

Determinação da conectividade xilemática em gemas dormentes de *Malus × domestica* através da aplicação de corante

Roberta Cusin (betacusin@gmail.com)

Mestre em Genética e Biologia Molecular - UFRGS

Diogo Denardi Porto (diogo.porto@embrapa.br)

EMBRAPA UVA E VINHO

Liane Terezinha Dorneles (lianedorneles@gmail.com)

Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA)

Luís Fernando Revers (luís.revers@embrapa.br)

EMBRAPA UVA E VINHO

Resumo: A macieira (*Malus × domestica* Borkh.) caracteriza-se pelo estabelecimento da dormência no outono e a indisponibilidade de água livre nas gemas dormentes. Em regiões onde o acúmulo de frio para quebra de dormência não é suficiente, utilizam-se produtos químicos, como a cianamida hidrogenada (CH) para induzir a saída da dormência e uniformizar a brotação. Uma das dificuldades dos produtores é identificar a melhor época para a aplicação destes produtos químicos. No presente trabalho avaliou-se o transporte de água em gemas apicais durante a dormência, verificando a aplicabilidade da avaliação de padrões de captação de corantes hidrofílicos na estimativa do estágio da dormência. Para tal, foram utilizadas brindilas com gemas apicais fechadas de cultivares contrastantes em requerimento de frio. Em dois experimentos independentes avaliou-se 3 parâmetros: o teor de água, a brotação máxima e a conectividade hídrica em gemas apicais utilizando o corante fucsina ácida. O experimento 1 monitorou esses parâmetros em brindilas amostradas mensalmente no período de 03/2012 a 03/2013 em um pomar da EEFT. No experimento 2 o material vegetal foi brindilas em estádios diferenciados da dormência, com e sem aplicação de CH, mantido em condições ótimas de crescimento. O teor de água e a captação de corante foram maiores em amostras coletadas durante o verão e durante a brotação do que na dormência, e a CH foi capaz de induzir este aumento. Entretanto, não houve diferença entre os estádios de dormência. Os dados mostram maior transporte de água nos tecidos durante o verão e em condições ótimas de crescimento, mas não permitem diferenciar entre gemas endo e ecodormentes e nem estabelecer a fucsina ácida como um marcador para os estádios de dormência.

Palavras-Chaves: brindilas, dormência, condutividade hídrica, cianamida hidrogenada, macieira.

Abstract: Temperate fruit trees, such as apple (*Malus × domestica* Borkh.), are characterized by the establishment of bud dormancy. Bud dormancy is overcome after exposure to a certain amount of chilling hours (under 7,2°C), which varies according to species and cultivars. Another feature of bud dormancy is the lack of free water in buds. In regions where chilling exposure is not enough for dormancy overcoming, application of chemical substances is necessary in order to break dormancy and for even bud break. One of the difficulties faced by growers is to identify the proper timing for the application of those chemical products. In this work, the water transport in buds during dormancy was assessed, with the intent of evaluating the use of patterns of hydrophilic dye uptake as a marker for dormancy status. As plant material, apical twigs of contrasting chilling requirement cultivars were used. 'Castel Gala' which shows low chilling requirement for bud break and 'Gala Standard', a high chilling requirement cultivar. These materials were subjected to two experiments: evaluation of water status in buds harvested monthly in the field and under forcing conditions for bud break. Dye capitation, water content and maximum bud break of apical buds were evaluated. The conductivity of the hydrophilic dye on dormant buds and stems is shown to be reduced during winter. Water content and dye uptake are higher during summer and after bud outgrowth than during dormancy, and both increase after hydrogen cyanamide application. However, there was no difference between ecodormant and endodormant buds in relation to water content and conductivity.

Keywords: twigs, dormancy, xylem conductivity, hydrogen cyanamide, apple.

1. INTRODUÇÃO

A macieira (*Malus × domestica* Borkh) possui importância mundial entre as frutíferas de clima temperado, estando o Brasil entre os dez maiores produtores mundiais de maçã. Segundo o Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, realizado pelo IBGE [1], a produção da safra 2009/2010 foi de 1,3 milhões de toneladas, sendo a região Sul do país a maior produtora.

A macieira, assim como as demais frutíferas de clima temperado, caracteriza-se pela queda de folhas e a entrada em dormência no outono. Esta inatividade fisiológica permite a sua sobrevivência em condições de baixas temperaturas. Durante este período, a planta não apresenta crescimento visível, porém as atividades metabólicas continuam, embora com intensidade reduzida [2].

A dormência em gemas é dividida em três períodos sucessivos: paradormência, endodormência e ecodormência [3]. No estágio de paradormência a planta é regulada por fatores fisiológicos externos à estrutura afetada, também denominada de inibição correlativa. Na endodormência, a inibição do crescimento é causada por fatores endógenos à estrutura afetada, estimulados por respostas a alterações do

fotoperíodo e horas de frio, durante o outono e inverno.

Após a exposição a baixas temperaturas, a gema tem seu crescimento inibido por condições ambientais desfavoráveis, assumindo o estágio de ecodormência [3]. Neste estágio, a gema se mantém em estado quiescente, devido à baixa temperatura, deficiência de nutrientes ou estresse hídrico, embora a mesma esteja intrínseca e fisiologicamente apta a se desenvolver. Na primavera, com o retorno das temperaturas mais altas, a gema pode retomar seu desenvolvimento [4] [5].

A prática da quebra de dormência é empregada em diversas frutíferas temperadas com o objetivo de estimular e uniformizar a brotação das gemas vegetativas e floríferas [2]. Para auxiliar na superação da endodormência utiliza-se a pulverização de produtos químicos, adicionados ao óleo mineral [6]. A cianamida hidrogenada (CH) é o produto mais utilizado no sistema de produção sulbrasileiro para auxiliar na superação da endodormência [2].

O efeito da CH é variável de acordo com a época de aplicação, a concentração e a cultivar [7], podendo uniformizar, antecipar ou retardar a brotação. Sua ação não é sistêmica e sim localizada, sendo necessário que os produtos aplicados atinjam as gemas das plantas para que se obtenha o

efeito esperado [2].

As cultivares de macieira apresentam grande diferença no acúmulo de horas de frio ($HF \leq 7, 2^\circ C$) necessário para superação da endodormência. A cultivar Gala Standard necessita de 600 a 800 HF para que ocorra brotação em níveis adequados, na primavera. Já a cultivar Castel Gala, uma mutação espontânea da cv. Gala Standard, tem como característica principal a baixa necessidade de frio hibernal. Esta não necessita mais do que 400 HF para superar a dormência e garantir elevadas produções [8] [9].

O acompanhamento do transporte de corantes hidrofílicos revela padrões de distribuição de água em espécies de coníferas decíduas [10]. A captação de corantes hidrofílicos em gemas varia de acordo com o estágio de dormência que a planta se encontra e se torna mais intensa a medida que a endodormência é superada. Entretanto, esse efeito ainda não foi demonstrado para macieira, apenas para as plantas de abeto [11] e álamo [12].

O uso de produtos químicos na quebra de dormência de plantas frutíferas de clima temperado é um fator preocupante devido à sua alta toxicidade. A Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA) classifica o *Dormex*[®] (490 g.L^{-1} de CH) na mais alta categoria de toxicidade (categoria I) [13]. A determinação de parâmetros técnicos que demonstrem a necessidade ou não de aplicação de CH é necessária em decorrência das variações nas condições climáticas visando a diminuição do impacto ambiental e a redução dos custos de produção. O objetivo desse trabalho foi avaliar a regulação do transporte de água em gemas de macieira durante a dormência e verificar a aplicabilidade da avaliação de padrões de captação de corantes hidrofílicos na estimativa do estágio da dormência apresentado pelas gemas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética Molecular Vegetal da Embrapa Uva e Vinho, localizado em Bento Gonçalves – RS, no período de março de 2012 a março de 2013. Como material vegetal foram utilizadas brindilas (ramos entre 5 e 20cm de comprimento) com gemas apicais fechadas do cultivar Gala Standard e suas mutações Castel Gala, Gala Baigent e Royal Gala.

As duas últimas apresentam requerimento de frio similar ao de 'Gala Standard', enquanto 'Castel Gala' necessita de aproximadamente metade desse número de horas de frio para quebra de dormência [9]. As amostragens foram realizadas mensalmente de 03/2012 a 03/2013, com datas pré-definidas, quando se determinou a quantidade de HF ocorrida no período precedente à amostragem, segundo o modelo tradicional de horas de frio abaixo ou iguais a $7,2^\circ C$ [14].

Após as coletas, as brindilas foram enroladas em papel umedecido e armazenados em sacos plásticos, sendo transportados no mesmo dia à Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves – RS) para seu processamento. O material vegetal passou por assepsia, na qual as brindilas e/ou ramos foram submetidos à limpeza com etanol 70% por um minuto,

hipoclorito de sódio a 2,5% por 15 minutos e três enxágues com água destilada, e foram destinadas para avaliação da brotação máxima das gemas apicais, do teor de água e da conectividade hídrica nos dois experimentos independentes.

Para avaliação da brotação máxima, vinte brindilas de aproximadamente 20 centímetros de comprimento foram dispostas em espuma fenólica embebida em água e mantidas em condições ótimas para a brotação (sala de crescimento Percival Boone, modelo 50036, ajustado à temperatura de $25^\circ C \pm 1,5^\circ C$, umidade relativa 70% e fotoperíodo de 12 horas, com intensidade luminosa de $300 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) por um período de 35 dias. Em seguida, determinou-se a porcentagem de gemas brotadas (emergência dos tecidos verdes subjacentes), no estágio de ponta verde [15], em relação ao total de gemas apicais viáveis.

Para avaliação do teor de água de gemas, removeu-se as escamas lignificadas de cinco gemas apicais e, em triplicatas, os ápices foram dispostos em tubos plásticos e aferidos em balança de precisão (Shimadzu, modelo AUW 220D) para a determinação da massa fresca. Após, foram mantidos em estufa com temperatura de $65^\circ C$ por um período de 48 horas. Decorrido este tempo, os tubos foram pesados novamente para obtenção da massa seca das gemas, segundo metodologia de Trejo-Martínez [16].

Para a avaliação da conectividade hídrica, conjuntos de cinco brindilas para 'Castel Gala' e 'Gala Standard', em triplicata, foram seccionados sob água destilada, a 1,5cm do ápice com o auxílio de um paquímetro digital. Em seguida, as bases destas brindilas foram imersas em $150 \mu L$ de solução do corante fucsina ácida a 2% de concentração e incubadas durante 17 horas em temperatura ambiente no escuro. A seguir, as gemas foram lavadas em água destilada, secas em papel toalha, cortadas longitudinalmente com auxílio de bisturi, analisadas em estereomicroscópio (OPTON, modelo TNE – 10B) e documentadas.

Tais avaliações foram realizadas nas amostras coletadas no experimento 1 (ciclo anual) e o no experimento 2 (brotação forçada).

Ciclo Anual

Brindilas com gemas apicais fechadas foram amostradas mensalmente no período de 03/2012 a 03/2013, a partir de plantas de 'Castel Gala' e 'Gala Standard', provenientes de pomares experimentais da Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado (EEFT) localizada em Vacaria – RS (latitude $28^\circ 30' 52.35'' S$; longitude $50^\circ 52' 52.43'' O$; altitude de 955m).

Estas plantas estavam dispostas no campo em parcelas constituídas por cinco plantas, distribuídas em blocos casualizados, com as mesmas condições de clima e solo. As plantas tinham três anos de idade e estavam enxertadas sobre porta-enxerto 'Marubakaido', espaçadas em 2m entre plantas e 4m entre linhas. As brindilas foram amostradas mensalmente durante o período de 03/2012 a 03/2013, em um pomar da EEFT localizado em Vacaria –RS.

Brotação Forçada

Para o experimento de brotação forçada, as brindilas de 'Royal Gala' e 'Castel Gala' foram provenientes do pomar comercial localizado em Papanduva – SC (latitude 26° 26' 68" S; longitude 50° 05' 47" O; altitude de 788m), onde as cultivares estavam dispostas lado a lado, com as mesmas condições de solo e clima. As plantas de 'Royal Gala' se encontravam com oito anos de idade, enxertadas sobre porta-enxerto 'Marubakaido', com filtro M.9, espaçadas em 1,25m entre plantas e 4m entre linhas. Já as plantas de 'Castel Gala' apresentavam oito anos de idade, enxertadas sobre porta-enxerto M.9, espaçadas em 0,8m entre plantas e 3,5m entre linhas. As brindilas de 'Gala Baigent' utilizadas neste experimento foram provenientes da EFCT.

As coletas foram realizadas nos meses de junho e julho de 2012. As brindilas das cultivares Royal Gala e Castel Gala foram acondicionadas em câmaras BOD (Biologic Oxygen Demand) da marca Eletrolab, modelo EL202, a 6°C, até acumularem um total de 550HF. Já brindilas de 'Gala Baigent' acumularam apenas as horas de frio correspondentes às condições de campo (94HF).

Após este processo, 100 brindilas de das cultivares Castel Gala e Gala Baigent foram dispostas em espuma fenólica e mantidas em condições adequadas para a brotação. Para 'Royal Gala' 100 brindilas tiveram aplicação de solução contendo 0,5% de CH (*Dormex*[®] 1%) e 3,5% de óleo mineral e outras 100 brindilas não tiveram aplicação de CH. Todas as brindilas foram dispostas em espuma fenólica, mantidas em condições adequadas para a brotação.

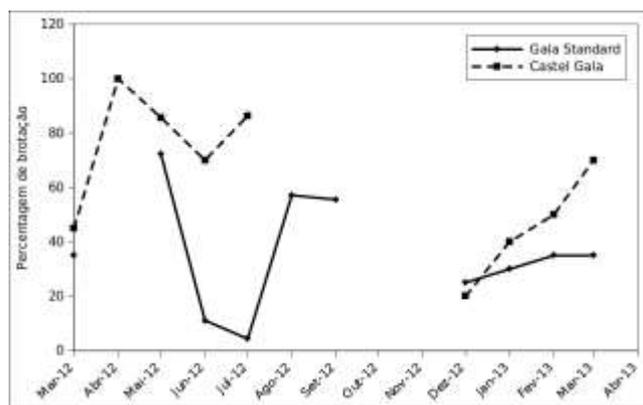


Figura 1 – Porcentagem de brotação máxima das gemas apicais de 'Castel Gala' e 'Royal Gala' durante o ciclo anual (2012/2013). As brindilas de 'Castel Gala' e 'Gala Standard' foram dispostas em espuma fenólica por um período de 35 dias, sob condições ótimas para forçagem (25°C e fotoperíodo de 12h).

Periodicamente, a cada 3 ou 4 dias foram escolhidas aleatoriamente 10 brindilas de cada cultivar, as quais estavam mantidas em espuma fenólica, para avaliar a captação do corante hidrofílico e o teor de água, conforme os métodos estabelecidos acima. Para as brindilas restantes após 35 dias avaliou-se a porcentagem de brotação das gemas apicais.

Tabela 1 – Datas de coleta das cultivares Castel Gala e Gala Standard e horas acumuladas de frio abaixo ou iguais a 7,2°C em Vacaria - RS.

Data coleta	Horas acumuladas de frio
20/03/2012	20
17/04/2012	131
22/05/2012	223
19/06/2012	386
18/07/2012	472
21/08/2012	517
18/09/2012	592
16/10/2012	0
20/11/2012	0
11/12/2012	0
22/01/2012	0
19/02/2012	0
18/03/2012	0

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (2013).

3. RESULTADOS E ANÁLISES

A partir de dados horários de temperatura obtidos de estações automáticas de monitoramento meteorológico, foram quantificadas as HF (Tabela 1). Paralelamente, a taxa de brotação máxima das gemas apicais durante o ciclo 2012/2013 foi monitorada em experimento de forçagem (Figura 1). As primeiras horas de frio foram observadas a partir de março de 2012 com acúmulo de 20HF durante o mês. Até agosto somaram-se 517HF no campo e, neste período, as plantas de 'Castel Gala' brotaram satisfatoriamente, especialmente após 131 HF. Estes dados confirmam que a cultivar Castel Gala apresenta baixa necessidade de frio para a superação da endodormência, conforme descrito por Anzanello [9]. As plantas de 'Gala Standard' superaram a dormência em agosto/setembro, quando houve acúmulo de até 592HF, indicando a maior necessidade de frio hibernal desta cultivar para alcance de níveis adequados de brotação [2].

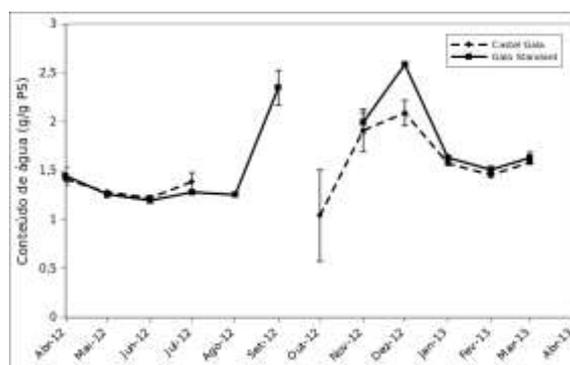


Figura 2: – Porcentagem de brotação máxima das gemas apicais de 'Castel Gala' e 'Royal Gala' durante o ciclo anual (2012/2013). As brindilas de 'Castel Gala' e 'Gala Standard' foram dispostas em espuma fenólica por um período de 35 dias, sob condições ótimas para forçagem (25°C e fotoperíodo de 12h).

No estudo do ciclo anual o teor de água mostrou um aumento nas gemas de ambas cultivares nos meses de novembro e dezembro de 2012, e entre os meses de dezembro de 2012 a fevereiro de 2013 o teor de água diminuiu. Houve também um pequeno decréscimo no teor de água durante o inverno (abril a junho de 2012). A partir de setembro houve um acentuado aumento para a 'Gala Standard' (Figura 2).

O intervalo sem valores na Figura 2 reflete a ausência de brindilas portando gemas apicais fechadas. Na tentativa de relacionar o teor de água com o regime de chuvas comparou-se a precipitação pluviométrica de Vacaria entre os anos de 2009 a 2013, conforme dados amostrados pelo Instituto Nacional de Meteorologia - INMET (Tabela 2) com o teor de água obtido nas gemas. No ano de amostragem não foi constatada aumento de precipitação em novembro, dezembro e janeiro em relação aos outros meses, bem como nos outros anos em relação há esses meses. Desta forma, não se pode afirmar que o teor de água no solo influenciou o teor de água nas gemas de macieira (Tabela 2 e Figura 2).

Tabela 2: Precipitação pluviométrica, 2009 a 2012 em Vacaria - RS.

Precipitação Pluviométrica (mm)

	2009	2010	2011	2012	2013
Jan	156	0	245,4	82,6	107,4
Fev	127,7	312,8	196,6	23,2	147,4
Mar	83,4	170,2	171	17,8	150,6
Abr	8,9	187	139	29,4	-
Mai	129,7	163,4	103,4	23,8	-
Jun	109,4	113,4	203,4	147,8	-
Jul	175,1	182,8	287,4	229,2	-
Ago	200,2	39,4	304,6	36,4	-
Set	535,7	186,4	88,6	156,2	-
Out	176,1	136,6	140,8	141,2	-
Nov	228,5	217,2	45,8	74	-
Dez	147,1	167,8	84,4	177,4	-

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (2013).

Assim, para estas cultivares, a retomada do crescimento reflete o aumento do teor de água nas gemas, aliado a temperatura. A diminuição do teor de água na gema ocorrida a partir de dezembro a fevereiro parece estar em consonância com a preparação destas para a entrada de um novo ciclo de dormência a partir do outono [17]. Estudos mostraram que o teor de água em gemas aumentou no final da primavera e início do verão em *Betula pubescens* Ehrh. [18] [19], o que corrobora os resultados obtidos no presente estudo.

Nos ensaios de forçagem, as brindilas de 'Castel Gala' tiveram elevado número de gemas apicais brotadas,

de 65% a 100%, entre os meses abril a julho de 2012. Entre os meses de agosto a novembro não foi possível coletar brindilas com gemas apicais fechadas, já que todos os ápices de ramos se encontravam em crescimento. Já a 'Gala Standard' teve maior número de gemas apicais brotadas nos meses de maio, agosto e setembro de 2012, 65%, 58% e 57% respectivamente, tendo níveis considerados baixos de brotação em junho (10%) e em julho (5%) de 2012 (Figura 1).

A brotação correspondeu o esperado para a 'Gala Standard', níveis baixos no inverno e maiores na entrada da primavera [9]. Porém para 'Castel Gala', a alta brotação durante o período hibernal é consequência de sua dormência superficial [9], havendo um pequeno período de endodormência, o qual é rapidamente superado, estando após as gemas aptas a brotarem, sob condições edafoclimáticas favoráveis.

Nos meses correspondentes ao inverno, observou-se que a captação do corante hidrofílico nas escamas verdes e na gema foi baixa, tanto para 'Castel Gala' como para 'Gala Standard' (Figura 3).



Figura 3 - Corte longitudinal de gemas com bases imersas em corante hidrofílico incubadas overnight para estudo da conectividade do xilema no ciclo anual (2012/2013) de macieira. Gemas e escamas verdes de 'Castel Gala' em junho de 2012 (A e B); em julho de 2012 (C e D); em janeiro de 2013 (E F); e em fevereiro 2013 (G e H). Gemas e escamas verdes de 'Gala Standard' em junho de 2012 (I e J); em agosto de 2012 (K e L); e em março de 2013 (M e N). Barras brancas correspondem a 5 mm.

No verão a captação do corante mostrou-se mais intensa, tanto nas gemas como no parênquima medular subjacente, como foi observado para a 'Gala Standard' entre os meses de janeiro a março de 2013. No período de transição, entre o verão e outono, ocorre a degradação de amido em açúcares solúveis que se translocam e permanecem na gema durante o período da dormência, os quais serão utilizados para a superação da dormência e retomada do crescimento na primavera [21] [17]. A diferenciação na condutividade de corante entre os períodos de dormência também foi observada nos

trabalhos de Faÿ et al. [11] e Rinne et al. [12].

Na presente pesquisa, observou-se ausência ou fraca captação do corante nos tecidos parenquimáticos do caule nos meses correspondentes ao inverno em ambas as cultivares (Figura 3). Segundo Maurel et al. [20], no inverno a concentração de amido aumenta nos tecidos parenquimáticos e na primavera e verão o amido é hidrolisado, observando-se um aumento no conteúdo de sacarose e hexoses.

Com isso acredita-se que houve uma diminuição do potencial hídrico e aumento no acúmulo de água que poderia ter causado maior captação do corante hidrofílico. Estudos para avaliar a presença ou ausência de amido podem ajudar a esclarecer os padrões observados.

Gemas apicais de 'Castel Gala' no experimento de brotação forçada já haviam acumulado HF suficientes para brotação. A cultivar Castel Gala mostrou maior número de gemas apicais brotadas em relação às outras cultivares. Brindilas de 'Royal Gala' sem aplicação de CH e 'Royal Gala' com aplicação de CH tiveram praticamente a mesma quantidade de gemas apicais brotadas (entre 15% e 20%), e as brindilas de 'Gala Baigent' mostraram taxa de brotação de 28% (Figura 4).

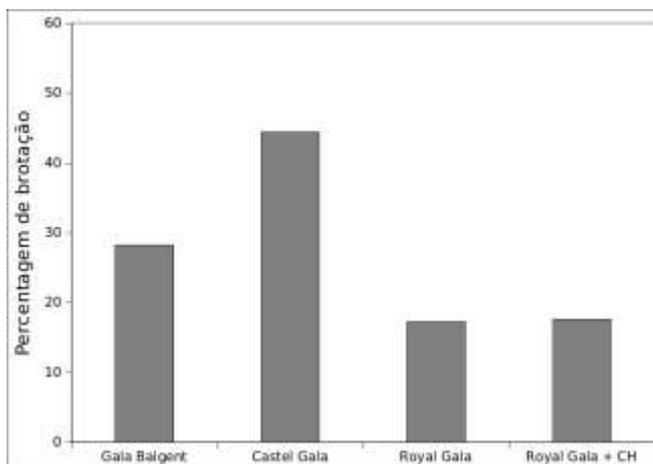


Figura 4 – Percentagem de brotação máxima no experimento de brotação forçada. Brindilas de 'Gala Baigent', 'Castel Gala', 'Royal Gala' e 'Royal Gala' com aplicação de cianamida hidrogenada por um período de 35 dias.

No estudo da brotação forçada (Figura 5), o teor de água teve aumento a partir do sétimo dia (T2) para gemas de 'Castel Gala'. Gemas de 'Royal Gala' com aplicação de CH mostraram maior teor de água no décimo primeiro dia (T3) em relação às gemas da mesma cultivar sem aplicação de CH. Em T2, o teor de água para 'Gala Baigent' diminui, com aumento a partir de T3.

No décimo quarto dia (T4) houve pequeno aumento no teor de água para as gemas de todas as cultivares, seguido por uma queda nos tempos posteriores. Porém, o teor de água diminuiu a partir de T4 para 'Gala Baigent', 'Royal Gala' sem aplicação de CH e também para 'Royal Gala' com aplicação de CH. A partir de T2 o teor de água para 'Castel Gala' foi

maior que as demais cultivares e apenas no décimo oitavo dia (T5) diminui (Figura 5).

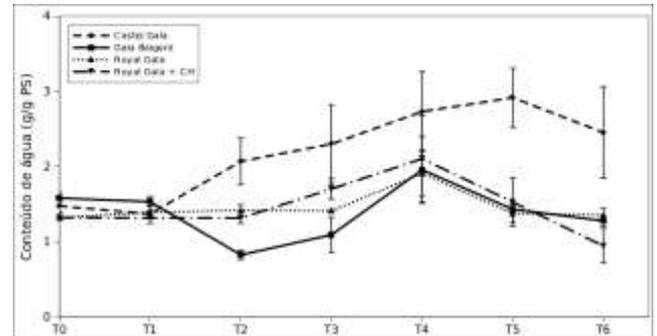


Figura 5 – Conteúdo de água das gemas apicais de macieira após diferentes períodos de calor para forçamento da brotação. T0 referente ao início do experimento, T1 incubação em condições adequadas para brotação por 4 dias, T2 por 7 dias, T3 por 11 dias, T4 por 14 dias, T5 por 18 dias e T6 por 21 dias. Cultivares Castel Gala (losango), Gala Baigent (quadrado), Royal Gala (triângulo) e Royal Gala com aplicação de cianamida hidrogenada (triângulo invertido).

Resultados semelhantes foram encontrados em gemas de pereira [22]. O aumento do conteúdo de água em gemas, no final da dormência, pode indicar uma relação entre o estado de hidratação das gemas e o aumento das atividades metabólicas com a superação da dormência.

O monitoramento da distribuição de fucsina ácida, nas amostras submetidas a brotação forçada, mostrou captação do corante, tanto nas escamas verdes como nos demais órgãos analisados de 'Castel Gala' a partir de T2 (Figura 6).



Figura 6 - Corte longitudinal de gemas com bases imersas em corante hidrofílico incubadas overnight para estudo da conectividade do xilema em experimento de brotação forçada de macieira. Gemas e escamas verdes de 'Castel Gala' no tempo inicial (T0; A e B), após quatro dias (T1; C e D), sete dias (T2; E e F), 11 dias (T3; G e H), 14 dias (T4; I e J), 18 dias (T5; K e L) e 21 dias (T6, M e N). Barras brancas correspondem a 5 mm.

Tecidos de 'Gala Baigent' tiveram maior captação em gemas e escamas verdes a partir de T5, com diminuição no vigésimo primeiro dia (T6). Em T0 e T1 as escamas verdes apresentaram coloração rosada independentemente da influência do corante. Sugere-se que esta pigmentação seja inerente a própria cultivar (Figura 7).

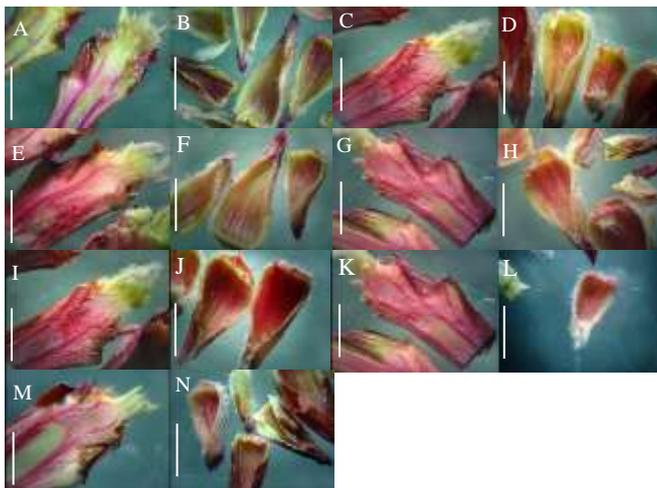


FIGURA 7 - Corte longitudinal de gemas com bases imersas em corante hidrofílico incubadas overnight para estudo da conectividade do xilema em experimento de brotação forçada de macieira. Gemas e escamas verdes de 'Gala Baigent' no tempo inicial (T0; A e B), após quatro dias (T1; C e D), sete dias (T2; E e F), 11 dias (T3; G e H), 14 dias (T4; I e J), 18 dias (T5; K e L) e 21 dias (T6, M e N). Barras brancas correspondem a 5 mm.

'Royal Gala' apresentou maior captação nas gemas e nas escamas verdes a partir de T4 (Figura8).

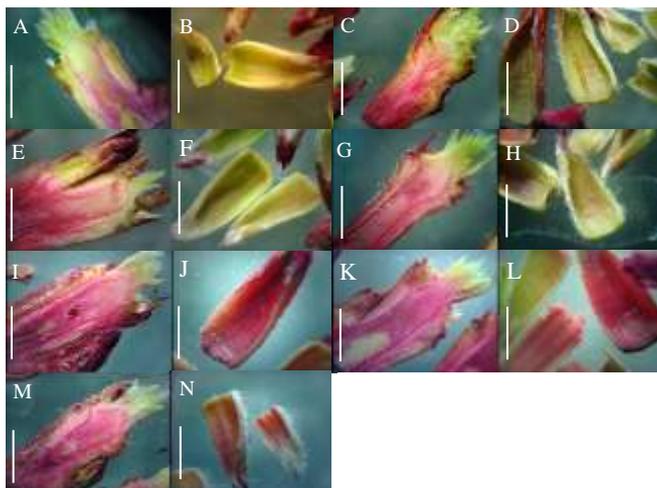


FIGURA 8 - Corte longitudinal de gemas com bases imersas em corante hidrofílico incubadas overnight para estudo da conectividade do xilema em experimento de brotação forçada de macieira. Gemas e escamas verdes de 'Royal Gala' no tempo inicial (T0; A e B), após quatro dias (T1; C e D), sete dias (T2; E e F), 11 dias (T3; G e H), 14 dias (T4; I e J), 18 dias (T5; K e L) e 21 dias (T6, M e N). Barras brancas correspondem a 5 mm.

A cultivar Royal Gala com aplicação de CH teve captação do corante a partir de T3, porém, com maior

intensidade a partir de T4. Observou-se que as gemas com aplicação de CH tiveram antecipação na captação do corante hidrofílico em relação às gemas da mesma cultivar sem aplicação do agente químico, indicando o aumento da conectividade do xilema.

A partir de T5, observaram-se algumas gemas e escamas verdes com coloração acobreada indicando a necrose dos tecidos (Figura 9). Acredita-se que tal necrose ocorreu devido ao excesso de aplicação da CH a qual eleva a atividade respiratória, o que pode produzir excesso de energia levando a queima do tecido [23].



FIGURA 9 - Corte longitudinal de gemas com bases imersas em corante hidrofílico incubadas overnight para estudo da conectividade do xilema em experimento de brotação forçada de macieira. Gemas e escamas verdes de 'Royal Gala' com aplicação de cianamida hidrogenada no tempo inicial (T0; A e B), após quatro dias (T1; C e D), sete dias (T2; E e F), 11 dias (T3; G e H), 14 dias (T4; I e J), 18 dias (T5; K e L) e 21 dias (T6, M e N). Barras brancas correspondem a 5 mm.

4. CONCLUSÕES

Em gemas de macieira ecodormentes, a captação de água para brotação aumenta após exposição às condições favoráveis. A aplicação de cianamida hidrogenada para 'Royal Gala', em condições controladas, mostra-se eficiente na indução do transporte de água em gemas. Gemas dormentes de macieira mostram baixa indução ao transporte de água.

Nos estádios de endodormência e ecodormência não há diferença na captação de água em gemas sendo necessário realizar estudos posteriores. Os dados não permitem confirmar se a fucsina ácida é um marcador para os estádios de dormência.

5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos pesquisadores Dr. Henrique Pessoa dos Santos no auxílio com os experimentos e o Dr. Paulo Ricardo Dias de Oliveira pela assistência em relação

aos pomares. À pesquisadora Dr^a. Ana Beatriz Costa Czermainski com os cálculos estatísticos e dados de horas de frio. Ao Clovis Vanin de Mello e Tiago de Vargas Pacheco pelo auxílio nas coletas no campo. Ao Daniel Antunes Souza pelo material de laboratório cedido e ao Thiago Sacchett pelo tratamento das fotos.

6. REFERÊNCIAS

- [1] LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA. Rio de Janeiro: IBGE v. 25 n. 2, p. 1-88, 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201202.pdf>. Acesso em: 16 mai. 2013.
- [2] PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; POLA, A.C. Dormência e Indução da Brotação da Macieira. **Manual da Cultura da Macieira**. EPAGRI, p. 261-298, 2006.
- [3] LANG, G.A.; EARLY, J.D.; MARTIN, G.C.; DARNELL, R.L. Endodormancy, Paradormancy and Ecodormancy: Physiological Terminology and Classification for Dormancy Research. **Hort Science**, v. 22, p. 371-377, 1987.
- [4] HORVATH, D.P.; CHAO, W.S.; FOLEY, M.E. Knowing When to Grow Signals Regulating Bud Dormancy. **Trends in Plant Science**, v. 8, n. 11, p. 534-540, 2003. Disponível em: <<http://naldc.nal.usda.gov/download/48125/PDF>>. Acesso em: 16 mai. 2013.
- [5] ROHDE, A.; BHALERAO, R.P. Plant Dormancy in the Perennial Context. **Trends In Plant Science**, v.12, p. 217-223, 2007.
- [6] 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**, v. 47, n. 6, p. 738-741, 2007. Disponível em: <http://www.cpatas.embrapa.br/public_eletronica/downloads/OPB1243.pdf>. Acesso em: 16 mai. 2013.
- [7] MIELE, A. Efeito da Cianamida Hidrogenada na Quebra de Dormência das Gemas, Produtividade do Vinhedo e Composição Química do Mosto da Uva Cabernet Sauvignon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 315-324, 1991.
- [8] DENARDI, F.; SECCON, J.J. 'Castel Gala' – Mutação da Macieira 'Gala' com Baixa Necessidade de Frio e Maturação Precoce. **Revista Agropecuária Catarinense**, v. 18, n. 2, p. 78-82, 2005.
- [9] ANZANELLO, R. **Fisiologia e Modelagem da Dormência de Gemas em Macieira**. 281 f. 2012. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
- [10] UMEBAYASHI, T.; UTSUMI, Y.; KOGA, S.; INOUE, S.; SHIIBA, Y.; ARAKAWA, K.; MATSUMURA, J.; ODA, K. Optimal Conditions for Visualizing Water-Conducting Pathways in a Living Tree by Dye Injection Method. **The Plant Cell**, v. 27, p. 993-999, 2007.
- [11] FAÏ, E.; VACHER, V.; HUMBERT, F. Water-related Phenomena in Winter Buds and Twigs of *Picea abies* L. (Karst.) until Bud-burst: A Biological, Histological and NMR Study. **Annals of Botany**, v. 86, p. 1097-1107, 2000. Disponível em: <<http://aob.oxfordjournals.org/content/86/6/1097.full.pdf#page=1&view=FitH>>. Acesso em: 8 jun. 2013.
- [12] RINNE, P.L.; WELLING, A.; VAHALA, J.; RIPEL, L.; RUONALA, R.; KANGASJÄRVI, J.; VAN DER SCHOOT, C. Chilling of Dormant Buds Hyperinduces FLOWERING LOCUS T and Recruits GA-Inducible 1,3-β-Glucanases to Reopen Signal Conduits and Release Dormancy in *Populus*. **The Plant Cell**, v. 23, p. 130-146, 2011. Disponível em: <<http://www.plantcell.org/content/23/1/130.full.pdf#page=1&view=FitH>>. Acesso em: 8 jun. 2013.
- [13] SETTIMI, L.; MARCELLO, I.; DAVANZO, F.; FARAONI, M.D.; MICELI, G.; RICHMOND, R.; CALVERT, G.M.; Update: Hydrogen Cyanamide – Related Illnesses – Italy, 2002-2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 54, n. 16, p. 405-408, 2005. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5416a3.htm>>. Acesso em: 30 mai. 2013.
- [14] WEINBERGER, J.H. Chilling requirements of peach varieties. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 56, p. 122-128, 1950.
- [15] IUCHI, V. L. Botânica e fisiologia. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2006. p. 59-104.
- [16] TREJO-MARTÍNEZ, M.A.; OROZCO, A.J.; ALMAGUER-VARGAS, G.; CARVAJAL-MILLÁN, E.; GARDEA, A.A. Metabolic activity of low chilling grapevine buds forced to break. **Thermochimica Acta**, v. 481, p. 28-31, 2009.
- [17] SMITH, A.M.; COUPLAND, G.; DOLAN, L.; HARBERD, N.; JONES, J.; MARTIN, C.; SABLowski, R.; AMEY, A. **Plant Biology**. 1ª Ed. New York: Garland Science, 2010. p. 679-437- 483, 2010.
- [18] RINNE, P.; TUOMINEN, H.; JUNTILA, O. Seasonal changes in bud dormancy in relation to bud morphology, water and starch content, and abscisic acid concentration in adult trees of *Betula pubescens*. **Tree Physiology**, v. 14, p. 549-561, 1993.
- [19] WELLING, A.; RINEE, P.; VIHÉRÄ-AARNIO, A.; KONTUNEN-SOPPELA, S.; HEINO, P.; PALVA, E.T. Photoperiod and temperature differentially regulate the expression of two dehydrin genes during overwintering of birch (*Betula pubescens* Ehrh.). **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 396, p. 507-516, 2004.
- [20] MAUREL, K.; LEITE, G.B.; BONHOMME, M.; GUILLIOT, A.; PETEL, G.; SAKR, S. Trophic Control of Bud Break in Peach (*Prunus persica*) Trees: A Possible Role of Hexoses. **Tree Physiology**, v. 24, p. 579-588, 2004.
- [21] VIÉMONT, J. D. CRABBÉ, J.WATER. Dormancy in plants: from whole plant behaviour to cellular control. 1ª ed. Cambridge: CABI publishing, 2000. p. 109-120.
- [22] MARAFON, A.C.; HERTER, F.G.; HAWERROTH, F.J. Umidade ponderal em tecidos de pereira durante o período de dormência sob condições de inverno ameno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.9, p.1006-1012, 2011.
- [23] OPHIR, R.; PANG, X.; HALALY, T.; VENKATESWARI, J.; LAVEE, S.; GALBRAITH, D.; OR, E. Gene-expression profiling of grape bud response to two alternative dormancy-release stimuli expose possible links between impaired mitochondrial activity, hypoxia, ethylene-ABA interplay and cell enlargement. **Plant Molecular Biology**, n. 71, 403-423, 2009.