANIK, S.K.; DUTTA, S.; BHATTACHARYYA, A. Studies on the residue of hydrogen cyanamide in grape berries. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.82, n.5, p. 644-646, 2009.

RAMÍREZ, F.; DAVENPORT, T.L. Apple pollination: A review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.162, p.188-203, 2013.

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

RUFATO, L.; MARCON FILHO, J. L.; MARODIN, G. A. B.; KRETZSCHMAR, A. A.; MIQUELUTI, D. J. Intensidade e épocas de poda verde em pereira 'Abate Fetel' sobre dois porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.2, p. 475-481, 2012.

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

- SANHUEZA, R. M. V.; ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. Situação atual da produção integrada de frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS, 5., Bento Gonçalves, 2003; MELO, G. W. B.; SEBBEN, S. S. (Eds.). **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 2003. p.23-25.
- SATO, A.J.; MARQUES, J.G.P.; SCHNEIDERS, R.; VANOLLI, B.; SVIECH, L. Indução artificial da brotação da videira 'BRS Carmem' em região de clima subtropical com produtos alternativos. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 23., 2014, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2014.
- SATO, A.J.; SIMÃO, D.F.; BOTELHO, R.V. Produtos alternativos na indução da brotação de gemas da macieira 'Maxi Gala'. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Resumos...** Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2012a.
- SATO, A.J.; SIMÃO, D.F.; HENNERICH, J.E.; BOTELHO, R.V. Extrato de cebolinha, óleo vegetal e mineral na promoção de brotação de pereiras 'Abate Fetel'. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Resumos...** Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2012b.
- SAURE, M.C. Dormancy release in deciduous fruit trees. **Horticultural Reviews**, v. 7, p. 239-299, 1985.
- SHALTOUT, A.D.; UNRATH, C.R. Rest completion prediction model for 'Starkrimson Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.6, p.957-961, 1983.
- SHULMAN, Y.; NIR, G.; LAVEE, S. Oxidative processes in bud dormancy and the use of hydrogen cyanamide in breaking dormancy. **Acta Horticulturae**, Leiden, v. 179, p. 141-148, 1986.
- SOLTÉSZ, M. Apple. In: KOZNA, P.; NYÉKI, J.; SOLTÉSZ, M.; SZABO, Z. **Floral Biology, Pollination and Fertilisation Zone Fruit Species and Grape**. Budapest: Akadémia Kiadó, 2003. p.237-316.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013. 954p.
- TOMÁNKOVÁ, K.; LUHOVÁ, L.; PETOIVÁLSKÝ, M.; PEÈ, P.; LEBEDA, A. Biochemical aspects of reactive oxygen species formation in the interaction between *Lycopersicon* spp. and *Oidium neolycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.68, p. 22-32, 2006.
- UBER, S.C.; BOTELHO, R.V.; SATO, A.J.; PERBONI, L.T.; RUFFATO, L.; KRETZSCHMAR, A.A. Alternativas ao uso da Cianamida Hidrogenada na indução de brotação em macieira 'Maxi Gala'. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 22., 2012, Bento Gonçalves.. **Resumos...** Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2012.
- VAN BREUSEGEM, F.; VRANOVÁ, E.; DAIT, F. J.; INZÉ, D. The role of active oxygen

species in plant signal transduction. **Plant Science**, v.161, p.405–414, 2001.

WILLEKENS, H.; INZE, D.; VAN MONTAGU, M.; VAN CAMP, W. Catalase in plants. **Molecular Breeding**, v.1, p.207-228, 1995.

ZELLEKE, A.; KLIEWER, W. M. The effects of hydrogen cyanamide on enhancing the time and amount of budbreak in young grape vineyards. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 40, n. 1, p. 47-51, 1989.