

LUCAS DE ROSS MARCHIORETTO

**EFICÁCIA E MODO DE AÇÃO DE DIFERENTES PRINCÍPIOS USADOS COMO
RALEANTES DE FLORAÇÃO EM MACIEIRAS ‘FUJI MORE’**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Dra. Andrea De Rossi.

**LAGES
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC

De Ross Marchioretto, Lucas

Eficácia e modo de ação de diferentes princípios
usados como raleantes de floração em macieiras 'Fuji
More' / Lucas De Ross Marchioretto. - Lages , 2018.
97 p.

Orientadora: Andrea De Rossi

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal, Lages, 2018.

1. Fecundação. 2. Raleantes cáusticos. 3. Antese.
4. Reguladores de crescimento. I. De Rossi, Andrea.
II. Universidade do Estado de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação. III. Título.

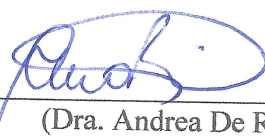
LUCAS DE ROSS MARCHIORETTO

**EFICÁCIA E MODO DE AÇÃO DE DIFERENTES PRINCÍPIOS USADOS COMO
RALEANTES DE FLORAÇÃO EM MACIEIRAS 'FUJI MORE'**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Banca Examinadora:

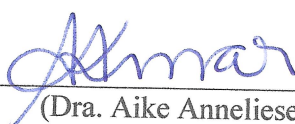
Orientadora: _____



(Dra. Andrea De Rossi)

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Uva e Vinho

Membro Interno: _____



(Dra. Aike Anneliese Kretzschmar)

Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV/UEDESC

Membro Externo: _____



(Dr. Alberto Fontanella Brighenti)

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI

Lages, 31 de julho de 2018.

AGRADECIMENTOS

A Deus, força onipresente que nos guia e nos guarda.

A meus pais, pelo apoio incondicional para a realização da pós-graduação.

A minha orientadora, Andrea De Rossi, por me dar a oportunidade de trabalhar na área de fitotecnia, pelo apoio dado, bem como pelo ensinamento e dedicação.

Aos colegas de laboratório e aos colaboradores da Embrapa Uva e Vinho, pela ajuda na condução do experimento a campo, bem como pela parceria e pelos momentos de descontração.

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias da UDESC – Lages/SC e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, por propiciarem uma formação de alta qualidade aos seus alunos.

Aos professores do CAV-UDESC, pela dedicação nas aulas em transmitir conhecimento, indispensável em minha formação.

A EMBRAPA Uva e Vinho e à RASIP – Vacaria/RS, por toda a infraestrutura necessária a realização desse trabalho.

A CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

RESUMO

O cultivo de macieira tem crescido no sul do Brasil, em virtude do aumento do consumo interno da fruta. Com isso, cada vez mais os consumidores brasileiros vêm buscando frutos de maior qualidade e apelo visual do fruto. A principal forma de aumentar o tamanho e a qualidade de frutos é através do raleio de frutos. O raleio de flores, é o método mais efetivo em diminuir a competição entre órgãos produtivos e vegetativos na planta na fase inicial do desenvolvimento dos frutos que é o momento de intensa divisão celular. Com a diminuição da competição nessa fase, assegura-se maior multiplicação celular e tamanho de frutos. Por isso o raleio de flores tem sido amplamente estudado em diversas regiões produtoras ao redor do mundo; entretanto, no Brasil, quase não há informações a respeito do raleio feito durante a antese de macieira, por isso o objetivo desse trabalho foi avaliar o mecanismo de ação e a eficácia de diversos compostos para o raleio de flores 'Fuji More'. Para isso, realizou-se três experimentos: efeito de tratamentos sobre a germinação *in vitro* de pólen e germinação *in vivo* de pólen e o efeito dos tratamentos aplicados a campo sobre a produção e a qualidade de frutos. Os tratamentos utilizados nos três experimentos foram: calda sulfocálcica isolada e associada ao óleo mineral, GA₄₊₇ + benziladenina, benziladenina isolada, ácido naftaleno acético, óleo mineral, óleo vegetal, tiosulfato de amônio, uréia, diamônio fosfato, monoamônio fosfato e fertilizante foliar CT Green[®]. Os compostos cáusticos foram efetivos em diminuir a germinação de pólen *in vitro*, especialmente ambos os tratamentos contendo calda sulfocálcica; enquanto que os compostos cáusticos e o óleo mineral e vegetal interferiram no desenvolvimento dos tubos polínicos no pistilo, na germinação *in vivo* de grãos de pólen. Além disso, o tiosulfato de amônio foi o único tratamento com efeito realmente cáustico, enquanto que a calda sulfocálcica e os óleos mineral e vegetal paralisaram o crescimento do tubo polínico, no pistilo, em estádios mais avançados de crescimento, mas sem impedir a germinação. Quando utilizados a campo, os reguladores de crescimento foram efetivos em promover o raleio e aumentar a qualidade de frutos, enquanto que os tratamentos óleo mineral e tiosulfato de amônio reduziram a carga de frutos, mas não aumentaram a qualidade dos frutos.

Palavras-chave: Fecundação. Raleantes cáusticos. Antese. Reguladores de crescimento.

ABSTRACT

The cultivation of apple tree has grown in the south of Brazil, due to the increase of the internal consumption of the fruit. With this, more Brazilian consumers are seeking higher quality fruits and visual appeal of the fruit. The main way to increase fruit size and quality is through fruit thinning. The flower thinner is the most effective method to decrease the competition between productive and vegetative organs in the plant in the early stage of fruit development, which is the moment of intense cell division. With the decrease of competition in this phase, greater cell multiplication and fruit size are ensured. Therefore, flower blossoms have been extensively studied in several producing regions around the world; however, in Brazil, there is almost no information about the thinning made during the anthesis of apple tree, so the objective of this work was to evaluate the mechanism of action and efficacy of several compounds for the 'Fuji More' flower blossoms. For this, three experiments were carried out: effect of treatments on the *in vitro* germination of pollen, and *in vivo* germination of pollen, and the effect of the treatments applied on the field on the production and the quality of fruits. The treatments used in the three experiments were: Lime sulphur isolated and associated with mineral oil, GA₄₊₇+ benzyladenine, benzyladenine isolated, naphthalene acetic acid, mineral oil, vegetable oil, ammonium thiosulfate, urea, diammonium phosphate, monoammonium phosphate and foliar fertilizer CT Green[®]. The caustic compounds were effective in decreasing the germination of pollen *in vitro*, especially both treatments containing lime sulphur; while caustic compounds and mineral and vegetable oil interfered in the development of pollen tubes in the pistil, in the *in vivo* germination of pollen grains. In addition, ammonium thiosulfate was the only treatment with a truly caustic effect, while lime sulphur and mineral and vegetable oils paralyzed the growth of the pollen tube in the pistil at later stages of growth, but did not prevent germination. When used in the field, growth regulators were effective in promoting thinning and increasing fruit quality, while mineral oil and ammonium thiosulfate treatments reduced fruit load but did not increase fruit quality.

Key words: Fecundation. Caustic thinners. Anthesis. Growth regulators.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Etapas da elaboração do experimento 1 (germinação *in vitro* de pólen de macieira ‘Maxi Gala’). A) Coleta de flores em estádio de balão rosado, no dia 5/10/2017. B) Tesoura com furo de 5 mm de diâmetro utilizada para remoção das pétalas e sépalas. C) Pente utilizado para extração dos sacos polínicos. D) Câmara de secagem de pólen. E) Lâminas contendo discos de PVC para solidificação do meio de cultura. F) Borrifador utilizado para aplicação dos tratamentos. G) Os tratamentos foram armazenados em BOD a 25°C por 3 horas. H) Lâminas foram analisadas em microscópio ótico..... 39
- Figura 2 - Demonstração das etapas do percurso dos tubos polínicos de ‘Maxi Gala’ contados em pistilos de macieira ‘Fuji’ 42
- Figura 3 - Dados climáticos diários de temperaturas máxima e mínima, radiação solar incidente, umidade relativa e precipitação. Vacaria-RS, 2018..... 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos usados durante a germinação in vitro de pólen de macieira ‘Maxi Gala’. Vacaria-RS, 2018.....	40
Tabela 2 - Percentual de germinação de grãos de pólen de macieira ‘Maxi Gala’ em função dos diferentes compostos testados como raleantes. Vacaria-RS, 2018.....	45
Tabela 3 - Percentual de germinação de grãos de pólen na macieira ‘Gala’ em função da utilização de doses de diamônio e monoamônio fosfato como raleantes. Vacaria-RS, 2018.....	46
Tabela 4 - Percentual de óvulos fecundados em função dos tratamentos e épocas de aplicação. Vacaria-RS, 2018.....	49
Tabela 5 - Percentual de tubos polínicos em diferentes etapas do percurso do gineceu de flores de macieira ‘Fuji More’ em função de doses de diamônio fosfato e épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.....	53
Tabela 6 - Percentual de tubos polínicos em diferentes etapas do percurso do gineceu de flores de macieira ‘Fuji More’ em função de doses de monoamônio fosfato e épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.....	54
Tabela 7 - Percentual de tubos polínicos em diferentes etapas do percurso do gineceu de flores de macieira ‘Fuji More’ em função dos tratamentos monoamônio fosfato e diamônio fosfato em diferentes épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.....	55
Tabela 8 - Percentual de óvulos fecundados em função dos tratamentos e épocas de aplicação em função de doses de monoamônio fosfato e épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.....	56
Tabela 9 - Percentual geral de óvulos fecundados em flores de macieira ‘Fuji More’ em função dos tratamentos monoamônio fosfato e diamônio fosfato em diferentes épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.....	57
Tabela 10 - Compostos aplicados para o raleio de floração durante a antese da macieira ‘Fuji More’. Vacaria-RS, 2018.....	65
Tabela 11 - Efeito de compostos aplicados como raleantes durante a antese de ‘Fuji More’ nas variáveis carga de frutos, eficiência produtiva, número de frutos por planta, produção por planta e frutificação efetiva. Vacaria-RS, 2018.....	68
Tabela 12 - Efeito de doses dos tratamentos diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes durante a antese de ‘Fuji More’ nas variáveis carga de frutos, eficiência produtiva, número de frutos por planta, produção por planta e frutificação efetiva. Vacaria-RS, 2018.....	69
Tabela 13 - Percentual de frutos em inflorescências de macieira ‘Fuji More’ em função dos compostos aplicados como raleantes. Vacaria-RS, 2018.....	70
Tabela 14 - Percentual de frutos em inflorescências de macieira ‘Fuji More’ em função da aplicação de doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes. Vacaria-RS, 2018.....	71

Tabela 15 - Classes de tamanho e massa média de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função do efeito dos compostos aplicados como raleantes de flores. Vacaria – RS, 2018.....	76
Tabela 16 - Classes de massa e massa média de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função do efeito de doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes de flores. Vacaria – RS, 2018.....	77
Tabela 17 - Percentual de coloração de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função dos compostos aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.....	80
Tabela 18 - Percentual de coloração de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função das doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.....	81
Tabela 19 - Incidência de russeting sobre a epiderme de macieira ‘Fuji More’ em função dos compostos aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.....	82
Tabela 20 - Incidência de russeting sobre a epiderme de macieira ‘Fuji More’ em função das doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.....	83

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	POLINIZAÇÃO E FECUNDAÇÃO DA MACIEIRA.....	21
2.2	DESENVOLVIMENTO DO FRUTO E AUTORREGULAÇÃO DA CARGA DE FRUTOS.....	22
2.3	MECANISMO DE AÇÃO DOS PRINCIPAIS RALEANTES QUÍMICOS.....	27
2.3.1	Raleantes polinizadas.....	27
2.3.2	Raleantes hormonais.....	30
3	CAPÍTULO I: EFEITO DE COMPOSTOS CÁUSTICOS E HORMONAIIS NA GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i> DE PÓLEN DE MACIEIRA ‘MAXI GALA’.....	35
3.1	RESUMO.....	35
3.2	ABSTRACT.....	35
3.3	INTRODUÇÃO.....	36
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.4.1	Experimento 1: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados na germinação <i>in vitro</i> de pólen de macieira ‘Maxi Gala’.....	37
3.4.2	Experimento 2: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados em flores de ‘Fuji’ na germinação <i>in vivo</i> de pólen de macieira ‘Gala’.....	40
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.5.1	Experimento 1: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados na germinação <i>in vitro</i> de pólen de macieira ‘Maxi Gala’.....	42
3.5.2	Experimento 2: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados em flores de ‘Fuji’ na germinação <i>in vivo</i> de pólen de macieira ‘Gala’.....	46
3.6	CONCLUSÃO.....	59
4	CAPÍTULO II: COMPOSTOS COM POTENCIAL AÇÃO RALEANTE DE FLORES NA DIMINUIÇÃO DA FRUTIFICAÇÃO EFETIVA E NA QUALIDADE DE FRUTOS DE MACIEIRA ‘FUJI MORE’.....	61
4.1	RESUMO.....	61
4.2	ABSTRACT.....	61
4.3	INTRODUÇÃO.....	62
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	63
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
4.6	CONCLUSÕES.....	84
4.7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84
	REFERÊNCIAS.....	87
	APÊNDICES.....	95

1 INTRODUÇÃO GERAL

O raleio químico de macieira, no Brasil, apresenta efeitos não consistentes, o que acarreta na complementação do manejo com raleio manual, o que eleva substancialmente os custos de produção. Raleantes cáusticos utilizados em floração, costumam ser eficientes, mas essa prática foi abandonada ao longo dos anos, devido à introdução no mercado de reguladores de crescimento com efeito raleante. Porém, mesmo com a utilização de compostos mais sofisticados, os resultados continuam sendo inconstantes e a utilização de substâncias capazes de promover o raleio de flores é uma opção a ser explorada para a integração de tais raleantes em programas de raleio, buscando-se assim aumentar as opções disponíveis para o produtor.

O raleio químico de frutos de macieira feito através de raleantes hormonais registrados para a cultura como: benziladenina (citocinina), promalin (Benziladenina + Ácido giberélico₄₊₇) e ácido naftaleno acético. Não obstante, esse tipo de raleio é normalmente empregado em pós floração, conforme as recomendações de bula dos produtos. Entretanto, esses agentes raleantes possuem resposta diferenciada conforme os anos, de modo que, em condições de clima com alta amplitude térmica (altas temperaturas diurnas e baixas temperaturas noturnas) e poucas nuvens e conseqüente alta radiação solar incidente, o efeito desses agentes raleantes tende a ter sua eficácia comprometida pela maior capacidade da planta em produzir e prover assimilados aos frutos em desenvolvimento. Em contraste, em dias nublados com noites quentes, o aporte de assimilados aos frutos em desenvolvimento tende a ser menor devido à alta taxa respiratória noturna e consumo significativo de parte desses assimilados, o que pode potencializar o efeito do agente raleante.

Produtores da região dos Campos de Cima da Serra - RS seguidamente enfrentam esses problemas, onde muitos optam pelo uso cauteloso de agentes raleantes químicos; e todos os anos, torna-se necessário o uso de raleio manual, o que eleva substancialmente o custo de produção, além de apresentar um efeito reduzido no aumento da qualidade, visto que o mesmo é realizado em estágio mais avançado do desenvolvimento do fruto.

Quando o raleio não é efetivo no controle da carga produtiva da macieira, além da obtenção de frutos de baixa qualidade (frutos pequenos quando não efetivo e de baixo valor comercial, ou muito grandes, que resultam em problemas de armazenagem e baixa produção), o ajuste deficiente do balanço fonte-dreno da planta a conduz inevitavelmente à alternância de produção.

Para que o raleio da macieira seja realizado de modo eficiente é preciso compreender os aspectos fisiológicos que ocorrem durante o crescimento e desenvolvimento do fruto da

macieira assim como durante a floração das plantas, conforme será apresentado nos parágrafos a seguir.

O fruto de macieira apresenta três fases principais de crescimento e desenvolvimento, que são: logo após a floração até aproximadamente dez dias após a fecundação, o crescimento do fruto ocorre somente por meio de divisão celular, e a taxa de crescimento acontece de forma exponencial; em um segundo momento, entre sete a dez dias até quatro a cinco semanas após a floração, o crescimento do fruto ocorre por multiplicação e expansão celular. Após esse período até a maturação do fruto, o crescimento ocorre somente via expansão celular que ocorreu nas fases de desenvolvimento anteriores (LAKSO; GOFFINET, 2013).

Durante o período de intensa divisão celular, a competição entre frutos em desenvolvimento juntamente com folhas e ramos ainda em desenvolvimento acarreta na diminuição da intensidade da divisão celular e dessa forma compromete o potencial de produção de uma planta, pois menos células estarão disponíveis para se expandirem e aumentar o tamanho de frutos. O raleio de frutos feito 30 dias após a antese diminuiu em 30 g o peso médio de frutos em comparação ao raleio manual realizado durante a plena floração; em adição, o peso final dos frutos de macieira foi mais afetado pela época do raleio do que pelo número de frutos deixados na planta (McARTNEY et al., 1996; LAKSO; GOFFINET, 2013). O raleio em plena flor também aumentou o teor de sólidos solúveis totais, cor vermelha e peso de fruto de macieira 'Elstar' (MELAND, 2009)

A macieira possui uma inflorescência do tipo corimbo com em média cinco a seis flores, e em cada inflorescência, há uma hierarquia estabelecida entre as flores dominantes e dominadas. A flor rainha, que fica localizada no lugar mais alto da inflorescência, é a primeira a emergir (1 a 2 dias antes que as outras) e essa estabelece um dreno de assimilados mais fortes que as outras flores de uma inflorescência. Esse fenômeno é controlado pela auxina que é exportada do embrião do fruto e isso inibe ou diminui o efluxo de auxina das outras flores, fazendo com que os níveis de etileno dessas aumentem, que elas tenham menor aporte de assimilados ou que sofram o processo de abscisão (JAKOPIC et al., 2015).

Apesar de toda tecnologia disponível para uso na cultura da macieira, o raleio químico de frutos ainda é o manejo mais imprevisível e pouco confiável que existe. Os primeiros raleantes descobertos foram justamente substâncias cáusticas como o fungicida sulfato de cobre ou até mesmo óleos emulsionáveis; com a evolução tecnológica e novas moléculas, especialmente a síntese de compostos que emulam ou interagem com hormônios endógenos possibilitou uma ampla gama de opções (KOLARIČ, 2010).

Como o raleio cáustico só é efetivo no momento da antese, sendo que se houver precipitação o efeito pode ser totalmente anulado. O tiosulfato de amônio apresenta uma janela de efetividade muito curta, sendo efetivo somente até quando os tubos polínicos apresentem crescimento de até 50% do tamanho do pistilo, depois da polinização, e dessa forma o produto pode paralisar o crescimento do tubo polínico (MAAS, 2016). A estratégia correta para a aplicação de raleantes cáusticos seria permitir que a flor rainha da inflorescência da macieira fosse polinizada, e então a aplicação seria realizada para eliminar as outras flores. Atenção deve ser dada a possível ocorrência de russeting provocado por esse tipo de manejo (GREENE, 2002).

A vantagem dos raleantes hormonais utilizados em pós-floração é justamente a sua flexibilidade, podendo ser utilizado desde a antese até em frutos com 20 mm. Todavia, o efeito destes raleantes é extremamente dependente de condições ambientais, em situações de dias com alta incidência de radiação solar e alta amplitude térmica, o efeito de uma dose fixa registrada do produto pode não trazer os benefícios esperados e o uso de raleio manual pode ser necessário (GREENE, 2002; LAKSO et al., 2006). Uma estratégia seria a combinação do uso de raleantes cáusticos durante a antese (após a flor rainha estar polinizada) e em pós-florada o uso de raleantes hormonais na melhora substancial do peso e qualidade de frutos de macieira (BOUND; WILSON, 2007).

Há basicamente três formas diretas de ação dos raleantes cáusticos. A primeira ocorre quando o agente entra em contato direto com o pólen e inibe sua germinação ou detém seu crescimento (polinicias). A segunda ocorre pelo dano do agente causal sobre o estigma floral, impedindo que o tubo polínico consiga penetrar pelo estilo. De forma similar à segunda, a terceira maneira ocorre quando se aplicam produtos à base de óleos emulsionáveis ou certos tipos de espalhantes-adesivos que criam uma camada sobre o estigma e bloqueiam o acesso do tubo polínico no estilo (EMBREE; FOSTER, 1999; MYRA et al., 2006). Há ainda um quarto efeito, indireto sobre o raleio, que os agentes cáusticos e oleosos causam é a redução temporária da taxa fotossintética das folhas, o que leva à redução da produção de fotoassimilados (LENAHAN; WHITING, 2006; McARTNEY et al., 2006).

Embree e Foster (1999) reportaram que fertilizantes como uréia, fosfato monoamônico e tiosulfato de amônio foram efetivos na inibição da germinação de pólen de macieira sobre os estigmas das flores, e alguns adjuvantes espalhantes adesivos coibiram a germinação de boa parte dos grãos de pólen. Já Myra et al. (2006) reportaram grande efetividade como polinicias o tiosulfato de amônio e a calda sulfocálcica.

Com isso, o objetivo geral desse trabalho foi avaliar o mecanismo de ação de compostos com potencial de utilização em raleio de flores de macieira ‘Fuji More’, em experimentos de germinação *in vitro* e *in vivo* de pólen de ‘Maxi Gala’, bem como o efeito dos tratamentos quando aplicados nas árvores à campo para o ajuste da carga de frutos e aumento da qualidade dos frutos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 POLINIZAÇÃO E FECUNDAÇÃO DA MACIEIRA

A antese compreende o momento no qual as anteras são expostas e os grãos de pólen são liberados das mesmas. No mesmo momento, ou nos dias posteriores, os óvulos amadurecem e ficam receptivos à fecundação pelo grão de pólen germinado. A polinização consiste na transferência dos grãos de pólen das anteras para o estigma, que criará um ambiente propício para a germinação do pólen e o crescimento do tubo polínico através do gineceu, até que este encontre a micrópila de cada óvulo e o fecunde. O tubo polínico transporta dois núcleos generativos que irão fecundar os óvulos (um núcleo fecunda o embrião e o outro o endosperma) e um núcleo vegetativo que desce primeiro e orienta o crescimento do tubo polínico (RAMIREZ; DAVENPORT, 2013). O pólen consiste de uma estrutura haploide rica em lipídeos, que são utilizados como fonte de energia para a germinação e o crescimento do tubo polínico até a micrópila do ovo (JACKSON, 2003). Em adição, quando humedecido o pólen adquire formato globular; é pesado e dificilmente consegue ser carregado pelo vento (RAMIREZ; DAVENPORT, 2013).

A formação do fruto começa através da polinização quando os óvulos são fecundados, formando o embrião. Morfologicamente, a estrutura floral básica consiste de um conjunto de sépalas que formam o cálice, as pétalas que formam a corola. No centro dessas estruturas, encontram-se os estames, que são formados por um filamento e uma antera com dois lóbulos, sendo que cada lóbulo contém dois sacos polínicos onde o pólen é formado. O carpelo é formado pelo ovário, que armazena os óvulos, o estilo, que forma o caminho condutor do tubo polínico aos lóculos onde encontram-se os óvulos, é formado basicamente por células alongadas e ao topo o estigma, que durante a antese secreta uma substância pegajosa que adere o pólen e permite sua germinação. Os óvulos são conectados à parede do carpelo via placenta. Cada óvulo é composto de um núcleo envolto por dois tegumentos que em sua união há uma estrutura chamada de micrópila que consiste em um pequeno orifício que permite a entrada do tubo polínico. Os tegumentos com os óvulos são ligados à placenta por uma pequena haste chamada funículo, cuja união entre os tegumentos com a placenta é chamada de calaza (WERTHEIM; SCHMIDT, 2005).

As flores abrem em momentos diferentes, de acordo com sua posição na inflorescência. As flores rainhas, abrem primeiro, enquanto que as flores laterais abrem de um a três dias depois da rainha, afetando o comportamento da polinização. Losada e Herrero (2013) reportaram que

as flores rainhas ficam receptivas ao pólen por quatro dias após a antese, porém com alta taxa de germinação de pólen no estigma; enquanto que as flores laterais tiveram menor taxa de germinação nesse período (antese). Entretanto, quando a polinização foi realizada três dias após a antese a situação foi oposta, com as flores rainhas mostrando baixa taxa de germinação de pólen no estigma e as flores laterais com maior taxa de germinação. As flores rainhas puderam manter grãos de pólen aderidos sob o estigma por dois dias, enquanto que as flores laterais por seis dias após a antese. Em adição, o gineceu de flores rainhas é significativamente mais pesado que o de flores laterais. Com tudo isso, os autores encontraram maior frutificação efetiva em flores rainhas que em flores laterais.

A temperatura durante a antese e nos dias subsequentes também apresenta grande influência sobre a taxa de crescimento do tubo polínico e o sucesso da fecundação. Por exemplo, para a macieira ‘Cox’ apresentar o maior número de tubos polínicos de pólen de ‘Golden Delicious’ na base do estilo foi necessário de 5, 8 e 14 dias após a polinização nas temperaturas de 15°C, 10°C e 5°C (PETROPOULOU; ALSTON, 1998).

2.2 DESENVOLVIMENTO DO FRUTO E AUTORREGULAÇÃO DA CARGA DE FRUTOS

Após a fecundação, o embrião e o endosperma começam a se desenvolver e o tamanho do ovário aumenta substancialmente em pouco tempo. Nesse primeiro momento de intensa divisão celular, não há formação de parede celular nas células, sendo essa divisão celular inicial totalmente em meio fluido. Enquanto o embrião está crescendo rapidamente, o endosperma permanece quase sem nenhum crescimento, quando aos 60 dias após a fecundação, o tamanho máximo do embrião é atingido. (TROMP; WERTHEIM, 2005).

No momento de intensa divisão celular, no estágio fenológico de queda de pétalas, o crescimento do fruto ocorre somente por divisão celular; após esse período, o crescimento do fruto ocorre por divisão celular e expansão, até a sexta semana após o estágio de queda de pétalas, e então até o momento da colheita, o crescimento ocorre somente via expansão celular (LAKSO; GOFFINET, 2013). Ainda segundo os autores, os frutos em desenvolvimento competem entre si por assimilados, sendo que quando a competição ocorre entre demasiados frutos, o período de divisão celular é abreviado, e o potencial de crescimento do fruto é diminuído, pois o peso do fruto é determinado pelo número de células que contém, e não pelo tamanho dessas células. Bergh (1992) encontrou grande correlação entre raleio manual precoce (antese) e aos 50 dias após a antese, em que o primeiro propiciou substancial aumento na

qualidade de frutos em comparação com o raleio tardio, além de melhor retorno de florada na estação seguinte.

Os frutos de macieira são submetidos a três grandes momentos de ajuste da carga de frutos: o primeiro ocorre uma a duas semanas após a antese; o segundo de quatro a seis semanas após a antese, ocorrendo nessa fase a maior quantidade de queda de frutos, e uma terceira próxima da colheita (KORALIC, 2010).

Dentro de uma inflorescência de macieira, o padrão de abscisão natural ocorre abruptamente, entre uma e duas semanas após a antese, quando o fruto está prestes a sofrer abscisão, seu crescimento é paralisado, porém isso depende da cultivar em questão. A cultivar ‘Fuji’ mesmo tendo o crescimento de alguns frutos severamente diminuído, estes são pouco propensos à abscisão. Porém, o fator que determina maior propensão dessa cultivar à abscisão dos frutos é a menor presença de folhas em uma estrutura produtiva (brindila ou esporão), sendo este o fator determinante no padrão de abscisão; assim, a regulação da carga de frutos é feita pela planta em cada inflorescência com base na “força da fonte” em suprir os drenos, e no caso de ‘Fuji’, esta possui alta capacidade de suprir seus frutos com assimilados (IWANAMI et al., 2012). Ainda segundo os mesmos autores, não há uma relação clara de competição entre crescimento vegetativo e abscisão floral, mas sim na presença de muitas folhas nos cachos florais, que dificultam a abscisão floral.

Acredita-se que a competição entre frutos seja devido à restrição de carboidratos no início da primavera. Durante o início da brotação, a macieira conta somente com as reservas armazenadas na safra anterior. Entretanto, aproximadamente um terço dessas reservas são efetivamente disponibilizadas para o crescimento inicial. Concomitantemente ao início da brotação, ocorre a floração, porém as fases de maior demanda por carboidratos pela planta ocorrem a três semanas após a antese, pois os frutos estão em intensa divisão celular, juntamente com os ramos e folhas, sendo que essas ainda não estão totalmente expandidas; o outro momento de grande estresse por sub suprimento de carboidratos ocorre antes da colheita, quando as temperaturas caem juntamente com a luminosidade, no caso de variedades tardias (LAKSO et al., 1999).

Até a terceira semana após a antese, os ramos em crescimento e as folhas de macieira ainda são incapazes de exportar assimilados para os frutos, pois nessa fase há intensa divisão celular e assim grande consumo da produção de assimilados. Os ramos do ano se tornam fonte de assimilados quando possuem aproximadamente nove a 17 folhas, quando plenamente expostos à luminosidade. Na quinta semana após a antese, quando os ramos apresentam entre 13 e 22 folhas, o suprimento de assimilados aos frutos é substancialmente aumentado. Em

relação aos esporões, há exportação de assimilados armazenados da estação anterior para os frutos até a quinta semana após a antese, porém em esporões expostos à luminosidade, com poucos frutos ou com pelo menos oito folhas exportam assimilados para os frutos pela terceira semana após a antese; em situação oposta, esporões com menos folhas, muitos frutos ou sombreados, possuem alta demanda de assimilados armazenados (CORELLI-GRAPPADELLI et al., 1994). Por isso, o raleio precoce assegura melhor balanço entre fonte e demanda por assimilados dentro de cada inflorescência, reduz o tempo de competição entre partes vegetativa e produtiva, e aumenta o potencial de produção de frutos maiores.

Fatores climáticos como altas temperaturas e/ou pouca luminosidade, como encontrado em dias nublados favorecem a queda acentuada de frutos de macieira em dois a cinco dias posteriores, especialmente quando os frutos apresentam entre 10 e 15 mm, quando apresentam maior susceptibilidade à queda natural. Isso ocorre devido a menor produção de assimilados (baixa luminosidade) e alto consumo promovido pela alta taxa respiratória (temperatura elevada), sob essas condições climáticas e a intensa demanda por assimilados pela planta. Todavia, em situação reversa, com temperaturas moderadas e alta luminosidade, ocorre o inverso, com alta produção e suprimento de assimilados aos frutos e ramos em crescimento (LAKSO; ROBINSON, 2015).

Segundo Lakso e Goffinet (2013) ramos em crescimento somente se tornam autossuficientes no suprimento de assimilados quando apresentam entre 10 e 12 folhas, e as folhas basais estão aptas a exportar carboidratos para os frutos. O suprimento inicial de assimilados é feito pelas folhas presentes na base das inflorescências dos esporões. Entretanto, quando sombreados, os ramos mais de 20 folhas irão exportar seus carboidratos para o meristema apical, ao invés do fruto em crescimento. Kondo e Takahashi (1987) também encontraram respostas similares, onde sob altas temperaturas noturnas aos 27 e 34 dias após a antese, os ramos de macieira continuaram crescendo, mas o crescimento dos frutos cessou. Sempre que houver uma situação de estresse como no caso de pouca luminosidade, a prioridade da planta de macieira será o crescimento de ramos ao invés do crescimento de frutos (BEPETE; LAKSO, 1998).

Comportamento similar foi encontrado em um experimento com macieira ‘Starking Delicious’ onde as plantas foram submetidas a altas temperaturas noturnas e outras ao sombreamento, tiveram seu padrão de abscisão aumentado em ambas condições, mas a susceptibilidade foi maior em momentos diferentes. Aos 20 dias após a antese (DAA), elevadas temperaturas noturnas não interferiram expressivamente no padrão de queda de flores, mas o sombreamento aumentou a abscisão em 90% entre 3 e 5 dias mais tarde; aos 27 DAA, a alta

temperatura noturna promoveu 34% mais abscisão floral (após oito dias) em relação ao controle (temperatura noturna normal), e após o sombreamento, tiveram aumento de 34% no padrão de queda de flores, três a cinco dias mais tarde; aos 34 DAA, houve aumento de 12 e 22% na queda de flores com alta temperatura noturna e sombreamento, respectivamente, cinco dias mais tarde (KONDO; TAKAHASHI, 1987).

Há relação entre o aumento de temperaturas noturnas em estádios iniciais de desenvolvimento do fruto (período de intensa divisão celular) e aumento nos níveis de produção de etileno, pois macieiras submetidas a temperaturas noturnas médias de 24,1 °C por sete dias, apresentam queda de 46% dos frutos, enquanto que em planas tratadas com AVG (inibidor da síntese de etileno) 14% dos frutos sofreram abscisão, ficando evidente que quanto maior foi a temperatura, maior foi a produção de etileno e maior foi a taxa de abscisão de frutos (KONDO; TAKAHASHI, 1987). O suprimento de carboidratos das folhas para os frutos é insuficiente no período entre 15 e 20 dias após a antese, indicando ser esse o período de maior susceptibilidade à abscisão, na macieira (LAKSO, et al., 1998).

A dinâmica de dominância vegetal é diferente do que ocorre entre as partes produtivas em relação às vegetativas, como explicado em detalhes a seguir. As inflorescências de macieira possuem hierarquia de dominância, começando da flora rainha, que é dominante, descendo até as flores mais basais da inflorescência do tipo corimbo, enquanto que o mecanismo de senescência das folhas não pode ser descrito como tal, pois em folhas velhas e em frutos maduros que não são órgãos em crescimento e desenvolvimento, mas órgãos que cessaram o crescimento, a ativação da zona de abscisão ocorre pelo aumento dos níveis de etileno devido à diminuição dos níveis de auxina. Já a abscisão de frutos pequenos no início da estação, pode não ser provocada diretamente pelo aumento dos níveis endógenos de etileno, ou diminuição dos níveis de auxina, que após a fecundação aumenta substancialmente. Dessa forma, o mecanismo envolvido não está diretamente ligado a relação etileno:auxina para a ativação da zona de abscisão. Nesse modelo de abscisão correlativa, os frutos dominantes (fruto central da macieira) diminuem a taxa de exportação de auxina dos frutos laterais, que têm sua taxa de crescimento diminuída; isso é afetado dependendo de quanto tempo a flor rainha abriu antes que as outras (Quanto maior o tempo, maior é a dominância), o número de sementes dos frutos, o vigor de ramos próximos e o número de frutos nas inflorescências (todos estes fatores produzem auxina). Essa dominância correlativa exercida por órgãos dominantes ocorre quando o fluxo de auxina de uma flor dominada encontra a rota do fluxo de auxina da flor dominante, ocorrendo um aumento nos níveis de etileno, que agem degradando ou inibindo a síntese de transportadores de auxina, que a transportam de célula a célula, da flor dominada fazendo assim

com que os níveis de auxina na base do pedicelo, próximo à zona de abscisão aumentem, impedindo o aumento do etileno. É provável que a abscisão de frutos dominados seja promovida quando a auxina tem seu transporte auto inibido (pela flor rainha) e ocorre aumento nos níveis de ácido abscísico (ABA), sendo este diretamente envolvido na ativação da biossíntese de ACC e etileno. Isso pode ser confirmado pois quando a flor rainha é removida, os níveis de ABA diminuem, já quando a inflorescência é tratada com inibidores do transporte de auxina, os níveis de ABA aumentam (BANGERTH, 2000).

Frutos dominados em uma inflorescência apresentam crescimento estagnado devido ao menor aporte de assimilados levando a uma situação de estresse, comprovado pelo aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio no córtex do fruto. Com isso, mesmo em frutos já destinados à abscisão há aumento de compostos antioxidantes como o isopreno, especialmente em frutos mais suscetíveis. Frutos com tendências maiores à abscisão apresentam níveis mais elevados de ABA e de isopreno. É importante salientar que o isopreno está envolvido na biossíntese de ABA via rota de carotenoides; assim, a diminuição do aporte de assimilados aos frutos dominados leva-os a uma condição de estresse, que promove o aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), dessa forma cria-se uma resposta genética para a biossíntese de isopreno e outros antioxidantes para neutralizar os efeitos tóxicos das ROS, mas o isopreno também faz parte da rota de biossíntese de ABA, aumentando seus níveis. Os níveis elevados desse hormônio promovem a biossíntese de ACC e etileno, levando à ativação da zona de abscisão. A presença de isopreno ocorre somente quando o fruto é jovem e ainda sintetiza clorofila, à medida que envelhece seu nível decai (ECCHER, et al., 2013). Isso pode explicar em parte a maior propensão de o ajuste da carga de frutos ocorrer nessa fase inicial na cultura da macieira.

Além do efeito da temperatura sobre as reservas de carboidratos nas plantas de macieira, a quantidade de radiação solar atingindo o dossel das plantas também possui grande efeito. Um método de raleio de frutos de macieira muito efetivo é com o uso de herbicidas inibidores do fotossistema I ou II, que causam diminuição da fotossíntese e produção de assimilados. Efeito similar a isso é obtido com o sombreamento do dossel (90% de sombra) por cinco dias. Porém em condições naturais, dias nublados ou chuvosos podem diminuir de 85% a 90% o fluxo de fótons entre o fotossistema I e II, podendo causar abscisão de frutos aproximadamente três dias após o evento, pela diminuição da produção de assimilados. É importante ressaltar que a suscetibilidade de abscisão é relacionada com o estágio de desenvolvimento dos frutos, de forma que o período de maior susceptibilidade à queda de frutos é entre 10 e 20 DAA, tanto para o efeito dos herbicidas inibidores da fotossíntese quanto para o ácido naftaleno acético ou

o sombreamento artificial (BYERS et al., 1991). Em macieiras de diversas cultivares submetidas a um período de 64 horas de escuridão (92%) em dois regimes de temperaturas, 15,6 a 21,1°C e 4,4 a 10°C todos os frutos na faixa de temperatura mais alta sofreram o processo de abscisão, enquanto que sob temperaturas amenas, alguns frutos foram retidos. A equivalência entre o sombreamento artificial e o ambiente real encontrado a campo foi de dois a três dias de sombreamento artificial foi equivalente a três ou quatro dias de dias nublados a campo (BYERS, 2002).

2.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS PRINCIPAIS RALEANTES QUÍMICOS

2.3.1 Raleantes polinizadas

Os raleantes cáusticos como adubos nitrogenados (tiosulfato de amônio, uréia, monoamônio fosfato ou diamônio fosfato) podem agir por inibir a germinação do pólen sobre o estigma floral ou ao menos diminuir o vigor dos grãos de pólen, fazendo com que uma grande parte dos grãos de pólen germinados paralise o crescimento do tubo polínico ao longo do estilo, dificultando a fecundação dos óvulos (MYRA et al., 2006). McCartney et al. (2006) reportaram aumento de 82% no número de flores com menos de 10 tubos polínicos dentro dos óvulos de flores de macieira quando tratadas com calda sulfocálcica, contra 5% da testemunha não tratada. Além disso, de 27 a 48% das flores não possuíam tubos polínicos nos ovários. Entretanto, o óleo de peixe emulsionável não alterou a taxa de fecundação.

Há compostos fungicidas que afetam negativamente a germinação do pólen sobre o estigma floral de macieira, como é o caso do fungicida Captan que reduziu em 80% o número de tubos polínicos no estigma floral quando pulverizado 18 horas após a aplicação sobre as flores já abertas, mas não causou redução na germinação de pólen quando a polinização ocorreu uma hora após a aplicação do fungicida, indicando que possa ter havido alguma alteração na conformação do estigma floral ao invés de inibir a germinação do pólen (YI et al., 2003). Porém, Hurch e Williams (1977) relataram que em germinação *in vivo*, quando aplicado duas horas antes da polinização, os fungicidas dithianon, captan, dinocap e binapacryl reduziram a germinação de grãos de pólen de macieira sobre o estigma floral, mas quando as flores foram polinizadas 24 horas antes ou após a aplicação dos tratamentos, nenhuma redução na germinação de pólen foi observada. Além disso, Vakis e Williams (1978) reportaram diminuição da germinação de pólen tratado com captan, além de redução do tubo polínico. Segundo os autores o enxofre também causou redução da germinação de pólen de macieira.

Alguns compostos quando aplicados antes da deposição do pólen sobre o estigma podem agir como raleantes por dificultar a aderência do pólen, impedir a germinação ou bloquear o desenvolvimento do tubo polínico pelo estilo. Alguns compostos cáusticos podem até mesmo provocar queimaduras no estigma, impedindo a aderência do grão de pólen (EMBREE; FOSTER, 1999; FALLAHI; WILLEMSEN, 2002). Nesse último caso, o tiossulfato de amônio que é efetivo em reduzir a frutificação efetiva quando aplicado antes da polinização (MAAS, 2016). Dessa forma, é possível estabelecer dois diferentes grupos de raleantes polinícos: os que são efetivos em impedir a fecundação dos óvulos antes da polinização, que agem na germinação do pólen (poliníco) ou no impedimento do desenvolvimento do tubo polínico no estilo) e após a polinização, que agem sobre o grão de pólen germinado, paralisando o crescimento do tubo polínico ou causando necrose no estilo e causando danos físicos em partes florais. Ju et al. (2001) reportou alta efetividade em reduzir a frutificação efetiva com o óleo de milho emulsionável em macieira, pessegueiro em doses entre 3 e 5% v/v; em cerejeira com doses entre 1 e 3% v/v; entretanto, os autores conseguiram efeito raleante quando aplicado antes da antese ou até 20% de flores abertas, em contraponto aos resultados obtidos quando o tratamento foi aplicado com 80% de flores abertas não houve nenhum efeito. Os autores atribuíram o efeito raleante à prevenção da abertura de flores ainda fechadas e ao impedimento da polinização dessas flores, pelo impedimento da aderência do grão de pólen sobre o estigma ou o desenvolvimento do tubo polínico.

Miller e Tworkoski (2010) reportaram que o óleo essencial eugenol aplicado em plena floração da macieira promoveu raleio de frutos. O óleo promoveu queimaduras aparentes nas estruturas florais e também nas folhas, o que os autores atribuem algum nível de contribuição na diminuição da taxa de fotossíntese e abscisão floral. Alguns adjuvantes também possuem efeito raleante, porém isto está mais associado à fitotoxidez que podem provocar. No caso do adjuvante surfactante Tergitol, onde em elevadas doses ($12,5 \text{ ml.L}^{-1}$) causam queimaduras foliares e também danos às estruturas florais quando aplicado em estágio de 75 a 80% de flores abertas. Além disso, maiores efeitos (danos aos tecidos vegetais) ocorrem quando a umidade relativa é elevada nas horas seguintes da aplicação, pois o tratamento tem seu tempo de secagem estendido e isso leva a maior tempo de exposição dos tecidos ao composto, levando a maior absorção e fitotoxidez (FALLAHI; FALLAHI, 2006).

Alguns agentes cáusticos e outros oleosos possuem efeito raleante indireto. Por exemplo Kallsen (2001) observou efeito raleante com óleo mineral, na cultura da laranja, quando aplicado no estágio de queda de pétalas, com redução de 27 a 38% da frutificação efetiva. Como a aplicação dos tratamentos deu-se após a antese, fica claro que o óleo mineral não agiu

diretamente interferindo na polinização, mas de alguma outra forma. Finger et al. (2002) relatou que adjuvantes a base de óleos emulsionáveis e óleo vegetal emulsionável, ambos a 1,5% v/v causaram redução na taxa de fotossíntese, transpiração e condutância estomática nas folhas de videira 'Chardonnay'. Isso levou a atraso no acúmulo de sólidos solúveis, aumento de acidez titulável e menor peso de cachos, devido à menor fixação de carbono.

Lenahan e Whiting (2006) reportaram que houve diminuição da taxa líquida de troca de carbono (NCER) de 32% com a aplicação de óleo vegetal emulsionável, 44% para ATS e 59% para calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe, quatro horas após a aplicação durante a antese; porém, aos 14 dias após a aplicação dos tratamentos a NCER foi menor, em relação à testemunha, 18% para ATS, 28% para óleo vegetal e 33% para calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe. O dano físico promovido pela calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe promoveu maior diminuição de 17% da condutância estomática. Já para o ATS e o óleo vegetal, houve concomitante diminuição do NCER e aumento do carbono intracelular, indicando que ambos os compostos causam estresse nessa fase de intensa divisão celular e expansão foliar (durante a antese). A calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe além de promover redução da NCER, também provocou grande degradação da clorofila e danos no fotossistema II. Uma aplicação de calda sulfocálcica a 3% v/v provoca diminuição de 84% da taxa de fotossíntese oito dias após a aplicação e 74% 12 dias após a aplicação de calda sulfocálcica, e esse efeito persistiu até os 51 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo o efeito raleante da calda sulfocálcica atribuída tanto a redução do número de tubos polínicos nos ovários quanto a diminuição do aporte de assimilados aos frutos (McARTNEY et al., 2006).

A germinação do pólen de macieira é altamente influenciável pela temperatura, sendo que há efeito linear do incremento de temperaturas entre 13 para 24 °C na velocidade de crescimento do tubo polínico. Porém, em temperaturas acima de 24 °C há decréscimo de tubos polínicos que penetram pelo estigma. Além disso, a aplicação de calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe emulsionável paralisou o crescimento de tubos polínicos de macieira quando aplicado a quatro e a 24 horas após a polinização, mas não impediu que chegassem aos ovários quando o tratamento foi aplicado 48 horas após a polinização. Isso indica que a janela de aplicação de raleantes cáusticos é muito curta, e um atraso de 24 horas pode levar ao insucesso dos tratamentos (YODER et al., 2009).

2.3.2 Raleantes hormonais

Esses raleantes são comumente aplicados em pós floração de macieira. A principal vantagem desses compostos é a maior versatilidade, podendo ser aplicado desde frutos pequenos de 5 mm até frutos maiores de 20 mm, sendo estes menos suscetíveis a tais raleantes, enquanto que aqueles sendo mais suscetíveis e fáceis de ralear. Entretanto, a eficácia dos raleantes hormonais é muito associada às condições climáticas antes, durante e depois da aplicação. Se nos dias que antecedem a aplicação dos raleantes o clima for quente, com elevadas temperaturas noturnas e nebulosidade durante o dia, a planta terá baixo nível de reservas, e os frutos serão mais suscetíveis ao raleio; adicionalmente, se a umidade relativa do ar for alta após a aplicação do raleante, o tempo de secagem será estendido e a absorção será mais elevada (GREENE, 2002). Essas são as condições que facilitam o raleio de frutos por raleantes químicos. Ainda segundo o autor, se o clima for quente após a aplicação dos raleantes, a multiplicação celular dos frutos e folhas em desenvolvimento será intensificada, o que resultará em maior estresse devido à intensa competição por carboidratos, aumentando a abscisão de frutos. Por isso o conhecimento da previsão do tempo antes de se determinar o raleante e a dose é imprescindível.

Outro fator a ser considerado é que a planta de macieira possui diferentes momentos de maior susceptibilidade à abscisão de frutos devido ao déficit de carboidratos. Isso é mais intensificado quando a planta possui alta carga inicial de frutos, e os dias têm pouca luminosidade e temperaturas altas, fazendo o raleante ter efeito acentuado (LAKSO et al., 2006).

Durante a aplicação dos raleantes, as condições climáticas interferem na ação do produto. Os reguladores de crescimento são absorvidos enquanto a gotícula de calda permanece líquida sobre a cutícula da folha, quando a gotícula seca, não há absorção. Além disso, elevadas temperaturas favorecem o aumento da taxa de absorção dos reguladores de crescimento. Nos dias subsequentes à aplicação dos raleantes também deve haver temperaturas elevadas para que os raleantes tenham efeito, pois dias frios podem fazer com que os raleantes não promovam o efeito desejado. Nesse caso é melhor adiar a aplicação para dias que encontrem tais condições (GREENE, 2002).

A maior taxa de absorção de reguladores de crescimento ocorre quando antes da aplicação a luminosidade foi baixa, e a cutícula das folhas tenha menor espessura. Após a aplicação, temperaturas acima de 25 °C potencializam a absorção, e a absorção é maior quando o regulador de crescimento entra em contato com a parte abaxial da folha, primeiramente devido

à menor espessura da cutícula menor deposição de cera, além da maior presença de estômatos e suas respectivas células guarda que realizam fotossíntese e acabam suprimindo energia para o transporte ativo das moléculas através das membranas plasmáticas das células. Dessa forma, maior luminosidade após a aplicação de reguladores de crescimento, incrementam sua absorção (STOVER; GREENE, 2005).

O ácido naftaleno acético (ANA) é um raleante muito popular para uso em macieira. É efetivo quando aplicado em estádios iniciais de desenvolvimento do fruto, geralmente no estágio de queda de pétalas até 15 dias após esse período. Aplicações tardias possuem pouco efeito e altas doses podem promover retardo do crescimento dos frutos e frutos pigmeus. As doses utilizadas variam de 5 a 20 ppm. A aplicação durante a antese pode promover o aumento do tamanho de frutos (WERTHEIM, 2000). O ANA é absorvido tanto quando aplicado sobre as folhas quanto sobre os frutos, e o seu mecanismo de ação parece estar envolvido no estímulo do crescimento vegetativo, resultando em menor aporte de assimilados aos frutos (açúcares reduzidos), já que o ANA parece não ter efeito expressivo sobre o desenvolvimento do embrião, o que poderia levá-lo a perda de força do dreno e sofrer abscisão (DENNIS JR, 2002). Outra forma de ação do ANA na redução de assimilados é através da redução da condutância estomática de até 22%, dois dias após a aplicação e consequente redução da taxa líquida de assimilação de CO₂ de até 24%; além disso, esses efeitos persistem por até 15 dias após o tratamento, e o efeito negativo na inibição da assimilação de CO₂ é linearmente incrementada com o aumento da dose do ANA assim como o tempo de recuperação (em doses de 15 a 30 mg.L⁻¹ o efeito persiste por até três semanas), o ANA age principalmente no funcionamento dos estômatos (STOPAR et al., 1997).

A maior parte do ANA é absorvido pela face abaxial das folhas de macieira. Em um período de 24 horas, sob as temperaturas de 15 e 35 °C, 4 e 8% do ANA é absorvido, sendo um máximo atingido após seis horas, enquanto que na face abaxial das folhas sob as mesmas circunstâncias, a taxa de absorção é de 24 e 42%, respectivamente, com a maior parte sendo absorvida até 12 horas após o tratamento.

O mecanismo de ação do ANA na fisiologia da planta de macieira é similar ao promovido pelo sombreamento. Ambos os tratamentos diminuíram a expressão de genes relacionados à fotossíntese localizados no cloroplasto, com total inibição da fotossíntese por até oito horas após o tratamento (ANA a 15 mg.L⁻¹) e recuperação um dia após o tratamento. O ANA promove aumento na expressão de genes ligados a produção de enzimas relacionadas a glicólise e degradação de amido (amilase, piruvato quinase, álcool desidrogenase). A expressão de genes relacionados a enzimas transportadoras de sacarose/sorbitol foi diminuída após o

tratamento com ANA. Assim, o ANA promove efeito negativo sobre a fotossíntese e a distribuição de assimilados aos frutos. O estresse relacionado à falta de assimilados leva a expressão de genes relacionados a biossíntese de ácido abscísico, e diminuição do efluxo de ácido indol-acético (AIA) do embrião através do decréscimo da expressão de genes responsáveis pela síntese de carreadores de transporte ativo de AIA (proteínas-PIN), que ocorre célula a célula. Com esse efluxo reduzido de AIA, e aumento na concentração de ABA, a biossíntese de etileno é estimulada. Dessa forma o fruto se torna mais propenso ao aumento da produção de etileno e formação da zona de abscisão (ZHU et al., 2011).

O regulador de crescimento ANA é um raleante moderado, que dificilmente causará sobre-raleio, porém pode levar as plantas a produzirem frutos pigmeus especialmente quando em uma inflorescência permanece ao menos um fruto lateral, juntamente com o fruto oriundo da flor rainha (BLACK, 1995; KORALIC et al., 2011). Porém, dentre os reguladores de crescimento ANA, Benziladenina (BA) e ethephon, o último apresenta efeito acentuado sobre a queda de frutos inclusive sobre frutos de flores rainha, sendo extremamente forte como raleante. O BA é um raleante moderado, que promove mais senescência de frutos que o ANA, porém, induz a menor evolução de etileno em comparação ao ANA. Em relação à indução da evolução de etileno, o sombreamento artificial durante três dias consecutivos promove mais etileno que ambos os reguladores de crescimento. Em todos esses tratamentos (ANA, BA e sombreamento), não houve aumento nos níveis de etileno no fruto oriundo da flor rainha (KORALIC et al., 2011). Para os autores, o ethephon é mais agressivo pois o processo de abscisão causado por esse regulador de crescimento está diretamente relacionado com a produção de etileno no córtex do fruto em desenvolvimento diretamente; ao contrário, ANA, BA e sombreamento estimulam o aumento dos níveis de etileno, mas este está relacionado com a promoção da zona de abscisão de forma mais indireta, por isso apresentam efeito mais lento e menos intenso que o ethephon.

O BA possui maior efeito raleante quando absorvido pelas folhas, sendo que seu contato com os frutos não potencializa seu efeito raleante. Porém a penetração do agente é maior quando em contato com os frutos do que pelas folhas, e nessas o agente é mais absorvido pela face abaxial da folha do que pela adaxial. Quando o BA entra em contato direto com os frutos, há aumento do peso final do fruto, porém diminuição do número de sementes. Em relação ao ANA, o BA além de causar diminuição na frutificação efetiva, também promove aumento do tamanho de frutos de forma mais expressiva. O efeito raleante do BA ocorre principalmente em esporões, sendo que esporões fracos podem ficar sem frutos (GREENE et al., 1992).

A intensidade de raleio da benziladenina depende muito da temperatura. Yuan e Greene (2000a) relataram que BA a 100 ml.L^{-1} promoveu aumento significativo da respiração mitocondrial quando a temperatura se encontrava a 30°C , mas quando a 20°C , não houve diminuição significativa da taxa de respiração nos primeiros 10 dias após o tratamento (DAT). Foi observado que independente da temperatura, a BA diminuiu a fotossíntese líquida entre 10 a 15% nos primeiros 8 DAT. Os autores reportaram que esse decréscimo no aporte de assimilados acentuou a abscisão de frutos em 50% durante a fase do “June Drop”. Bound et al. (1991) relataram que em macieira ‘Fuji’ doses crescentes de BA (de 50 a 400 mg.L^{-1}) não promoveram diminuição da frutificação efetiva e carga de frutos, sendo que melhores resultados foram obtidos quanto aplicado após 20 dias da antese. Esse padrão foi acompanhado pela maior emissão de ramos laterais e também pelo maior número de emissões de ramos laterais, quando o BA foi aplicado mais tarde. Já durante a antese ou 10 dias mais tarde, somente a dose de 400 mg.L^{-1} provocou aumento do número e comprimento de ramos laterais. Com isso, há um forte indicativo de que a BA também age ao estimular crescimento o vegetativo e com isso provocar déficit nutricional aos frutos, especialmente na fase em que a planta se encontra com o menor status de reservas, até que os ramos tenham entre 10 e 12 folhas.

A benziladenina não interfere diretamente no número de sementes total de frutos de macieira, mas conforme sua dose aumenta, há aumento no número de sementes abortadas. Como a presença de sementes nos frutos está diretamente relacionada à capacidade de retenção dos mesmos na inflorescência, ou seja, os frutos com menos sementes sofrem abscisão primeiro. Assim, quanto maior a dose de BA aplicada, menor será o número de sementes porque maiores doses do regulador de crescimento podem interferir no desenvolvimento do fruto mesmo quando ele apresenta maior capacidade de retenção na planta (YUAN; GREENE, 2000b).

3 CAPÍTULO I: EFEITO DE COMPOSTOS CÁUSTICOS E HORMONAIS NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE PÓLEN DE MACIEIRA ‘MAXI GALA’

3.1 RESUMO

O raleio de flor em macieira garante potencial de produção de frutos de melhor qualidade e apelo comercial que raleios tardios, além de aumentar as opções em cultivares difíceis de ralear como a ‘Fuji’. Entretanto, há muito poucas opções de agentes raleantes relatados na literatura, e a informação sobre seus mecanismos de ação é escassa. Com base nisso, o objetivo desse estudo foi investigar o mecanismo de ação de compostos cáusticos e fertilizantes nitrogenados na diminuição da fecundação de flores de macieira ‘Fuji’ polinizadas com pólen de ‘Gala’. Para tal, foram realizados dois experimentos, um de germinação de pólen de macieira ‘Gala’ *in vitro* sob placas tratadas, e outro de germinação *in vivo* de flores de ‘Fuji’ tratadas e polinizadas com pólen de ‘Gala’ para se analisar o efeito dos tratamentos sobre a polinização de flores tratadas 24 horas antes da polinização (HAP) e 24 horas depois da polinização (HDP). Os tratamentos consistiram de: Fertilizante foliar CT Green[®], ácido naftaleno acético, benziladenina, calda sulfocálcica isolada e associada a óleo mineral, espalhante adesivo siliconado, ácido giberélico (GA₃) + benziladenina, óleo mineral, óleo vegetal, tiosulfato de amônio e uréia, diamônio fosfato (DAP) e monoamônio fosfato (MAP). O tiosulfato de amônio, calca sulfocálcica, DAP e MAP têm efeito polinicida. O tiosulfato de amônio e o MAP também agem por causar danos ao estigma floral, atrapalhando a germinação do pólen. A calda sulfocálcica isolada ou associada ao óleo mineral, o óleo vegetal e o tiosulfato de amônio são efetivos quando aplicados 24 HDP, agindo no desenvolvimento dos tubos polínicos. O óleo mineral é efetivo quando aplicado 24 HAP da polinização, agindo no desenvolvimento do tubo polínico.

Palavras-chave: Fecundação. Raleantes cáusticos. Pistilo. Tubo polínico.

3.2 ABSTRACT

Apple blossom thinning assures great potential in the production of high quality fruits with good appeal by the market besides it increases the thinning options of hard-to-thin cultivars such as ‘Fuji’. However, there are very few compound options available for this purpose, as well as limited information about the mechanism of action of such compounds. Based on this, the objective of this study was to investigate the mechanism of action of caustic compounds and nitrogen fertilizers on the diminishment of the ‘Fuji’ apple flowers fecundation. For this, it was done two experiments: one of *in vitro* pollen germination of ‘Gala’ pollen on treated medium, and another of *in vivo* germination and development of pollen in treated flowers of ‘Fuji’ apple treated 24 hours before pollination and 24 hours after pollination. The treatments consisted of: leaf fertilizer CT Green[®], naphthalene acetic acid, benziladenine, lime sulphur alone and mixed with mineral oil, silicon based spreader, gibberellic acid (GA₃) + benziladenine, vegetal oil, mineral oil, ammonium thiosulfate, urea, di ammonium phosphate (DAP) and mono ammonium phosphate (MAP). Ammonium thiosulfate, lime sulphur, DAP and MAP has pollenicide effects. Ammonium thiosulfate and MAP also act causing damage to the stigma, struggling pollen germination. Lime sulphur isolated or mixed with mineral oil, the vegetal oil and the ammonium thiosulfate are affective when applied 24 hours after pollination,

acting on the development of the pollen tubes in the style. Mineral oil is effective when applied 24 hours before pollination acting on the pollen tube development.

Key words: Fecundation. Caustic thinners. Anthesis. Pistil. Pollen tube.

3.3 INTRODUÇÃO

Quanto mais próximo à antese o raleio for feito, maior é a tendência de se produzir frutos com diâmetros maiores (BERGH, 1992). Por exemplo, quando a macieira ‘Royal Gala’ foi raleada manualmente na antese, produziu frutos com massa 16% maior do que quando foram raleados três a quatro semanas mais tarde (McARTNEY et al., 1996).

Uma estratégia amplamente empregada em regiões produtoras de macieira tradicionais é a utilização de raleantes cáusticos durante a antese, os quais causam danos físicos às partes florais ou impedem o desenvolvimento do tubo polínico. A melhor época de aplicação de tais compostos varia entre 70 a 90% de flores abertas, com isso, as flores rainhas (que abrem primeiro) são polinizadas normalmente, enquanto que as outras flores são em sua maioria atingidas pelos raleantes, e a polinização não ocorre. Contudo, quando esses raleantes de flor são aplicados mais tarde podem não proporcionar o efeito desejado (GREENE, 2002).

Os raleantes cáusticos apresentam diferentes níveis de eficácia conforme o agente, a concentração ou a época de aplicação. No raleio de flor de pessegueiros, o tiosulfato de amônio a 3% foi efetivo quando utilizado em única aplicação com 80% de flores abertas, enquanto que a calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe emulsionável nas concentrações de 1 a 2% de ambos, foi mais efetiva quando aplicada com 50% e 80% de flores abertas (YOON et al., 2011). Por outro lado, Fallahi e Fallahi (2004) reportaram que o tiosulfato de amônio é efetivo no raleio de ‘Fuji’ tanto se aplicado uma vez em alta dose (2,5%) ou duas vezes em baixa dose (1,5%). Raleantes cáusticos promovem raleio de flores proporcionalmente à dose aplicada. No caso do tiosulfato de amônio, que é o composto mais estudado para este propósito, a época de aplicação também é fundamental para que o efeito desejado seja obtido. No caso de aplicações muito precoces, as flores ainda não abertas não serão atingidas, e flores muito adiantadas já estarão fecundadas, tendo uma janela de oportunidade muito curta para a aplicação (BOUND; JONES, 2004).

Esses compostos cáusticos podem prejudicar a relação entre grão de pólen e estigma quando aplicados antes da polinização, impedindo a fixação do pólen, ou após o assentamento deste sobre o estigma, evitando a sua germinação (BYERS et al., 1986). Por outro lado, óleos

emulsionáveis não possuem efeito sobre a germinação do pólen, por isso são mais efetivos em aplicações precoces (20% de plena floração) e em doses elevadas (3 a 5% v/v) em macieira ‘Delicious’, enquanto que aplicações tardias não apresentam efeito raleante (JU et al., 2001). O tiosulfato de amônio também é efetivo mesmo quando aplicado em até 48 horas após a germinação do pólen tenha ocorrido no estigma (MAAS, 2016).

Conforme o ambiente e a cultivar de macieira, a eficácia de raleantes cáusticos se mostra inconsistente de ano para ano (FALLAHI; GREENE, 2010; MILLER; TWORKOSKI, 2010). Devido a resultados variáveis sobre o funcionamento de raleantes de flor, se torna necessário conhecer o mecanismo de ação de tais compostos. Com base nisso, pouco se sabe sobre o real mecanismo de ação de compostos cáusticos como fertilizantes nitrogenados e calda sulfocálcica, e compostos oleosos. Com esse conhecimento, pode-se estabelecer melhores estratégias de uso dos mesmos. O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito de fertilizantes nitrogenados, óleos emulsionáveis e reguladores de crescimento sobre a germinação do pólen e o efeito na interação entre os tubos polínicos e o pistilo de flores de macieira ‘Fuji’.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Experimento 1: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados na germinação *in vitro* de pólen de macieira ‘Maxi Gala’.

No dia 05/10/2018 foram coletadas flores de macieira ‘Maxi Gala’ em um pomar experimental localizado na Embrapa Uva e Vinho, no município de Vacaria-RS com coordenadas geográficas 28°30’54,40”S e 50°52’52,53”W, em estágio fenológico de balão rosado para extração de pólen. Foi utilizado ‘Maxi Gala’ por esta ser a principal cultivar utilizada como polinizadora de ‘Fuji’. Para tal, em cada flor foram removidas as pétalas com o auxílio de uma tesoura com um furo de aproximadamente 5 mm de diâmetro na ponta, onde a flor foi posicionada no centro do furo e a tesoura pressionada para a remoção dessa parte floral, permanecendo somente o gineceu e o androceu. Após, as anteras foram removidas com o auxílio de um pente com dentes distanciados a 1 mm, onde os filetes passaram entre os dentes do pente e as anteras puderam ser destacadas e armazenadas temporariamente em bandejas de papel A4 com dimensões de 10 x 20 cm.

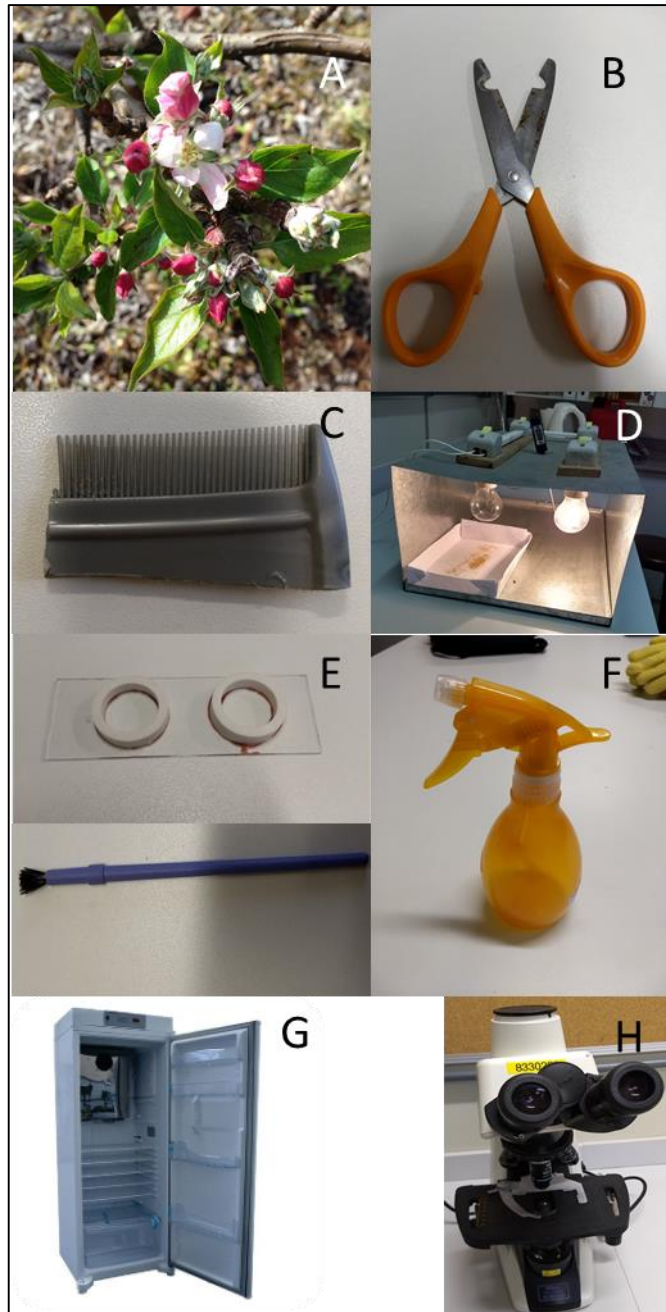
As anteras dentro das bandejas destacadas foram posicionadas em câmaras de secagem por 24 horas a temperatura constante de 20 a 25°C, para que ocorresse a liberação do pólen. Após esse período, as anteras foram armazenadas em tubos do tipo eppendorf com capacidade

para 1 ml. Os tubos eppendorfs contendo pólen foram cobertos com algodão e alocados em dessecador contendo sílica em gel no fundo. O dessecador foi mantido em refrigerador a temperatura de -18°C até o momento das avaliações.

Para a verificação do efeito dos raleantes sobre a germinação *in vitro* dos grãos de pólen, as etapas foram feitas as seguintes etapas: O meio de cultura foi composto de 100 g.L^{-1} de sacarose e 10 g.L^{-1} de ágar dissolvidos em 100 ml de água destilada. A solução foi aquecida em forno de microondas até atingir ponto de pré-ebulição. Na sequência, com o auxílio de uma pipeta, a solução foi depositada em lâminas de microscópio contendo dois discos de PVC cada, com diâmetro de 14 mm e altura de 3 mm. Quando o meio de cultura se solidificou dentro dos discos, os raleantes descritos na Tabela 1 foram borrifados sete vezes, com o uso de um borrifador plástico de 500 ml de capacidade. Após a secagem dos tratamentos, foram distribuídos grãos de pólen sobre os discos com o auxílio de um pincel número 5. As lâminas tratadas e com pólen disposto sobre elas foram levadas à incubadora tipo BOD a 25°C por 3 horas para avaliação da germinação. A avaliação da porcentagem de grãos de pólen germinados foi feita com o auxílio de um microscópio ótico binocular (10 x 100). Foram contados aproximadamente 100 grãos de pólen em cada disco, e foram considerados germinados os grãos de pólen cujo tubo polínico atingiu ao menos comprimento igual ou superior ao seu diâmetro. Todos os passos estão esquematizados na Figura 1.

Para cada tratamento, foram preparadas três lâminas com dois discos cada, totalizando seis repetições por tratamento. Os dados foram submetidos aos testes de normalidade e homocedasticidade para verificar se seria necessária alguma transformação, e então submetidos a ANOVA. Em caso de significância, as médias dos tratamentos foram separadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para os tratamentos quantitativos a ANOVA foi feita em esquema fatorial (tratamentos*doses), e procedeu-se à análise de contrastes polinomiais ortogonais e contrastes lineares para a verificação do efeito de doses e de tratamentos.

Figura 1 - Etapas da elaboração do experimento 1 (germinação *in vitro* de pólen de macieira ‘Maxi Gala’). A) Coleta de flores em estágio de balão rosado, no dia 5/10/2017. B) Tesoura com furo de 5 mm de diâmetro utilizada para remoção das pétalas e sépalas. C) Pente utilizado para extração dos sacos polínicos. D) Câmara de secagem de pólen. E) Lâminas contendo discos de PVC para solidificação do meio de cultura. F) Borrifador utilizado para aplicação dos tratamentos. G) Os tratamentos foram armazenados em BOD a 25°C por 3 horas. H) Lâminas foram analisadas em microscópio óptico.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Tabela 1 - Compostos usados durante a germinação *in vitro* de pólen de macieira ‘Maxi Gala’. Vacaria-RS, 2018.

Tratamentos	Dose de Produto Comercial
Testemunha (ausência de raleante)	-
Ácido naftaleno acético	0,0105 g.L ⁻¹
Benziladenina + ácido giberélico ₄₊₇ ¹	2,5 ml.L ⁻¹
Benziladenina ²	3 ml.L ⁻¹
Calda sulfocálcica	30 ml.L ⁻¹
Calda sulfocálcica + óleo mineral	20 ml.L ⁻¹ + 20 ml.L ⁻¹
DAP ³	7,5 g.L ⁻¹
DAP	15 g.L ⁻¹
DAP	30 g.L ⁻¹
Espalhante adesivo siliconado ⁴	0,015 ml.L ⁻¹
Fertilizante CT Green [®]	0,5 ml.L ⁻¹
MAP ⁵	7,5 g.L ⁻¹
MAP	15 g.L ⁻¹
MAP	30 g.L ⁻¹
Óleo mineral	20 ml.L ⁻¹
Óleo vegetal	25 ml.L ⁻¹
Tiosulfato de amônio	25 g.L ⁻¹
Uréia	16 g.L ⁻¹
Uréia	32 g.L ⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota:¹Promalin[®], ²Maxcel[®], ³Fostato diamônio, ⁴Breakthru[®], ⁵Fosfato monoamônico.

3.4.2 Experimento 2: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados em flores de ‘Fuji’ na germinação *in vivo* de pólen de macieira ‘Gala’.

No momento da floração da macieira ‘Fuji’ foram coletados ramos com comprimento entre 20 e 30 cm contendo ao menos uma inflorescência em estágio fenológico de botão rosado, destacados de diversas porções das plantas, bem como de diversas plantas. Os ramos foram alocados em recipientes com 350 ml de capacidade, contendo metade do seu volume em água. Foram alocados entre cinco a sete ramos dentro de cada recipiente. Antes de os ramos serem posicionados nos copos, uma porção de 5 a 10 cm da base do ramo foi removida para evitar

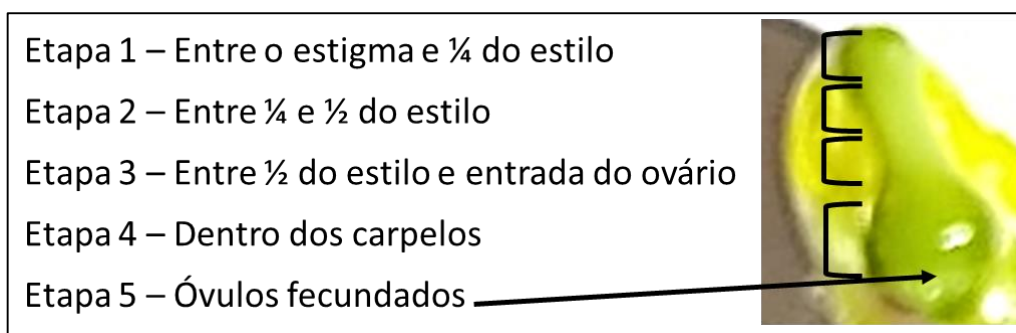
cavitação. Já em sua posição definitiva dentro dos copos, as flores foram desbastadas, deixando-se entre sete a dez flores por recipiente, estas flores foram então emasculadas. Para cada recipiente foi atribuído um tratamento, e cada flor consistiu de uma repetição.

A avaliação do efeito dos tratamentos sobre a germinação dos tubos polínicos foi realizada da seguinte forma: para se avaliar se os raleantes agiram como polinizadas, foi realizada polinização artificial nas flores emasculadas, e 24 horas depois, foram aplicados os tratamentos (Tabela 1) com um borrifador plástico com capacidade de 500 ml até o início de escorrimento da calda sobre as folhas. Para se avaliar se os raleantes agiram como impedidores do desenvolvimento do tubo polínico, os tratamentos foram aplicados sobre os ramos até o momento do início do escorrimento da calda, e 24 horas após a aplicação, foi feita polinização manual com pólen originário de macieiras ‘Maxi Gala’.

Em ambas as situações foram aguardadas 120 horas em temperatura de 25°C para que houvesse tempo suficiente para a germinação dos grãos de pólen depositados sobre os estigmas florais. Passado esse período, foram coletados os estilos a 3 mm da base do ovário (com 3 mm de pedicelo), para serem fixados em solução fixativa de formol, ácido acético e álcool etílico na proporção de 1:1:8 e armazenadas a 4°C até o momento da avaliação que ocorreu durante o mês de janeiro de 2018.

Para a avaliação, os estilos foram lavados três vezes com água destilada e colocados em solução de 8N de NaOH durante 24 horas a temperatura ambiente, para então serem lavados novamente três vezes com água destilada e colocados em frascos contendo hipoclorito de sódio a 20% durante 20 minutos. Novamente os estilos foram lavados triplamente com água destilada e então transferidos para frascos contendo corante diferencial Lacmoide (Ressorcinol azul a 1% - 1g de Lacmoide para 100ml de água destilada), durante 10 minutos. Para a observação em microscópio, os estilos foram posicionados sobre as lâminas contendo três gotas de corante diluídas em água destilada (1:2) esticando-os e posicionando-se a lamínula com leve pressão para que o estilo ficasse amassado e o seu interior pudesse ser visto. A contagem do número de tubos polínicos que penetrou no estilo foi feita com o auxílio de um microscópio ótico binocular (40 x 100), onde foram estabelecidas cinco etapas do percurso (entre o estigma e $\frac{1}{4}$, entre $\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$ do estilo, $\frac{1}{2}$ do estilo, $\frac{1}{2}$ e a base do estilo, dentro do ovário e fecundando o óvulo) (Figura 2). Nesse caso, os dados foram convertidos para porcentagem de tubos polínicos em cada etapa, tendo como referência a quantidade de grãos de pólen germinados sobre a superfície dos estigmas florais. Também foi calculado o percentual de óvulos fecundados levando em consideração que as flores de macieira possuem dez óvulos por flor.

Figura 2 - Demonstração das etapas do percurso dos tubos polínicos de ‘Maxi Gala’ contados em pistilos de macieira ‘Fuji’.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Cada tratamento foi aplicado em cada recipiente contendo os ramos com cinco a sete flores por copo que foram consideradas como repetições. Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade e a necessidade de transformação dos dados; e então foram submetidos à ANOVA em esquema fatorial, 19 tratamentos e duas épocas de aplicação (24 horas antes e depois da polinização). Para os tratamentos quantitativos a ANOVA foi feita em esquema fatorial (tratamentos*doses), e em caso de significância, as médias dos tratamentos foram separadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade para os tratamentos e teste t a 5% de probabilidade entre as épocas. Para os tratamentos quantitativos, procedeu-se à análise de contrastes polinomiais ortogonais e contrastes lineares para a verificação do efeito de dose e de tratamento.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Experimento 1: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados na germinação *in vitro* de pólen de macieira ‘Maxi Gala’.

O fertilizante nitrogenado tiosulfato de amônio, promoveu significativa diminuição no percentual de grãos de pólen germinados, porém maior efeito foi alcançado pela calda sulfocálcica, isolada ou associada ao óleo mineral, sendo esses os tratamentos que mais interferiram na germinação de pólen de ‘Maxi Gala’. Por outro lado, o tratamento benziladenina também agiu como polinicida, porém menos efetivo que calda sulfocálcica e tiosulfato de amônio. O óleo vegetal apresentou algum nível de interferência na germinação de pólen, sendo intermediário entre calda sulfocálcica e benziladenina (Tabela 2).

Em relação aos fatores quantitativos doses de monoamônio fosfato e diamônio fosfato, ambos apresentaram efeito linear altamente significativo ($p < 0,0001$) na diminuição da germinação de pólen proporcionalmente a dose aplicada, de acordo com o contraste polinomial ortogonal (Tabela 3). Já na comparação entre os efeitos gerais dos fertilizantes nitrogenados através de contraste linear, o diamônio fosfato reduziu o percentual de grãos de pólen germinados de forma mais expressiva que o monoamônio fosfato, apesar de ambos compostos terem diferido da testemunha.

Resultados similares foram reportados por Myra et al. (2006) em que tiosulfato de amônio e calda sulfocálcica reduziram drasticamente a germinação de pólen de macieira 'McIntosh'. Os mesmos autores relataram que vinagre hortícola foi o composto mais efetivo na inibição da germinação de pólen (inibindo quase 100%), e que o biodiesel apresentou algum efeito polinizada, mas diferindo somente da testemunha. Adicionalmente, Yoder et al. (2009) relatou que a calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe emulsionável na concentração de 2 + 2% em análise *in vivo* agiu tanto pela inibição da germinação de pólen sobre o estigma floral, quanto paralisando o crescimento do tubo polínico.

O fertilizante nitrogenado uréia, promove leve alcalinização do ambiente próximo ao grânulo do fertilizante, e assim, ocorre grande perda de amônia (NH_3) por volatilização. Para amenizar isto, foram feitas outras formulações de fertilizantes nitrogenados, que quando solubilizados acidificam o meio, evitando a volatilização do nitrato. Por isso, foram adicionados a tais fertilizantes nitrogenados, fosfatos, para formar ureias fosfatadas (como MAP e DAP), que quando solubilizadas formam ácido fosfórico (FAN; MACKENZIE, 1993); no caso do tiosulfato de amônio, o tiosulfato é um agente redutor que promove redução do enxofre e acidificação do meio pela formação de ácido sulfúrico, diminuindo a volatilização da amônia por diminuir a velocidade de hidrólise da uréia, além da diminuição da taxa de nitrificação do amônio em amônia (CROP NUTRITION, 2018).

Durante o início do crescimento do tubo polínico e todo seu desenvolvimento até os óvulos, há um gradiente eletroquímico, de forma que em seu ápice, o pH tende a ser mais ácido, para que haja entrada de cálcio e potássio para a sua alongação e crescimento; já em sua base, o pH tende a ser alcalino (prótons são levados para fora do citosol da base do tubo polínico), pois assim, proteínas reguladoras são ativadas e produzem filamentos de actina e secreções para o transporte dos núcleos que irão fecundar os óvulos. Além disso, quando esse gradiente de pH é retirado, através de uma substância muito ácida ou muito alcalina, o desenvolvimento do tubo polínico é totalmente paralisado. Ou seja, o gradiente de pH está altamente correlacionado com o crescimento e desenvolvimento do tubo polínico (FEIJÓ et al., 1999).

Especula-se que tanto os fertilizantes nitrogenados tiosulfato de amônio, monoamônio fosfato e diamônio fosfato tenham provocado acidez elevada, e isso tenha contribuído para a não germinação do tubo polínico, enquanto que a calda sulfocálcica tenha alcalinizado o pH demasiadamente, para que o tubo polínico possa ter se desenvolvido. A uréia, durante sua hidrólise, eleva o pH a 7 (FAN; MACKENZIE, 1993). Essa pequena elevação do pH pode não ter sido suficiente para afetar negativamente o gradiente de pH encontrado no primórdio do tubo polínico e causado sua interrupção de crescimento.

O efeito de reguladores de crescimento sobre a germinação de pólen é controverso e dependente da dose e da espécie avaliada. Xue et al. (2014) reportaram pouco efeito de ácido indol acético a 1 mg.L^{-1} , benziladenina a 5 mg.L^{-1} ou ácido giberélico a 10 mg.L^{-1} na germinação *in vitro* de pólen de macieira ‘Qinguan’ na China; entretanto, doses cinco ou seis vezes maiores provocaram diminuição da germinação do pólen ou tubos polínicos deformados. Em todos os casos, a presença dos reguladores de crescimento em doses entre 100 a 300 mg.L^{-1} foi essencial para garantir melhores taxas de germinação (KUMAR et al., 2016).

Corroborando com os resultados desse experimento, Kovaleva et al. (2016) relataram que dentre os principais reguladores de crescimento disponíveis (AIA, ABA, GA_3 , e cinetina), este último que é uma citocinina inibiu o crescimento do tubo polínico *in vitro* de *Petunia* sp., similar a esse experimento. Os autores atribuíram esse fenômeno à não ativação de bombas de prótons pela citocinina, e dessa forma não foram criados gradientes eletroquímicos que estão altamente atrelados ao desenvolvimento do tubo polínico, enquanto que os outros reguladores de crescimento aumentaram substancialmente a atividade de tais bombas de prótons, favorecendo o desenvolvimento dos tubos polínicos.

Tabela 2 – Percentual de germinação de grãos de pólen de macieira ‘Maxi Gala’ em função dos diferentes compostos testados como raleantes. Vacaria-RS, 2018.

Tratamento	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Percentual de grãos de pólen germinados (%) ¹
Testemunha	-	42 a ²
ANA	0,0105	43 a
Benziladenina	3	12 cd
Calda Sulfocálcica	30	1 e
Calda Sulfocálcica. + OM	20	0 e
Espalhante adesivo siliconado	20 + 20	41 a
Fertilizante CT Green [®]	0,5	33 ab
GA ₄₊₇ + BA	2,5	27 ab
Óleo Mineral	20	33 ab
Óleo Vegetal	25	22 bc
Tiosulfato de amônio	25	6 d
Uréia	16	32 ab
Uréia	32	30 ab
<i>p value</i>	-	<0,0001
C.V.(%)	-	19,95

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota:¹dados transformados pela equação $\text{arc.sen}[\text{raiz}(y/100)]$. ²Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 3 – Percentual de germinação de grãos de pólen na macieira ‘Gala’ em função da utilização de doses de diamônio e monoamônio fosfato como raleantes. Vacaria-RS, 2018.

Doses (g.L ⁻¹)	Percentual de grãos de pólen germinados ¹	
	Diamônio fosfato	Monoamônio fosfato
0	42	42
7.5	31	30
15	23	30
30	12	22
Linear	***	***
Quadrático	ns	ns
Média geral	27	31
C.V.(%)	10,51	
	Teste F	
Tratamento	p=0,0053	
Dose	p=0,0001	
Tratamento*dose	p=0,0208	
	Contraste linear	
DAP vs MAP	p=0,0053	
DAP vs Testemunha	p=0,0001	
MAP vs Testemunha	p=0,0001	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota:¹dados transformados pela equação $\text{arc.sen}[\text{raiz}(y/100)]$. Ns, *, **, *** = não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com o contraste polinomial ortogonal.

3.5.2 Experimento 2: Efeito de compostos com potencial efeito raleante aplicados em flores de ‘Fuji’ na germinação *in vivo* de pólen de macieira ‘Gala’.

Houve interação significativa entre tratamentos e época de aplicação para os tratamentos qualitativos dos princípios ativos testados como raleantes. Na interação entre tratamentos dentro de cada nível de época de aplicação, na etapa do percurso 1 (entre o estigma e ¼ do estilo), quando os tratamentos foram aplicados 24 HAP, o raleante cáustico tiosulfato de amônio, a calda sulfocálcica e a uréia na dose de 32 g.L⁻¹ apresentaram a menor porcentagem de tubos polínicos. Já quando os tratamentos foram aplicados 24 HDP, o ANA, a calda sulfocálcica isolada e associada ao óleo mineral, o GA₄₊₇+BA, os óleos mineral e vegetal e o

tiosulfato de amônio, foram os tratamentos que mais reduziram o percentual de tubos polínicos nessa etapa do percurso. Na interação entre época de aplicação dentro de cada nível de tratamento na etapa do percurso 1 (entre o estigma e $\frac{1}{4}$ do estilo), os tratamentos GA₄₊₇ associado a benziladenina, óleo mineral e óleo vegetal apresentaram menor percentual de tubos polínicos quando os tratamentos foram aplicados 24 HAP (Apêndice A).

Na etapa do percurso 2 (entre $\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$ do estilo) não houve interação significativa, de acordo com a ANOVA, mas procedendo-se ao desdobramento dos fatores, na interação entre tratamentos dentro de cada nível de época de aplicação, os tratamentos calda sulfocálcica, óleos mineral e vegetal, tiosulfato de amônio e ambas as doses de uréia reduziram drasticamente o percentual de tubos polínicos, quando aplicado 24 HAP, enquanto que após a polinização, os tratamentos calda sulfocálcica isolada ou associada ao óleo mineral, GA₄₊₇+BA, óleo vegetal e tiosulfato de amônio propiciaram menores percentuais de tubos polínicos. Na interação entre época de aplicação dentro de cada nível de tratamento na etapa do percurso na etapa de percurso 2, o óleo vegetal e o GA₄₊₇ + benziladenina apresentaram menor percentual de tubos polínicos quando aplicados 24 HDP (Apêndice A).

Na etapa do percurso 3 (entre $\frac{1}{2}$ e a base do ovário) houve interação significativa entre tratamentos e época de aplicação para os tratamentos qualitativos dos princípios ativos testados como raleantes. Na interação entre tratamentos dentro de cada nível de época de aplicação, os tratamentos calda sulfocálcica isolada e associada ao óleo mineral, óleos mineral e vegetal, tiosulfato de amônio e ambas as doses de uréia apresentaram o menor percentual de tubos polínicos quando aplicado 24HAP. Enquanto que quando aplicado 24HDP, as maiores reduções do percentual de tubos polínicos presentes foram com os tratamentos ANA, calda sulfocálcica isolada ou associada ao óleo mineral, o GA₄₊₇+BA, tiosulfato de amônio, e o óleo vegetal. Na interação entre época de aplicação dentro de cada nível de tratamento na etapa do percurso, os tratamentos ácido naftaleno acético (ANA) e óleo vegetal apresentaram menor quantidade de tubos polínicos quando a sua aplicação se deu após a polinização, e o óleo mineral apresentou menor percentual de tubos polínicos quando aplicado 24 HAP. É importante ressaltar que nesta etapa o óleo mineral apresentou efeito oposto às etapas anteriores, sendo a menor concentração de tubos polínicos presentes quando aplicado 24 HAP (Apêndice A).

Na etapa do percurso 4 (dentro do ovário), houve interação significativa entre tratamentos e época de aplicação para os tratamentos qualitativos dos princípios ativos testados como raleantes. Na interação entre tratamentos dentro de cada nível de época de aplicação, quando aplicados 24 HAP, os tratamentos que mais reduziram o percentual de tubos polínicos foram a calda sulfocálcica isolada ou associada ao óleo mineral, o GA₄₊₇+BA, os óleos mineral

e vegetal, tiosulfato de amônio, e uréia na dose máxima (32 g.L^{-1}). Quando os tratamentos foram aplicados 24 HDP, a calda sulfocálcica associada ao óleo mineral apresentou o menor percentual de tubos (Apêndice A).

Na etapa do percurso 5 (tubos polínicos dentro dos óvulos), houve interação significativa entre tratamentos e época de aplicação para os tratamentos qualitativos dos princípios ativos testados como raleantes. Na interação entre tratamentos dentro de cada nível de época de aplicação, os tratamentos cáusticos calda sulfocálcica isolada ou associada ao óleo mineral, tiosulfato de amônio, além dos óleos vegetal e mineral promoveram menores percentuais de tubos polínicos presentes nos óvulos, quando 24 HAP. Enquanto que nos tratamentos aplicados após a polinização, a calda sulfocálcica associada ao óleo mineral apresentou o menor percentual de tubos polínicos dentre os tratamentos, seguido do tratamento calda sulfocálcica isolada. Na interação entre época de aplicação dentro de cada nível de tratamento na etapa do percurso, o tratamento calda sulfocálcica associada ao óleo mineral proporcionou menor número de tubos polínicos quando aplicado após a polinização, enquanto que o óleo mineral e o tiosulfato de amônio apresentaram menor percentual de tubos polínicos quando aplicado antes da polinização (Apêndice A).

Em relação a variável percentual de óvulos fecundados na interação entre tratamentos dentro de cada nível de época, os tratamentos calda sulfocálcica isolada, óleo mineral, óleo vegetal e tiosulfato de amônio foram os que mais diminuíram o percentual de fecundação, quando aplicados antes da polinização. Quando os tratamentos foram aplicados após a polinização, o tratamento que mais afetou negativamente a fecundação de óvulos foi a calda sulfocálcica associada ao óleo mineral, enquanto que o tratamento calda sulfocálcica isolada, diminuiu o percentual de óvulos de forma substancial. Na interação entre épocas dentro de cada nível de tratamento, os tratamentos óleo mineral e tiosulfato de amônio apresentaram maior efeito sobre a diminuição da fecundação de óvulos quando aplicados 24 HAP. Já os tratamentos ANA, benziladenina, calda sulfocálcica associada ao óleo mineral, GA_{4+7} + benziladenina, e uréia em ambas doses (16 e 32 g.L^{-1}) apresentaram maior interferência negativa no percentual de óvulos fecundados quando 24 HDP (Tabela 4).

Tabela 4 – Percentual de óvulos fecundados em função dos tratamentos e épocas de aplicação. Vacaria-RS, 2018.

Tratamento	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Percentual de óvulos fecundados ¹	
		24 HAP ²	24 HDP
Testemunha	-	92 a	94 a ^{ns3}
ANA	0,0105	86 a	38 b*
Benziladenina	3	90 a	50 a*
Calda Sulfocálcica	30	5 c	10 c ^{ns}
Calda Sulfocálcica. + OM	20 + 20	20 b	0 d*
Espalhante adesivo siliconado	0,015	92 a	94 a ^{ns}
Fertilizante CT Green	0,5	87 a	83 a ^{ns}
GA ₄₊₇ + BA	2,5	73 a	22 b*
Óleo Mineral	20	13 c	65 a*
Óleo Vegetal	25	13 c	24 b ^{ns}
Tiossulfato de amônio	25	9 c	29 b*
Uréia	16	78 a	44 b*
Uréia	32	74 a	43 b*
<i>p value</i> (tratamentos*épocas)	-	<0,0001	
C.V.(%)		23,61	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação $\log(y+1)$. ²HAP e HDP = horas antes da polinização e horas depois da polinização, respectivamente. ³Médias seguidas de mesma letra dentro de uma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$); ^{ns} e * em uma linha = não significativo e significativo para épocas, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).

Em relação aos tratamentos quantitativos (doses) DAP e MAP, houve interação significativa entre épocas de aplicação e doses de diamônio fosfato para as etapas do percurso 1, 2, 3 e 5 (Tabela 5). Já para o monoamônio fosfato, houve interação significativa entre épocas de aplicação e doses para as etapas do percurso 1 e 5 (Tabela 6). Na etapa de percurso 1 (entre o estigma e ¼ do estilo), o diamônio fosfato (DAP) não apresentou efeito sobre o percentual de tubos polínicos quando aplicado 24 HAP, mas teve efeito linear na diminuição do percentual de tubos polínicos, inversamente proporcional à dose, quando aplicado 24 HDP (Tabela 5). O

monoamônio fosfato (MAP) apresentou efeito linear negativo sobre o percentual de tubos polínicos presentes na etapa de percurso 1, conforme a dose aumentou, quando aplicado 24 HAP, enquanto que quando aplicado posteriormente à polinização, apresentou efeito quadrático, com a dose de 15 g.L⁻¹ apresentando o menor percentual de tubos polínicos (Tabela 6). De modo geral, não houve diferença entre os efeitos do MAP e do DAP para essa etapa do percurso, conforme indicado pelos contrastes lineares, e o MAP apresentou o mesmo efeito em ambas as épocas; porém, o DAP apresentou interferência negativa nessa etapa do percurso (etapa 1), quando 24HAP (Tabela 7).

Na etapa de percurso 2 (entre ¼ e ½ do estilo) o DAP apresentou efeito linear no decréscimo da presença de tubos polínicos conforme a dose aumentou, quando aplicado 24 HAP, e efeito quadrático quando aplicado 24 HDP, sendo a dose mais alta (30 g.L⁻¹) a que propiciou o menor percentual de tubos polínicos (Tabela 5). Para o MAP, quando aplicado 24 HAP o efeito foi quadrático negativo, ou seja, o percentual de tubos polínicos diminuiu até a dose de 15 g.L⁻¹ e aumentou ligeiramente na dose de 30 g.L⁻¹. O mesmo padrão pode ser observado quando aplicado 24 HDP (Tabela 6). Quando analisados os contrastes lineares para essa etapa do percurso (Tabela 7), houve diferença entre o efeito do DAP e do MAP, sendo este o tratamento que proporcionou a menor porcentagem de tubos polínicos. Em adição, o DAP, apesar de menos efetivo nessa etapa do percurso, apresentou maior efeito na supressão de tubos polínicos quando aplicado após a polinização.

Na etapa do percurso 3 (entre ½ e a entrada do ovário), o DAP apresentou diminuição linear do percentual de tubos polínicos conforme o aumento da dose, quando aplicado 24 HAP. Já quando aplicado 24 HDP, o DAP teve efeito quadrático, tendo o percentual de tubos polínicos diminuído conforme o aumento da dose até a dose de 15 g.L⁻¹, enquanto que na dose de 30 g.L⁻¹, o efeito foi o mesmo da dose anterior (Tabela 5). O MAP apresentou efeito linear, diminuindo o percentual de tubos polínicos conforme a dose foi aumentada, quando aplicado 24 HAP, e efeito quadrático quando aplicado 24 HDP, sendo a menor porcentagem atingida na dose de 15 g.L⁻¹ (Tabela 6). Ao analisar-se os contrastes lineares (Tabela 7), houve diferença significativa entre os efeitos gerais do DAP versus o MAP, sendo que este possuiu maior efeito sobre a diminuição do percentual de tubos polínicos presentes nessa etapa. Porém, o DAP, apesar de menos efetivo (de modo geral), apresentou maior efeito negativo no percentual de tubos polínicos quando aplicado após a polinização.

Na etapa do percurso 4 (tubos polínicos dentro do ovário), o DAP apresentou efeito quadrático, de acordo com o contraste polinomial ortogonal, sendo que o percentual de tubos polínicos presentes nessa etapa do percurso diminuiu até a dose de 15 g.L⁻¹ e aumentaram na

dose de 30 g.L⁻¹ (Tabelas 5). O MAP apresentou efeito linear, com diminuição do percentual de tubos polínicos à medida que as doses aumentaram (Tabela 6). Na análise de contrastes lineares (Tabela 7), não houve diferença significativa entre o efeito geral de DAP e MAP, ou das épocas de aplicação de ambos.

Na etapa do percurso 5 (tubos polínicos dentro dos óvulos), ambos tratamentos apresentaram comportamento similar (Tabelas 5 e 6), diminuindo linearmente a porcentagem de tubos polínicos à medida que a dose aumentou, quando aplicados 24 HAP, e resposta quadrática quando aplicados 24 HDP, sendo a dose de 15 g.L⁻¹ a dose com menor porcentagem de tubos polínicos para o MAP e as doses de 15 e 30 g.L⁻¹ para DAP. Na análise de contrastes lineares (Tabela 7) não foi observada diferença de ação entre ambos os fertilizantes nitrogenados. Também não houve diferença estatística entre épocas de aplicação para ambos.

Para a variável percentual de óvulos fecundados (Tabela 8) ambos tratamentos tiveram resposta linear no decréscimo do percentual de óvulos fecundados à medida que a dose aumentou. Em ambos tratamentos não houve interação significativa entre doses e época de aplicação, conforme indicado pelo teste F. Entretanto, de maneira geral, tanto o MAP quanto o DAP possuíram maior efeito no decréscimo do percentual de óvulos fecundados quando aplicados 24 HDP (Tabela 9); além disso, não houve diferença significativa entre ambos tratamentos de acordo com o contraste linear.

Neste experimento, ficou evidenciado que os tratamentos que de fato diminuíram a presença de tubos polínicos no ovário e a quantidade de óvulos fecundados foram a calda sulfocálcica isolada e associada ao óleo mineral, o tiosulfato de amônio e os óleos mineral e vegetal. O óleo mineral e o tiosulfato de amônio foram os únicos tratamentos que foram mais efetivos quando aplicados 24 HAP. É possível deduzir que o tiosulfato de amônio aja causando queimaduras no estigma e isso impeça o pólen de germinar, enquanto que o óleo mineral pode agir no crescimento do tubo polínico, pois permite a germinação do grão de pólen sobre o estigma. A calda sulfocálcica associada ao óleo mineral teve melhores resultados quando aplicada 24 HDP. Através do método de realizar a contagem de tubos polínicos em diversos locais do estilo floral (etapas do percurso) foi possível saber com exatidão o local onde os tratamentos agiram. A calda sulfocálcica isolada ou associada ao óleo mineral, bem como o óleo mineral aplicado 24 HAP começaram a diminuir a presença de tubos polínicos a partir da etapa do percurso 3 (na entrada do ovário), não havendo diferença entre época de aplicação para ambos. Já o óleo vegetal aplicado 24 HDP causou alguma interferência no desenvolvimento do tubo polínico a partir da etapa do percurso 1 (entre o estigma e ¼ do estilo e a etapa 2 (entre ¼ e ½ do estilo), sendo possível deduzir que ambos compostos não interferem diretamente na

comunicação entre pólen e estigma, mas em etapas posteriores de desenvolvimento do tubo polínico.

A calda sulfocálcica isolada apresentou leve interferência negativa na penetração de tubos polínicos pelo estilo quando aplicada antes da polinização, enquanto que o tiosulfato de amônio causou forte interferência logo na primeira etapa do percurso (entre o estigma e $\frac{1}{4}$ do estilo), evidenciando que a calda sulfocálcica não age como um composto “cáustico”, como o tiosulfato de amônio, mas age na germinação e desenvolvimento do tubo polínico. O óleo vegetal apresentou maior interferência negativa quando aplicado 24 HDP, persistindo essa diferença desde a etapa do percurso 1 (entre o estigma e $\frac{1}{4}$ do estilo) até a etapa do percurso 3 (entre $\frac{1}{2}$ e a entrada do ovário), provavelmente interferindo na taxa respiratória do grão de pólen no crescimento do tubo polínico.

Tabela 5 – Percentual de tubos polínicos em diferentes etapas do percurso do gineceu de flores de macieira ‘Fuji More’ em função de doses de diamônio fosfato e épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.

Dose DAP (g.L ¹)	Porcentagem tubos polínicos									
	Etapas do percurso ¹									
	1		2		3		4		5	
	HAP ²	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP
0	75	88	74	83	69	76	64	67	12	19
7.5	69	61	61	45	53	36	32	25	12	8
15	67	52	60	45	51	33	19	17	6	6
30	66	51	52	39	41	33	21	26	2	6
Linear	ns	***	**	***	***	***	***	***	***	***
Quadrático	ns	ns	ns	**	ns	***	***	***	ns	**
Média geral	69	63	62	53	54	45	34	34	8	10
C.V.(%)	7,49		8,22		10,06		14,37		26,62	
Teste F										
Épocas	p=0,0087		p=0,0002		p=0,0002		p=0,7743		p=0,2551	
Doses	p=0,0001		p=0,0001		p=0,0001		p=0,0001		p=0,0001	
Épocas*doses	p=0,0007		p=0,0016		p=0,0048		p=0,2716		p=0,0344	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . ²HAP e HDP = horas antes da polinização e horas depois da polinização, respectivamente. Ns, *, **, *** = não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com o contraste polinomial ortogonal.

Tabela 6 - Percentual de tubos polínicos em diferentes etapas do percurso do gineceu de flores de macieira 'Fuji More' em função de doses de monoamônio fosfato e épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.

Dose MAP (g.L ¹)	Porcentagem polínicos									
	Etapas do percurso ¹									
	1		2		3		4		5	
	HAP ²	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP
0	75	88	74	83	69	76	64	67	12	19
7.5	65	56	52	40	41	31	38	23	18	6
15	56	39	40	31	35	24	20	19	4	4
30	52	70	45	49	33	35	19	21	3	6
Linear	**	ns	***	**	***	***	***	***	***	***
Quadrático	ns	***	**	***	ns	***	ns	***	ns	**
Média geral	62	64	53	51	45	42	35	33	9	9
C.V.(%)	10,35		11,25		12,49		15,92		30,79	
	Teste F									
Épocas	p=0,9032		p=0,2320		p=0,1432		p=0,1976		p=0,8714	
Doses	p=0,0001		p=0,0001		p=0,0001		p=0,0001		p=0,0001	
Épocas*doses	p=0,0009		p=0,0301		p=0,0596		p=0,1070		p=0,0001	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . ²HAP e HDP = horas antes da polinização e horas depois da polinização, respectivamente. Ns, *, **, *** = não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com o contraste polinomial ortogonal.

Tabela 7 - Percentual de tubos polínicos em diferentes etapas do percurso do gineceu de flores de macieira ‘Fuji More’ em função dos tratamentos monoamônio fosfato e diamônio fosfato em diferentes épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.

Tratamentos	Porcentagem de tubos polínicos ¹									
	Etapas do percurso									
	1		2		3		4		5	
	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	HAP ²	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP	HAP	HDP
DAP	69	63	62	53	54	45	34	34	8	10
MAP	62	64	53	51	45	42	35	33	9	9

Contrastes lineares	Etapas do percurso				
	1	2	3	4	5
DAP vs MAP	p=0,0619	p=0,0014	p=0,0005	p=0,9572	p=0,7857
DAP vs Época	p=0,0227	p=0,0006	p=0,0004	p=0,7851	p=0,2854
MAP vs Época	p=0,8101	p=0,1795	p=0,1105	p=0,1737	p=0,8630

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . ²HAP e HDP = horas antes da polinização e horas depois da polinização, respectivamente.

Tabela 8 – Percentual de óvulos fecundados em função dos tratamentos e épocas de aplicação em função de doses de monoamônio fosfato e épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.

Doses (g.L ⁻¹)	Percentual de óvulos fecundados ¹			
	Diamônio fosfato		Monoamônio fosfato	
	Épocas			
	24 HAP	24 HDP	24 HAP	24 HDP
0	97	94	97	94
7.5	83	40	100	38
15	57	37	27	29
30	22	17	22	20
Linear	***	***	***	**
Quadrático	ns	ns	ns	ns
Média geral	65	47	62	45
C.V.(%)	20,26		30,31	
	Teste F			
Épocas	p=0,0663		p=0,7566	
Doses	p=<0,0001		p=<0,0001	
Épocas*doses	p=0,6681		p=0,2332	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

¹Dados transformados pela equação $\log(y+1)$. ²HAP e HDP = horas antes da polinização e horas depois da polinização, respectivamente. Ns, *, **, *** = não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com o contraste polinomial ortogonal.

Tabela 9 - Percentual geral de óvulos fecundados em flores de macieira ‘Fuji More’ em função dos tratamentos monoamônio fosfato e diamônio fosfato em diferentes épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.

Tratamentos	Porcentagem de óvulos fecundados ¹	
	Época	
	24 HAP	24 HDP
DAP	65	47
MAP	62	45
Contrastes lineares		
DAP vs MAP	p=0,3665	
DAP vs época	p=<0,0001	
MAP vs época	p=<0,0001	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação $\log(y+1)$. ²HAP e HDP = horas antes da polinização e horas depois da polinização, respectivamente. Ns, *, **, *** = não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com o contraste polinomial ortogonal.

Yoder et al. (2009) relataram que calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe emulsionável foi eficaz em diminuir a germinação *in vivo* de pólen de macieira, bem como paralisar o crescimento de tubos polínicos no estilo de plantas tratadas 4 e 24 horas depois da polinização.

Myra et al. (2006) reportaram forte diminuição do comprimento de tubos polínicos de macieira quando as flores foram tratadas 12 horas antes da polinização com calda sulfocálcica isolada e também com vinagre hortícola. Todavia, os autores relataram que o tiosulfato de amônio foi o tratamento que mais inibiu a germinação de pólen sob o estigma floral, corroborando com esse experimento. Além disso, Embree e Foster (1999) reportaram que o tiosulfato de amônio aplicado 24 HDP diminuiu substancialmente o número de tubos polínicos que atingiram a base do estilo, em um experimento *in vivo*. Além disso, os autores relataram que o monoamônio fosfato na dose de 15 g.L⁻¹ foi tão efetivo quanto o tiosulfato de amônio quando aplicado 24 HDP. Nesse experimento tanto o MAP quanto o DAP apresentaram bons resultados na diminuição de tubos polínicos desde a etapa do percurso 2, sendo a dose de 15 g.L⁻¹ mais efetiva para o MAP e 30 g.L⁻¹ a mais efetiva para o DAP. Maas (2016) relatou que o tiosulfato de amônio é mais eficiente quando aplicado momentos antes da polinização da macieira, e que seu efeito polinicida é reduzido linearmente com o passar das horas após a aplicação depois da polinização. O tiosulfato de amônio é efetivo até quando os tubos polínicos atingiram metade do comprimento do estilo, após esse período, não há efeito do composto.

A acidificação do estigma antes da polinização também causa alterações irreversíveis que impedem a germinação do pólen. Além disso, esse efeito inibidor da germinação também é proporcional ao pH. Por exemplo, Wertheim e Craker (1987) relataram que chuva ácida simulada uma hora antes da polinização de milho, resultou em redução da germinação do pólen no estigma, e que em pH mais ácido (<4,6) o efeito foi mais acentuado que em pH 5,6, indicando que o pH do meio promove grande interferência sobre a polinização. Adicionalmente, o pólen de macieira também possui comportamento similar, com perdas no percentual de germinação e alongação do tubo polínico à medida que o pH decresce, sendo que o pH mínimo para que ainda ocorra algum nível de germinação é de 3,3 a 3,4. Abaixo desse valor, o tubo polínico é destruído (MUNZUROGLU et al., 2002).

O processo do desenvolvimento do tubo polínico é altamente regulado pelo fluxo de íons (Ca^{2+} , K^+ , H^+) e ânions (Cl^-) no ápice do tubo polínico, e sua interação com o estilo. Primeiramente, no ápice do tubo polínico, o pH tende a ser ácido, e em uma região logo abaixo (muito próxima) o pH tende a ser alcalino. Nessa faixa alcalina é onde ocorre a absorção de moléculas de cálcio e potássio, devido a intensa atividade de bombas de prótons em expulsar H^+ , criando uma diferença no gradiente eletroquímico, permitindo que tais íons sejam carregados para dentro dessa região; dessa forma, o potencial osmótico é aumentado enquanto que o potencial hídrico decresce, forçando a entrada de água e forçando a expansão do tubo polínico pelo aumento da pressão de turgor, fazendo-o crescer. Já na faixa ácida no extremo ápice, há grande atividade de bombas de prótons para criar um gradiente eletroquímico e entrada de cálcio, secretado pelo estilo, e dessa forma atuar na estabilização dos filamentos de actina e no enrijecimento da pectina que compõem o tubo polínico. Além disso, o pH baixo do ápice favorece a ativação de expansinas que degradam a parede celular do estilo, abrindo caminho para o tubo polínico. Entretanto, alterações no pH externo ao tubo polínico, abaixo de 4,5 ou acima de 6,5 há grande redução do crescimento do tubo polínico. Isto ocorre devido a alteração em enzimas transportadoras de cálcio e assim, colapso das paredes do ápice do tubo polínico e paralização de seu desenvolvimento (HOLDAWAY-CLARKE; HEPLER, 2003). Com isso, fica evidenciado, o pH do estilo é de fundamental importância para que ocorra fecundação.

O processo de germinação e desenvolvimento do tubo polínico é totalmente dependente de reservas provindas do grão de pólen, através de respiração mitocondrial para a formação de ATP para o funcionamento principalmente das bombas de prótons. Não obstante, a região alcalina (abaixo do ápice do tubo polínico) possui altas quantidades de mitocôndrias e alta taxa respiratória. Com o não funcionamento das

mitocôndrias, as V-ATPases (bombas de prótons localizadas nos vacúolos) não tem seu suprimento de ATP fornecido, levando a sua inativação, com isso, há acidificação intracelular e interrupção do gradiente eletroquímico e entrada de íons, impedindo assim o aumento da pressão de turgor e paralização do crescimento (GAO et al., 2014).

Nesse experimento, o óleo vegetal interferiu negativamente no desenvolvimento *in vivo* dos tubos polínicos quando aplicado 24 HAP, e o óleo mineral, que de forma similar, afetou o crescimento dos tubos polínicos quando aplicado 24 HAP nas etapas do percurso 1 e 2, mas a partir da terceira etapa até a quinta afetou negativamente o desenvolvimento dos tubos polínicos quando aplicado 24 HDP. Sendo assim, fica a hipótese de que a película de óleo formada sobre o estigma tenha restringido o aporte de oxigênio à zona alcalina dos tubos polínicos, e isso tenha cessado o crescimento de boa parte deles.

Em um experimento *in vivo* com macieira ‘McIntosh’ e ‘Idared’, alguns compostos oleosos/cerosos como polietileno-glicol, polímeros acrílicos e sais de potássio de ácidos graxos foram aplicados 24 horas antes da polinização impediram a maior parte dos tubos polínicos de atingirem a base do estilo, não interferindo na taxa de germinação do pólen, confirmando que tais compostos agem por interferir no crescimento do tubo polínico (EMBREE; FOSTER, 1999). Em adição, em macieira ‘Golden Delicious’ polinizada com ‘McIntosh’, a aplicação de biodiesel 12 horas antes da polinização afetou pouco a germinação *in vivo* do pólen sobre o estigma, mas quando aplicado a campo, reduziu a frutificação efetiva, indicando que possa ter havido algum efeito sobre o desenvolvimento dos tubos polínicos (MYRA et al., 2006).

3.6 CONCLUSÃO

Os compostos calda sulfocálcica, tiosulfato de amônio monoamônio e diamônio fosfato possuem ação polinicida em condições *in vitro*.

O tiosulfato de amônio apresenta ação cáustica sobre o estigma e é efetivo em diminuir a germinação e desenvolvimento de tubos polínicos *in vivo*.

A calda sulfocálcica age no desenvolvimento de tubos polínicos no estigma, não possuindo efeito cáustico.

O óleo vegetal e óleo mineral agem no impedimento da continuação do desenvolvimento de tubos polínicos dentro do estigma.

Os compostos DAP e MAP são cáusticos e agem tanto na germinação quanto no desenvolvimento de tubos polínicos dentro do estigma.

4 CAPÍTULO II: COMPOSTOS COM POTENCIAL AÇÃO RALEANTE DE FLORES NA DIMINUIÇÃO DA FRUTIFICAÇÃO EFETIVA E NA QUALIDADE DE FRUTOS DE MACIEIRA ‘FUJI MORE’.

4.1 RESUMO

No Brasil, o cultivo e a produção de maçã tem crescido ao longo das últimas décadas, bem como a demanda da fruta no mercado interno brasileiro. Com a maior demanda, também os consumidores têm se tornado mais exigentes na qualidade de frutos. Para obter isso, o raleio de frutos é a principal ferramenta em equilibrar a produção de frutos com a qualidade. Entretanto, maior qualidade de frutos é obtida quando o raleio é realizado precocemente, sendo que raleio tardio promove pouco efeito sobre a qualidade dos frutos. No Brasil, se utiliza somente o ajuste da carga de frutos das plantas pós-florada, com reguladores de crescimento, porém estes têm efeitos variáveis conforme o clima da estação. Em diversos países produtores de maçã no mundo tem relatado o benefício do raleio de flores com o uso de substâncias cáusticas com boa taxa de sucesso. No Brasil, pouco se sabe sobre os efeitos e o uso de raleantes cáusticos em raleio de florada, especialmente no cultivar ‘Fuji’ que é de difícil raleio e há poucas opções para tal manejo. Com isso, o objetivo desse experimento foi avaliar o efeito de diversos agentes com potencial de promoverem raleio de flores de macieira, na efetividade em reduzir a carga de frutos e a influência na qualidade dos mesmos. Os tratamentos: Fertilizante foliar CT Green[®], ácido naftaleno acético, benziladenina, GA₄₊₇ + benziladenina, calda sulfocálcica, calda sulfocálcica + óleo mineral, óleo vegetal, óleo mineral, tiosulfato de amônio, uréia, e diamônio fosfato e monoamônio fosfato nas doses de 7,5, 15 e 30 g.L⁻¹, além de uma testemunha não tratada. Para tal, os tratamentos foram aplicados um dia após a plena floração, quando todas as flores se encontravam abertas. Os reguladores de crescimento foram efetivos em promover o raleio de flores de ‘Fuji More’ e aumentar a qualidade de frutos.

Palavras-chave: Antese. Raleio. Cáustico. Reguladores de crescimento. Produção.

4.2 ABSTRACT

In Brazil, the apple crop has been growing along the past decades, as well as the demand of the fruit by the internal Market. With the higher demand, the customers have become more rigorous about the fruit quality. For it, fruit thinning is the main tool to balance out yield and quality. However, greater fruit quality is reached out with when the fruit thinning is done precociously, as a late thinning has little effect on the quality of the fruits. In Brazil, the crop load adjustment is done only post-bloom, with growth regulators, but with variable results depending on the season's weather. In several apple producing countries around the globe, it has been reported the benefits of flowering thinning with the use of caustic substances with a good success rate. In Brazil, little is known about the effects and the use of caustic apple blossom thinners, especially in the cultivar ‘Fuji More’, which is considered as hard-to-thin, and there are also few options for the management. Thus, the objective of this experiment was to evaluate the effects of several compounds with potential to thin apple, on the effectiveness in reducing the crop load and the influence in the fruit quality. The treatments were: Leaf fertilizer CT Green[®], Naftalene-acetic acid, benzyladenine, GA₄₊₇ + benzyladenine, lime-sulphur, lime-sulphur +

mineral oil, vegetal oil, mineral oil, ammonium thiosulfate, urea, and diammonium phosphate and monoammonium phosphate at the rates of 7.5, 15 and 30 g.L⁻¹, besides an untreated control. The treatments were applied in the day after full bloom when all the flowers were opened. The growth regulators were effective in promoting apple thinning of 'Fuji More' and increasing fruit quality.

Key words: Anthesis. Thinning. Caustic. Growth regulators. Yield.

4.3 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem se observado que o consumo de maçãs no mundo, muito devido à maior conscientização dos consumidores em relação aos benefícios de uma alimentação equilibrada. O mesmo ocorreu no Brasil, onde a maçã há muitos anos atrás era vista como uma fruta para ser comida em ocasiões muito especiais, se tornou a terceira fruta mais consumida nacionalmente. Não obstante, a área cultivada com macieira bem como a produtividade tem aumentado ao longo das últimas décadas, graças a descobertas e inovações da pesquisa. É importante salientar também que as exportações brasileiras de maçã estão aumentando (ANUÁRIO BRASILEIRO DA MAÇÃ, 2018).

Na macieira, há forte relação entre carga de frutos e tamanho final de frutos. Em altas cargas, há intensa competição entre frutos por assimilados e conseqüente redução de seu tamanho final (LINK, 2000). O tamanho final do fruto de macieira é determinado pela quantidade de células que o fruto possui, sendo que isso é especialmente definido nas primeiras quatro a cinco semanas após a antese, enquanto que o crescimento posterior ocorre somente por expansão celular (LAKSO; GOFFINET, 2013). Dessa forma, fica evidente que quanto mais precoce o raleio, e assim maior equilíbrio entre os drenos (frutos) pelo suprimento de assimilados, maior será o tamanho final e a qualidade final dos frutos (BERGH, 1992; LINK, 2000; MELAND, 2009; McARTNEY et al., 1996).

O uso de agentes cáusticos a exemplo do tiosulfato de amônio (ATS) e calda sulfocálcica são relatados como efetivos no raleio de flores quando aplicados durante a antese pois dificultam a polinização e a fecundação das flores, induzindo à abscisão de flores (BOUND; JONES 2004; MYRA et al., 2006; BOUND; WILSON, 2007; HAMPSON; BEDFORD, 2011; MILIC et al., 2011). Outra forma de afetar negativamente a polinização é através do uso de óleos emulsionáveis (vegetal ou mineral) aplicados sobre as flores, os quais têm se mostrado efetivos como raleantes de florada de macieira e outras culturas (JU et al., 2001; KALLSEN, 2001; STOPAR, 2008; MILLER; TWORKOSKI, 2010; McARTNEY et al.,

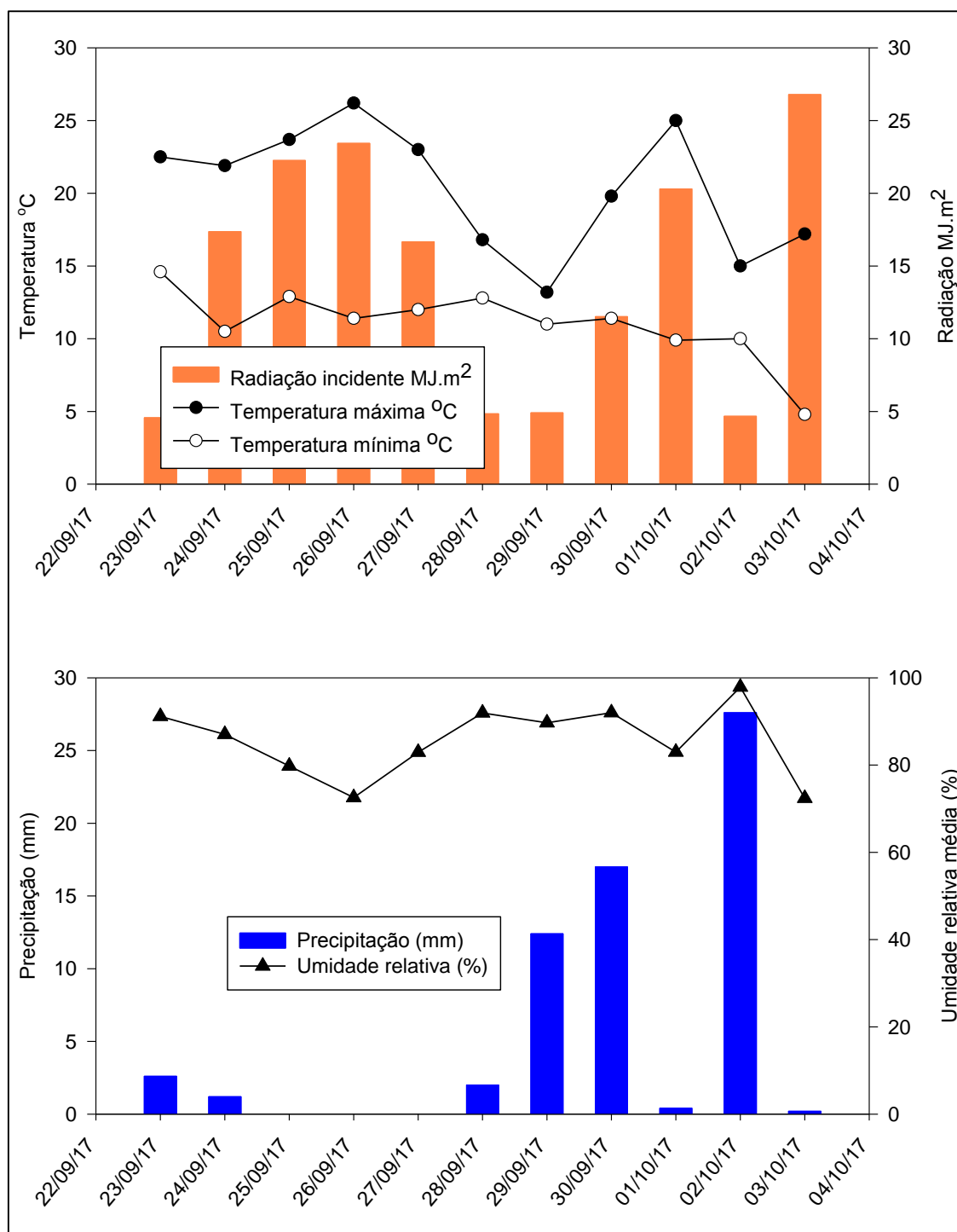
2006). Em relação aos raleantes hormonais (reguladores de crescimento), no Brasil, há pouca informação sobre seu uso durante a antese. Reguladores de crescimento como o ácido naftaleno acético (ANA) e etefom tiveram efeitos raleantes em macieira, sendo que este último tende a causar sobre-raleio, porém, o ANA mostrou algum potencial se usado nesse estágio fenológico (IRVING et al., 1989).

Há diversos estudos em diferentes regiões produtoras de maçã no mundo relatando a efetividade do ATS e da calda sulfocálcica como raleantes cáusticos para uso durante a antese, porém ainda há um vasto campo de possibilidades em se buscar outras alternativas de compostos com efeito raleante, bem como o uso de reguladores de crescimento. Em condições edafoclimáticas do sul do Brasil, pouco foi investigado sobre o raleio de flores para a cultura da macieira, em especial para a cultivar ‘Fuji’ que é de difícil raleio. Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito raleante de diversos compostos potencialmente raleantes para uso na macieira ‘Fuji More’.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na empresa Rasip, em pomar comercial localizado no município de Vacaria-RS (28° 31' 41.63''S 50°50.09' 09.93''W). O pomar foi implementado em 2007 (11 anos) com as cultivares ‘Maxi Gala’ e ‘Fuji More’, que foi o objeto desse estudo. As plantas eram enxertadas sobre o porta-enxerto M.9 e o espaçamento entre filas era de 4 metros por 0,80 metros entre plantas. O clima da região é classificado como do tipo temperado marítimo húmido (Cfb) de acordo com a classificação de Köppen-Geiger, com estações de inverno e verão bem definidas. No ano de 2017, entre os meses de abril a junho, houve um acúmulo de 155 horas de frio (HF) menor ou igual a 7,2 °C ou 618,1 UF pelo método Carolina do Norte modificado (HAWERROTH; NACHTIGALL, 2017). Entre os meses de condução do experimento, de setembro de 2017 a primeira semana de março de 2018, a temperatura máxima média foi de 25 °C, a temperatura mínima média foi de 13°C, a umidade relativa média foi de 80%, a precipitação total foi de 922 mm, e o número total de dias com precipitação foi de 62 dias (Figura 1) (EMBRAPA UVA E VINHO, 2018; INMET, 2018).

Figura 3 – Dados climáticos diários de temperaturas máxima e mínima, radiação solar incidente, umidade relativa e precipitação. Vacaria-RS, 2018.



Fonte: INMET, 2018.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso e três repetições com três subamostras (plantas úteis) por bloco, num total de nove plantas por tratamento. Cada bloco consistiu de cinco plantas, sendo as duas de ambas extremidades consideradas como bordas. O estágio de plena floração (70% das flores abertas) ocorreu no dia 23 de setembro de 2017,

porém devido à precipitação que ocorreu nesse dia, os tratamentos foram aplicados no dia 24 de setembro de 2017. Os tratamentos descritos na Tabela 10 foram aplicados na macieira ‘Fuji More’ quando mais de 90% das flores estavam abertas, utilizando-se um pulverizador motorizado com barras de aplicação equipadas com dois bicos do tipo cone cheio, sendo os tratamentos aplicados em todas as plantas até o momento de início do escorrimento da calda (aprox. 1000 L.ha⁻¹). Durante a aplicação, a temperatura estava em 17 °C, o vento estava a uma velocidade de 4,45 m/s, a umidade relativa do ar estava em 81%, o céu estava predominantemente sem nuvens. Não houve precipitação por três dias subsequentes à aplicação dos tratamentos nesse experimento.

Tabela 10 - Compostos aplicados para o raleio de floração durante a antese da macieira ‘Fuji More’. Vacaria-RS, 2018.

Princípios ativos	Dose
Testemunha	-
Ácido naftaleno acético	0,0105 g.L ⁻¹
Benziladenina ¹	3 ml.L ⁻¹
Calda sulfocálcica	30 ml.L ⁻¹
Calda sulfocálcica + óleo mineral	20 ml.L ⁻¹ + 20 ml.L ⁻¹
DAP ²	7,5 g.L ⁻¹
DAP	15 g.L ⁻¹
DAP	30 g.L ⁻¹
Fertilizante CT Green	0,5 ml.L ⁻¹
GA ₄₊₇ + Benziladenina ³	2,5 ml.L ⁻¹
MAP ⁴	7,5 g.L ⁻¹
MAP	15 g.L ⁻¹
MAP	30 g.L ⁻¹
Óleo mineral	20 ml.L ⁻¹
Óleo vegetal	25 ml.L ⁻¹
Tiosulfato de amônio	25 g.L ⁻¹
Uréia	16 g.L ⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Maxcel®. ²Fostato diamônio. ³Promalin®. ⁴Fosfato monoamônio. Em todos os tratamentos, foi adicionado o adjuvante Breakthru® na dose de 0,15% v/v.

As variáveis avaliadas nesse experimento foram: frutificação efetiva, percentual de frutos em inflorescências, carga de frutos, eficiência produtiva, peso médio de frutos, percentual de cor vermelha, comprimento e diâmetro de frutos, incidência de russeting, firmeza de polpa, sólidos solúveis totais e número de sementes.

A frutificação efetiva foi realizada conforme explicado a seguir: um dia após a aplicação dos tratamentos, foi realizada a contagem de inflorescências em três ramos representativos por planta, nas partes superior, mediana e inferior, em que o valor foi anotado, para que quando os frutos estivessem com 20 mm de diâmetro fosse feita nova contagem de frutos e assim determinada a frutificação efetiva. A contagem da frutificação efetiva foi feita de forma qualitativa, contando-se o número de frutos presentes em cada estrutura produtiva, segregando-se em cachos de um a cinco frutos. No momento da colheita, foi contado o número de frutos por planta e a produção por planta, dividindo-se pela área de seção transversal do tronco medida a 13 cm do ponto de enxertia para se obter a eficiência produtiva, a carga de frutos, o número de frutos, a produção por planta e o peso médio de frutos.

Também foi coletada uma amostra de 50 frutos por planta para se determinar o percentual de cor vermelha e diferentes classes de peso através de uma classificadora industrial. A classificadora estava calibrada para separar os frutos nas seguintes categorias: classes de peso de frutos: 40-95 g, 96-126 g, 127-212 g dentro das classes de cor vermelha: 40-95%, 20-39%. Frutos com menos de 20% de cor e/ou fora do escopo das classes de peso eram descartados da contagem pela máquina. Após essa etapa, foram coletadas amostras de 20 frutos de cada tratamento para se determinar a altura e diâmetro de frutos, firmeza de polpa com penetrômetro equipado com ponteira de 10 mm de diâmetro, incidência de russeting de forma visual, contabilizando a quantidade de frutos nas seguintes classes: 0%, <10%, 10-30%, 30-50% e >50% de incidência. Os frutos foram cortados ao meio para se contar o número de sementes e um pedaço foi utilizado para ser processado e extraído suco, para determinação do teor de sólidos solúveis através de refratômetro digital Atago® PAL-BX/RI.

Os dados qualitativos foram submetidos aos testes de normalidade e homocedasticidade para realizar transformação quando necessário, e então submetidos a ANOVA. Em caso de significância, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Já para os fatores quantitativos (doses de DAP e MAP), os dados foram submetidos a análise de contrastes polinomiais ortogonais e contrastes lineares.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo de tratamento para as variáveis carga de frutos, eficiência produtiva, número de frutos por planta e frutificação efetiva (Tabela 11). Em relação a carga de frutos, somente os reguladores de crescimento efetivamente promoveram redução, sendo que a benziladenina foi o tratamento que mais reduziu a carga de frutos, seguida de ANA e GA₄₊₇ + benziladenina, sem diferença estatística entre esses tratamentos. Para a variável eficiência produtiva, o único tratamento com o valor mais baixo foi para a benziladenina isolada, seguido de GA₄₊₇ + benziladenina. Em relação ao número de frutos por planta, somente os reguladores de crescimento efetivamente diminuíram a quantidade de frutos por planta, sem diferença estatística entre eles. Para a variável frutificação efetiva, os tratamentos que mais reduziram foram os reguladores de crescimento ANA e GA₄₊₇ + benziladenina, seguido de benziladenina isolada.

Tabela 11 - Efeito de compostos aplicados como raleantes durante a antese de 'Fuji More' nas variáveis carga de frutos, eficiência produtiva, número de frutos por planta, produção por planta e frutificação efetiva. Vacaria-RS, 2018.

Tratamentos	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Carga de frutos (frutos.cm ⁻²) ¹	Eficiência produtiva (Kg.cm ⁻²) ¹	Número de frutos por planta ¹	Produção por planta (Kg) ¹	Frutificação efetiva (%) ¹
Testemunha	-	11,53 a	0,83 ab	418 ab	30 a	26,94 ab
ANA	0,0105	6,43 bc	0,61 abc	258 b	25 a	15,27 d
Benziladenine	3	6,06 c	0,55 c	267 b	25 a	17,58 cd
Cal Sulf.+ OM	20 + 20	11,08 a	0,78 abc	418 ab	30 a	27,98 ab
Calda Sulfocá.	30	10,63 a	0,78 abc	362 ab	30 a	31,02 a
Fer. CT Green	0,5	10,50 a	0,76 abc	378 ab	27 a	26,80 ab
GA ₄₊₇ + BA	2,5	6,50 bc	0,59 bc	262 b	24 a	15,53 d
Óleo Mineral	20	9,87 ab	0,75 abc	359 ab	27 a	31,66 a
Óleo Vegetal	25	11,40 a	0,86 ab	460 a	35 a	28,55 ab
Tio. de amônio	25	11,69 a	0,90 a	423 a	33 a	21,60 bc
Uréia	16	11,34 a	0,82 ab	458 a	33 a	29,29 a
<i>p value</i>	-	0,0020	0,0702	0,0218	0,3383	0,0001
C.V.(%)	-	21,63	18,54	22,57	20,10	14,19

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} .

Em relação aos tratamentos quantitativos (doses de DAP e MAP), não houve efeito de tratamento para as variáveis carga de frutos, eficiência produtiva, número de frutos por planta, produção por planta e frutificação efetiva, conforme indicado pela ANOVA e pelos contrastes lineares e contrastes polinomiais ortogonais (Tabela 12).

Tabela 12 - Efeito de doses dos tratamentos diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes durante a antese de ‘Fuji More’ nas variáveis carga de frutos, eficiência produtiva, número de frutos por planta, produção por planta e frutificação efetiva. Vacaria-RS, 2018.

Dose (g.L ⁻¹)	Carga de frutos (frutos.cm ⁻²) ¹		Eficiência produtiva (Kg.cm ⁻²) ¹		Número de frutos por planta ¹		Produção por planta (Kg) ¹		Frutificação efetiva (%)	
	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP
0	11.53	11.53	0.83	0.83	418	418	30	30	11.53	11.53
7,5	8.45	12.68	0.62	0.89	376	514	28	37	8.45	12.68
15	10.93	12.39	0.80	0.86	488	483	36	34	10.93	12.39
30	14.67	12.51	0.99	0.85	543	482	36	33	14.67	12.51
Linear	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Quadrático	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Média geral	11,39	12,28	0,81	0,86	456	474	33	33	28,63	28,61
C.V.(%)	19,65		15,76		18,74		14,88		23,36	
Teste F										
Tratamento	p=0,4016		p=0,3804		p=0,5719		p=0,5753		p=0,9894	
Dose	p=0,1860		p=0,2439		p=0,3080		p=0,3669		p=0,6462	
Trat.*dose	p=0,1392		p=0,0774		p=0,2014		p=0,0936		p=0,1710	
Contraste linear										
DAP vs MAP	p=0,4016		p=0,3804		p=0,5719		p=0,5753		p=0,9894	
DAP vs Test.	p=0,8676		p=0,7145		p=0,4936		p=0,4539		p=0,3835	
MAP vs Test	p=0,6034		p=0,7247		p=0,2535		p=0,2295		p=0,3894	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota:¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . Ns, *, ** e ***= não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com os contrastes polinomiais ortogonais.

O número de frutos presentes nas inflorescências foi significativamente afetado pelos tratamentos (Tabela 13). A macieira ‘Fuji More’ apresentou naturalmente maior tendência a produzir frutos em inflorescências predominantemente com um, dois e três frutos, enquanto que os frutos mais basais tendem a sofrer abscisão naturalmente, conforme mostrado pela testemunha não tratada. Com relação aos tratamentos, os raleantes hormonais foram efetivos em aumentar o percentual de inflorescências simples. Não houve efeito de tratamentos para inflorescências duplas. Em inflorescências com três frutos, a benziladenina foi o tratamento que

menos produziu frutos nessa classe de inflorescências, seguido de GA₄₊₇ + benziladenina. O ANA não diferiu da testemunha. Nessa classe, o tiosulfato de amônio não diferiu da testemunha, mas não diferiu da benziladenina, indicando um efeito intermediário na diminuição da quantidade de frutos presentes nessa classe. Em relação as inflorescências quadruplas, nenhum tratamento diferiu da testemunha. O único tratamento que de fato diminuiu a quantidade de inflorescências quádruplas foi a benziladenina e o ANA.

Em relação aos tratamentos DAP e MAP, não houve efeito significativo de tratamento ou dose para a variável percentual de frutos em inflorescências, de acordo com a ANOVA, contrastes lineares ou contraste polinomial ortogonal (Tabela 14).

Tabela 13 – Percentual de frutos em inflorescências de macieira ‘Fuji More’ em função dos compostos aplicados como raleantes. Vacaria-RS, 2018.

Tratamentos	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Percentual de inflorescências				
		Simples ¹	Duplas ¹	Triplas ²	Quádruplas ²	Quíntuplas ²
Testemunha	-	39 bc	34 a	19 a	5 abcd	3 abc
ANA	0,0105	51 a	27 a	16 abc	5 bcd	1 d
Benziladenine	3	55 a	31 a	10 c	5 cd	1 d
Calda Sulfocálcica	30	34 c	33 a	19 a	9 ab	5 a
Calda Sulfocá. + OM	20 + 20	39 bc	31 a	17 abc	9 abc	4 ab
Fertilizan. CT Green	0,5	40 bc	32 a	16 abc	10 a	2 bcd
GA ₄₊₇ + BA	2,5	53 a	27 a	13 bc	5 d	4 abc
Óleo Mineral	20	39 bc	27 a	22 a	8 abcd	4 abc
Óleo Vegetal	25	44 abc	29 a	18 ab	7 abcd	3 abcd
Tiosulf. de amônio	25	47 ab	29 a	16 abc	7 abcd	2 abcd
Uréia	16	39 bc	30 a	17 abc	9 a	5 a
<i>p value</i>	-	0,0003	0,6853	0,0535	0,0228	0,0097
C.V.(%)	-	12,06	15,76	25,00	36,98	67,35

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . ²Dados transformados pela equação $\log(y+1)$.

Tabela 14 - Percentual de frutos em inflorescências de macieira ‘Fuji More’ em função da aplicação de doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes. Vacaria-RS, 2018.

Percentual de inflorescências ¹										
Dose (g.L ⁻¹)	Simples		Duplas		Triplas		Quádruplas		Quíntuplas	
	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP
0	39	39	34	34	19	19	5	5	3	3
7,5	34	40	31	33	22	17	11	5	2	3
15	39	36	32	27	18	23	7	9	4	5
30	37	39	30	32	21	18	9	8	3	3
Linear	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Quadrático	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Média geral	37,04	38,47	31,82	31,63	20,03	19,28	8,02	6,85	3,10	3,76
C.V.(%)	15,47		15,29		18,61		37,51		62,03	
Teste F										
Tratamentos	p=0,5145		p=0,8741		p=0,6055		p=0,3716		p=0,5201	
Doses	p=0,9704		p=0,5941		p=0,9262		p=0,2689		p=0,4141	
Trats.*doses	p=0,5196		p=0,4934		p=0,2419		p=0,0701		p=0,8230	
Contraste linear										
DAP vs MAP	p=0,5145		p=0,8741		p=0,6055		p=0,3716		p=0,5201	
DAP vs Test.	p=0,5536		p=0,4574		p=0,5447		p=0,0937		p=0,4129	
MAP vs Test.	p=0,9521		p=0,3834		p=0,8538		p=0,3371		p=0,7681	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação $\text{arc.sen}[\text{raiz}(y/100)]$. Ns, *, ** e ***= não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com os contrastes polinomiais ortogonais.

Resultados contrastantes foram relatados por Bound e Jones (2004) em que o tiossulfato de amônio a 1,5% v/v foi efetivo na redução da carga de frutos em macieira ‘Delicious’ na Austrália. Myra et al. (2006) relataram que calda sulfocálcica, tiossulfato de amônio e biodiesel nas doses de 1,15%, 0,75% e 5% v/v, respectivamente, foram os tratamentos mais efetivos para redução da frutificação efetiva de macieira ‘Golden Delicious’ no Canadá. Na mesma linha, Milic et al. (2011) reportaram que o tiossulfato de amônio é eficaz em reduzir a carga de frutos, e seu efeito é acentuado conforme a dose é aumentada. Já Stopar (2008) relatou respostas variáveis em relação a óleo vegetal emulsionável e calda sulfocálcica no raleio de frutos de macieira na Eslovênia. A calda sulfocálcica apresentou efeito variável dependendo da cultivar,

sendo que na cultivar, com efeito nulo, moderado e forte nas cultivares ‘Summerred’, ‘Golden Delicious’ e ‘Elstar’, respectivamente. Já o óleo vegetal foi efetivo para todas as cultivares. O autor concluiu que o efeito de tais compostos depende da concentração que são aplicados, bem como da cultivar de macieira. Por outro lado, Meland (1997) não encontrou nenhum efeito de calda sulfocálcica como raleante de ‘Summerred’ e ‘Red Gravenstein’, aplicado em plena floração na dose de 5% v/v.

McArtney et al. (2006) relataram que tanto o óleo de peixe emulsionável quanto a calda sulfocálcica isolada tiveram efeito sobre a redução da frutificação efetiva (20 e 34%, respectivamente). O principal mecanismo de ação foi o não desenvolvimento de tubos polínicos em ao menos 27% das flores que estavam abertas no dia da aplicação, enquanto que o óleo de peixe emulsionável não apresentou efeito sobre o desenvolvimento de tubos polínicos. Além disso, os autores não relataram efeito aditivo em relação a associação de calda sulfocálcica ao óleo de peixe. Como nesse experimento o óleo vegetal apresentou um leve efeito sobre a redução da frutificação efetiva e aumento no percentual de frutos em inflorescências simples

De maneira geral, todos os tratamentos não hormonais utilizados nesse experimento não foram efetivos em promover o raleio de frutos de ‘Fuji More’. Especula-se que isso pode ter ocorrido devido à aplicação em estágio fenológico além do ideal para tais raleantes, por terem ação direta sobre a polinização. A aplicação se deu quando as flores foram polinizadas, em um estágio de desenvolvimento do tubo polínico muito avançado. Essa é a desvantagem de tais compostos, o momento da aplicação é crucial, e nos dias anteriores ao momento ideal para este experimento, ocorreu precipitação. Hampson e Bedford (2011) relataram, em um experimento de dois anos, que a cultivar de difícil raleio ‘Aurora Golden Gala’ teve seus frutos raleados tanto pelo tiossulfato de amônio quanto pela calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe foi efetiva em um ano, mas não em outro, principalmente à perda da janela de oportunidade no ano que os tratamentos não funcionaram, sendo eles aplicados em estágio além do ideal.

Os raleantes cáusticos ou até mesmo os óleos emulsionáveis são efetivos para ralear flores de macieira, mas exigem a aplicação no momento correto para se ter os efeitos desejáveis. O momento ideal de aplicação de raleantes cáusticos é quando há um número suficiente de flores que foram polinizadas e cedo o suficiente para evitar que muitas das flores tenham sido já polinizadas. No caso de locais com invernos amenos, a florada tende a ser mais alongada, e quando o inverno foi bom, com boa soma de unidades de frio, a florada tende a ser mais uniforme. Nesse caso, uma opção viável é a realização de mais de uma aplicação de raleantes cáusticos na floração de macieira (BOUND; JONES, 2004). Em locais com invernos não regulares como os encontrados na região sul do Brasil, a melhor forma de uniformizar a floração

e concentrar em um período mais curto é através do uso de cianamida hidrogenada ou outros indutores de brotação (HAWERROTH et al., 2010).

Os raleantes cáusticos são responsivos à dose, ou seja, quanto maior a dose, maior é o raleio promovido e também pelo aumento do número de aplicações. Duas aplicações de tiosulfato de amônio a 20 e 50% de plena floração em uma dose baixa são mais efetivas que uma aplicação em dose alta. Além disso, aplicação de tais compostos a 80% de plena floração pode ser considerado como muito tardia e com pouca eficácia, já que muitas flores já terão sido fertilizadas (BOUND; WILSON, 2007). O mesmo ocorre com óleos emulsionáveis, que possuem pouco efeito quando aplicados em estádios tardios de floração. Óleo vegetal emulsionável também é dependente da dose e da época de aplicação sobre a intensidade do raleio químico (McARTNEY et al., 2006), sendo mais efetivo quando aplicado entre pré-florescência e 20% de plena floração em doses de 3 a 5%, quando aplicado a 80% de plena flor, mesmo na dose alta de 5%, não há efeito sobre o raleio (JU et al., 2001).

Ainda em relação à época de aplicação, tanto compostos cáusticos como óleos emulsionáveis podem ter algum efeito raleante quando aplicados após a germinação do pólen sobre o estigma floral e início do desenvolvimento do tubo polínico no estilo. Yoder et al. (2009) relataram que a calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe foi efetiva na inibição da germinação do pólen tanto quando aplicada quatro ou 24 horas após a polinização, e que esse tempo depende muito da temperatura ambiente, já que temperaturas mais altas tendem a acelerar o desenvolvimento do tubo polínico; além disso, aplicação do tratamento 48 horas após a polinização não teve efeito sobre a polinização. Além disso, Maas (2016) reportou que o tiosulfato de amônio é altamente eficaz na inibição do crescimento do tubo polínico quando o tratamento é aplicado após algumas horas depois da polinização, e que o tratamento consegue ser eficaz até o momento que os tubos polínicos não passaram de 50% do comprimento do pistilo.

Em relação aos raleantes não hormonais e sua influência na distribuição de frutos por inflorescência, resultados contrastantes foram encontrados por Hampson e Bedford (2011), em que no cultivar 'Ambrosia', de fácil raleio, a calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe teve resultado melhor que o tiosulfato de amônio na redução da frutificação efetiva e aumento na proporção de frutos em inflorescências simples. Já para a cultivar 'Aurora Golden Gala', de difícil raleio, não houve efeito significativo da calda sulfocálcica associada ao óleo de peixe no aumento de frutos em inflorescências simples. Os autores relataram que os maiores frutos foram obtidos no tratamento de raleio manual, onde todas as inflorescências foram reduzidas a um

fruto. Ju et al. (2001) relataram que o óleo vegetal emulsionável também aumentou a quantidade de frutos de macieira em inflorescências simples e duplas, em relação à testemunha.

Os tratamentos com reguladores de crescimento foram efetivos em diminuir a carga de frutos e aumentar o percentual de frutos em inflorescências simples. A benziladenina apesar de não ter sido o tratamento (entre os reguladores de crescimento) que mais reduziu a frutificação efetiva, foi o tratamento com o menor valor de eficiência produtiva, ou seja, com a relação mais alta entre massa de copa e massa de frutos produzido, o que garantiu grande área de dossel para produzir assimilados aos frutos, o que garante o maior potencial de produção de frutos de alta qualidade dentre tais tratamentos. Em oposição, Bound et al. (1991) relataram que para a macieira 'Fuji' a benziladenina não foi efetiva, independente das doses, em promover raleio de frutos quando aplicado na plena floração e 10 dias após a plena floração, mas o melhor período segundo os autores foi aos 20 dias após a plena floração. Em relação ao ANA em raleio de floração de 'Fuji', Jones et al. (1989) relataram que o regulador de crescimento aplicado em dose similar à utilizada nesse experimento promoveu sobre raleio, sendo somente efetivo e seguro quando aplicado aos 14 dias após a plena floração. Entretanto os autores enfatizaram que no estágio de plena floração, a 'Fuji' foi mais sensível ao efeito do ANA do que quando aplicado aos 14 dias após a plena floração. Para Schupp e Greene (2002), o ANA em dose ligeiramente superior à usada nesse experimento relataram bom efeito raleante quando aplicado em plena flor em uma localidade com temperatura mais quente e alta luminosidade, porém quando aplicado na mesma dose em uma localidade com dias nublados e com alta umidade do ar, o ANA não foi efetivo em promover raleio.

Houve efeito significativo de tratamento sob as características de frutos de macieira 'Fuji More' em função dos tratamentos qualitativos aplicados (Apêndice B). Para a variável comprimento de fruto, os reguladores de crescimento ANA, benziladenina e GA_{4+7} + benziladenina, e o óleo mineral promoveram frutos mais alongados. Em relação ao diâmetro de fruto, os tratamentos que promoveram frutos mais largos foram GA_{4+7} + benziladenina e ANA. Em relação à firmeza de polpa, o tratamento que promoveu maior firmeza dos frutos foi a benziladenina, enquanto que o tiosulfato de amônio promoveu o menor nível de firmeza, em comparação com a testemunha que teve firmeza intermediária entre os dois tratamentos. Não houve diferença detectável pelo teste de comparação de médias para as variáveis número de sementes e teor de sólidos solúveis totais.

Em relação aos tratamentos quantitativos (doses de DAP e MAP), não houve interação significativa entre tratamentos e doses (Apêndice C). Não houve efeito significativo de DAP sobre nenhuma variável de qualidade de frutos, enquanto que para as variáveis comprimento de fruto, diâmetro de fruto e teor de sólidos solúveis houve efeito linear negativo significativo, com diminuição do valor das variáveis à medida que as doses de MAP aumentaram.

Nesse experimento ficou claro que os tratamentos que promoveram maior intensidade de raleio (no caso, os tratamentos hormonais) também aumentaram o tamanho de frutos (calibre), especialmente interferindo no comprimento de frutos, formando frutos menos achatados.

Houve efeito significativo dos tratamentos qualitativos sobre o incremento de massa média de frutos e classes de massa (Tabela 15). Seguindo o mesmo padrão das variáveis comprimento de frutos e número de frutos por planta, a massa de frutos foi maior com os reguladores de crescimento. Estes tratamentos elevaram o percentual de frutos na classe de massa 96 a 212 gramas.

Em relação aos tratamentos quantitativos, não houve interação significativa entre tratamentos e doses (Tabela 16). Também não houve efeito de DAP ou MAP sobre a massa média de frutos, mas houve decréscimo linear na quantidade de frutos na classe de massa de frutos de 96 a 212 gramas à medida que houve aumento das doses, e houve aumento linear na classe de massa de frutos de 40 a 95 gramas à medida que as doses aumentaram.

Tabela 15 – Classes de tamanho e massa média de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função do efeito dos compostos aplicados como raleantes de flores. Vacaria – RS, 2018.

Tratamentos	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Classes de tamanho de frutos (%)			
		40 – 95 (g) ¹	96 – 212 (g) ¹	Fora de escopo ²	Massa média (g)
Testemunha	-	49 a	50 b	2 ns	74 b
ANA	0,0105	21 b	76 a	3	98 a
Benziladenine	3	25 b	73 a	2	94 a
Calda Sulfocál. + OM	20 + 20	59 a	40 b	1	75 b
Calda Sulfocálcica	30	53 a	44 b	4	77 b
Fertilizante CT Green	0,5	55 a	43 b	2	75 b
GA ₄₊₇ + BA	2,5	26 b	70 a	4	94 a
Óleo Mineral	20	51 a	48 b	1	79 b
Óleo Vegetal	25	61 a	38 b	1	75 b
Tiosulfato de amônio	25	55 a	42 b	2	78 b
Uréia	16	52 a	47 b	1	75 b
<i>p value</i>	-	<0,0001	<0,0001	0,1364	<0,0001
C.V.(%)	-	17,61	18,37	79,52	11,42

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . ²Dados transformados pela equação $\log(y+1)$. Médias seguidas de mesma letra dentro de uma coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Tabela 16 - Classes de massa e massa média de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função do efeito de doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes de flores. Vacaria – RS, 2018.

Dose (g.L ⁻¹)	Peso (%) ¹						Peso Médio de	
	40-95 (g)		96-212 (g)		Fora de Escopo		Fruto (g)	
	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP
0	49	49	50	50	2	2	74	74
7,5	51	55	47	44	1	1	77	73
15	51	68	48	29	1	3	75	73
30	75	63	24	34	1	3	68	73
Linear	ns	*	ns	**	ns	ns	ns	ns
Quadrático	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Média geral	56	59	42	39	1	2	74	73
C.V.(%)	10,77		17,56		93,91		13,22	
Teste F								
Tratamento	p=0,6786		p=0,4404		p=0,3003		p=0,8065	
Dose	p=0,0450		p=0,0237		p=0,4199		p=0,2566	
Trat.*dose	p=0,3305		p=0,1044		p=0,6733		p=0,7856	
Contraste linear								
DAP vs MAP	p=0,6786		p=0,4404		p=0,3003		p=0,8065	
DAP vs Testem.	p=0,2158		p=0,1856		p=0,9607		p=0,7742	
MAP vs Testem.	p=0,1168		p=0,0530		p=0,3704		p=0,6265	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação log (y+1). Ns, *, ** e ***= não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com os contrastes polinomiais ortogonais.

O período de maior divisão celular de frutos de macieira ocorre durante a antese até no máximo 10 dias após esse período. Qualquer evento que culmine em competição entre as partes vegetativas pode afetar a divisão celular e a massa final do fruto. Outro ponto que afeta a massa do fruto é o número de células que o mesmo possui, sendo que há pouca correlação entre expansão ou espaço intercelular, assim, quanto mais células um fruto tiver, maior será sua massa. Um sintoma de frutos com menor número de células é o seu formato, em que formatos mais achatados indicam que houve interferência de algum fator durante o período de intensa divisão celular, como por exemplo, competição por carboidratos ora entre os frutos dentro de uma inflorescência ora entre frutos e ramos vigorosos. Outro ponto é que porta enxertos mais

vigorosos tendem a induzir frutos mais alongados pela maior capacidade de a copa produzir assimilados, já períodos quentes logo após a fecundação, tende a encurtar o período de divisão celular e produzir frutos mais achatados e com menor firmeza de polpa (WESTWOOD; BLANEY, 1963; GOFFINET et al., 1995; De SALVADOR et al., 2006). É possível que nesse experimento os tratamentos tiosulfato de amônio e MAP tenham estimulado crescimento vegetativo e isso tenha reduzido a qualidade dos frutos. Nava et al. (2008) relataram efeitos adversos do nitrogênio na firmeza de polpa, coloração e o teor de sólidos solúveis totais em frutos de macieira.

Um fator importante para a eficácia do raleio, além de diminuir a carga de frutos, é a distribuição dos frutos remanescentes, que devem ser majoritariamente produzidos em inflorescências simples, em especial no centro da corimba. Há significativos aumentos do tamanho de fruto e da massa média final quando frutos são produzidos ao longo da safra sob tal condição. Isso se deve pelo fato de que a flor rainha possui dominância sobre as flores laterais e seus frutos são melhores suplementados por assimilados, isso garante maior divisão celular e frutos mais alongados e com maior massa (WESTWOOD; BLANEY, 1963; JAKOPIC et al., 2015). Nesse experimento, os tratamentos que além de agir no decréscimo da carga de frutos, aumentaram a quantidade de frutos produzidos em inflorescências simples, garantindo maior calibre e qualidade de frutos foram os reguladores de crescimento. Quando frutos de macieira de plantas com alta carga de frutos, a massa e o calibre dos frutos tende a ser baixo, porém com maior firmeza de polpa, uma vez que o crescimento se dá basicamente por expansão celular, enquanto que frutos grandes, de plantas com menor carga de frutos produz frutos maiores, mas com menor firmeza de polpa e sólidos solúveis totais (DE SALVADOR et al., 2006).

Nesse experimento, apesar da benziladenina ter sido o tratamento que promoveu o maior nível de raleio, e os frutos maiores, não houve efeito negativo na firmeza de polpa. A benziladenina, quando utilizada como raleante químico, além de ser efetiva no decréscimo da carga de frutos, também promove aumento do calibre de frutos por induzir divisão celular, apesar de não influenciar na duração do período de intensa divisão celular, enquanto que o ANA não interfere na divisão celular, mas possui efeito sobre a expansão celular; assim, tanto o ANA quanto a benziladenina agem sobre a diminuição frutificação efetiva, mas os efeitos adicionais sobre o calibre dos frutos de macieira são sobre a expansão celular, no caso do ANA e sobre a divisão celular e aumento do número de células no caso da benziladenina (WISMER et al., 1995).

Para a variável cor vermelha de epiderme, nos tratamentos qualitativos, não houve alteração de cor em função dos tratamentos (Tabela 17). Em relação aos tratamentos quantitativos, não houve interação significativa entre tratamentos e doses, mas houve efeito do fator principal dose para o MAP na classe de cor dos frutos com menos de 20% de coloração vermelha (Tabela 18). Há relação direta entre incidência direta de luminosidade sobre os frutos, elevados teores de sólidos solúveis e sacarose e a biossíntese de antocianinas na epiderme de frutos de macieira, ocorrendo simultaneamente sob temperaturas moderadas (SHÜ et al., 2001; MELAND, 2009). Adubações nitrogenadas elevadas são antagônicas ao aumento de sólidos solúveis e prejudiciais à coloração vermelha na epiderme de macieira (NAVA et al., 2008). Neste experimento, o aumento da dose de MAP causou decréscimo da variável teor de sólidos solúveis à medida que a dose aumentou, juntamente com aumento linear no percentual de frutos com pouca cor (<20%). É possível que a quantidade de nitrogênio via foliar fornecida pelo MAP tenha sido suficiente para afetar o desenvolvimento de coloração vermelha na epiderme dos frutos.

Tabela 17 – Percentual de coloração de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função dos compostos aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.

Tratamentos	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Classes de cor vermelha ¹		
		40 – 75 (%)	20 – 39 (%)	< 20 (%)
Testemunha	-	0 ns	52 a	48 a
Adjuvante CT Green	0,5	0	50 a	50 a
ANA	0,0105	0	46 a	54 a
Benziladenine	3	0	52 a	48 a
Calda Sulfocálcica	30	0	46 a	55 a
Calda Sulfocálcica. + OM	20 + 20	0	45 a	55 a
GA ₄₊₇ + BA	2,5	0	43 a	58 a
Óleo Mineral	20	0	47 a	53 a
Óleo Vegetal	25	0	43 a	57 a
Tiosulfato de amônio	25	0	45 a	56 a
Uréia	16	0	33 a	67 a
<i>p value</i>	-	-	0,8854	0,8279
C.V.(%)	-	-	26,67	22,37

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . Médias seguidas de mesma letra dentro de uma coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Tabela 18 - Percentual de coloração de frutos de macieira ‘Fuji More’ em função das doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.

Dose (g.L ⁻¹)	Cor vermelha (%) ¹					
	40-75 (%)		20-39 (%)		< 20 (%)	
	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP
0	0	0	52	52	48	48
7,5	0	0	45	34	55	66
15	0	0	40	39	60	61
30	0	0	33	28	67	72
Linear	-	-	ns	ns	ns	*
Quadrático	-	-	ns	ns	ns	ns
Média geral	-	-	42	38	58	62
C.V.(%)	-		21,95			
Teste F						
Tratamento	-		p=0,9069		p=0,2123	
Dose	-		p=0,2241		p=0,0723	
Trat.*dose	-		p=0,7303		p=0,4619	
Contraste linear						
DAP vs MAP	-		p=0,9069		p=0,2123	
DAP vs Testemunha	-		p=0,1896		p=0,3018	
MAP vs Testemunha	-		p=0,1600		p=0,0426	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação log (y+1). Ns, *, ** e ***= não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com os contrastes polinomiais ortogonais.

Para a variável incidência de russeting na epiderme, houve efeito de tratamento para as classes 0, menos que 10 e de 10 a 30 % (Tabela 19). Os tratamentos que menos provocaram russeting (0%) foram o fertilizante CT Green®, ANA, além da testemunha. Na classe de incidência de menos de 10% da epiderme, ambos tratamentos contendo benziladenina promoveram os maiores níveis, entretanto nessa classe, pode-se considerar como muito baixa, que causaria depreciação comercial dos frutos. Já na classe de 10 a 30% da epiderme coberta por russeting, ambos tratamentos contendo calda sulfocálcica provocaram elevada incidência de russeting. O tratamento de GA₄₊₇ + benziladenina teve comportamento similar à testemunha, com baixa incidência. Já para os tratamentos quantitativos, não houve efeito significativo de

tratamento ou doses (Tabela 20), assim, tanto o MAP quanto o DAP não causaram russetting na epiderme dos frutos.

Tabela 19 – Incidência de russetting sobre a epiderme de macieira ‘Fuji More’ em função dos compostos aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.

Tratamentos	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Incidência de russetting (%) ¹				
		0	< 10	10 – 30	30 – 50	> 50
Testemunha	-	50 a	38 ab	11 c	1 ns	0 ns
ANA	0,0105	46 a	34 ab	21 ab	1	0
Benziladenine	3	39 ab	44 a	17 ab	2	0
Calda Sulfocálcica	30	30 ab	31 ab	34 a	4	0,6
Calda Sulfocálcica. + OM	20 + 20	40 ab	24 b	31 a	6	0
Fertilizante CT Green	0,5	47 a	33 ab	17 ab	3	0
GA ₄₊₇ + BA	2,5	44 ab	41 a	15 bc	1	0
Óleo Mineral	20	45 ab	39 ab	16 ab	2	0
Óleo Vegetal	25	28 b	39 ab	24 ab	6	2
Tiosulfato de amônio	25	37 ab	36 ab	25 ab	2	0
Uréia	16	46 ab	35 ab	20 ab	2	0
<i>p value</i>	-	0,1432	0,2199	0,0016	0,5925	0,6348
C.V.(%)	-	13,38	11,58	25,99	144,22	454,11

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação \sqrt{y} . Médias seguidas de mesma letra dentro de uma coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Tabela 20 - Incidência de russetting sobre a epiderme de macieira ‘Fuji More’ em função das doses de diamônio fosfato e monoamônio fosfato aplicados como raleantes de flores. Vacaria-RS, 2018.

Doses (g.L ⁻¹)	Classes de incidência de russetting (%) ¹									
	0		<10		10 - 30		30 - 50		>50	
	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP
0	50	50	38	38	11	11	1	1	0	0
7,5	42	57	37	34	19	8	2	1	0	0
15	41	50	34	38	23	11	3	1	0	0
30	48	46	32	37	17	15	3	2	0	0
Linear	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-
Quadrático	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-
Média geral	45	51	35	37	11	11	2	1	-	-
C.V.(%)	10,57		15,52		47,45		162,30		-	
Teste F										
Tratamento	p=0,1754		p=0,5850		p=0,0857		p=0,0898		-	
Dose	p=0,8012		p=0,9150		p=0,2064		p=0,7625		-	
Tratam.*dose	p=0,5515		p=0,8485		p=0,6262		p=0,4833		-	
Contraste linear										
DAP vs MAP	p=0,1754		p=0,5850		p=0,0857		p=0,0898		-	
DAP vs Teste.	p=0,5146		p=0,8526		p=0,0351		p=0,2386			
MAP vs Teste.	p=0,6445		p=0,5279		p=0,4688		p=0,8387			

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação log (y+1). Ns, *, ** e ***= não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com os contrastes polinomiais ortogonais.

Em geral, produtos cáusticos provocam russetting sob a epiderme de frutos de macieira, porém isso depende da dose, do clima, e da cultivar (LINK, 2000). Bound e Jones (2004) relataram que o tiosulfato de amônio provocou russetting somente quando aplicado na dose de 4%, sendo que doses menores não afetaram a aparência dos frutos de macieira. Dentre os tratamentos cáusticos utilizados nesse experimento, somente a calda sulfocálcica causou substancial russetting na epiderme. Entretanto vale salientar que todos os tratamentos promoveram algum nível de russetting, conforme visto na classe de russetting de 10 a 30% da epiderme. Moore et al. (1961) relatou que a calda sulfocálcica provocou russetting em ‘Cox’s Orange Pippin’ e ‘Newton Wonder’, mas não causou danos à epiderme de ‘Bramley’s

Seedling'. Já Stopar (2004) não encontrou russeting em 'Golden Delicious' provocado por calda sulfocálcica aplicado em plena floração em dose similar a testada nesse experimento. Já Stopar (2008) em experimento com raleio de floração, relatou forte incidência de russeting em 'Golden Delicious' tratada com óleo vegetal, mas muito pouco russeting em frutos tratados com calda sulfocálcica. Em relação a benziladenina, seu efeito em provocar russeting não depende da época de aplicação, mas da dose que é utilizada, sendo que em 'Fuji' somente a dose alta de 400 mg.L⁻¹ causou russeting (BOUND et al., 1991). Nesse experimento, o tratamento contendo GA₄₊₇ foi observado a menor porcentagem de frutos com russeting na classe de 10 a 30% da epiderme. Isso se deve ao efeito do ácido giberélico sobre a alongação celular e seu efeito em diminuir o russeting na epiderme de macieira. Por isso, em climas nublados, em vales de baixa altitude, a produção endógena de giberelinas tende a ser menor, com isso há maior formação de russeting em tais ambientes, devido à maior filtragem de alguns comprimentos de onda (espectro da cor vermelha), por parte da atmosfera (HAJNAJARI; ECCHER, 2006).

4.6 CONCLUSÕES

Os reguladores de crescimento ANA, benziladenina e GA₄₊₇ associado a benziladenina são efetivos em diminuir a carga de frutos de 'Fuji More', aplicados durante a antese. Esses tratamentos promovem a produção de frutos predominantemente em inflorescências contendo um fruto, frutos mais longos e com maior massa e calibre.

4.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de agentes com potencial de utilização no raleio de flores de macieira mostraram grande potencial de serem utilizados em pomares comerciais de macieira. Os reguladores de crescimento apresentaram bom efeito sobre a diminuição da carga de frutos e melhora significativa na qualidade dos mesmos. Porém, o objetivo do raleio de floração é ser uma ferramenta extra em um programa de raleio, sendo que o efeito buscado pelos raleantes aplicados nessa fase seja mais ameno do que o efeito observado com os reguladores de crescimento, uma vez que devido a condições climáticas desfavoráveis, pode haver queda natural de frutos de forma excessiva; e isso somente pode ser determinado quando os frutos apresentam crescimento entre 10 a 20 mm. Por isso, nesse experimento ficou claro que os compostos óleo mineral e tiosulfato de amônio, quando aplicados a 90% de plena floração, tiveram a performance esperada de tais compostos.

Conforme os resultados obtidos nesses experimentos e os observados na literatura científica, há de se testar os compostos em estádios fenológicos diferentes, como por exemplo 20% de flores abertas, ou 50% de flores abertas, pois no experimento a campo alguns compostos como a calda sulfocálcica isolada ou associada ao óleo mineral e o óleo vegetal não foram efetivos quando aplicados a 90% de plena floração, apesar de terem sido efetivos nas condições controladas de laboratório. Isto pode ser indicativo de que quando tais compostos foram aplicados a campo, os óvulos das flores já se apresentavam fecundados ou os tubos polínicos nos pistilos estavam em estágio de crescimento muito avançado para sofrerem interferência negativa dos raleantes.

REFERÊNCIAS

- ANUÁRIO BRASILEIRO DA MAÇÃ. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. 56p.
- BANGERTH, F. Abscission and thinning of young fruit and their regulation by plant hormones and bioregulators. **Plant Growth Regulation**, v.31, p.43-59, 2000.
- BEPETE, M.; LAKSO, A.N. Differential effects of shade on early-season fruit and shoot growth rates in 'Empire' apple. **HortScience**, v.33, n.5, p.823-825, 1998.
- BERGH, O. Cumulative effect of time of hand-thinning on fruit size of Golden Delicious and Granny Smith apples. **South African Journal of Plant and Soil**, v.9, n.2, p.64-67, 1992.
- BLACK, B.L.; PETRACEK, P.D.; BUKOVAC, M.J. The effect of temperature on uptake of NAA by Redchief 'Delicious' apple leaves. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, v.120, n.3, p.441-445, 1995.
- BOUND, S.A.; JONES, K.M. Ammonium thiosulphate as a blossom thinner of 'Delicious' apple, 'Winter Cole' pear and 'Hunter' apricot. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.44, p.931-937, 2004.
- BOUND, S.A.; JONES, K.M.; KOEN, T.B.; OAKFORD, M.J. The thinning effect of benzyladenine on red 'Fuji' apple trees. **Journal of Horticultural Science**, v.66, n.6, p.789-794, 1991.
- BOUND, S.A.; WILSON, S.J. Ammonium thiosulfate and 6-benzyladenine improve the crop load and fruit quality of 'Delicious' apples. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.47, p.635-644, 2007.
- BYERS, R.E. Influence of temperature and darkness on apple fruit abscission and chemical thinning. **Journal of Tree Fruit Production**, v.3, n.1, p.41-53, 2002.
- BYERS, R.E.; CARBAUGH, D.H.; PRESLEY, C.N.; WOLF, T.K. The influence of low light on apple fruit abscission. **Journal of Horticultural Science**, v.66, n.1, p.7-17, 1991.
- BYERS, R.E.; LYONS JR, C.G.; BARDEN, J.A.; YOUNG, R.W. Desiccating chemicals for bloom thinning of peach and photosynthetic inhibition for post-bloom thinning of apple and peach. **Acta Hort.**, v.179, p.673-680, 1986.
- CORELLI-GRAPPADELLI, L.; LAKSO, A.N.; FLORE, J.A. Early season patterns of carbohydrate partitioning in exposed and shaded apple branches. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, v.119, n.3, p.596-603, 1994.

CROP NUTRITION. **Thiosulfate**. Mosaic. Disponível em:
<<http://www.cropnutrition.com/thiosulfate>>. Acesso em: 20 de Maio de 2018.

DE SALVADOR, F.R.; FISICHELLA, M.; FONTANARI, M. Correlations between fruit size and fruit quality in apple trees with high and standard crop load levels. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, v.14, n.2, p.113-122, 2006.

DENNIS JR, F.G. Mechanism of action of apple thinning chemicals. **HortScience**, v.37, n.3, p.471-474, 2002.

ECCHER, G.; BOTTON, A.; DIMAURO, M.; BOSCHETTI, A.; RUPERTI, B.; RAMINA, A. Early induction of apple fruitlet abscission is characterized by an increase in both isoprene emission and abscisic acid content. **Plant Physiology**, v.161, p.1952-1969, 2013.

EMBRAPA UVA E VINHO. Agrometeorologia – Vacaria/RS. Disponível em
<https://www.embrapa.br/en/uva-e-vinho/dados-meteorologicos/vacaria/-/asset_publisher/SL3WxNTudP12/content/2016-agrometeorologia-vacaria-resumo-anu-1/1355300?inheritRedirect=false&redirect=https%3A%2F%2Fwww.embrapa.br%2Fen%2Fuva-e-vinho%2Fdados-meteorologicos%2Fvacaria%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_SL3WxNTudP12%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-2%26p_p_col_pos%3D5%26p_p_col_count%3D7>. Acesso em: 26 de Jun. de 2018.

EMBREE, C.G., FOSTER, A. Effects of coatings and pollenicides on pollen tube growth through the stigma and style of ‘McIntosh’ apple blossoms. **Journal of Tree Fruit Production**, v.2, n.2, p.19-32, 1999.

FALLAHI, E.; FALLAHI, B. Comparison of new blossom thinners for apples under conditions of intermountain West of the United States. **Acta Hort.**, v.636, p.311-315, 2004.

FALLAHI, E.; FALLAHI, B. Tergitol-TMN-6 surfactant is effective blossom thinner for stone fruits. **HortScience**, v.41, n.5, p.1243-1248, 2006.

FALLAHI, E.; GREENE, D.W. The impact of blossom and postbloom thinners on fruit set and fruit quality in apples and stone fruits. **Acta Hort.**, v.884, p.179-187, 2010.

FALLAHI, E.; WILLEMSSEN, K.M. Blossom thinning of pome and stone fruit. **HortScience**, v.37, n.3, 2002.

FAN; M.X.; MACKENZIE, A.F. Urea and phosphate interactions in fertilizer microsites: Ammonia volatilization and pH changes. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v.57, p.839-845, 1993.

FEIJÓ, J.A.; SAINHAS, J.; HACKETT, G.R.; KUNKEL, J.G.; HEPLER, P.K. Growing pollen tubes possess a constitutive alkaline band in the clear zone and a growth-dependent acidic tip. **The Journal of Cell Biology**, v.144, n.3, p.483-496, 1999.

FINGER, S.A.; WOLF, T.K.; BAUDOIN, A.B. Effects of horticultural oils on the photosynthesis, fruit maturity, and crop yield of winegrapes. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.53, n.2, p.116-124, 2002.

GAO, Y.; ZHOU, H.; CHEN, J.; JIANG, X.; TAO, S.; WU, J.; ZHANG, S. Mitochondrial dysfunction mediated by cytoplasmic acidification results in pollen tube growth cessation in *Pyrus pyrifolia*. **Physiologia Plantarum**, v.153, n.4, p.603-615, 2014.

GOFFINET, M.C.; ROBINSON, T.L.; LAKSO, A.N. A comparison of 'Empire' apple fruit size and anatomy in unthinned and hand-thinned trees. **Journal of Horticultural Science**, v.70, n.3, p.375-387, 1995.

GREENE, D. Chemicals, timing, and environmental factors involved in thinner efficacy on apple. **HortScience**, v.37, n.3, p.477-481, 2002.

GREENE, D.W.; AUTIO, W.R.; ERF, J.A.; MAO, Z.Y. Mode of action of benzyladenine when used as a chemical thinner on apples. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, v.117, n.5, p.775-779, 1992.

HAJNAJARI, H.; ECCHER, T. Light spectrum affects growth and endogenous Gas content of in vitro growth apple shoots. **Acta Hort.**, v.727, p.37-44, 2006.

HAMPSON, C.; BEDFORD, K. Efficacy of blossom thinning treatments to reduce fruit set and increase fruit size of Ambrosia and Aurora Golden Gala™ apples. **Can. J. Plant Sci.**, v.91, p.983-990, 2011.

HAWERROTH, F.J.; NACHTIGALL, G.R. Boletim agroclimático. **Embrapa uva e Vinho**, 2017. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/168790/1/Boletim-junho-2017-Final.pdf>>. Acesso em: 26 de Jun. de 2018.

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

HOLDAWAY-CLARKE, T.L.; HEPLER, P.K. Control of pollen tube growth: Role of ion gradients and fluxes. **New Phytologist**, v.159, p.539-563, 2003.

HURCH, R.M.C.; WILLIAMS, R.R. The toxicity to apple pollen of several fungicides, as demonstrated by in vivo and in vitro techniques. **Journal of Horticultural Science**, v.52, n.3, p. 429-436, 1977.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesautomaticas>>. Acesso em: 20 de Maio de 2018.

IRVING, D.E.; PALLESEN, J.C.; DROST, J.H. Preliminary results on chemical thinning of apple blossom with ammonium thiosulphate, NAA, and ethephon. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.17, n.4, p.363-365, 1989.

IWANAMI, H.; MORIYA-TANAKA, Y.; HONDA, C.; WADA, M.; MORIYA, S.; OKADA, K.; HAJI, T.; ABE, K. Relations among apple fruit abscission, source strength, and cultivar. **Scientia Horticulturae**, v.146, p.39-44, 2012.

JACKSON, J.E. **Biology of apples and pears**. New York: Cambridge Press, 2003. 488p.

JAKOPIC, J.; ZUPAN, A.; ELER, K.; SCHMITZER, V.; STAMPAR, F. It's great to be the king: apple fruit development affected by the position in the cluster. **Scientia Horticulturae**, v.194, p.18-25, 2015.

JONES, K.M.; KOEN, T.B.; OAKFORD, M.J.; BOUND, S. Thinning 'Red Fuji' apples with ethephon or NAA. **Journal of Horticultural Science**, v.64, n.5, p.527-532, 1989.

JU, Z.; DUAN, Y.; JU, Z.; GUO, A. Corn oil emulsion for early bloom thinning of trees of 'Delicious' apple, 'Feng Huang' peach, and 'Bing' cherry. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.76, n.3, p.327-331, 2001.

KALLSEN, C.E. Petroleum oils as navel orange fruit thinning agents. **HortTechnology**, v.11, p.189-193, 2001.

KOLARIČ, J. Abscission of Young apple fruits (*Malus domestica* Borkh.): a review. **Agricultura**, v.7, p.31-36, 2010.

KONDO, S.; TAKAHASHI, Y. Effects of high temperature in the nighttime and shading in the daytime on the early drop of apple fruit 'Starking Delicious'. **J. Japan. Soc. Hort. Sci.**, v.56, n.2, p.142-150, 1987.

KORALIC, J.; PLESKO, I.M.; TOJNKO, S.; STOPAR, M. Apple fruitlet ethylene evolution and *MdACO1*, *MdACS5A*, and *MdACS5B* expression after application of naphthaleneacetic acid, 6-benzyladenine, ethephon, or shading. **HortScience**, v.46, n.10, p.1381-1386, 2011.

KOVALEVA, L.; VORONKOV, A.; ZAKHAROVA, E.; MINKINA, Y.; TIMOFEEVA, G.; ANDREEV, I. Regulation of petunia pollen tube growth by phytohormones: Identification of their potential targets. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.6, p.239-254, 2016.

KUMAR, K.S.; KHANDURI, V.P.; KAR, K.; SHARMA, C.M. RIYAL, M.K. Effect of growth regulators and time on *in vitro* pollen germination in three ornamental tropical tree species. **J.Agr.Sci.Tech.**, v.18, p.1-9, 2016.

LAKSO, A.N.; BEPETE, M.; GOFFINET, M.C.; CORELLI-GRAPPADELLI, L. Aspects of carbon supply and demand in apple fruits. **Acta Hort.**, v.466, p.13-18, 1998.

LAKSO, A.N.; GOFFINET, M.C. Apple fruit growth. **New York Quarterly**, v.21, n.1, p.11-14, 2013.

LAKSO, A.N.; ROBINSON, T.L. Decision support for apple thinning based on carbon balance modeling. **Acta Hort.**, v.1068, p.235-241, 2015.

LAKSO, A.N.; ROBINSON, T.L.; GREENE, D.W. Integration of environment, physiology and fruit abscission via carbon balance modeling – implications for understanding growth regulator responses. **Acta Hort.**, v.727, p.321-325, 2006.

LAKSO, A.N.; WÜNSCHE, J.N.; PALMER, J.W.; CORELLI-GRAPPADELLI, L. Measurement and modeling of carbon balance of the apple tree. **HortScience**, v.34, n.6, p.1040-1047, 1999.

LENAHAN, O.M.; WHITING, M.D. Physiological and horticultural effects of sweet cherry chemical blossom thinners. **HortScience**, v.41, n.7, p.1547-1551, 2006.

LINK, H. Significance of flower and fruit thinning on fruit quality. **Plant Growth Regulation**, v.31, p.17-26, 2000.

LOSADA, J.M.; HERRERO, M. Flower strategy and stigma performance in the apple inflorescence. **Scientia Horticulturae**, v.150, p.283-289, 2013.

MAAS, F.M. Control of fruit set in apple by ATS requires accurate timing of ATS application. **Acta Hort.**, v.1138, p.45-51, 2016.

McARTNEY, S.; PALMER, J. W.; ADAMS, H.M. Crop loading studies with ‘Royal Gala’ and ‘Braeburn’ apples: Effect of time and level of hand thinning. **New Zealand Journal of Crop Horticultural Science**, v.24, n.4, p.401-407, 1996.

McARTNEY, S.; PALMER, J.; DAVIES, S.; SEYMOUR, S. Effects of lime sulfur and fish oil on pollen tube growth, leaf photosynthesis and fruit set in apple. **HortScience**, v.41, n.2, p.357-360, 2006.

MELAND, M. Thinning apples and pears in a Nordic climate. III. The effect of NAA, ethephon and lime sulfur on fruit set, yield and return bloom of three apple cultivars. **Acta Hort.**, v.463, p.517-525, 1997.

MELAND.M. Effects of different crop loads and thinning times on yield, fruit quality, and return bloom in *Malus × domestica* Borkh. ‘Elstar’. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.84, n.6, p.117-121, 2009.

MILIC, B.; MAGAZIN, N.; KESEROVIC, Z.; DORIC, M. Flower thinning of apple cultivar Braeburn using ammonium and potassium thiosulfate – short communication. **Hort. Sci.**, v.38, n.3, p.120-124, 2011.

MILLER, S.S.; TWOROSKI, T. Blossom thinning in apple and peach with an essential oil. **HortScience**, v.45, n.8, p.1218-1225, 2010.

MOORE, M.H.; KIRBY, H.M.; BENNETT, M. A comparison of lime-sulphur with an organic-fungicide alternative in the apple spray programme. **Journal of Horticultural Science**, v.36, n.1, p.18-27, 1961.

MUNZUROGLU, O.; OBEK, E.; GECKIL, H. Effects of simulated acid rain on the pollen germination and pollen tube growth of the apple (*Malus sylvestris* Miller cv. Golden). **Acta Biologica Hungarica**, v.54, n.1, p.95-103, 2003.

MYRA, M.T.; EMBREE, C.G.; GOOD-AVILA, S.V.; MORTON, V.K. Assessment of potential organic pollenicides as apple blossom thinners. **International Journal of Fruit Science**, v.6, n.3, p.35-52, 2006.

NAVA, G.; DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. Nitrogen and potassium fertilization affect apple fruit quality in Southern Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.39, n.2, p.96-107, 2007.

PETROPOULOU, S.P.; ALSTON, F.H. Selecting for improved pollination at low temperatures in apple. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.73, n.4, p.507-515, 1998.

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

SCHUPP, J.R.; GREENE, D.W. Thinning McIntosh apple trees with blossom thinners, with and without post-bloom NAA: A report to the new England tree fruit growers research committee. **Fruit Notes**, v.67, p.9-12, 2002.

STOPAR, M. Thinning of flowers/fruitlets in organic apple production. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, v.12, p.77-83, 2004.

STOPAR, M. Vegetable oil emulsions, NaCl, CH₃COOH and CaS_x as organically acceptable apple blossom thinning compounds. **Europ. J. Hort. Sci.**, v.73, n.2, p.55-61, 2008.

STOPAR, M.; BLACK, B.L.; BUKOVAC, M.J. The effect of NAA and BA on carbon dioxide assimilation by shoot leaves of spur-type 'Delicious' and 'Empire' apple trees. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, v.122, n.6, p.837-840, 1997.

STOVER, F.W.; GREENE, D.W. Environmental effects on the performance of foliar applied plant growth regulators: A review focusing on tree fruits. **HortTechnology**, v.15, n.2, p.214-221, 2005.

TROMP, J.; WERTHEIM, S.J. Fruit growth and development. In: TROMP, J.; WEBSTER, A.D.; WERTHEIM, S.J. (Orgs.). **Fundamentals of temperate zone tree fruit production**. Leiden: Backhuys Publishers, 2005. p.216-239.

VAKIS, R.M.; WILLIAMS, R.R. Fungicide toxicity to apple pollen in the anther. **Journal of Horticultural Science**, v.53, n.2, p.91-94, 1978.

WERTHEIM, F.S.; CRAKER, L.E. Acid rain and pollen germination in corn. **Environmental Pollution**, v.48, p.165-172, 1987.

WERTHEIM, S.J. Developments IN The chemical thinning of apple and pear. **Plant Growth Regulation**, v.31, p.85-100, 2000.

WERTHEIM, S.J.; SCHMIDT, H. Flowering, pollination and fruit set. In: TROMP, J.; WEBSTER, A.D.; WERTHEIM, S.J. (Orgs.). **Fundamentals of temperate zone tree fruit production**. Leiden: Backhuys Publishers, 2005. p.216-239.

WESTWOOD, M.N.; BLANEY, L.T. Non-climatic factors affecting the shape of apple fruits. **Nature**, v.200, n.4908, p.802-803, 1963.

WISMER, P.T.; PROCTOR, J.T.A.; ELFVING, D.C. Benzyladenine affects cell division and cell size during apple fruit thinning. **J.Amer. Soc.Hort.Sci.**, v.120, n.5, p.802-807, 1995.

XUE, Z.; JUN, L.; SHUJUAN, J. Influences of plant growth regulators on pollen tube growth and germination in ‘Qinguan’ apple. **Chinese Agricultural Science Bulletin**, v.25, 2014.

YI, W.; LAW, S.E.; WETZSTEIN, H.Y. Pollen tube growth in styles of apple and almond flowers after spraying with pesticides. **The journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.78, n.6, p.842-846, 2003.

YODER, K.; YUAN, R.; COMBS, L., BYERS, R.; McFERSON, J.; SCHMIDT, T. Effects of temperature and the combination of liquid lime sulphur and fish oil on pollen germination, pollen tube growth, and fruit set in apples. **HortScience**, v.44, n.5, p.1277-1283, 2009.

YOON, T.M.; ROBINSON, T.L.; OSBORNE, J.L. Blossom thinning of ‘Redhaven’ and ‘Babygold 5’ peaches with different chemicals. **Acta Hort.**, v.903, p.833-839, 2011.

YUAN, R.; GREENE, D.W. ‘McIntosh’ apple fruit thinning by benzyladenine in relation to seed number and endogenous cytokinin levels in fruit and leaves. **Scientia Horticulturae**, v.86, p.127-134, 2000b.

YUAN, R.; GREENE, D.W. Benzyladenine as a chemical thinner for ‘McIntosh’ apples. I. Fruit thinning effects and associated relationships with photosynthesis, assimilate translocation, and nonstructural carbohydrates. **J. Amer. Hort. Sci.**, v.125, n.2, p.169-176, 2000a.

ZHU, H.; DARDICK, C.D.; BEERS, E.P.; CALLANHAN, A.M.; XIA, R.; YUAN, R. Transcriptions of shading-induced and NAA-induced abscission in apple (*Malus domestica*) reveals a shared pathway involving reduced photosynthesis, alterations in carbohydrate transport and signaling and hormone crosstalk. **BMC Plant Biology**, v.11, n.138, p.1, 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Percentual de tubos polínicos em diferentes etapas do percurso do gineceu de flores de macieira ‘Fuji More’ em função dos tratamentos e épocas de aplicação dos tratamentos. Vacaria - RS, 2018.

Tratamentos ¹	Dose de P.C. (g ou mg.L ⁻¹)	Etapas do percurso									
		1		2		3		4		5	
		24 HAP ³	24 HDP	24 HAP	24 HDP	24 HAP	24 HDP	24 HAP	24 HDP	24 HAP	24 HDP
Testemunha	-	79 a ⁴	88 a ^{ns}	73 a	83 a ^{ns}	60 a	76 a ^{ns}	50 b	67 a ^{ns}	14 a	19 a ^{ns}
ANA	0,0105	76 a	69 b ^{ns}	61 a	59 b ^{ns}	58 a	37 d*	46 b	37 b ^{ns}	20 a	14 b ^{ns}
Benziladenine	3	87 a	87 a ^{ns}	66 a	67 a ^{ns}	55 a	60 b ^{ns}	37 b	46 b ^{ns}	17 a	14 b ^{ns}
Calda Sulfocálcica	30	62 b	60 b ^{ns}	44 b	48 c ^{ns}	32 b	32 d ^{ns}	21 c	22 c ^{ns}	1 b	3 d ^{ns}
Calda Sulfocálcica. + OM	20 + 20	86 a	59 b ^{ns}	61 a	43 c ^{ns}	34 b	26 d ^{ns}	19 c	3 d*	3 b	0 e*
Espalhante adesivo siliconad.	0,015	92 a	86 a ^{ns}	72 a	80 a ^{ns}	68 a	76 a ^{ns}	64 a	67 a ^{ns}	15 a	19 a ^{ns}
Fertilizante CT Green	0,5	78 a	91 a ^{ns}	67 a	81 a ^{ns}	62 a	81 a ^{ns}	39 b	50 b ^{ns}	16 a	17 a ^{ns}
GA ₄₊₇ + BA	2,5	91 a	62 b*	72 a	42 c*	47 a	33 d ^{ns}	24 c	17 c ^{ns}	12 a	6 c ^{ns}
Óleo Mineral	20	82 a	65 b*	53 b	62 b ^{ns}	31 b	51 c*	20 c	54 a*	3 b	20 a*
Óleo Vegetal	25	76 a	55 b*	47 b	33 c*	40 b	25 d*	20 c	22 c ^{ns}	3 b	5 c ^{ns}
Tiosulfato de amônio	25	45 b	48 b ^{ns}	32 b	35 c ^{ns}	23 b	26 d ^{ns}	14 c	18 c ^{ns}	2 b	6 c*
Uréia	16	73 a	87 a ^{ns}	49 b	70 b ^{ns}	39 b	50 c ^{ns}	38 b	35 b ^{ns}	17 a	13 b ^{ns}
Uréia	32	68 b	80 a ^{ns}	48 b	64 b ^{ns}	30 b	43 c ^{ns}	23 c	22 c ^{ns}	13 a	11 b ^{ns}
<i>p value</i> (tratamento*época)	-	0,0009		0,0545		0,0018		<0,0001		<0,0001	
C.V.(%)		16,80		22,08		21,45		23,33		27,87	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: ¹Dados transformados pela equação $\text{arc.sen}[\text{raiz}(y/100)]$. ²Etapas do percurso (percentual de tubos polínicos): 1= entre o estigma e ¼ do estilo; 2=1/4 a ½ do estilo; 3= entrada do ovário; 4= dentro do ovário; 5= dentro dos óvulos. ³HAP e HDP = horas antes da polinização e horas depois da polinização, respectivamente. ⁴Médias seguidas de mesma letra dentro de uma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$); ^{ns} e * em uma linha = não significativo e significativo para épocas, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).

APÊNDICE B – Efeito de compostos aplicados como raleantes durante a antese de ‘Fuji More’ nas variáveis comprimento de fruto, firmeza de polpa, número de sementes e teor de sólidos solúveis totais. Vacaria-RS, 2018.

Tratamentos	Dose de produto comercial (g ou mg.L ⁻¹)	Comprimento de fruto (cm)	Diâmetro de fruto (cm)	Firmeza de polpa (N)	Número de sementes	Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)
Testemunha	-	6,24 bc	4,91 b	68 ab	6,21 a	13,13 a
ANA	0,105	6,62 a	5,26 a	69 ab	6,11 a	13,01 a
Benziladenine	3	6,48 a	5,15 b	71 a	5,93 a	13,37 a
Calda Sulfocálcica	30	6,18 bc	4,90 b	69 ab	6,39 a	12,74 a
Calda Sulfocálcica. + OM	20 + 20	6,15 c	4,77 b	69 ab	6,02 a	13,02 a
Fertilizante CT Green	0,5	6,20 bc	4,86 b	69 ab	6,32 a	13,16 a
GA ₄₊₇ + BA	2,5	6,58 a	5,27 a	69 ab	5,91 a	13,00 a
Óleo Mineral	20	6,54 a	4,89 b	69 ab	6,08 a	12,89 a
Óleo Vegetal	25	6,11 c	4,81 b	68 ab	6,04 a	12,37 a
Tiosulfato de amônio	25	6,17 bc	4,85 b	66 b	6,37 a	12,20 a
Uréia	16	6,20 bc	4,84 b	68 ab	6,22 a	12,36 a
<i>p value</i>	-	0,0002	<0,0001	0,1854	0,7061	0,5229
C.V.(%)	-	4,67	3,53	4,16	9,72	9,07

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: Médias seguidas de mesma letra dentro de uma coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

APÊNDICE C - Efeito de diamônio e monoamônio fosfato aplicados como raleantes durante a antese de ‘Fuji More’ nas variáveis comprimento de fruto, firmeza de polpa, número de sementes e teor de sólidos solúveis totais. Vacaria-RS, 2018.

Dose (g.L ⁻¹)	Comprimento de fruto (cm)		Diâmetro de fruto (cm)		Firmeza de polpa (N)		Número de sementes		Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)	
	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP	DAP	MAP
0	4,91	4,91	6,24	6,24	68,30	68,30	6,21	6,21	13,13	13,13
7,5	4,90	4,82	6,25	6,17	69,44	67,49	6,06	6,06	13,22	12,11
15	4,90	4,76	6,23	6,04	67,98	69,48	6,22	6,48	12,74	12,82
30	4,70	4,76	5,94	6,10	67,58	68,14	6,41	6,31	11,90	12,24
Linear	ns	*	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	**
Quadrático	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Média geral	4,85	4,81	6,16	6,14	68,32	68,35	6,22	6,26	12,75	12,58
C.V.(%)	3,97		4,50		3,67		8,13		8,40	
Teste F										
Tratamento	p=0,3637		p=0,6593		p=0,9639		p=0,7357		p=0,5783	
Dose	p=0,0463		p=0,0928		p=0,7688		p=0,2364		p=0,0199	
Trat.*dose	p=0,3722		p=0,2940		p=0,2170		p=0,7428		p=0,1478	
Contraste linear										
DAP vs MAP	p=0,3637		p=0,6593		p=0,9639		p=0,7357		p=0,5843	
DAP vs Testemu.	p=0,2896		p=0,3730		p=0,9681		p=0,9040		p=0,1790	
MAP vs Testemu.	p=0,0746		p=0,2128		p=0,9386		p=0,6920		p=0,0753	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nota: Ns, *, ** e ***= não significativo, significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente, de acordo com os contrastes polinomiais ortogonais.