

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

PRODUÇÃO DE MACIEIRAS 'EVA' EM RESPOSTA AO USO DE  
INDUTORES DE BROTAÇÃO

Daniel Chamorro Darde  
Engenheiro Agrônomo/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos  
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia  
Área de Concentração Sistemas de Produção Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil  
Junho de 2017

DANIEL CHAMORRO DARDE  
Engenheiro Agrônomo - UFRGS

## DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### MESTRE EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 29.06.2017  
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 13.03.2018  
Por

GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN  
Orientador - PPG Fitotecnia

CHRISTIAN BREDEMEIER  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

FERNANDO JOSÉ HAWERROTH  
EMBRAPA Uva e Vinho

GILMAR SCHÄFER  
PPG Fitotecnia/UFRGS

MATEUS PEREIRA GONZATTO  
ESTAÇÃO EXPERIMENTAL AGRONÔMICA  
FACULDADE DE AGRONOMIA/UFRGS

CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de  
Agronomia

# PRODUÇÃO DE MACIEIRAS 'EVA' EM RESPOSTA AO USO DE INDUTORES DE BROTAÇÃO<sup>1</sup>

Autor: Daniel Chamorro Darde  
Orientador: Gilmar Arduino Bettio Marodin

## RESUMO

A aplicação de indutores de brotação é uma prática essencial para a produção comercial de frutíferas temperadas em regiões de baixo acúmulo de frio. Apesar de cianamida hidrogenada (CH) e óleo mineral (OM) terem um efeito satisfatório na promoção de brotação de gemas, a toxicidade ao aplicador vem fazendo com que seja proibida a sua utilização em alguns países da Europa. Portanto, alternativas são necessárias para a substituição de CH. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do indutor de brotação Erger<sup>®</sup> sobre a brotação de gemas apicais e laterais, a produção, a qualidade dos frutos e componentes fisiológicos de gemas de macieiras 'Eva' nas condições climáticas da região da Depressão Central do RS. O experimento foi conduzido na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em macieiras 'Eva' enxertadas sobre 'Marabukai do' com filtro 'M9', em pomar implantado em 2009, durante as safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16. Foram testados os seguintes tratamentos: 1) testemunha (sem aplicação); 2) 4% OM; 3) 4 % OM + 0,6 %; 4) 3% de nitrato de cálcio (CaNO<sub>3</sub>); 5) 3% CaNO<sub>3</sub>+ 2% de Erger<sup>®</sup>; 6) 3% CaNO<sub>3</sub>+ 3% de Erger<sup>®</sup>; 7) 3% CaNO<sub>3</sub>+ 4% de Erger<sup>®</sup> e 8) 3% CaNO<sub>3</sub>+ 5% de Erger<sup>®</sup>. Todos os tratamentos de Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> induziram taxas satisfatórias de brotação de gemas, alcançando valores próximos a 100% em gemas apicais e 50% em gemas laterais, exibindo valores semelhantes ao observado no tratamento com CH +OM. Também houve aumento no retorno floral nos anos seguintes às aplicações. Em relação às características dos frutos, os tratamentos de Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> não promoveram diferenças dos demais para firmeza de polpa, sólidos solúveis e acidez titulável. No entanto, o aumento na brotação dos tratamentos comparado à testemunha não promoveu incremento significativo de produção. Os tratamentos de 4% e 5% Erger<sup>®</sup> ocasionaram sintomas de toxicidade em ramos de brotação tardia do ano anterior. CH e Erger<sup>®</sup> não induziram efeitos sobre o conteúdo das enzimas catalase e peroxidase comparados ao tratamento testemunha. Também não houve diferença no conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, comparando gemas dormentes e gemas após a aplicação dos indutores de brotação em relação ao tratamento testemunha. A aplicação de Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> é eficiente em promover o aumento da brotação de gemas apicais e laterais e pode ser utilizado como alternativa à cianamida hidrogenada em macieira 'Eva' em região de baixo acúmulo de frio hibernal.

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (57f.) Junho, 2017.

# PRODUCTION OF 'EVA' APPLE TREES IN RESPONSE TO THE SPRAYING OF BREAKING DORMANCY CHEMICALS<sup>1</sup>

Author: Daniel Chamorro Darde  
Adviser: Gilmar Arduino Bettio Marodin

## ABSTRACT

Spraying of dormancy breaking agents is a mandatory procedure to produce temperate fruits in low chill regions. Although hydrogen cyanamide (HC) and mineral oil (MO) have an effective performance enhancing budburst, its toxicity to the sprayer is making it to become prohibited in some European countries. Therefore, alternatives are needed to substitute HC. Erger<sup>®</sup> + calcium nitrate (CaNO<sub>3</sub>) were evaluated regarding their capacity to overcome dormancy and enhance budburst in 'Eva' apple trees comparing its efficacy to HC. The experiment was carried out at the Agronomic Experimental Station of the Rio Grande do Sul Federal University, on 'Eva' apple trees grafted on Marubakaido with M9 interstem, with six years old, during the harvests 2013/14, 2014/15 and 2015/16. The following treatments were tested: 1) Control (no spraying); 2) 4% MO; 3) 4% MO + 0,6% HC (1,2% Dormex<sup>®</sup>); 4) 3% calcium nitrate (CaNO<sub>3</sub>); 5) 3 % CaNO<sub>3</sub> + 2% Erger<sup>®</sup>; 6) 3 % CaNO<sub>3</sub> + 3% Erger<sup>®</sup>; 7) 3 % CaNO<sub>3</sub> + 4% Erger<sup>®</sup>; 8) 3 % CaNO<sub>3</sub> + 5% Erger<sup>®</sup>. All Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> treatments induced satisfactory budburst rates, reaching close to 100% of apical buds and 50% of axillary buds. Also, it increased the return bloom in the following years. For fruit characteristics, Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> treatments did not promote any difference from the other treatments on fruit firmness, soluble solids and titratable acidity. However, the increase in budburst rate of treatments compared to control did not promote a significant production increment, possibly due to the short blossom period. Treatments of 4% and 5% Erger<sup>®</sup> caused toxicity symptoms in late growths from the previous year. HC and Erger<sup>®</sup> showed no effect over the enzymes catalase and peroxidase content compared to the control treatment. Also, the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> did not change comparing buds in dormant state and buds after spraying dormancy breaking agents regarding the control treatment. Spraying of Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> is efficient promoting budburst increase of apical and axillary buds and may be used as an alternative to hydrogen cyanamide for 'Eva' apple trees in low chill regions.

---

<sup>1</sup>Master's dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (57p.) June, 2015.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Dormência de gemas em espécies perenes .....	3
2.2 Função e importância dos plasmodesmas nos processos fisiológicos celulares.....	5
2.3 Estresse oxidativo em células vegetais .....	7
2.4 Estado redox da célula regula o fluxo simplástico .....	10
2.5 Uso de indutores de brotação .....	13
3. OBJETIVO .....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	21
5.1 Brotação.....	21
5.2 Retomo Floral .....	28
5.3 Produção.....	30
5.4 Massa média e Relação Comprimento/Diâmetro dos frutos .....	32
5.5 Firmeza de polpa, Sólidos Solúveis e Acidez Titulável .....	34
5.6 Umidade Ponderal.....	37
5.7 Catalase, Peroxidase e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	39
6. CONCLUSÃO .....	45
7. REFERÊNCIAS .....	46

## RELAÇÃO DE TABELAS

Página

Tabela 1. Retorno floral em plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação, nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS. ....	29
Tabela 2. Produção de plantas de macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS. ....	31
Tabela 3. Massa média dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.....	33
Tabela 4. Relação comprimento/diâmetro dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.....	34
Tabela 5. Finneza de polpa e sólidos solúveis dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.....	35
Tabela 6. Acidez titulável dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS. ....	37

Tabela 7. Atividade das enzimas catalase (CAT) e peroxidase (POD) em gemas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação na safra 2016/17, em Eldorado do Sul/RS.....40

Tabela 8. Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em gemas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação na safra 2016/17, em Eldorado do Sul/RS.....42

## RELAÇÃO DE FIGURAS

Páginas

Figura 1. Formação e remoção de EROs nos cloroplastos e peroxissomos em decorrência de estresse por excesso de luz (Adaptado Apel e Hirt, 2004). .....9

Figura 2. Possível ação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na superação da dormência de gemas de videira (adaptado de Pinto et al., 2007). ..... 12

Figura 3. Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação, na safra 2013/14, em Eldorado do Sul/RS. Contraste 1- Indutores x testemunha: gemas apicais (a), gemas laterais (b); Contraste 2 - Óleo mineral 4% x demais indutores: gemas apicais (c), gemas laterais (d); Contraste 3 - tratamentos com Erger<sup>®</sup> x óleo mineral 4% + cianamida hidrogenada 0,6%: gemas apicais (e), gemas laterais (f); Contraste 4 – nitrato de cálcio x concentrações de Erger<sup>®</sup> + nitrato de cálcio: gemas apicais (g), gemas laterais (h). ns – interação não significativa; \* interação significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. OM – óleo mineral; CaNO<sub>3</sub> – nitrato de cálcio.....23

Figura 4. Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação, na safra 2014/15, em Eldorado do Sul/RS. Contraste 1- Indutores x testemunha: gemas apicais (a), gemas laterais (b); Contraste 2 - Óleo mineral 4% x demais indutores: gemas apicais (c), gemas laterais (d); Contraste 3 - tratamentos com Erger<sup>®</sup> x óleo mineral 4% + cianamida hidrogenada 0,6%: gemas apicais (e), gemas laterais (f); Contraste 4 – nitrato de cálcio x concentrações de Erger<sup>®</sup> + nitrato de cálcio: gemas apicais (g), gemas laterais (h). ns – interação não significativa; \* interação significativa



peelo teste F a 5% de probabilidade. OM – óleo mineral; CaNO<sub>3</sub> – nitrato de cálcio.....24

Figura 5. Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação, na safra 2015/16, em Eldorado do Sul/RS. Contraste 1- Indutores x testemunha: gemas apicais (a), gemas laterais (b); Contraste 2 - Óleo mineral 4% x demais indutores: gemas apicais (c), gemas laterais (d); Contraste 3 - tratamentos com Erger<sup>®</sup> x óleo mineral 4% + cianamida hidrogenada 0,6%: gemas apicais (e), gemas laterais (f); Contraste 4 – nitrato de cálcio x concentrações de Erger<sup>®</sup> + nitrato de cálcio: gemas apicais (g), gemas laterais (h). ns – interação não significativa; \* interação significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. OM – óleo mineral; CaNO<sub>3</sub> – nitrato de cálcio.....25

Figura 6. Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de diferentes concentrações de Erger<sup>®</sup>, nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16 em Eldorado do Sul/RS. Taxa de brotação de gemas apicais: 2013/14 (a), 2014/15 (c), 2015/16 (e); Taxa de brotação de gemas laterais: 2013/14 (b), 2014/15 (d), 2015/16 (f). ns – interação não significativa; \* interação significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. CaNO<sub>3</sub> – nitrato de cálcio.....27

Figura 7. Danos em ramos tardios do ano anterior causados pelas concentrações de 4% e 5% Erger<sup>®</sup>. Eldorado do Sul, 2015.....28

Figura 8. Correlação entre brotação de gemas apicais e laterais e retomo floral em macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15, 2015/16 em Eldorado do Sul/RS. Correlação entre brotação de gemas apicais e retomo floral: 2014/15 (a), 2015/16 (c); Correlação entre brotação de gemas laterais e retomo floral: 2014/15 (b), 2015/16 (d). Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.....30

Figura 9. Umidade Ponderal (UP) de gemas da macieira 'Eva', na safra 2016/17, em Eldorado do Sul/RS.....39

## 1. INTRODUÇÃO

A dormência em plantas perenes é um processo fisiológico que tem por objetivo a proteção dos meristemas contra condições ambientais desfavoráveis durante o inverno. As alterações visam, principalmente, a proteção contra as baixas temperaturas do ar, elemento meteorológico com maior potencial de dano durante esta fase.

Os mecanismos de dormência consistem em uma redução dos processos metabólicos e conseqüente inibição do desenvolvimento dos tecidos meristemáticos. Dentre as estratégias de proteção de meristemas, destaca-se a redução do transporte de água, nutrientes e metabólitos para estes tecidos.

A redução do teor de água livre é uma estratégia para aumentar a resistência dos meristemas contra o congelamento, pelo aumento de proteínas hidrofílicas (dehidrinas), dentre outras estratégias, que reduzem o potencial osmótico, o que reduz a temperatura mínima sob qual poderá ocorrer congelamento.

A superação da dormência ocorre naturalmente em frutíferas de clima temperado, variando a necessidade de regime de baixas temperaturas para a saída da dormência e a quantidade de graus-dia para a brotação entre as diferentes espécies e cultivares. Entretanto, em regiões marginais para o cultivo de frutíferas temperadas, as necessidades de frio muitas vezes não são atendidas, prejudicando a brotação e até mesmo inviabilizando o cultivo nestes

locais. Portanto, para a superação da dormência em regiões onde as necessidades fisiológicas das plantas não são atendidas, são utilizados agentes químicos que afetam os processos fisiológicos das gemas e, conseqüentemente, promovem a estimulação da brotação e do crescimento.

Os indutores de brotação utilizados atualmente apresentam alta eficiência na promoção de superação de dormência das gemas e são de extrema importância em regiões de baixo acúmulo de frio.

Existem hipóteses que buscam explicar, por exemplo, o mecanismo de atuação da cianamida hidrogenada (CH), principal produto utilizado no mundo. A aplicação de CH induz aumento nos teores celulares de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), por agir inibindo a ação da catalase, enzima responsável por degradar o  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ .

Uma alternativa disponível para uso como indutor de brotação é o produto comercial Erger<sup>®</sup>, composto por nitrogênio em forma nítrica, amoniacal e uréica, mono e polissacarídeos como sacarose e celulose, cálcio e diterpenos precursores de hormônios de crescimento, utilizado nas concentrações de 3 a 7%, associado a 3 a 5% de nitrato de cálcio. Este composto apresenta desempenho similar a CH, sendo eficiente tanto na indução de brotação das gemas, como na uniformidade de brotação.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Dormência de gemas em espécies perenes**

A dormência de gemas, segundo Rohde e Bhalerao (2007), é a incapacidade de tecidos meristemáticos iniciarem crescimento sob condições favoráveis, referidas usualmente por temperatura ambiente, fotoperíodo permissivo (dia longo) e acesso à água (Cooke et al., 2012).

A dormência pode ser dividida em três estágios: paradormência, ocorrendo devido a fatores da planta externos à gema; endodormência, quando o crescimento é reprimido internamente na gema; e ecodormência, no qual condições do ambiente não favoráveis inibem o crescimento (Lang, 1987). A paradormência está relacionada à inibição correlativa na planta ou dominância apical, inibindo o crescimento até que parte da planta seja removida. A endodormência é ocasionada por processos fisiológicos internos à gema, como o fechamento da comunicação simplástica entre as células. Já, a ecodormência é condicionada pela manutenção das baixas temperaturas até que se atinja a quantidade de energia necessária à brotação, por meio do acúmulo de uma soma térmica mínima.

Entende-se que, por ser um processo adaptativo de proteção contra condições desfavoráveis durante o inverno, é importante que a dormência se estabeleça antes do período de frio extremo (Heide e Prestrud, 2005).

Durante a dormência, muitos são os fatores que regulam a permanência e, posteriormente, sua superação. Estimulos externos, como redução do fotoperíodo e a gradual redução de temperaturas, induzem à entrada na dormência. O estímulo à entrada em dormência em macieiras se dá em resposta às baixas temperaturas, sendo a macieira insensível ao fotoperíodo, assim como a pereira e outras espécies da subfamília *Maloidae*, família *Rosaceae*. Estudos mostram que temperaturas abaixo de 12°C promovem parada de crescimento em macieiras e pereiras, induzindo à entrada na dormência (Heide e Prestrud, 2005). O requerimento em frio necessário para a saída da dormência varia com o genótipo, sendo a dormência tipicamente superada várias semanas antes da brotação das gemas, cuja indução é determinada pelo acúmulo de soma térmica (Cooke et al., 2012).

Em regiões de inverno ameno, a falta de frio é fator limitante para a saída da dormência. Macieiras cultivadas em regiões onde as horas de frio necessárias não são satisfeitas apresentam uma série de anomalias na brotação das gemas. Sintomas como a não brotação de gemas vegetativas, crescimento excessivo de ramos, florescimento irregular, baixa frutificação efetiva, entre outros, são consequências do não atendimento do frio necessário à cultura (Petri e Leite, 2004). Quando o número de horas de frio é insuficiente, é necessário valer-se de indutores de brotação para compensar esta falta de frio e, assim, promover uma brotação equilibrada e sincronizada. Desta forma ocorre a coincidência do período de floração entre a cultivar e as plantas polinizadoras, fazendo com que o índice de flores fecundadas aumente, possibilitando maior produção de frutos (Hawerth et al., 2010).

O controle do movimento simplástico para as gemas e entre as células das gemas durante o ciclo de crescimento ativo, através de canais presentes na membrana plasmática, representa um potencial meio de regulação da dormência (Cooke et al., 2012). A sinalização célula-a-célula de tecidos meristemáticos é necessária para o funcionamento durante o crescimento, portanto, a regulação destas conexões é relacionada com o estabelecimento e posteriormente a superação da dormência (Cooke et al., 2012). Esta sinalização ocorre em parte pela passagem de água, nutrientes e metabólitos através de conexões presentes na membrana das células, chamados plasmodesmas. Como este transporte é restringido durante a dormência, o metabolismo da gema é afetado, mantendo-a em estado dormente até que a mesma receba novamente o estímulo ao crescimento.

## **2.2 Função e importância dos plasmodesmas nos processos fisiológicos celulares**

Um dos fatores que contribuem para a inibição do movimento de água e nutrientes é o fechamento da rota simplástica pela deposição de  $\beta$ -1,3- glucano (calose) em canais presentes na parede celular das células vegetais, chamados plasmodesmas. A deposição de calose ocorre com a entrada do inverno, em resposta às baixas temperaturas, e está associada à indução e manutenção da endodormência em gemas (Rinne et al., 2001). Calose é um polímero linear originado do resíduo de  $\beta$ -1,3-glicose ligado a algumas ramificações  $\beta$ -1,6, usando UDP-glicose como substrato para sua biossíntese (Chen e Kim, 2009).

Plasmodesmas são canais cilíndricos na membrana plasmática que interconectam células adjacentes (Zambryski e Crawford, 2000), compreendendo uma haste densa chamada desmotúbulo. O desmotúbulo constitui uma parte compressa do retículo endoplasmático, que liga o retículo endoplasmático das células adjacentes. Portanto, o transporte célula-a-célula mediado pelos plasmodesmas pode ocorrer de três formas: 1) através do espaço citoplasmático; 2) ao longo da membrana do retículo endoplasmático no desmotúbulo; e 3) através do lúmen central do desmotúbulo (De Somme e Geelen, 2014).

Basicamente, plasmodesmas são conhecidos por serem canais de transporte de água e solutos, incluindo açúcares e íons. No entanto, apesar de possibilitarem a passagem destes elementos, desempenham papel que vai além do simples transporte.

Os plasmodesmas facilitam o movimento seletivo de macromoléculas; fatores de transcrição com funções no desenvolvimento deslocam-se simplásticamente; moléculas de RNA envolvidas no desenvolvimento e manutenção da integridade genômica movem-se entre as células; além de fitopatógenos, como vírus, que usam o aparato plasmodesmal para infectar seu hospedeiro (Burch-Smith e Zambryski, 2012). Portanto, os plasmodesmas atuam tanto no transporte, como na sinalização, desenvolvimento e proteção intercelular. Dessa forma, a regulação de abertura e fechamento destes canais permite o controle do tráfego destas moléculas e afeta processos metabólicos nos tecidos das gemas. Em estado de restrição do movimento simplástico, não há o aporte de água e nutrientes, por exemplo, necessários ao crescimento dos tecidos, determinando um estado dormente que evita estresses nos tecidos.

São conhecidos alguns sinalizadores que induzem a deposição de calose no aparato plasmodesmal. Espécies reativas de oxigênio (EROs) originados de cloroplastos, peroxissomos e mitocôndrias, regulam a atividade dos plasmodesmas em resposta aos estresses sofridos pela planta (Foyer e Noctor, 2003).

Em plantas caducifólias, imediatamente após o sinal de estímulo à entrada em dormência (redução do fotoperíodo e baixas temperaturas), inicia-se o processo de deposição de calose nos plasmodesmas, persistindo até a saída da dormência (Rinneet al., 2001; Levy et al., 2007), quando os processos metabólicos e o transporte de água e nutrientes são retomados.

Segundo Rinneet al. (2001) é importante salientar que o frio não reativa o meristema dormente, que ainda pode sofrer danos por frio, mas induz potencial de crescimento pela reabertura da comunicação simplástica pelos plasmodesmas, verificado pela presença de  $\beta$ -1,3-glucanase, que é uma enzima com função de degradação de calose. Embora a atividade dos plasmodesmas pareça estar relacionada com a dinâmica da dormência, ainda são necessários mais estudos a fim de esclarecer a relação desta atividade com a dinâmica da dormência de plantas frutíferas.

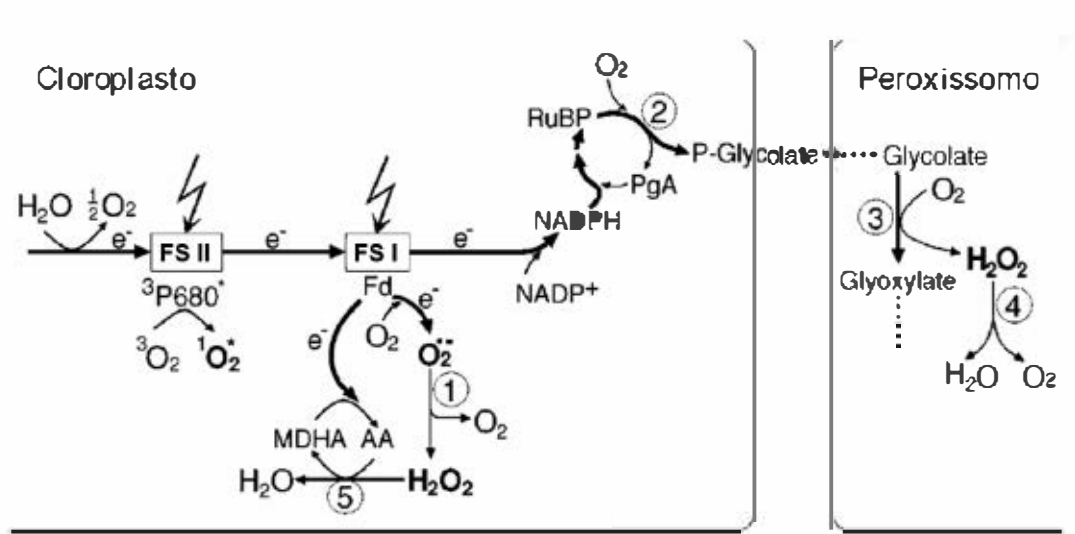
### **2.3 Estresse oxidativo em células vegetais**

Estresses bióticos e abióticos desencadeiam uma resposta generalizada que pode danificar os componentes celulares causando disfunção celular, sendo esta resposta conhecida como estresse oxidativo. Este processo é induzido pela super-produção e acumulação de EROs, principalmente de superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). O estresse oxidativo pode ter como origem o desbalanço entre a geração e



detoxificação de EROs devido a distúrbios na fisiologia regular da célula e pela biossíntese de EROs como constituintes da sinalização de estresse e da resposta imunológica necessária à defesa e adaptação (Demidchik, 2015; Foyer e Noctor, 2003).

EROs são continuamente produzidos pelas plantas, sendo predominantemente sintetizados nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos. Cloroplastos e peroxissomos são os locais de maior produção de EROs, gerando aproximadamente 30% e 70% de EROs celular, respectivamente, enquanto que a mitocôndria contribui em quantidade muito menor (<2%) (Foyer e Noctor, 2003). A produção e a remoção de EROs deve ser estritamente controlada pela célula, no entanto, este equilíbrio pode ser perturbado por uma série de estresses de fator abiótico, como por exemplo, alta luminosidade, seca, altas e baixas temperaturas e danos mecânicos. A formação de EROs no cloroplasto e peroxissomo, em consequência do estresse luminoso e a detoxificação durante a cadeia de elétrons é mostrada na Figura 1, onde as enzimas chave que participam das reações podem ser visualizadas: 1) superóxido dismutase, 2) Rubisco, 3) glicolato oxidase, 4) catalase, e 5) ascorbatoperoxidase (Apel e Hirt, 2004).



**Figura 1.** Formação e remoção de EROs nos cloroplastos e peroxissomos em decorrência de estresse por excesso de luz; 1) superóxido dismutase, 2) Rubisco, 3) glicolato oxidase, 4) catalase, e 5) ascorbatoperoxidase (Adaptado Apel e Hirt, 2004).

A formação de EROs mitocondrial ocorre sob condições naturais de respiração, mas pode ser aumentada em razão de estresses bióticos e abióticos. EROs são gerados na cadeia de elétrons mitocondrial que consiste em complexos proteicos que formam um gradiente de prótons através da membrana, proporcionando as condições para a síntese de ATP. Os locais conhecidos de formação de EROs na cadeia de elétrons mitocondrial são os complexos I e II, onde O<sub>2</sub><sup>•-</sup> é formado, que por sua vez é reduzido por dismutação a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Assim, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode reagir com metais, formando radicais hidroxila altamente tóxicos, podendo perpassar membranas e sair da mitocôndria (Rhoads et al., 2006).

EROs e, particularmente, o radical hidroxila, são altamente reativos e podem causar rápidas oxidações deletérias em proteínas, lipídeos e DNA. Dessa forma, existem mecanismos capazes de reduzir a acumulação de EROs, detoxificar estes compostos e reparar moléculas oxidadas através de uma rede de defesas antioxidantes. Estudos em *Arabidopsis thaliana* mostram que

tratamentos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induziram atividade de proteases que foram responsáveis pela degradação de proteínas mitocondriais danificadas oxidativamente (Sweetlove et al., 2002).

Por outro lado, EROs são moléculas sinalizadoras poderosas que estão envolvidas no controle do crescimento e no desenvolvimento das plantas, assim como encabeçando respostas adaptativas ao estímulo de estresse. Dados disponíveis sugerem não haver quantidade suficiente de formas para detoxificar EROs completamente nas células. Ao contrário, aparentemente existe uma regulação entre a produção e a metabolização de EROs que permite a presença constante destes compostos no ambiente celular. Esta regulação permite aumentos na quantidade de EROs no "pool/celular" na ocorrência de estresse, possivelmente por motivos de sinalização (Foyer e Shigeoka, 2011).

#### **2.4 Estado redox da célula regula o fluxo simplástico**

Estudos recentes sugerem que alterações no estado redox de células vegetais podem regular o transporte simplástico. O peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) parece modular a abertura ou fechamento dos plasmodesmas, dependendo de sua concentração celular (Rutschow et al., 2011). Alterações dos níveis de peróxido de hidrogênio e outros EROs desencadeiam uma série de estímulos, como a ativação de canais de Ca<sup>2+</sup> e mudanças na expressão de genes. Alguns componentes do complexo calosesintase são regulados por cálcio, logo, o aumento citosólico de cálcio pode afetar a síntese de calose, a qual é sintetizada e acumulada na parede celular próxima aos plasmodesmas, restringindo o movimento simplástico (Benitez-Alfonso et al., 2011). Segundo Stonebloom et al. (2012), o local de produção de EROs influencia o transporte

entre células, sendo que o aumento da produção de EROs mitocondrial leva ao aumento do transporte intercelular via plasmodesmas, enquanto que o aumento de EROs advindos dos cloroplastos inibe este tráfego.

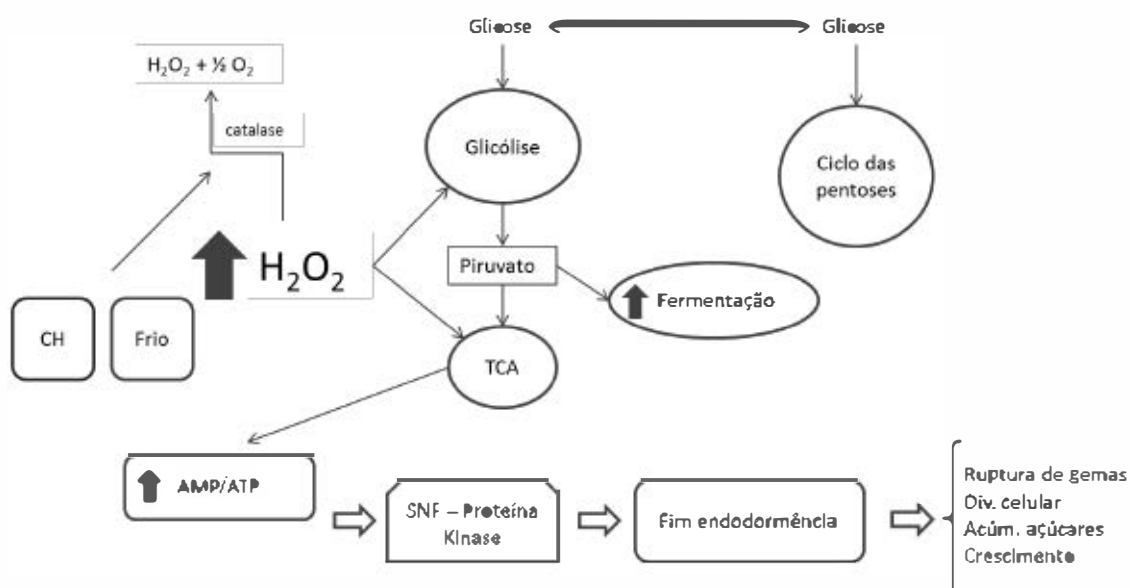
Peróxido de hidrogênio pode ter diferentes pontos de origem no seu processo de formação, através da dismutação de  $O_2^{\cdot -}$  em  $O_2$  e  $H_2O_2$  catalizada pela superóxido dismutase (SOD). Durante a respiração,  $O_2$  pode ser submetido à redução univalente em sítios de formação de  $H_2O_2$  na cadeia de transporte de elétrons, como o complexo NADH desidrogenase e o complexo ubiquinol-citocromo bc1. Este último é considerado o principal formador de  $H_2O_2$ , catalizando a conversão de  $O_2$  em  $O_2^{\cdot -}$  por um único elétron (Quanet al., 2008). Cerca de 1-5% do consumo de  $O_2$  mitocondrial leva a produção de  $H_2O_2$  (Moller, 2001).

Os cloroplastos também são uma importante fonte de  $H_2O_2$ . Em situações de sobrecarga da cadeia de transporte de elétrons nos cloroplastos, parte do fluxo de elétrons diverge da ferredoxina para  $O_2$ , reduzindo-o a ânion superóxido, via reação de Mehler. Já, no peroxissomo há duas rotas de formação de  $H_2O_2$ : na matriz da organela no sistema chamado de xantina oxidase, que cataliza a oxidação da xantina e hipoxantina a ácido úrico produzindo  $O_2^{\cdot -}$ ; e nas membranas dependentes de NAD(P)H, produzindo  $O_2^{\cdot -}$  na cadeia de transporte de elétrons composta pela flavoproteína NADH e pelo citocromo b (Quanet al., 2008).

No entanto, durante a dormência das gemas, não há fotossíntese, portanto, é provável que a origem de  $H_2O_2$  nestes tecidos seja em reações catalizadas por peroxidases, cuja atividade poderia ser induzida pela exposição

ao frio ou pela aplicação de cianamida hidrogenada nas gemas (Pinto et al., 2007).

Segundo Pinto et al. (2007), em videiras a elevação dos níveis de  $H_2O_2$  na célula podem resultar em alterações respiratórias transitórias que inibiriam enzimas da glicólise e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos, favorecendo a via fermentativa e provocando uma reorientação do fluxo de carbono para o ciclo das pentoses. Estas alterações metabólicas, então, causam um aumento na relação AMP/ATP intracelular e, por consequência, induzem a expressão de enzimas proteínas-quinase do tipo sacarose não fermentativa, as quais fazem parte do sistema de transdução do sinal indicando o fim da endodormência nas gemas (Figura 2).



**Figura 2.** Possível ação de  $H_2O_2$  na superação da dormência de gemas de videira (adaptado de Pinto et al., 2007).

Ainda, é provável que genes ligados à biossíntese de hormônios como giberelinas e citocininas sejam ativados durante este processo e, que durante a brotação das gemas iniciam-se processos de divisão celular, desdobramento

de amido e crescimento em geral, que estão ligados a estes hormônios (Pinto et al., 2007).

### **2.5 Uso de indutores de brotação**

Indutores de brotação são ferramentas eficientes e amplamente utilizadas para a superação da dormência de gemas em locais de baixo acúmulo de frio durante o período de repouso hibernar. No entanto, o mecanismo que desencadeia o processo de saída da dormência e início da brotação, a partir da aplicação de indutores de brotação, ainda não foi completamente esclarecido. Estudos mostram que a cianamida hidrogenada, produto largamente utilizado na quebra de dormência, inibe a ação da catalase (enzima que degrada  $H_2O_2$ ) e a expressão de genes que codificam para a síntese da mesma, o que promove o aumento de EROs nos meristemas, o que indica para uma relação entre este aumento do teor de peróxido de hidrogênio e a superação da dormência (Or et al., 2002).

Mohamed et al. (2012) concluíram que imediatamente após a aplicação de  $H_2CN_2$ , os níveis de catalase caíram em torno de 50% e o nível mais baixo foi atingido cinco dias após a aplicação, continuando dessa forma até o final do período de observação. Esta ação da cianamida hidrogenada sobre a catalase é similar à resposta observada quando há a exposição ao frio. Segundo Prasad (1996) plantas de milho não aclimatadas expostas ao frio apresentaram redução na atividade da catalase e aumento da presença de  $H_2O_2$ , o que poderia indicar o mesmo mecanismo de ação do frio que ocorre em espécies temperadas na superação da endodormência.

A partir das novas políticas de uso de agroquímicos, restrições tem sido impostas à utilização de produtos tóxicos ao meio ambiente. A cianamida

hidrogenada, amplamente utilizada no Brasil, apresenta toxidez ao aplicador e ao ambiente e, portanto, existe a necessidade de desenvolvimento de produtos alternativos. O produto Erger®, composto de nitrogênio orgânico, mono e polissacarídeos, cálcio e diterpenos selecionados (Valagro, 2014), tem mostrado eficiência como estimulante da brotação de gemas e mostra-se como alternativa ao uso da cianamida hidrogenada. O produto apresenta eficiente indução à brotação de gemas, além de promover boa uniformidade de brotação. Hawerth et al. (2010), utilizando doses de Erger 3% + nitrato de cálcio 3%, Erger 5% + nitrato de cálcio 5%, Erger 7% + nitrato de cálcio 7%; óleo mineral 3,2% + cianamida hidrogenada 0,34%, demonstraram que o índice de brotação de gemas laterais e terminais em macieiras cvs. 'Imperial Gala' e 'Fuji Suprema' foi igual para os tratamentos de Erger® + nitrato de cálcio e cianamida hidrogenada. Anteriormente, Petri et al. (2008) haviam demonstrado que o composto Erger® + nitrato de cálcio, em doses de 5% + 5% e 7% + 10%, promoveu brotação igual ou superior a tratamentos com cianamida hidrogenada + óleo mineral, nas doses 0,3% + 4% e 0,5% + 4%, em macieiras 'Gala' e 'Fuji'.

### 3. OBJETIVO

Avaliar o efeito do indutor de brotação Erger<sup>®</sup> sobre a brotação de gemas apicais e laterais, o retorno de floração, a produção e a qualidade de frutos de macieira (*Malus domestica* Borkh.) 'Eva', além dos efeitos sobre componentes fisiológicos envolvidos no processo de dormência de frutíferas temperadas nas condições da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, região de baixo acúmulo de frio.



#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizada em Eldorado do Sul/RS, região da Depressão Central do estado, nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16. O clima da região é temperado úmido, com verão quente (Cfa-conforme classificação de Köppen). A temperatura do ar média anual é de 18,8°C, sendo que nos meses de Maio, Junho, Julho, Agosto e Setembro as temperaturas médias são de 16,0°C, 13,3°C, 13,0°C, 14,5°C e 15,9°C, respectivamente (Bergamaschi et al., 2013).

As plantas do pomar experimental de macieiras 'Eva' foram enxertadas sobre 'Marubakaido' com interenxerto 'M-9' (15 cm), plantadas no ano de 2009 em um espaçamento de 1,5 × 5 m e conduzidas em sistema líder central apoiado em espaldeira. Como polinizadora, estão distribuídas plantas da cultivar Julieta em cada fila, sendo uma planta a cada nove de 'Eva'.

##### *Análises produtivas, químicas e físicas*

O experimento foi delineado em blocos casualizados, com seis repetições compostas de uma planta útil por parcela, separadas por uma planta bordadura. Foram aplicados oito tratamentos: 1) testemunha (sem aplicação); 2) óleo mineral 4%; 3) óleo mineral 4% + cianamida hidrogenada 0,6% (Dormex<sup>®</sup> 1,2%); 4) nitrato de cálcio 3% (N-15,5% e Ca- 19%); 5) nitrato de cálcio 3% + Erger<sup>®</sup> 2%; 6) nitrato de cálcio 3% + Erger<sup>®</sup> 3%; 7) nitrato de cálcio

3%+ Erger<sup>®</sup>4% e 8) nitrato de cálcio 3%+ Erger<sup>®</sup>5%. A aplicação foi realizada com pulverizador manual até que atingisse o ponto de escorrimento, sempre na última semana de julho.

Foram avaliados a taxa de brotação de gemas, a produção, qualidade de frutos e retorno floral. Para avaliação da taxa de brotação de gemas apicais, selecionaram-se quatro ramos com mais de dois anos por planta, localizados na porção mediana do dossel. Para a avaliação de gemas laterais selecionaram-se quatro ramos de ano por planta, com tamanho entre 20 e 30 cm (brindilas), distribuídos ao longo de um ramo laterais de cada lado da planta. Nestes ramos, durante a dormência, foram contados o número de gemas apicais e laterais e após a brotação foram realizadas contagens periódicas, do número de gemas apicais e laterais brotadas. A produção foi determinada pela colheita e pesagem de todos os frutos colhidos. A massa média dos frutos foi obtida dividindo-se a massa total de frutos produzidos pelo número de todos os frutos colhidos de cada planta. Para as avaliações em pós-colheita foram separadas amostras de dez frutos por repetição, nos quais avaliou-se a firmeza de polpa, por meio de penetrômetro digital de bancada; o teor de sólidos solúveis, por meio de refratômetro digital; e o teor de acidez titulável, por titulação com NaOH (0,1 M) até pH 8,1, por meio de medidor de pH digital de bancada. Para determinação do retorno floral, contaram-se todos os cachos florais de cada planta, quando estas estavam em estágio de plena floração (70% de flores abertas), no ano seguinte da aplicação dos tratamentos.

Os dados foram submetidos ao PROC MIXED pelo programa estatístico SAS<sup>®</sup> e analisados como medidas repetidas. Estruturas de covariância foram

testadas, selecionando-se a que apresentou o melhor ajuste aos dados, conforme os critérios de Akaike (AIC) e Bayesiano (BIC). Interações entre fatores foram consideradas significativas quando  $p \leq 0,25$  (PERECIN E CARGNELUTTI FILHO, 2008). Quando necessário, utilizaram-se contrastes ortogonais para comparação de conjunto de médias, que foram arranjados da seguinte forma: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral vs. Indutores); C3 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Nitrato de Cálcio e Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio). Após, foram ajustadas equações de regressão para verificar o comportamento das variáveis em resposta às doses de Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio.

#### *Atividade enzimática, peróxido de hidrogênio e umidade ponderal*

Na safra 2015/16, dentro da mesma área experimental, foram coletadas gemas para avaliação de aspectos fisiológicos. As avaliações foram realizadas nos seguintes tratamentos: 1) testemunha (sem aplicação); 2) 4% de óleo mineral (OM); 3) 4 % de óleo mineral + 0,6 % de cianamida hidrogenada (CH)(1,2 % Dormex<sup>®</sup>); 4) 3% de nitrato de cálcio (N - 15,5% e Ca - 19%); 5) 3% de nitrato de cálcio + 3% de Erger<sup>®</sup>.

Foram avaliados a atividade das enzimas peroxidase (POD) e catalase (CAT), e os níveis de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em gemas apicais.

A coleta de gemas para a análise de enzimas foi realizada no início de agosto, cinco dias após a aplicação dos tratamentos. Coletaram-se 15 gemas apicais por repetição. No laboratório de Pós-colheita da UFRGS as gemas foram maceradas em nitrogênio líquido utilizando grau e pistilo de porcelana. Após, foram pesadas 350mg de tecido vegetal, adicionadas à solução

contendo 4ml de tampão acetato de sódio (100mM, pH 5,0) e 200mg de Polivinilpolipirrolidona (PVPP) e centrifugado por 30min à 20000G e à temperatura de 4°C. POD: após a centrifugação foram retirados 50µL de sobrenadante e adicionado a 2,95mL de solução contendo tampão fosfato de sódio (0,01M, pH 6,0), guaiacol e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (T60U PG Instruments) a 470nm e o resultado foi expresso em unidades de enzima/g Massa Fresca (MF). CAT: após a centrifugação foram retirados 100µL de sobrenadante e adicionados a 2,90mL de solução contendo tampão fosfato de sódio (0,05M, pH 7,0) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 240nm e o resultado foi expresso em unidades de enzima/g MF(adaptado VELIKOVA et al., 2000).

Para a análise de peróxido de hidrogênio foram pesadas 100mg de material macerado, adicionadas a 5ml de TCA 0,1% e centrifugadas por 15min a 12000G à temperatura de 4°C. Após, foi retirado 0,5mL de sobrenadante e adicionado a 0,5mL de tampão fosfato de potássio (0,01M pH 7,0) e 2mL de solução de KI 1M. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 390nm. A concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi calculada através de curva padrão (0 a 100µM) e expressa em µmol/g MF(adaptado RADY; EL-YAZAL, 2013).

Acompanhou-se também na safra 2016/17 a umidade ponderal das gemas, na média dos tratamentos, a fim de verificar a dinâmica da água nos tecidos. Para isso foram coletadas gemas em plantas não tratadas com indutores em cinco épocas: 30/06, 15/07, 21/07, 05/08 e 12/08. As gemas foram coletadas e pesadas para se obter a massa fresca. Após foram desidratadas em estufa a 70°C por 72 hora e pesadas novamente para se

obtera massa seca. O cálculo utilizado para esta variável foi:  $UM = (MF - MS)/MS$ , onde MF-massa fresca e MS-massa seca(MARAFON et al., 2011).

Os dados foram submetidos à função PROC MIXED do software estatístico SAS<sup>®</sup>. Para análise de peróxido de hidrogênio, os dados foram analisados como medidas repetidas. Estruturas de covariância foram testadas, selecionando-se a que apresentou o melhor ajuste aos dados, conforme os critérios de Akaike (AIC) e Bayesiano (BIC). Interações entre fatores foram consideradas significativas quando  $p \leq 0,25$  (PERECIN E CARGNELUTTI FILHO, 2008). Quando necessário, utilizaram-se contrastes ortogonais para comparação de conjunto de médias, que foram arranjados da seguinte forma: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio);C3 (Óleo Mineral vs. Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

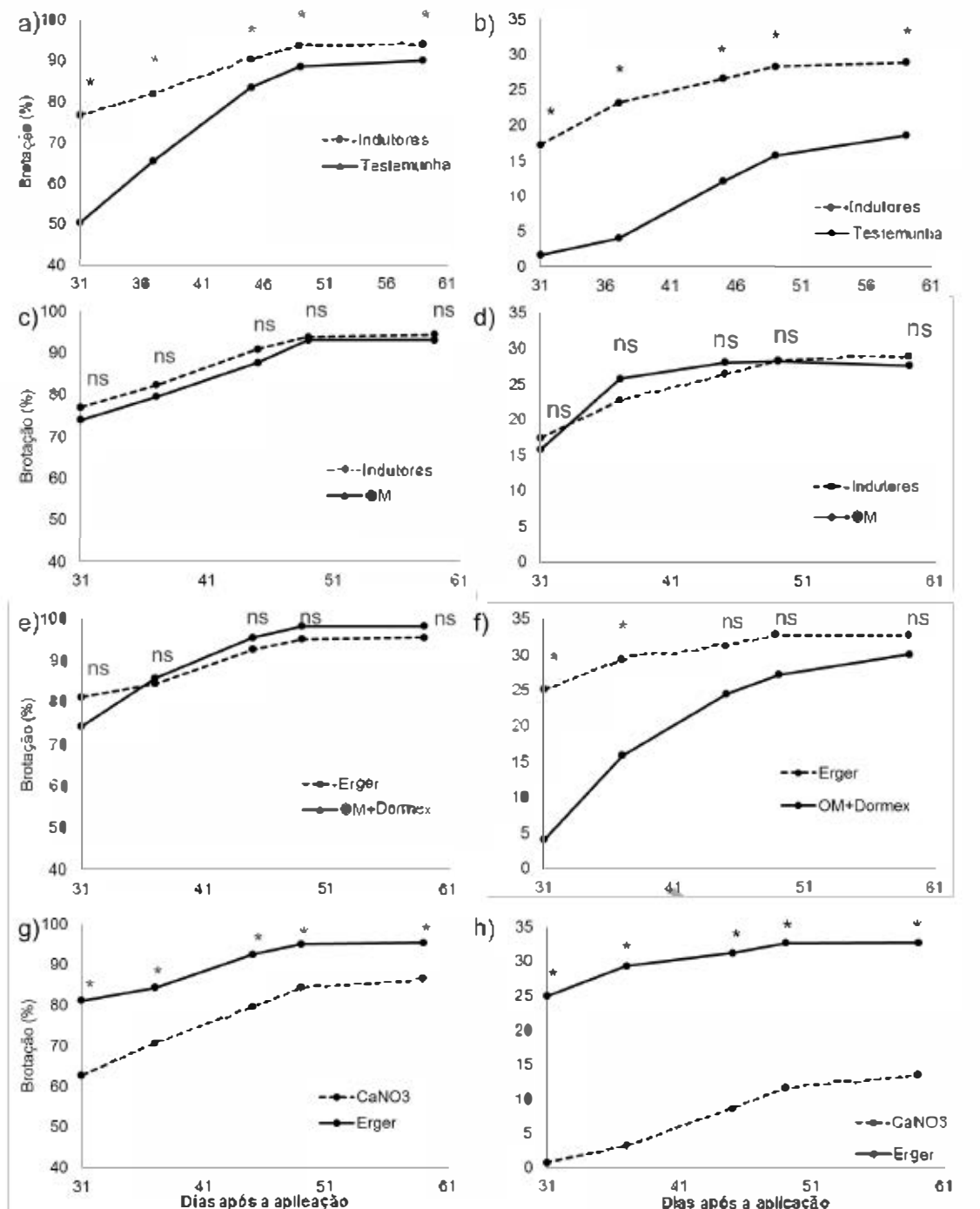
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Brotação

Os indutores de brotação provocaram um aumento significativo no percentual de brotação de gemas apicais e laterais, comparado à testemunha em todas as safras avaliadas (Contraste 1); a taxa de brotação das gemas apicais atingiu valor próximo aos 100% (Figuras 3, 4 e 5). Já para as gemas laterais, índice que ressalta com mais expressão a resposta aos indutores, apesar de ter-se obtido um incremento na taxa de brotação, esta não ultrapassou 45,1%, alcançada em 2015/16, sendo a maior entre as safras (Figura 5). O uso de óleo mineral induziu incremento na taxa final de brotação de gemas apicais e laterais, porém a taxa de brotação foi menor, comparado com a média de brotação das plantas tratadas com Nitrato de cálcio + Erger<sup>®</sup> ou Cianamida hidrogenada + óleo mineral (Contraste 2) (Figuras 3, 4 e 5). O incremento na brotação de gemas pela aplicação de óleo mineral também foi observado por Sagredo et al. (2005) para a macieira 'Golden Delicious' e Hawerth et al. (2009) para 'Imperial Gala' e 'Fuji Suprema'.

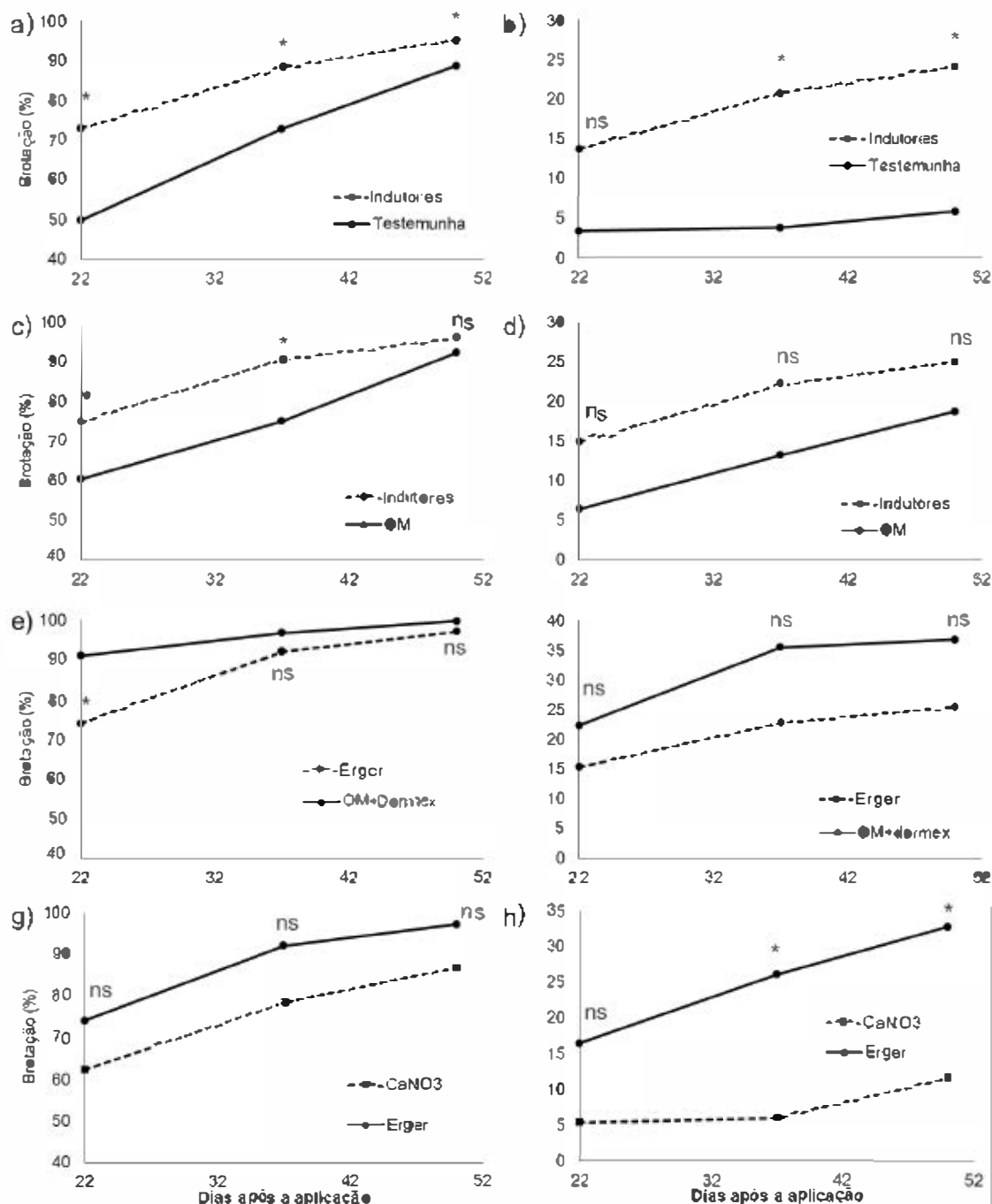
Os tratamentos com Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> induziram taxa final de brotação de gemas apicais e laterais semelhante ao tratamento padrão, cianamida hidrogenada + óleo mineral, (Contraste 3) (Figuras 3, 4 e 5). Nas safras 2013/14 e 2015/16, a velocidade de brotação de gemas laterais foi maior nos tratamentos com Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub>. O uso de cianamida hidrogenada + óleo mineral é comum em pomares de macieira no Sul do Brasil, devido a sua

eficiência em promover o aumento e a uniformidade na brotação de gemas (HAWERROTH et al., 2009). Dados obtidos por Roberto et al. (2006) mostraram que o uso da cianamida hidrogenada em concentrações de até 1% associada com óleo mineral 3% induz maior brotação de gemas apicais e laterais de macieira 'Eva', chegando próximo aos 100% nas gemas apicais e 50%, nas gemas laterais. Já, Hawerroth et al. (2009) observaram brotação máxima de gemas apicais de 85,9 e 73,9% e de gemas laterais de 81,6 e 89,2% para as macieiras 'Imperial Gala' e 'Fuji Suprema', respectivamente, em resposta à aplicação de óleo mineral 3,2% + CH 0,59%, nas condições da região de Vacaria/RS.

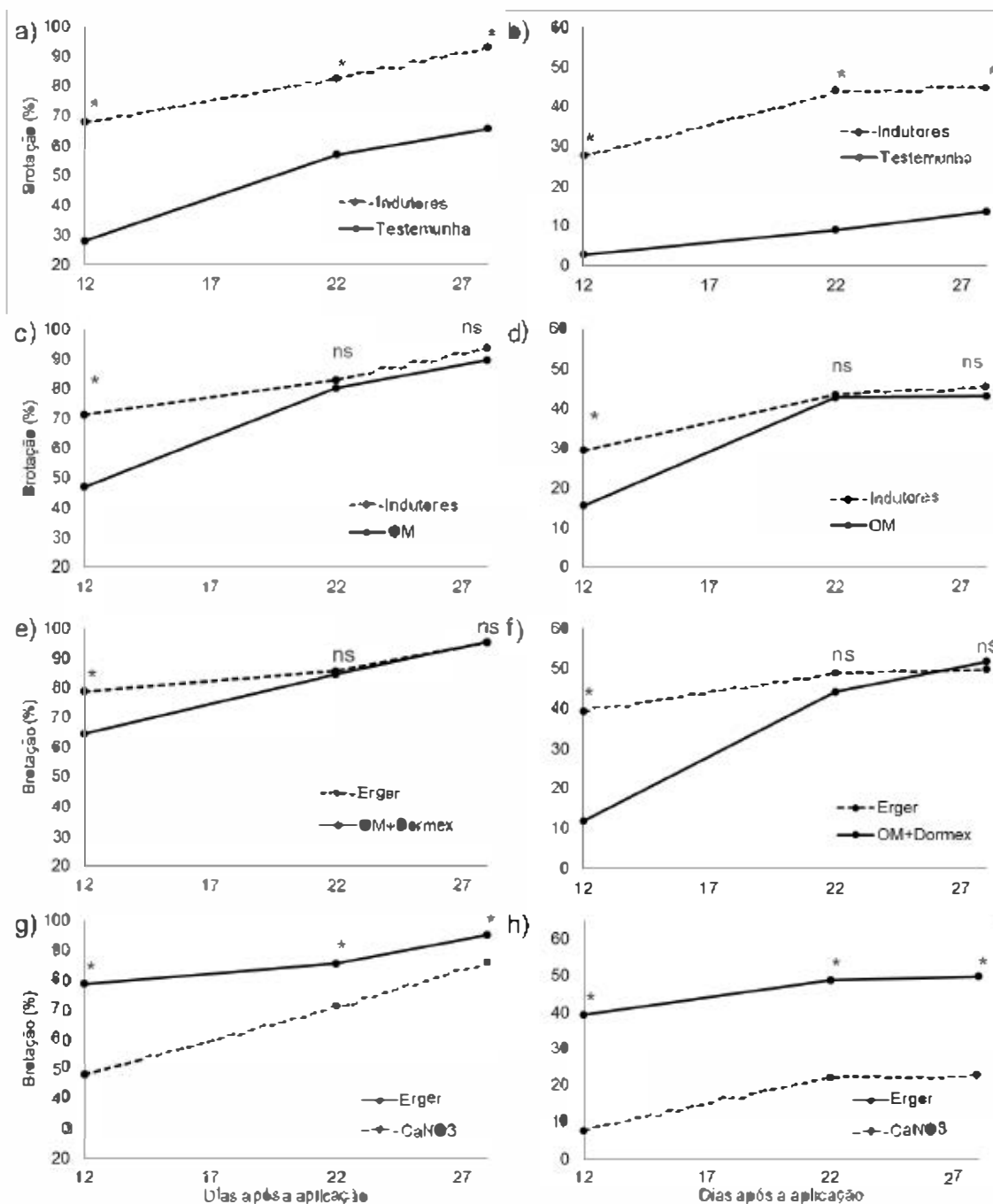


**Figura 3.** Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação, na safra 2013/14, em Eldorado do Sul/RS. Contraste 1- Indutores x testemunha: gemas apicais (a), gemas laterais (b); Contraste 2 - Óleo mineral 4% x demais indutores: gemas apicais (c), gemas laterais (d); Contraste 3 - tratamentos com Erger® x óleo mineral 4% + cianamida hidrogenada 0,6%: gemas apicais (e), gemas laterais (f); Contraste 4 - nitrato de cálcio x concentrações de Erger® + nitrato de cálcio: gemas apicais (g), gemas laterais (h). ns - interação não significativa; \* interação significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. OM - óleo mineral; CaNO<sub>3</sub> - nitrato de cálcio.





**Figura 4.** Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação, na safra 2014/15, em Eldorado do Sul/RS. Contraste 1 - Indutores x testemunha: gemas apicais (a), gemas laterais (b); Contraste 2 - Óleo mineral 4% x demais indutores: gemas apicais (c), gemas laterais (d); Contraste 3 - tratamentos com Erger<sup>®</sup> x óleo mineral 4% + cianamida hidrogenada 0,6%: gemas apicais (e), gemas laterais (f); Contraste 4 - nitrato de cálcio x concentrações de Erger<sup>®</sup> + nitrato de cálcio: gemas apicais (g), gemas laterais (h). ns - interação não significativa; \* interação significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. OM - óleo mineral; CaNO<sub>3</sub> - nitrato de cálcio.



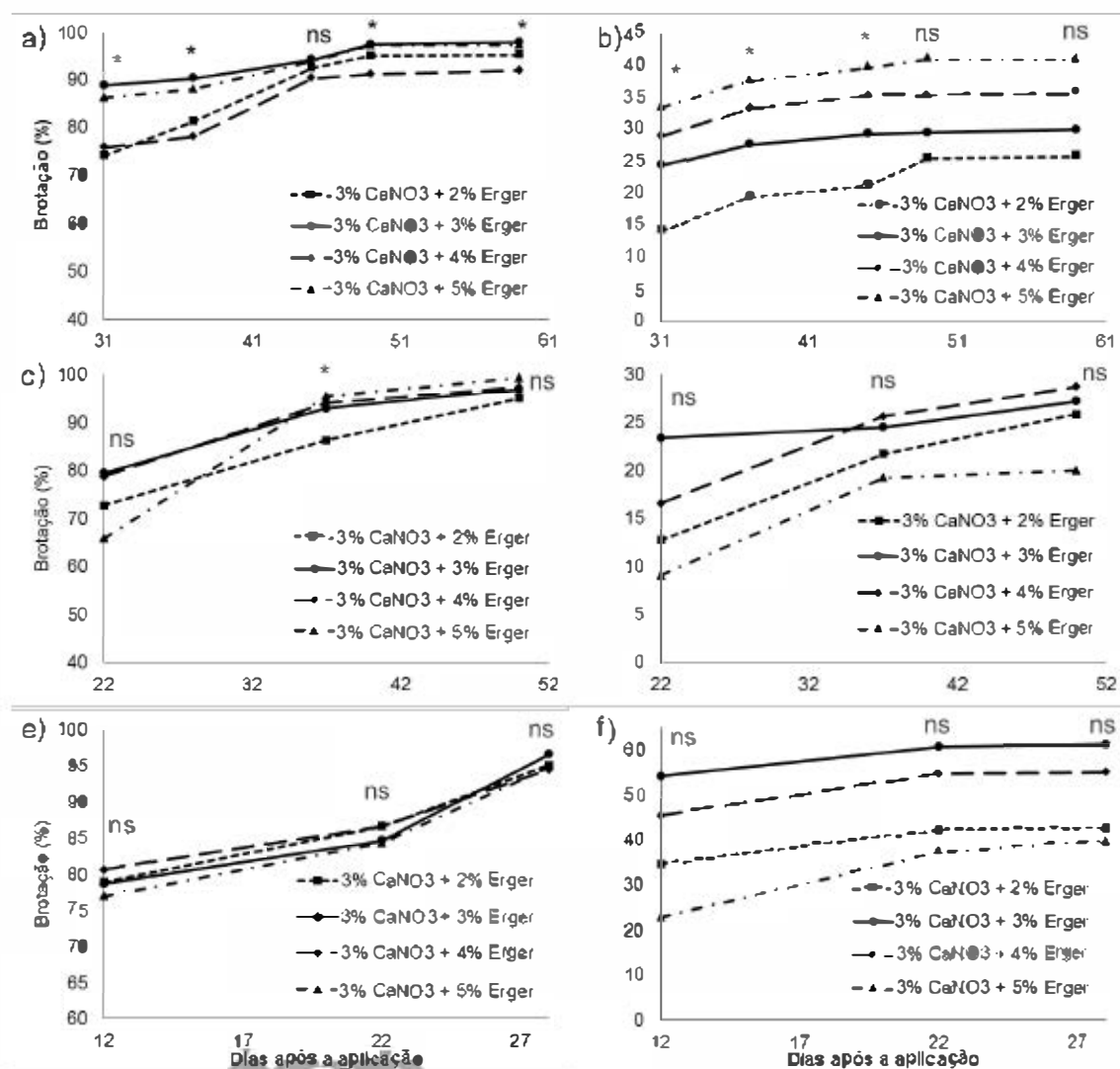
**Figura 5.** Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação, na safra 2015/16, em Eldorado do Sul/RS. Contraste 1- Indutores x testemunha: gemas apicais (a), gemas laterais (b); Contraste 2 - Óleo mineral 4% x demais indutores: gemas apicais (c), gemas laterais (d); Contraste 3 - tratamentos com Erger® x óleo mineral 4% + cianamida hidrogenada 0,6%: gemas apicais (e), gemas laterais (f); Contraste 4 – nitrato de cálcio x concentrações de Erger® + nitrato de cálcio: gemas apicais (g), gemas laterais (h). ns – interação não significativa; \* interação significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. OM – óleo mineral; CaNO<sub>3</sub> – nitrato de cálcio.

O uso da CH apresenta toxidade ao aplicador e possivelmente seu uso seja restrito no Brasil futuramente (Petri et al. 2014). Desta forma, produtos alternativos que apresentem desempenho semelhante à CH devem ser vistos como opções de uso em pomares de macieira. Constatou-se no presente estudo que o Erger<sup>®</sup> + CaNO<sub>3</sub> mostrou desempenho satisfatório. Hawerth et al. (2010) também observaram eficiência do Erger<sup>®</sup> em promover a brotação de gemas, com resultados semelhantes ao observado para o CH + óleo mineral, tratamento padrão no Brasil.

Em relação às concentrações de Erger<sup>®</sup>, não foi possível ajustar modelos de regressão. O contraste 4 mostra que os tratamentos com Erger<sup>®</sup> induziram brotação de gemas apicais e laterais superiores, comparado com o CaNO<sub>3</sub> aplicado isoladamente (Figuras 3, 4 e 5). A brotação observada em plantas tratadas com CaNO<sub>3</sub> mostrou-se semelhante ao tratamento controle, indicando que este é ineficiente em promover aumento na brotação de gemas, quando aplicado isoladamente.

Quando comparadas as concentrações de Erger<sup>®</sup>, houve diferença estatística na brotação de gemas apicais na safra 2013/14, sendo que a concentração 3% CaNO<sub>3</sub> + 4% Erger<sup>®</sup> apresentou menor taxa de brotação (Figura 6: a, c, e). Já para as gemas laterais, houve diferença apenas na safra 2015/16, na qual a concentração 3% CaNO<sub>3</sub> + 5% Erger<sup>®</sup> apresentou a menor taxa de brotação (Figura 6: b, d, f). Além disso, foi observado que as concentrações 3% CaNO<sub>3</sub> + 4% Erger<sup>®</sup> e 3% CaNO<sub>3</sub> + 5% Erger<sup>®</sup> ocasionaram fitotoxidez, principalmente em ramos formados tardiamente durante o verão e que possivelmente não apresentavam boa lignificação (Figura 7). Portanto, as concentrações mais indicadas em relação às taxas de brotação de gemas

apicais e laterais para 'Eva', sem riscos de fitotoxidez nos ramos, estão ao redor de 3% do produto comercial Erger®.



**Figura 6.** Porcentagem de brotação de gemas da macieira 'Eva' em resposta à aplicação de diferentes concentrações de Erger®, nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16 em Eldorado do Sul/RS. Taxa de brotação de gemas apicais: 2013/14 (a), 2014/15 (c), 2015/16 (e); Taxa de brotação de gemas laterais: 2013/14 (b), 2014/15 (d), 2015/16 (f). ns – interação não significativa; \* interação significativa pelo teste F a 5% de probabilidade. CaNO<sub>3</sub> – nitrato de cálcio.



**Figura 7.** Danos em ramos tardios do ano anterior causados pelas concentrações de 4% e 5% Erger<sup>®</sup>. Eldorado do Sul, 2015.

## 5.2 Retorno Floral

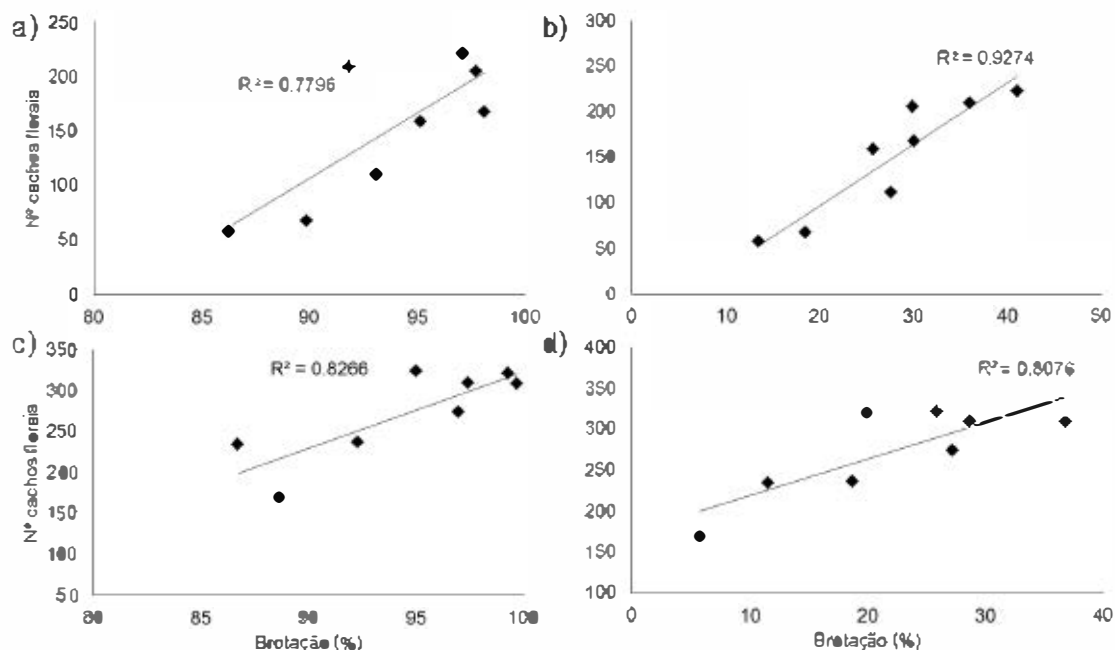
A aplicação de todos indutores de brotação promoveu maior retorno floral comparado à testemunha (Contraste 1) (Tabela 1). O óleo mineral isoladamente também incrementou o retorno floral, porém foi inferior na média da aplicação dos tratamentos de óleo mineral + CH,  $\text{CaNO}_3$  e  $\text{CaNO}_3$ + Erger<sup>®</sup> (Contraste 2). As pulverizações de  $\text{CaNO}_3$  + Erger<sup>®</sup> promoveram incremento no retorno floral comparado a  $\text{CaNO}_3$  isolado, mas não apresentaram diferenças em relação à cianamida hidrogenada + óleo mineral (Tabela 1). Sagredo (2008) verificou que a aplicação de cianamida hidrogenada 0,49% + óleo mineral 5% ocasionou aumento no retorno floral na terceira safra analisada, em comparação ao tratamento controle. O aumento do retorno floral nos tratamentos de indutores pode ser devido ao aumento da fertilidade das gemas e maior quantidade de reservas obtidos pelo maior número de folhas fotossinteticamente ativas no ciclo anterior. Dessa forma, houve maior acúmulo de reservas e menor competição entre os cachos florais, possibilitando aporte maior de flores no ano seguinte.

**Tabela 1.** Retorno floral em plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação, nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.

	Cachos florais (n°)		
	2014/15	2015/16	Média
Testemunha	67,5	169,0	118,3
4% OM	111,2	236,8	174,0
4% OM + 0,6 CH	167,5	308,5	238,0
3% CaNO <sub>3</sub>	57,7	234,3	146,0
3% CaNO <sub>3</sub> + 2% Erger <sup>®</sup>	158,2	323,3	240,8
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	204,7	274,2	239,4
3% CaNO <sub>3</sub> + 4% Erger <sup>®</sup>	208,8	309,2	259,0
3% CaNO <sub>3</sub> + 5% Erger <sup>®</sup>	222,0	320,7	271,3
Análise de Variância			
	Teste F	Pr > F	
Tratamento	8,56	<,0001*	
Ano	56,65	<,0001*	
Tratamento*Ano	0,64	0,7228	
Contrastes (Pr > F)			
C1		<,0001*	
C2		0,0090*	
C3		0,7548	
C4		<,0001*	

OM: óleo mineral, CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a p<0,05. Contrastes: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral vs. Indutores); C3 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

O aumento do retorno floral na safra seguinte mostrou-se relacionado com o aumento de brotação de gemas laterais e apicais provocado pelos tratamentos, como mostrado na Figura 8. A correlação mostrou-se positiva entre a taxa de brotação de gemas apicais e laterais e o retorno floral, em duas safras.



**Figura 8.** Correlação entre brotação de gemas apicais e laterais e retorno floral em macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15, 2015/16 em Eldorado do Sul/RS. Correlação entre brotação de gemas apicais e retorno floral: 2014/15 (a), 2015/16 (c); Correlação entre brotação de gemas laterais e retorno floral: 2014/15 (b), 2015/16 (d). Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

### 5.3 Produção

A produção por planta apresentou diferenças significativas apenas nos contrastes C2, na safra 2015/16, e C4, nas safras 2014/15 e 2015/16. Houve aumento da produção nas plantas submetidas aos tratamentos de  $\text{CaNO}_3 + \text{Erger}^{\text{®}}$  comparados ao tratamento de 3%  $\text{CaNO}_3$  isolado, na safra 2014/15, sendo o maior de 12,87 kg por planta para o tratamento 3%  $\text{CaNO}_3 + 3\% \text{Erger}^{\text{®}}$ , enquanto que para o tratamento de 3%  $\text{CaNO}_3$  foi de 7,88 kg por planta. Já, na safra 2015/16 as plantas aplicadas com o tratamento 3%  $\text{CaNO}_3$  apresentaram maior produção do que as plantas às quais foram aplicados os tratamentos de  $\text{Erger}^{\text{®}}$ . Neste ano, a produção maior foi de 11,52 kg no tratamento 3%  $\text{CaNO}_3$  e, conforme maior a concentração de  $\text{Erger}^{\text{®}}$ ,

menor foi a produção,sendode7,74; 3,35; 4,27 e 2,93 kg por planta para as concentrações de 2%, 3% 4% e 5% de Erger<sup>®</sup>, respectivamente (Tabela 2). Além disso, na última safra (2015/16), o tratamento de óleo mineral aplicado isoladamente induziu maior produção que os demais indutores.Em relação ao tratamento padrão deOM + CH, a produção foi de valores semelhantes aos tratamentos de Erger<sup>®</sup> nas três safras.

**Tabela 2.** Produção de plantas de macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.

	Produção (kg/pl)			
	2013/14	2014/15	2015/16	Acumulada
Testemunha	11,46	8,51	7,96	27,92
4% OM	12,13	11,76	8,63	32,52
4% OM + 0,6 CH	12,51	12,30	3,29	28,09
3% CaNO <sub>3</sub>	12,00	7,88	11,52	31,41
3% CaNO <sub>3</sub> + 2% Erger <sup>®</sup>	10,51	12,66	7,74	30,91
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	9,87	12,87	3,35	26,09
3% CaNO <sub>3</sub> + 4% Erger <sup>®</sup>	11,19	11,91	4,27	27,37
3% CaNO <sub>3</sub> + 5% Erger <sup>®</sup>	9,84	11,07	2,93	23,84
Análise de variância				
	Média		Acumulada	
	Teste F	Pr > F	Teste F	Pr > F
Tratamento	0,85	0,5545	0,92	0,4996
Ano	70,81	<,0001*		
Tratamento*Ano	4,15	<,0001*		
Contrastes (Pr > F)				
C1	0,8436	0,0587	0,1711	
C2	0,47	0,8433	0,0399*	
C3	0,2573	0,5268	0,085	
C4	0,3149	0,0109*	<,0001*	

OM: óleo mineral. CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a p<0,05. Contrastes: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral vs. Indutores); C3 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

Este resultado pode ser explicado por dois fenômenos: primeiro, o encurtamento do período de floração, em relação às plantas testemunhas, em



resposta à aplicação do indutor de brotação Erger<sup>®</sup> ou pelo tratamento padrão OM + CH, o que pode ter influenciado na polinização, não havendo coincidência de florada com a cultivar polinizadora ('Julieta'); segundo, pela maior força de dreno ocasionada pelo aumento da taxa de brotação e maior número de cachos florais, aumentando a demanda por reservas de carboidratos, as quais podem ter sido comprometidas pela maior produtividade da safra anterior e por estresses de fim de ciclo (Loeschert al., 1990). A mesma resposta foi encontrada por Hawerth et al. (2010), na qual a concentração de 7% Erger<sup>®</sup> + 7% CaNO<sub>3</sub> ocasionou redução da frutificação efetiva, sendo atribuído ao rápido crescimento foliar e à floração abundante, ocasionando maior competição por reservas, assim como a diminuição do período de floração, levando à deficiência na polinização.

#### **5.4 Massa média e Relação Comprimento/Diâmetro dos frutos**

Na massa média dos frutos (MMF) houve diferenças significativas apenas nas safras 2014/15 e 2015/16. Em ambas as safras a aplicação do indutor de brotação Erger<sup>®</sup> nas diferentes doses proporcionou maior MMF em relação ao tratamento de CaNO<sub>3</sub> isolado, chegando a 121,98g na safra 2014/15 para a concentração 3% CaNO<sub>3</sub> + 4% Erger<sup>®</sup> e 78,38g na safra 2015/16 para a concentração 3% CaNO<sub>3</sub> + 3% Erger<sup>®</sup>, contra 88,59g e 69,35g de CaNO<sub>3</sub>, respectivamente (Tabela 3). Hawerth et al. (2010) também demonstraram que o uso de Erger<sup>®</sup>, nas concentrações de 3, 5 e 7%, proporcionou aumento na massa média dos frutos, que pode ser explicado pelo aumento da área foliar, resultado da melhor brotação de folhas de maior dimensão, tendo como consequência da maior brotação de gemas.

**Tabela 3.** Massa média dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.

	MMF (g)		
	2013/14	2014/15	2015/16
Testemunha	113,62	100,28	64,98
4% OM	117,02	100,09	67,12
4% OM + 0,6 CH	115,54	120,62	74,76
3% CaNO <sub>3</sub>	109,18	88,59	60,6
3% CaNO <sub>3</sub> + 2% Erger <sup>®</sup>	97,61	103,89	69,35
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	108,79	118,47	78,38
3% CaNO <sub>3</sub> + 4% Erger <sup>®</sup>	115,32	121,98	75,6
3% CaNO <sub>3</sub> + 5% Erger <sup>®</sup>	119,48	121,09	72,92
Análise de variância			
	Teste F	Pr > F	
Tratamento	4,28	0,0017*	
Ano	196,33	<,0001*	
Tratamento*Ano	1,71	0,0707*	
Contrastes (Pr > F)			
C1	0,6844	0,1982	0,2276
C2	0,1751	0,1319	0,3564
C3	0,2247	0,235	0,5198
C4	0,8055	0,0019*	0,017*

OM: óleo mineral. CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a p<0,05. Contrastes: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral vs. Indutores); C3 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

Os indutores de brotação promoveram maior relação C/D nos frutos na safra 2014/15, sendo o valor da testemunha de 1,04 contra 1,09 na média dos indutores. Na safra 2015/16, apenas o contraste C4 apresentou diferença significativa, sendo o tratamento de CaNO<sub>3</sub> isolado o que promoveu menor relação C/D (Tabela 4). Chagas et al. (2012) obtiveram valores de relação C/D de 1,03 e 1,05 para a cultivar 'Eva' com aplicação de CH em local de condição subtropical da região Leste Paulista, com acúmulo médio de 40 unidades de frio anual, nas safras 2008/09 e 2009/10, respectivamente.

**Tabela 4.** Relação comprimento/diâmetro dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.

	Relação C/D	
	2014/15	2015/16
Testemunha	1,04	1,06
4% OM	1,05	1,05
4% OM + 0,6 CH	1,09	1,12
3% CaNO <sub>3</sub>	1,11	1,05
3% CaNO <sub>3</sub> + 2% Erger <sup>®</sup>	1,07	1,08
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	1,06	1,10
3% CaNO <sub>3</sub> + 4% Erger <sup>®</sup>	1,07	1,06
3% CaNO <sub>3</sub> + 5% Erger <sup>®</sup>	1,08	1,09
	Análise de variância	
	Teste F	Pr > F
Tratamento	2,59	0,019
Ano	0,26	0,6145
Tratamento*Ano	2,03	0,0622*
	Contrastes (Pr > F)	
C1	0,0245*	0,2238
C2	0,6473	0,2457
C3	0,7325	0,4031
C4	0,5348	0,0090*

OM: óleo mineral. CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a  $p < 0,05$ . Contrastes: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral vs. Indutores); C3 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

### 5.5 Firmeza de polpa, Sólidos Solúveis e Acidez Titulável

Os indutores de brotação não afetaram as variáveis firmeza de polpa e sólidos solúveis, havendo diferença apenas entre as safras, na média dos tratamentos. A safra 2015/16 apresentou firmeza de polpa superior à safra 2014/15, sendo de 98,97N e 85,45N, respectivamente. Ao contrário, o teor de sólidos solúveis foi superior em 2014/15, sendo de 13,44 °Brix, e 10,13 °Brix em 2015/16 (Tabela 5). Estas diferenças podem ter ocorrido pela antecipação da colheita na safra 2015/16, devido aos danos causados pelo granizo que ocorreu neste ciclo, o que fez com que a colheita ocorresse em estágio anterior à maturação completa. Sendo assim, o valor de firmeza superior da safra

2015/16 pode estar relacionado ao menor grau de maturação dos frutos, assim como o menor teor de SS, pelo menor acúmulo de carboidratos nos frutos. Stangeret al. (2013) mostraram que a taxa de perda de firmeza em função da data de colheita é por volta de 4N por semana, para maçãs 'Daiane', assim como a taxa de SS aumentou continuamente durante a maturação, indicando que a época de colheita do presente experimento influenciou nos valores de firmeza e SS.

**Tabela 5.** Firmeza de polpa e sólidos solúveis dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.

	Firmeza (N)		SS (°BRIX)	
	2014/15	2015/16	2014/15	2015/16
Testemunha	84,34	96,93	13,05	9,88
4% OM	83,49	98,39	13,55	9,8
4% OM + 0,6 CH	82,07	98,97	13,36	10,63
3% CaNO <sub>3</sub>	89,94	91,32	13,36	9,05
3% CaNO <sub>3</sub> + 2% Erger <sup>®</sup>	86,96	95,01	13,48	9,88
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	85,58	105,47	13,28	10,68
3% CaNO <sub>3</sub> + 4% Erger <sup>®</sup>	83,14	101,33	13,6	10,41
3% CaNO <sub>3</sub> + 5% Erger <sup>®</sup>	87,94	104,36	13,85	10,7
Média	85,45	98,97	13,44	10,13
	Análise de variância			
	Teste F	Pr > F	Teste F	Pr > F
Tratamento	1,5	0,2006	1,55	0,183
Ano	51,97	<,0001*	303,7	<,0001*
Tratamento*Ano	1,3	0,2633	1,08	0,3937

OM: óleo mineral. CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a p<0,05.

A acidez dos frutos mostrou diferença entre as duas safras, sendo observados maiores valores na safra 2015/16, para todos os tratamentos. Este resultado também pode ser atribuído à colheita antecipada feita na última safra, em fase pouco avançada de maturação, fazendo que os valores de acidez tenham sido mais elevados pela menor degradação de ácidos orgânicos (LIU

etal., 2016). Apenas houve diferenças para os contrastes C3 e C4 na safra 2015/16, nos quais o tratamento de CH + OM (5,8% ácido málico) apresentou maior acidez do que a média dos tratamentos de  $\text{CaNO}_3$  e Erger<sup>®</sup> (5,5% ácido málico), e o tratamento de  $\text{CaNO}_3$  isolado (4,1% ácido málico) proporcionou menor acidez do que as concentrações de Erger<sup>®</sup> (5,9% ác. málico) (Tabela 6). Chagas et al. (2012) obtiveram valores de acidez para a cultivar 'Eva', também em região de baixo acúmulo de frio, de 0,63g ácido málico 100g<sup>-1</sup>, a qual foi aplicada cianamida hidrogenada como indutor de brotação.

**Tabela 6.** Acidez titulável dos frutos de plantas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação nas safras 2014/15 e 2015/16, em Eldorado do Sul/RS.

	Acidez (% ác. málico)	
	2014/15	2015/16
Testemunha	1,98	5,25
4% OM	2,4	4,89
4% OM + 0,6 CH	2,05	5,8
3% CaNO <sub>3</sub>	2,03	4,18
3% CaNO <sub>3</sub> + 2% Erger <sup>®</sup>	2,06	5,31
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	2,19	6,24
3% CaNO <sub>3</sub> + 4% Erger <sup>®</sup>	2,22	5,81
3% CaNO <sub>3</sub> + 5% Erger <sup>®</sup>	2,27	6,34
	Análise de variância	
	Teste F	Pr > F
Tratamento	7,02	<,0001*
Ano	625,28	<,0001*
Tratamento*Ano	3,22	0,0011*
	Contrastes (Pr > F)	
C1	0,1823	0,3427
C2	0,3948	0,2342
C3	0,1376	0,0007*
C4	0,6903	0,0338*

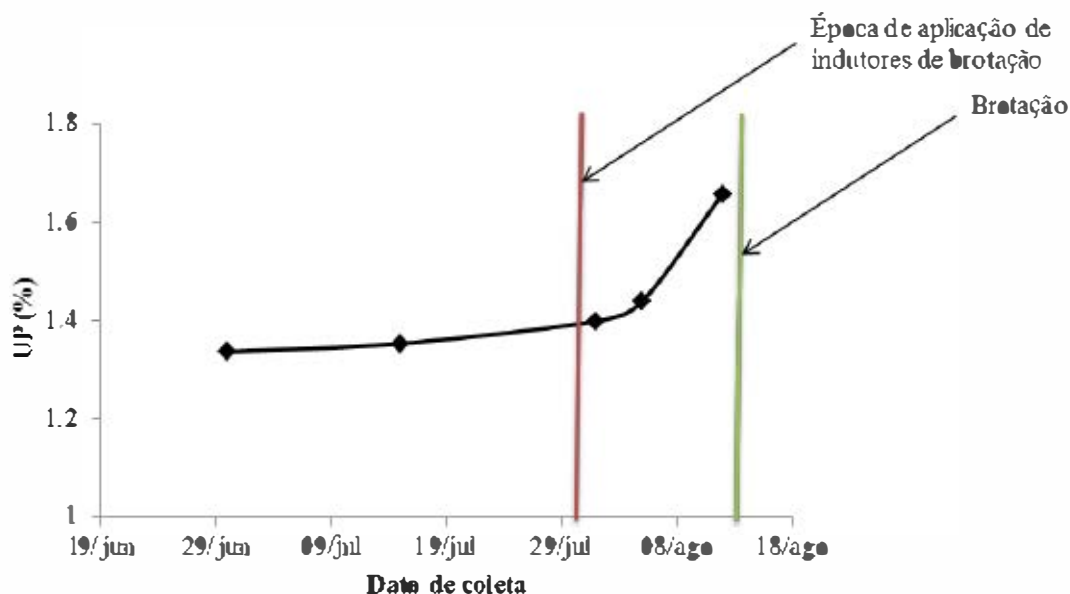
OM: óleo mineral. CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a  $p < 0,05$ . Contrastes: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral vs. Indutores); C3 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

### 5.6 Umidade Ponderal

A umidade ponderal (UP) foi avaliada somente na safra 2016/17, na mesma área experimental aonde foram aplicados os indutores nas safras anteriores. A UP de gemas apicais mostrou-se constante entre o final de junho e o início de agosto, durante o período de dormência. O aumento de UP ocorreu no início de agosto, mostrando grande aumento até meados deste mês.

A UP constante ao longo da dormência demonstra a inatividade dos tecidos das gemas, devido ao bloqueio de canais celulares de transporte, como de plasmodesmas, devido à deposição de calose em resposta às condições

climáticas desfavoráveis ao crescimento (Agusti, 2010). Já o aumento de UP nos meristemas indica a transição da fase de endodormência para ecodormência, que ocorre após a necessidade de frio dos meristemas ser suprida (Malagi et al., 2016). Como o meristema não apresenta conexões vasculares, o transporte de água e metabólitos célula-a-célula é fundamental, sendo necessário para isso a remoção de calose dos canais. Assim, quando a calose é removida dos canais ao final da dormência, há a abertura da comunicação intercelular e o transporte de água e metabólitos para as células da gemaé retomado (Figura 9). Marafonet al. (2011) avaliaram a umidade ponderal em gemas das pereiras 'Kieffer', de baixa exigência em frio (300HF), e 'Housui', de alta exigência (700HF), em região com acumulado de aproximadamente 230 HF. Para 'Kieffer', a demanda de frio foi suprida e o aumento de umidade nas gemas ocorreu levando à brotação. Já para 'Housui', o frio acumulado foi insuficiente e próximo da época de brotação houve redução da umidade nas gemas, levando a desidratação e abortamento de primórdios florais.



**Figura 9.** Umidade Ponderal (UP) de gemas da macieira 'Eva', na safra 2016/17, em Eldorado do Sul/RS.

### 5.7 Catalase, Peroxidase e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

A aplicação de indutores de brotação afetou significativamente a atividade da enzima peroxidase (POD), aos cinco dias após a aplicação dos indutores de brotação. O teor de POD mostrou valores superiores em gemas de plantas tratadas com óleo mineral, 6,96 unidades enzima g<sup>-1</sup> MF, e plantas testemunha, 5,43 unidades enzima g<sup>-1</sup> MF (Tabela 7). Em plantas tratadas com 3% CaNO<sub>3</sub>, 3% CaNO<sub>3</sub> + 3% Erger<sup>®</sup> ou OM + CH o teor de POD mostrou-se inferior, 2,71, 3,27 e 1,75 unidades enzima g<sup>-1</sup> MF, respectivamente, porém sem diferir significativamente da testemunha (Tabela 7). No entanto, houve diferença entre os tratamentos de 3% CaNO<sub>3</sub>, 3% CaNO<sub>3</sub> + 3% Erger<sup>®</sup> e OM + CH, no qual os tratamentos de 3% CaNO<sub>3</sub>, 3% CaNO<sub>3</sub> + 3% Erger<sup>®</sup> induziram maior atividade de POD (2,71 e 3,27 unidades enzima g<sup>-1</sup> MF, respectivamente) do que o tratamento OM + CH (1,75 unidades enzima g<sup>-1</sup> MF) (Tabela 7).



**Tabela 7.** Atividade das enzimas catalase (CAT) e peroxidase (POD) em gemas de macieira 'Eva' em resposta a aplicação de indutores de brotação na safra 2016/17, em Eldorado do Sul/RS.

	CAT		POD	
	unidades enzima/g MF			
Testemunha	2,20		5,43	
4% OM	2,10		6,96	
4% OM + 0,6% CH	1,27		1,75	
3% CaNO <sub>3</sub>	1,60		2,71	
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	0,74		3,27	
	Análise de variância			
	Teste F	Pr > F	Teste F	Pr > F
Tratamento	2,05	0,1184	3,90	0,0135*
	Contrastes (Pr > F)			
C1			0,3518	
C2			0,0012*	
C3			0,0156*	
C4			0,3404	

OM: óleo mineral. CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a  $p < 0,05$ . Contrastes: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C3 (Óleo Mineral vs. Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

A atividade da enzima catalase (CAT) não foi afetada significativamente pelos indutores de brotação no quinto dia após a aplicação dos indutores (Tabela 7). Os valores de CAT foram de 2,2 unidades de enzima  $g^{-1}$  MF em gemas de plantas testemunha e 2,1 unidades de enzima  $g^{-1}$  MF em plantas tratadas com OM 3%. Já nos tratamentos de 3% CaNO<sub>3</sub>, 3% CaNO<sub>3</sub> + 3% Erger<sup>®</sup> e 4% OM + 0,6% CH os valores foram de, respectivamente, 1,6; 0,74 e 1,27 unidades de enzima  $g^{-1}$  MF (Tabela 7).

Um dos efeitos esperados devido à aplicação de cianamida hidrogenada em videiras é a redução de atividade da catalase, o que leva a um aumento dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Niret al., 1986). Esta redução não foi significativa em relação à testemunha. É possível que este efeito tenha ocorrido nos dias mais

próximos à aplicação e que a coleta de gemas tenha ocorrido tardiamente. Marchi et al.(2017) identificaram redução nos níveis da enzima catalase 24 horas após a aplicação de tratamento associando óleo mineral e cianamida hidrogenada, no entanto, a aplicação de óleo mineral e óleos vegetais (soja e girassol), isoladamente, não provocou o mesmo efeito. Já para a enzima peroxidase, os tratamentos testados no estudo não afetaram a atividade 24 horas após a aplicação.

Nos dias em que foram realizadas as coletas de gemas, os níveis de  $H_2O_2$  nas gemas não foram afetados pela aplicação de indutores de brotação. Durante o período de dormência, as gemas mantiveram um nível basal de  $H_2O_2$  característico do ciclo da dormência, sendo de  $1,09 \mu\text{mol g}^{-1}$  de massa fresca no tratamento testemunha,  $0,79 \mu\text{mol g}^{-1}$  no tratamento OM + Dormex<sup>®</sup> e  $1,19 \mu\text{mol g}^{-1}$  no tratamento  $\text{CaNO}_3$  + Erger<sup>®</sup> (Tabela 8). Estes níveis se mantiveram no quinto dia após a aplicação dos indutores de brotação, não havendo diferença significativa entre os tratamentos, que foram de  $1,61 \mu\text{mol g}^{-1}\text{MF}$  no tratamento testemunha,  $1,59 \mu\text{mol g}^{-1}\text{MF}$  no tratamento OM + Dormex<sup>®</sup> e  $0,8 \mu\text{mol g}^{-1}\text{MF}$  no tratamento  $\text{CaNO}_3$  + Erger<sup>®</sup> (Tabela 8).

**Tabela 8.** Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em gemas de macieira 'Eva' em resposta à aplicação de indutores de brotação na safra 2016/17, em Eldorado do Sul/RS.

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol g <sup>-1</sup> MF)	
	26/05	03/08
Testemunha	1,0932	1,6169
4% OM + 0,6% CH	0,7995	1,5904
3% CaNO <sub>3</sub> + 3% Erger <sup>®</sup>	1,1993	0,8004
	Análise de variância	
	Teste F	Pr > F
Tratamento	7,65	0,0096*
Época	10,24	0,0095*
Tratamento*Época	7,98	0,0085*
	Contrastes (Pr > F)	
C1	0,28	0,6068
C2	0,71	0,4189
C3	0,02	0,8909
C4	30,25	0,0003*

OM: óleo mineral. CH: cianamida hidrogenada. CaNO<sub>3</sub>: nitrato de cálcio. \*Significativo a p<0,05. Contrastes: C1 (Testemunha vs. Indutores); C2 (Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio); C3 (Óleo Mineral vs. Óleo Mineral + Cianamida Hidrogenada); C4 (Nitrato de Cálcio vs. Erger<sup>®</sup> + Nitrato de Cálcio).

Segundo Péres e Burgos (2004), é esperado que com a inibição da enzima catalase o conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumente, ocorrendo também através da enzima peroxidase que, em adição a oxidação de fenóis, catalisa a oxidação de NADH e gera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como produto final. Portanto, o aumento na atividade de POD também pode levar ao aumento dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela oxidação de NADH e ação da enzima NADH oxidase. No entanto, como não houve diferença entre os tratamentos para ambas as enzimas, não eram esperadas diferenças no conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas células das gemas. Outro fator que deve ser levado em consideração é que o conteúdo das enzimas e de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresenta um comportamento altamente reativo e muito rápido nas células, podendo haver grandes diferenças nos dias anteriores e os que seguem da data de coleta das gemas, logo após o fim da endodormência. Assim, uma

análise mais detalhada, comparando gemas de coletas realizadas em intervalos curtos, posteriormente ao fim da endodormência até a brotação, tende a mostrar diferenças no comportamento das enzimas CAT e POD e dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Sudawan et al. (2016) observaram aumento nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em células de gemas de videiras (*V. vinifera* x *V. labruscana* Bailey cv. Kyoho) dentro de um período de 30 horas após a aplicação de cianamida hidrogenada, juntamente com a poda das plantas. Os autores demonstram o efeito do tratamento de poda e CH sobre componentes fisiológicos das gemas e expressão de genes relacionados ao fim da dormência. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresentou pico de atividade entre 6 e 12hs após a aplicação do tratamento, com conteúdo médio de 29,31 µg/g MF contra 1,38 µg/g MF do tratamento controle (água). O mesmo padrão foi observado para óxido nítrico (NO), com pico de atividade até 12hs após aplicação do tratamento. Também foi identificada a regulação de genes envolvidos no metabolismo de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio após 12hs da aplicação do tratamento de poda e CH.

Espécies reativas de oxigênio estão diretamente envolvidas na superação da dormência em gemas de espécies temperadas. O acúmulo subletal, principalmente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, controlado por mecanismos antioxidantes, ativa uma cadeia de sinalização que leva ao retorno da atividade de tecidos meristemáticos e conseqüente, brotação e crescimento das gemas. EROs atuam diretamente na sinalização de genes que controlam a abertura do transporte entre células, do afrouxamento e alongação da parede celular, além da ativação da rota de síntese de hormônios relacionados ao crescimento (Benitez-Alfonso et al., 2011; Sudawan et al., 2016).

Diversos são os fatores que atuam na regulação da dormência em espécies temperadas. Nos últimos anos houve uma grande evolução na descoberta de mecanismos que atuam na regulação do ciclo da dormência de gemas, que é controlado por complexas interações fisiológicas e moleculares. Mais recentemente foram descritos mecanismos epigenéticos envolvidos no controle do ciclo da dormência, como a evidência de taxas maiores de metilação e acetilação do DNA em gemas de castanheira (*Castanea sativa*) dormentes comparados a gemas ativas, sugerindo silenciamento de genes concomitante com a dormência das gemas. No entanto, tais fatos ainda carecem de detalhes a serem compreendidos pelos pesquisadores (Cooke et al., 2012; Shim et al., 2014), sendo necessários mais estudos para elucidar tais mecanismos, principalmente para as condições do Sul do Brasil.

## **6. CONCLUSÃO**

O indutor de brotação Erger® é eficiente em promover aumento e uniformidade de brotação de gemas apicais e laterais da macieira 'Eva', incrementando também o número de cachos florais. No entanto, Erger® não promove incremento na produção e qualidade dos frutos.

Aos cinco dias após a aplicação de indutores de brotação, não ocorre alteração nos níveis das enzimas catalase e peroxidase, assim como nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em gemas de macieira 'Eva' em região de baixo acúmulo de frio.

## 7. REFERÊNCIAS

- BERGAMASCHI, H. et al. **Boletins Agrometeorológicos da Estação Experimental Agronômica da UFRGS: Série Histórica 1970-2012**. Porto Alegre: UFRGS-Faculdade de Agronomia, 2013. Disponível em: [http://www.ufrgs.br/agronomia/joomla/files/EEA/Srie\\_Meteorolgica\\_da\\_EEA-UFRGS.pdf](http://www.ufrgs.br/agronomia/joomla/files/EEA/Srie_Meteorolgica_da_EEA-UFRGS.pdf)
- BENITEZ-ALFONSO, Y.; JACKSON, D.; MAULE, A. Redox regulation of intercellular transport. **Protoplasma**, Viena, v. 248, p. 131–140, 2011.
- BOTELHO, R.; MÜLLER, M. Extrato de alho como alternativa na quebra de dormência de gemas em macieiras cv. Fuji Kiku. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 29, n. 1, p. 37-41, 2007.
- CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; EGEA, J. Effects of shading and thidiazuron+oil treatment on dormancy breaking, blooming and fruit set in apricot in a warm-winter climate. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 125, n. 3, p. 203-210, 2010.
- CHAGAS, E. A. et al. Produção e atributos de qualidade de cultivares de macieira nas condições subtropicais da região Leste paulista. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.10, p.1764-1769, out. 2012.
- COOKE, J.E.; ERIKSSON, M.E.; JUNTILA, O. The dynamic nature of bud dormancy in trees: environmental control and molecular mechanisms. **Plant Cell Environment**, Oxford, v. 35, p. 1707–1728, 2012.
- DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 109, p. 212–228, 2015.
- FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, Denmark, v. 119, p. 355–364, 2003.
- FOYER, CH; SHIGEOKA, S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 155, p. 93-100, January, 2011.

HALALY, T. et al. Similar mechanisms might be triggered by alternative external stimuli that induce dormancy release in grape buds. **Planta**, Berlin, v. 228, p. 79–88, 2008.

HAWERROTH, F.J. et al. Brotação de gemas em macieiras "Imperial Gala" e "Fuji Suprema" pelo uso de Erger® e nitrato de cálcio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 32, n. 2, p. 343-350, 2010.

HAWERROTH, F. J. et al. 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.

LIU, Y. et al. The changes in color, soluble sugars, organic acids, anthocyanins and aroma components in "starkrimson" during the ripening period in china. **Molecules**, Basel, v. 21, p. 812, 2016.

LOESCHER, W.H.; MCCAMANT, T.; KELLER, J.D. Carbohydrate reserves, translocation, and storage in woody plant roots. **Hortscience**, Alexandria, v.25, n.3, p.274-281, 1990.

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

MARCHI, T. et al. Indução da brotação de gemas de macieiras com aplicação de óleos vegetais e mineral. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 48, n. 3, p. 501-512, jul-set, 2017.

MOLLER, J. M. Plant mitochondria and oxidative stress: Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.52, p.561–91, 2001.

NIR, G. et al. Changes in the activity of catalase (EC 1.11.1.6) in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 81, p. 1140, 1986.

OLIVEIRA, O.R. et al. Extrato de alho na superação da dormência de pereira "Housui". **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 10, n. 4, p. 283-288, 2009.

OR, E. et al. Dormancy in grape buds: isolation and characterization of catalase cDNA and analysis of its expression following chemical induction of bud dormancy release. **Plant Science**, Limerick, v. 162, p. 121–130, 2002.

PÉREZ, F.J.; BURGOS, B. Alterations in the pattern of peroxidase isoenzymes and transient increases in its activity and in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels take place during the dormancy cycle of grapevine buds: the effect of hydrogen cyanamide. **Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 43, p. 213–220, 2004.



PETRI, J.L.; LEITE, G.B. Consequences of insufficient winter chilling on apple tree bud-break. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 662, 2004. VII International Symposium on Temperate Zone Fruits in the Tropics and Subtropics, 2004.

PETRI, J.L. et al. Chemical induction of budbreak: new generation products to replace hydrogen cyanamide. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1049, 2014. Proc. XIIth IS on Plant Bioregulators in Fruit Production, p. 1042, 2014.

PETRI, J.L.; LEITE, G.B.; PUTTI, G.L. Apple tree budbreak promoters in mild winter conditions. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 774, 2008.

PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; POLA, A.C. Dormência e indução à brotação em macieira. In: A CULTURA da macieira. Florianópolis: EPAGRI, 2006.

PINTO, M. et al. **Fisiologia de la latencia de las yemas de vid: hipótesis actuales**. Santiago: Universidad de Chile, 2007. 16 p. Disponível em: <<http://agronomia.uchile.cl/extension/serviciosyproductos/gie/publicaciones>>. Acesso em: 14/07/2016.

QUAN, J. J. et al. Hydrogen peroxide plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. **Journal of Integrative Plant Biology**, [China], v. 50, n. 1, 2–18, 2008.

RADY, M.; EL-YAZAL, M. Response of “Anna” apple dormant buds and carbohydrate metabolism during floral bud break to onion extract. **Scientia Horticulturae**, The Hague, v. 155, p. 78-84, 2013.

RINNE, P.L.H.; KAIKURANTA, P.M.; VAN DER SCHOOT, C. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy. **The Plant Journal**, Oxford, v. 26 n. 3, p. 249-264, 2001.

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

RUTSCHOW, H.L.; BASKIN, T.L.; KRAMER, E.M. Regulation of solute flux through plasmodesmata in the root meristem. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 155, p. 1817–18, abril, 2011.

SAGREDO, K.X. **Effect of rest-breaking and fruit thinning treatments on reproductive development in apple**. 2008. Tese (Mestrado) - Stellenbosch University.

SETTIMI, L. et al. Update: Hydrogen Cyanamide-related illnesses-Italy, 2002-2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 54, p. 405-408, 2005.

SHIM, D. et al. A molecular framework for seasonal growth-dormancy regulation in perennial plants. **Horticulture Research**, London, v. 1, p. 14059, 2014.

STANGER, M.C et al. Estádio de maturação para o período ideal de colheita de maçãs 'Daiane' destinadas à armazenagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 977-989, dez. 2013.

SWEETLOVE L.J. et al. The impact of oxidative stress on Arabidopsis mitochondria. **The Plant Journal**, Oxford, v. 32, p. 891-904, 2002.

VALAGRO. **ERGER interruptor de la dormência a base de extractos vegetales**. Atessa - Zona Industriale, Italy, 2014.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, J.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, Limerick, v. 151, p. 59-66, 2000.