

GENTIL CARNEIRO GABARDO

RALEIO DE PÓS-FLORAÇÃO COM PRODUTOS HORMONAIS E INIBIDORES DE FOTOSÍNTESE EM MACIEIRA: ASPECTOS ANATÔMICOS E QUALIDADE DOS FRUTOS

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências agrárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Produção Vegetal.

Orientadora: Aike Anneliese Kretschmar

Coorientadora: Mariuccia Schlichting De Martin

Coorientador: José Luiz Petri

**LAGES, SC
2019**

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

GABARDO, GENTIL CARNEIRO
RALEIO DE PÓS-FLORAÇÃO COM PRODUTOS
HORMONAIS E INIBIDORES DE FOTOSSÍNTESE EM
MACIEIRA: ASPECTOS ANATÔMICOS E QUALIDADE DOS
FRUTOS / GENTIL CARNEIRO GABARDO. -- 2019.
110 p.

Orientadora: Aike Anneliese Kretzschmar
Coorientadora: Mariuccia Schlichting De Martin
Coorientador: José Luiz Petri
Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2019.

1. Malus domestica Borkh. 2. Raleio químico. 3. Divisão
celular. 4. Crescimento celular. 5. Reguladores de
Crescimento. I. Kretzschmar, Aike Anneliese . II. De Martin,
Mariuccia Schlichting . Petri, José Luiz . III. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção

GENTIL CARNEIRO GABARDO

RALEIO DE PÓS-FLORAÇÃO COM PRODUTOS HORMONAIS E INIBIDORES DE FOTOSSÍNTESE EM MACIEIRA: ASPECTOS ANATÔMICOS E QUALIDADE DOS FRUTOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências agrárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Produção Vegetal.

Banca Examinadora

Orientador: _____


Prof. Dra. Aike Anneliese Kretzschmar

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC/CAV

Membros:


Prof. Dr. Leo Rufato

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC/CAV


Prof. Dra. Francine Regianini Nerbass

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC/CAV


Dr. Fernando José Hawerroth

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA UVA E VINHO


Dr. André Amarildo Sezerino

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

Lages, 12 de julho de 2019

Dedico este trabalho a todos os apoiadores e pessoas que acreditaram em mim, em especial ao pesquisador e mestre José Luiz Petri, pela oportunidade.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força maior.

À minha família. Aos meus pais (Odair Gabardo e Ilda Afonso Carneiro) pelo apoio e incentivo durante esta caminhada. A minha companheira Keli Cristina dos Santos, pela parceria, carinho e paciência durante essa etapa final.

Ao professor e mestre, José Luiz Petri, pela amizade acima de tudo, pela confiança em mim depositada, incentivo, compreensão, companheirismo de trabalho e, principalmente, pela sua dedicação em me ensinar a pensar e fazer pesquisa. Muito obrigado, Tio Petri!

À professora Dra. Aike Anneliese Kretzschmar, pela orientação, pelos ensinamentos, e especialmente, pela amizade e confiança.

Ao pesquisador Dr. Marcelo Couto por todo apoio e incentivo recebidos desde o início de minha jornada na Epagri como aluno de iniciação científica até a conclusão do curso de doutorado, e especialmente, pela amizade.

Aos pesquisadores Dra. Mariuccia Schlichting De Martin e Dr. André Amarildo Sezerino, por todo apoio recebido na execução do trabalho.

À todos os pesquisadores da Estação Experimental de Caçador/EPAGRI que de uma forma ou de outra, contribuíram para minha formação, em especial ao professor Dr Ivan Dagoberto Faoro e Walter Ferreira Becker por terem cedido equipamentos fundamentais à realização deste trabalho; aos funcionários de campo, do escritório, da cozinha e laboratoristas, Hawerth, Amazine, Luizão, Gersi, Cavalett, Dorvalino, Emerson, Ladir, Lourenço, Marcão, Hortêncio, Eurico, Margarete, Cleiton, Jairo, Vera, Ricardo (Jobisson) e os vigilantes Lima, Adilson, Laudelino, Sabedott, Marcão. MUITO OBRIGADO pelo auxílio nos experimentos, pelas jantas, pela simpatia e, principalmente, por terem me acolhido com tanto cuidado e carinho durante os quase dez anos que eu estive entre vocês. Vocês realmente fizeram a diferença!

Aos meus colegas, amigos e quase irmãos, Marcos Paulo Cendron Czerniak, Poliana Francescato, Jean Carlos Bettoni e Carlos Davi Santos e Silva pela ajuda, conselhos, incentivo e por todos os momentos de aprendizado, descontração e alegria, que passamos juntos nesta caminhada. Aos meus conselheiros, amigos, psicólogos, loucos e / ou pensadores, Cristhian L. Fenili, Bianca Schweitzer, Dorvalino Camuzzato e Eder Farina.

Aos meus alunos e bolsistas, que muito contribuíram para a realização desse trabalho: Edson Blattmann, Willian Coser, Juliana Collet.

Ao Programa de Bolsas do Fundo de Apoio à Manutenção e ao Desenvolvimento da Educação Superior – FUMDES pela concessão da bolsa de estudos

À Universidade do Estado de Santa Catarina, pelo ensino de qualidade e ao auxílio e estrutura disponibilizados para que todas as atividades pudessem ser desenvolvidas em pleno êxito.

Aos membros da Banca Examinadora, Leo Rufato, Fernando José Hawerth, André Amarildo Sezerino, Francine Regianini Nerbass, por terem atendido ao convite em fazer parte do meu crescimento profissional.

Enfim, à todos, aqui citados ou não, que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente, para realização deste trabalho.

À vocês minha gratidão e respeito.

“É chato chegar a um objetivo num instante
Eu quero viver nessa metamorfose ambulante
Do que ter aquela velha opinião formada sobre tudo”
(Raul Seixas)

RESUMO

O raleio de frutos é indispensável à obtenção de frutos de melhor qualidade e evitar a alternância de produção em pomares de macieira, porém, o período para sua realização é bastante restrito. Sendo assim, os métodos mais utilizados são o raleio manual ou químico, porém, quando realizado manualmente, esta prática se torna um fator limitante, pois é muito difícil realizá-lo em uma única época em pomares de grande porte. Quando realizado quimicamente, os efeitos secundários sobre o desenvolvimento dos frutos ainda são pouco conhecidos. Nesse contexto, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de identificar possíveis alterações anatômicas nos frutos produzidos por macieiras 'Maxi Gala' e 'Fuji Suprema', submetidas a diferentes estratégias de ajuste de carga, manual e químico, bem como identificar possíveis alterações na qualidade de frutos produzidos, na região Meio Oeste do estado de Santa Catarina. O primeiro capítulo apresenta a descrição detalhada de um protocolo adaptado de análise histológica, o qual permite estimar a densidade e dimensão celular em maçãs. No segundo capítulo, são apontadas possíveis alterações anatômicas e de qualidade nos frutos produzidos por macieiras 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema', submetidas a realização de raleio manual em diferentes épocas em pós-floração. No qual, foi possível perceber que o tamanho final dos frutos tem maior relação com a estrutura em que lhe deu origem, do que com fatores ambientais, polinização e o número de sementes. Sendo que, o número de células presentes nos frutos, bem como a dimensão celular, pode sofrer alterações pela técnica de raleio de frutos, porém, muitas vezes o tamanho final dos frutos, assim como o formato dos mesmos, não é alterado. O terceiro e quarto capítulo trazem resultados de ensaios conduzidos com raleantes químicos (MM -metamitron e BA-Benziladenina), sendo testadas épocas de aplicação, doses, combinações de raleantes e diferentes fontes de BA. A combinação de MM + BA é eficiente no raleio de frutos de macieira, principalmente, quando aplicada no início do desenvolvimento dos frutos (5 a 10mm de diâmetro). A aplicação de raleantes químicos, como MM e BA, pode influenciar o desenvolvimento inicial dos frutos. A frutificação efetiva, foi reduzida nas plantas tratadas com BA, independentemente da concentração ou formulação utilizada. A BA é eficiente no raleio de frutos em macieiras 'Fuji Suprema', sendo a redução da frutificação, e aumento de calibre dos frutos, proporcional a concentração aplicada. Pode haver eficiência diferenciada do produto pela sua formulação, mesmo que possuam concentrações de ingrediente ativo equivalente. A BA pode promover o aumento da densidade celular dos frutos produzidos de modo proporcional a concentração aplicada.

Palavras-chave: *Malus domestica* Borkh. Raleio químico. Divisão celular. Crescimento celular. Reguladores de crescimento.

ABSTRACT

The thinning of fruits is indispensable to obtain better quality fruits and to avoid the alternation of production in apple orchards, however, the period for its realization is very restricted. Thus, the most commonly used methods are manual or chemical thinning, but when done manually, this practice becomes a limiting factor, as it is very difficult to perform it in a single season in large orchards. When chemically performed, side effects on fruit development are still poorly understood. In this context, the present study was developed to identify possible anatomical changes in fruits produced by 'Maxi Gala' and 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to different load adjustment strategies, manual and chemical, as well as to identify possible changes in quality of fruit produced in the Midwest Region of the State of Santa Catarina. The first chapter presents a detailed description of an adapted histological analysis protocol, which allows estimating cell density and size in apples. In the second chapter, possible anatomical and quality changes are pointed out in the fruits produced by 'MaxiGala' and 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to manual thinning at different post-flowering seasons. In which, it was possible to realize that the final size of the fruits has more relation with the structure in which it originated, than with environmental factors, pollination and the number of seeds. Since the number of cells present in the fruits, as well as the cell size, can be altered by the thinning technique, however, often the final size of the fruits, as well as the shape of the fruits, is not changed. The third and fourth chapter presents results of tests conducted with chemical graters (MM-metamitron and BA-Benzyladenine), being tested application times, doses, combinations of grating and different sources of BA. The combination of MM + BA is efficient in thinning apple fruits, especially when applied at the beginning of fruit development (5 to 10mm in diameter). The application of chemical thinners, such as MM and BA, may influence the initial development of fruits. Effective fruiting was reduced in plants treated with BA, regardless of the concentration or formulation used. BA is efficient in thinning fruits in 'Fuji Suprema' apple trees, being fruit reduction and fruit size increase proportional to the applied concentration. There may be differentiated efficiency of the product by its formulation, even if they have equivalent active ingredient concentrations. BA can promote the increase of cell density of fruits produced proportionally to the applied concentration.

Keywords: *Malus domestica* Borkh. Chemical thinning. Cell Division. Cell growth. Growth regulators.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Processamento de amostras de frutos para avaliação dos aspectos anatômicos: mensuração de massa e diâmetro equatorial (a), amostragem, corte na região equatorial do fruto (b, c), contagem de sementes possivelmente viáveis (d), e acondicionamento das amostras em frascos com solução conservante (e)..... 42
- Figura 2 - Câmaras de vácuo utilizadas durante durante exposição a solução conservadora FAA e as fases de desidratação etílica, pré-infiltração e infiltração de historesina..... 43
- Figura 3 - Esquema de fracionamento da amostra de fruto: seccionamento da fatia equatorial dos frutos (a, b, c) e acondicionamento em microtubos (d)..... 44
- Figura 4 - Confecção de blocos para posterior corte em micrótomo: a) organização do material utilizado (moldes, pinça, bisturi) e manutenção do meio de montagem (solução historesina + catalizador) em contato com gelo e em agitação constante; b) secagem das amostras emblocadas em estufa 35°C, por 48 horas; c) retirada da amostra emblocada bloco do molde e colagem em bloco de madeira com cola instantânea; e d) amostras armazenadas em lotes devidamente identificados.... 45
- Figura 5 - Processamento das amostras de tecido: a) corte de amostras (blocos) em micrótomo; b) amostra cortada, fatia com 8 micrometros de espessura; c) deposição da fatia para distenção sobre água morna (50°C), para posterior captura com a própria lâmina de microscopia; d) secagem das amostras (fatias) sobre as lâminas; e) lâminas após coloração com azul de toluidina 0,25% e cobertura com laminula..... 47

Figura 6 -	Cortes de frutos de macieira vistos em microscópio de luz: a, b) frutos aos 7DAPF (aumento de 40x), c) tecido da polpa de fruto de maçã aos 7DAPF (aumento de 100x); d, e) tecido da polpa de fruto de maçã 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema' na colheita (aumento de 100x), f) processamento de imagens no Software ToupView®.....	48
Figura 7 –	Precipitação (mm) e Temperaturas máximas, mínimas e médias mensais do município de Caçador-SC, nos anos de 2016, 2017 e 2018. Caçador-SC, 2019.....	56
Figura 8 –	Taxa de crescimento dos frutos (mm/dia) ao longo do desenvolvimento, nas macieiras 'Maxi Gala' e da macieira 'Fuji Suprema', submetidas a diferentes épocas de raleio manual. Safra 2016/17. Caçador-SC, 2019.....	57
Figura 9 –	NCASF -Número de células por área de secção do fruto ao longo do desenvolvimento (DAPF), em macieiras 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema', na safra 2016/17. Caçador-SC, 2019.....	62
Figura 10 -	Taxa de crescimento (mm dia ⁻¹) de frutos de macieiras 'Fuji Suprema', submetidas a ajuste de carga (Raleio Manual) em diferentes épocas (dias após a plena floração - DAPF) na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.....	63
Figure 11 -	Fruit growth rate (mm/day) of 'Fuji Suprema' and 'Maxi Gala' apple trees submitted to different load adjustment treatments. 2016/2017 agricultural years with BA and MM application, in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	75
Figure 12 -	Production trend lines (kg plant ⁻¹ and fruits plant ⁻¹) and average fresh mass of 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	96

Figure 13 - Trend lines for average fresh mass (g fruit⁻¹) and Number of cells per section area of the fruits of brindilas, harvested from 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Produção, MMF (Massa Média dos Frutos - g) frutos de macieiras ‘MaxiGala’, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2016/2017. Caçador-SC, 2019.....	58
Tabela 2 –	Produção, MMF (Massa Média dos Frutos - g) frutos de macieiras ‘Fuji Suprema’, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2016/2017. Caçador-SC, 2019.....	60
Tabela 3 –	Dimensão celular (μm^2), Número de Células por Área de Secção do Fruto (NCASF); Número médio de sementes (NMS) e Diâmetro médio (mm) em frutos de macieiras ‘MaxiGala’ e ‘Fuji Suprema’, oriundos de diferentes estruturas de frutificação, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 201/2017. Caçador-SC, 2019.....	61
Tabela 4 –	Produção, MMF (Massa Média dos Frutos - g) frutos de macieiras ‘Fuji Suprema’, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.....	64
Tabela 5 –	M F M- Massa Fresca Média (g), diâmetro médio, altura média e número médio de sementes de frutos de macieiras ‘Fuji Suprema’, oriundos de diferentes estruturas de frutificação, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.....	65
Tabela 6 –	Dimensão (μm^2) e densidade celular (NCASF-Número de Células por Área de Secção do Fruto) em frutos de macieiras ‘Fuji Suprema’, oriundos de diferentes estruturas de frutificação, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.....	66

Table 7 –	Production and average fruit mass (AFM) of 'Fuji Suprema' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	76
Table 8 –	Fruit classification by size, ° Brix and pulp firmness, of 'Fuji Suprema' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	77
Table 9 -	Red coloration of 'Fuji Suprema' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	78
Table 10 -	Production, average fruit mass-g (AFM) of 'MaxiGala' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	79
Table 11 -	Average fruit mass (g) AFM, diameter (mm), height (mm) and height/diameter ratio (A/D), Average number of seeds (ANS) and cell area (μm^2),of apple fruits from different lead adjustment treatments, 'Fuji Suprema' cultivar, at 24, 33 and 149 DAFF in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	80
Table 12 -	Average fruit mass (g) AFM, diameter (mm), height (mm) and height/diameter ratio (A/D), Average number of seeds (ANS), cell area (μm^2), cell density (cel./ mm^2) and Average number of cells per fruit section area (ANCFSA) of apple fruits from different lead adjustment treatments, 'Maxi Gala' cultivar, fruit diameter of 5-10 mm in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	82
Table 13 -	Mineral contents and nutritional ratios of 'Fuji Suprema' and 'MaxiGala' apple trees submitted to different load adjustment treatments (thinning) in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	84
Table 14 -	Meteorological data observed three days before and three days after the application of the different treatments for load adjustment (thinning). Caçador, SC, Brazil, 2019.....	91

Table 15 -	Fruit set (%), mean number of fruits per inflorescence and number of fruits per cm ² of branch cross section, Fuji Suprema cultivar, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	92
Table 16 -	Production (kg plant ⁻¹ and fruits plant ⁻¹), AFM (average fresh mass - g fruits ⁻¹), productive efficiency and firmness pulp of fruit 'Fuji Suprema' apple tree, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	93
Table 17 -	MFM (mean fresh mass - g fruits ⁻¹), diameter and height (mm) and height / diameter ratio (A / D), mean number of seeds (NMS), cell area of cells per fruit section area (NCASF) of the fruits of brindilas, harvested from 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.....	95

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grau Celsius
ANOVA	Análise da variância
ASF	Área de secção do fruto - mm ²
BA	Benziladenina
cm	centímetro
CV	Coeficiente de variação
DAPF	Dias após a plena floração
DCel	densidade celular - células mm ⁻²
Epagri	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
F2	Plena floração
FAO/STAT	Food and agriculture Organization of the United Nations
FE	Frutificação efetiva
FP	Firmeza de polpa
g	Gramma
G	Gramas
ha	Hectare
L	Litro
mg L ⁻¹	miligramma por litro
mL	Mililitro
MM	Metamitron
n°	Número
NCS	número de células por secção equatorial do fruto
°Brix	Grau Brix
PF	Plena floração
RM	Raleio manual
S	Sul
SS	Sólidos solúveis
W	Oeste
µm	Micro metro

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	27
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	29
2.1	A MACIEIRA.....	29
2.1.1	Importância do raleio.....	30
2.1.2	Época de raleio.....	31
2.1.3	Formas de raleio.....	31
2.1.4	Substâncias químicas com ação raleante.....	33
2.1.5	Crescimento e desenvolvimento dos frutos.....	37
3.	PROTOCOLO (ADAPTADO) PARA DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE E DIMENSÃO CELULAR DE MAÇÃS.....	39
3.1	INTRODUÇÃO.....	40
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	49
4.	ESTUDOS HISTOLÓGICOS - EFEITO DE RALEIO MANUAL EM DIFERENTES ÉPOCAS DE REALIZAÇÃO, NAS MACIEIRAS 'MAXIGALA' E 'FUJI SUPREMA'.....	51
4.1	INTRODUÇÃO.....	52
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.4	CONCLUSÃO.....	67
5.	INFLUENCE OF POST-FLOWERING CHEMICAL THINNING ON DEVELOPMENT AND FRUIT QUALITY OF 'FUJI SUPREMA' AND 'MAXIGALA' APPLE TREES.....	69
5.1	INTRODUCTION.....	70
5.2	MATERIAL AND METHODS.....	71
5.3	RESULTS AND DISCUSSION.....	73
5.4	CONCLUSION.....	85
6.	DIFFERENT SOURCES AND CONCENTRATIONS OF 6-BA IN CHEMICAL THINNING OF POST-FLOWERING IN APPLE TREE.....	87
6.1	INTRODUCTION.....	88
6.2	MATERIALS AND METHODS.....	90
6.3	RESULTS AND DISCUSSION.....	91
6.4	CONCLUSION.....	97
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99
	REFERENCIAS.....	101

1. INTRODUÇÃO GERAL

A maçã é altamente difundida mundialmente, chegando, no ano de 2017 a ser a segunda fruta mais produzida, e, se tratando de fruteiras de clima temperado é a de maior expressão. Mundialmente a China possui destaque na produção, chegando ao nível de 49,8% do total produzido (FAOSTAT, 2019).

Toda tecnologia envolvida no sistema de produção da macieira, visa a melhoria e manutenção da qualidade da fruta, pois o principal mercado consumidor é o de frutos para consumo *in natura* (ARGENTA et al., 2015).

As plantas de macieira normalmente apresentam grande florada e, por conseguinte, grande frutificação efetiva, sendo assim necessária a retirada de parte dos frutos da planta, a fim de evitar a alternância de produção e melhorar as características de calibre dos frutos para que estes alcancem valores mais altos no mercado. O raleio é uma atividade indispensável à obtenção de frutos de melhor qualidade, porém é uma prática trabalhosa e que exige elevada mão de obra, aumentando os custos de produção. Com intuito de reduzir essa demanda por mão de obra, faz-se uso de produtos químicos com ação raleante nos períodos de floração e pós floração (PETRI et al., 2016a).

Atualmente há uma baixa oferta de produtos com ação raleante no mercado, devido à constante preocupação toxicológica ambiental e residual desses produtos. Um produto que se enquadra a essas exigências é a benziladenina (BA), pois sua eficiência já foi comprovada e seu uso já está consolidado (PETRI et al., 2013). Alguns produtos, inibidores de fotossíntese, foram descritos como eficientes no raleio de frutos, mas ainda se encontram em fase de pesquisa para uso nas condições climáticas brasileiras (PETRI et al., 2016b; GABARDO et al., 2017a; GOULART et al., 2017).

As principais substâncias utilizadas no raleio em pós-floração são raleantes com ação hormonal, como auxinas, citocininas, giberelinas ou precursores do etileno; e recentemente o herbicida metamitron teve relatos sobre sua atividade de raleio de frutos de macieira através da inibição da fotossíntese. Costa et al (2004) chamam a atenção à baixa disponibilidade de produtos com ação raleante, principalmente em áreas sob rigorosos controles regulamentares para o registro de novas moléculas, sendo necessário o desenvolvimento de novos produtos ambientalmente seguros e com grande eficiência.

Esses produtos se mostram eficientes na regulação da carga de frutos da macieira, no entanto, a época ideal de aplicação ainda é bastante discutida. Sabe-se que o crescimento dos frutos de macieira ocorre em duas fases distintas, a divisão celular e a alongação celular; porém, a duração de cada período é bastante discutida, bem como a possibilidade dos raleantes químicos em interferir nesse processo, a fim de promover o aumento do calibre dos frutos.

O raleio de frutos, quando realizado nas fases iniciais do desenvolvimento é tido como o mais vantajoso (GREENE, 2005). Porém, quando realizado manualmente, esta prática se torna um fator limitante, pois é muito difícil realizá-lo em uma única época em pomares. Assim, se desconhece até que época pode-se realizar o raleio manual e ainda obter benefícios na melhoria de calibre e qualidade dos frutos, visto que a tolerância ao excesso de carga é variável entre as cultivares (WERTHEIM; WEBSTER, 2005).

Diante dessa carência de informações observada no setor produtivo da macieira, faz-se necessária a identificação e quantificação do período de divisão e alongação celular, bem como a interação dos produtos raleantes nessas fases, ou mesmo, a melhor época para se fazer o raleio manual, para assegurar aos produtores o momento ideal da realização do raleio para lhes garantir os melhores benefícios na qualidade final dos frutos. Nesse contexto, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de identificar possíveis alterações anatômicas nos frutos produzidos por macieiras 'Maxi Gala' e 'Fuji Suprema', submetidas a diferentes estratégias de ajuste de carga, manual e químico, bem como identificar possíveis alterações na qualidade de frutos produzidos, na região Meio Oeste do estado de Santa Catarina.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A MACIEIRA

A macieira (*Malus domestica* Borkh.) pertencente à família Rosaceae e subfamília Pomoideae, agrupando 100 gêneros e mais de 2000 espécies (IUCHI, 2006). A produção comercial da fruta é dominada por seis cultivares que correspondem por 50% da produção mundial, mesmo existindo mais de 7500 cultivares disponíveis no mundo (WAY et al., 1990). No Brasil, as principais cultivares produzidas pertencem aos grupos Gala, Fuji e seus clones coloridos (PETRI et al., 2011), cujo plantios estão localizados e restritos a regiões de maior frio invernal.

A maçã insere-se como a segunda fruta mais produzida no mundo, cuja produção foi estimada em 83,1 milhões de toneladas, sendo superada apenas pela banana. Mundialmente a China possui destaque na produção, chegando ao nível de 49,8% do total produzido, com cerca de 41,4 milhões de toneladas. No Brasil a produção no ano de 2017, foi entorno de 1,3 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2019). Os Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul são responsáveis por 96% da produção brasileira de maçãs. Onde a cultura da macieira envolve mais de 2,3 mil produtores brasileiros, sendo 1.627 em Santa Catarina, 700 no Rio Grande do Sul, e 100 no Paraná (DAL'SANT, 2013). O escoamento da produção de maçã está dividido entre o consumo *in natura* interno, com a representatividade de 67,6%, consumo *in natura* externo apenas 7% do total comercializado e a industrialização representa 25,4% deste total (Argenta et al., 2015).

A macieira, assim como outras fruteiras de clima temperado, apresenta floração intensa e conseqüentemente alta fixação de frutos, que em muitas vezes excedem a capacidade produtiva da planta. Conforme Costa et al. (2006), em condições de excesso de carga de frutos a planta tende a apresentar queda de fruto imaturos fisiologicamente visando equilíbrio entre fonte e drenos. Embora haja redução no número de frutos por planta, somente a queda fisiológica não garante a produção, nem o tamanho de fruto ideal exigido pelo mercado consumidor.

O excesso de produção diminui a qualidade final dos frutos, pois a planta não possui área foliar suficiente para garantir o suprimento de carboidratos necessário ao desenvolvimento dos frutos (WERTHEIM; WEBSTER, 2005). Por esta razão, o raleio é uma prática comum e indispensável na produção comercial de muitas fruteiras, assim como a macieira (COSTA et al., 2006).

2.1.1 Importância do raleio

Independentemente da forma e fase realizada, o raleio visa o aumento do tamanho médio de frutos ou mudança na distribuição dos frutos para as categorias de maior calibre (DAVIS; STOVER; WIRTH, 2004). O raleio é necessário para ajuste do número de frutos por planta, de modo que os frutos atinjam tamanho adequado para aceitação comercial (REIGHARD; OUELLETTE; BROCK, 2006). De acordo com estes autores, o raleio é uma prática que permite aumentar eficiência produtiva do pomar com a obtenção de frutos de maior aceitação comercial.

A significativa redução na produtividade conferida pela prática do raleio, quando considerado apenas um único ciclo, é compensada com a obtenção de frutos de maior calibre e maior valor comercial nos frutos remanescentes (DAVIS; STOVER; WIRTH, 2004). Quando considerada a produtividade em um determinado número de anos, plantas raleadas geralmente podem apresentar maior produtividade média quando comparadas a plantas não raleadas, devido à ausência de alternância de produção (CAMILO; PEREIRA, 2006).

Conforme Byers et al., (2003), o raleio, além de proporcionar ganho no tamanho dos frutos e na produtividade dos pomares, ocasiona também uma melhora significativa nas características visuais dos frutos, como coloração da epiderme mais uniforme e formato bem definido, pois estes ficam mais espaçados (NACHTIGAL; KERSTEN, 2010).

O raleio de flores e frutos é o método mais eficaz para melhorar a qualidade dos frutos (LINK, 2000), além de prevenir a ocorrência de alternância de produção (TROMP, 2000). A alternância de produção, advinda do grande consumo de reservas em anos de produção excessiva, limita a capacidade de formação de gemas e suprimento de carboidratos nos ciclos de produção posteriores (JACKSON, 2003). Além do consumo excessivo de reservas, a grande carga de frutos repercute no aumento da concentração de giberelinas, produzidas pelas sementes, que limitam a diferenciação floral, diminuindo o volume de floração no ciclo seguinte (TROMP; WERTHEIM, 2005). Assim, a prática do raleio proporciona produções mais estáveis ao longo dos anos devido à melhoria no desenvolvimento vegetativo e produtivo, obtido através do ajuste da carga de frutos por planta.

2.1.2 Época de raleio

O ajuste de carga de frutos nas plantas pode ser realizado desde o momento da poda, com significativa redução no número de gemas floríferas; na fase de floração com uso de produtos de ação caustica, que inviabilizam a fecundação; ou no período de pós-floração. De modo geral, quanto mais cedo for realizado o raleio, maiores são os acréscimos obtidos em calibre e qualidade dos frutos e, também, menores são os riscos de alternância de produção. Embora essa indicação seja a mais correta, muitas vezes não se faz, em virtude da grande variabilidade climática observada na região Sul do Brasil, a frutificação efetiva de ano para ano é muito variável, fazendo com que a avaliação da necessidade e da intensidade de raleio só possa ser realizada após a fecundação, tornando o raleio químico na floração uma prática de maior risco para o produtor (PETRI et al., 2013). Problemas com geadas tardias em regiões propícias a este fenômeno, também fazem com que o produtor tome mais cautela na época de realização do raleio (NACHTIGAL; KERSTEN, 2010). O raleio químico em pós-floração é o mais indicado, quando observado florescimento abundante e elevada frutificação efetiva (PETRI et al., 2006). Greene (2005) ressalta que estas aplicações devem ser realizadas o mais cedo possível, caso contrário, o incremento no tamanho dos frutos não será obtido devido à divisão celular já ter cessado.

Conforme Wertheim e Webster (2005), o atraso na realização do raleio não é recomendado quando consideradas cultivares que regularmente apresentam altos índices de frutificação efetiva, produzindo grande número de frutos por planta, visto a diminuição na capacidade de crescimento dos frutos e diminuição da formação de gemas florais para o ciclo seguinte. Nos frutos, a atividade hormonal mostra-se bastante elevada após a fertilização e regride de forma gradual até a maturação (TROMP; WERTHEIM, 2005). Como se sabe, as giberelinas produzidas pelas sementes podem ser prejudiciais na formação de gemas florais para os anos posteriores, pois estas são produzidas excessivamente na planta quando há permanência de frutos de forma demasiada (JACKSON, 2003).

2.1.3 Formas de raleio

O raleio de flores e frutos pode ser realizado manualmente, mecanicamente ou quimicamente, porém, dentre as opções disponíveis, o raleio químico tem sido considerada como a mais promissora, pois é uma operação rápida que pode ser realizado no momento mais adequado (COSTA et al. 2006). Além disso, o raleio com

produtos químicos, quando bem-sucedido, pode reduzir significativamente o custo de produção e conduzir a um maior rendimento comercial (HUDINA; ŠTAMPAR, 2008). O raleio manual, tem como vantagem permitir selecionar quais frutos serão deixados na planta, eliminando frutos defeituosos, doentes ou de segunda florada. Esta prática pode ser realizada manualmente ou através de tesouras apropriadas (NACHTIGAL; KERSTEN, 2010). Porém, muitas vezes, na produção comercial de maçãs o raleio torna-se inviável economicamente se for feito de forma manual, devido à alta demanda por mão de obra e o alto custo da mesma (SCRÖDER; BANGERTH, 2006).

O raleio químico consiste na aplicação de substâncias químicas com ação raleante sobre flores e frutos ainda pequenos, e que ao serem aplicados em épocas e condições ideais resultam em frutos de melhor qualidade e maior calibre, evitando também os problemas como alternância na produção (CAMILO; PEREIRA, 2006). Segundo Petri (2007), a macieira é uma fruteira muito exigente em raleio, devido à alta frutificação efetiva que apresenta, muitas vezes superior a quatro frutos por inflorescência. Desta forma, o raleio químico pode contribuir para a redução do número de frutos por inflorescência distribuindo de melhor forma os frutos no dossel da planta.

Coneva e Cline (2006) ressaltam que existem dois fatores importantes na forma como raleantes químicos podem influenciar a massa média dos frutos: 1) através da redução da carga de frutos por planta, o que indiretamente afeta a massa média dos frutos, reduzindo a concorrência entre frutos por fotoassimilados; 2) efeito direto dos raleantes sobre o crescimento do fruto quando o raleio químico é feito durante o período de divisão celular, ou quando as substâncias raleantes utilizadas estimulam o aumento da divisão celular e, desta forma, aumentam o calibre dos frutos.

De acordo com Davis, Stover e Wirth (2004), estudos que se referem ao raleio químico buscam identificar substâncias ou combinações destas que expressem poder raleante, bem como as melhores épocas e dosagens a serem aplicadas e os seus efeitos na produção e qualidade dos frutos. Este autor sugere quantificar o benefício econômico proporcionado pelo raleio, além de identificar a carga de frutas adequada para cada cultivar a fim equilibrar produtividade e tamanho dos frutos para maximizar o retorno econômico, de modo a evitar a ocorrência de alternância de produção.

2.1.4 Substâncias químicas com ação raleante

As principais substâncias utilizadas no raleio em pós-floração são raleantes com ação hormonal, como auxinas, citocininas, giberelinas ou precursores do etileno. Costa et al (2004) chamam a atenção à baixa disponibilidade de produtos com ação raleante, principalmente em áreas sob rigorosos controles regulamentares para o registro de novas moléculas, sendo necessário o desenvolvimento de novos produtos ambientalmente seguros e com grande eficiência. Segundo Byers (2003), os raleantes com ação hormonal são mais vantajosos que os de ação cáustica, pois não causam danos às folhas nem aos frutos e ainda tem ação seletiva sobre frutos com menor capacidade de desenvolvimento. Para que ocorra a efetividade do raleio químico em frutíferas, vários fatores podem interferir nesse método de raleio, como o produto utilizado, na forma isolada ou em combinação, concentração, época, condições climáticas, bem como o genótipo (TAHERI et al., 2012; PETRI et al., 2013; FALLAHI et al., 2014; PETRI et al., 2016; GABARDO et al., 2017b).

Segundo Wertheim; Webster (2005), tanto ANA quanto ANAm, apresentam efeito raleante em macieiras, pereiras, pessegueiros e ameixeiras, porém a sensibilidade a estas substâncias é variável entre essas espécies e cultivares. O ANA é mais efetivo do que o ANAm, porém o primeiro pode causar epinastia temporária em concentrações acima de 20 mg L⁻¹. Em macieiras 'Fuji' cultivadas no Sul do Brasil, foi observado que o efeito raleante do ANA é proporcional a concentração utilizada, indicando que sejam utilizadas concentrações de 5 a 15ppm, visto que em maiores concentrações associada a algum fator de estresse, como ocorrência de ácaros, o raleio pode ser muito severo. Segundo estes autores, embora o ANA apresente bom efeito raleante, sua utilização não dispensa a realização do raleio manual complementar para obtenção de frutas de bom calibre e bem distribuídas na planta (CAMILO; PEREIRA, 2006).

A benziladenina (BA) é um fitorregulador com ação de citocininas que apresenta potencial de uso no raleio químico de frutos em várias cultivares de macieira (MAAS, 2006; ROBINSON, 2006). Yuan; Greene (2000) sugerem que a ação raleante da benziladenina em maçãs é devida principalmente pela redução de carboidratos disponíveis para os frutos em desenvolvimento. A benziladenina (BA), que tem demonstrado bloquear o desenvolvimento do embrião, causando reduções nos níveis de carboidratos; este, por sua vez, reduz o transporte de auxina em todo o pedúnculo

da fruta e aumenta a sensibilidade da zona de abscisão de etileno, levando a queda dos frutos (BOTTON et al, 2011; ECCHER et al, 2013). Além disso, segundo Greene (2005), a benziladenina promove aumento na divisão celular, refletindo no maior tamanho de fruto na ausência de raleio. A promoção de abscisão excessiva pode ocorrer com concentrações acima de 150 a 200 ppm (DORIGONI, 2004). A benziladenina é considerada um bom raleante porque a substância imita a ação biológica da citocinina que é sintetizada nas plantas e apresenta baixa toxicidade (YUAN; GREENE, 2000). Segundo Petri et al., (2006), a benziladenina em concentrações iguais ou superiores 170 mg L⁻¹ reduz a frutificação efetiva de macieiras 'Fuji' quando aplicado em frutos com aproximadamente 10 mm de diâmetro. A maior agilidade dos raleantes químicos como o ácido naftaleno acético e a benziladenina é notada quando estes são aplicados em frutos que estão em um estágio de rápido crescimento, o que sugere que estas substâncias desempenham sua ação raleante reduzindo a produção ou a translocação de carboidratos, o que intensifica competição entre os diferentes tecidos drenos, incluindo frutos em desenvolvimento (GREENE, 2002). Sugere-se que a variabilidade na eficácia do raleio está relacionada com a fase de desenvolvimento do fruto e a disponibilidade de carboidratos para manter o crescimento do fruto (ROBINSON et al., 2011).

Recentemente o herbicida metamitron, do grupo químico triazinona, teve relatos sobre sua atividade de raleio de frutos de macieira através da inibição da fotossíntese (LAFER, 2010; BASAK, 2011). Este produto, especificamente, é um inibidor do fotossistema II que altera o aparato fotossintético por 7 a 10 dias após a aplicação, reduzindo as taxas de transporte de elétrons em até 60% (MCARTNEY; OBERMILLER, 2012). Resultados similares aos de ANA, Benziladenina e carbaril, foram obtidos quando aplicado metamitron no período de queda de pétalas e frutos com 10mm, na cultivar de macieira 'Brookfield' (REGINATO; OSORIO; NAVARRETE, 2012). A não incidência de distúrbios fisiológicos ou fitotoxidez também é uma característica desejável, Lafer (2010) relata que o metamitron, quando aplicado em frutos pequenos de macieira 'Elstar', não causou qualquer dano foliar, frutos pigmeus, má-formação de frutos e russetting. Metamitron pode ser efetivo no raleio de frutos de maior calibre, maiores que 18mm, em macieira 'Gala', e seu efeito pode ser potencializado quando associado a outros raleantes já utilizados (MCARTNEY; OBERMILLER, 2012). A melhora na distribuição dos frutos em categorias de maior calibre foi obtida por diversos autores com o uso de Metamitron, em aplicações

individuais ou em combinação com benziladenina (BASAK, 2011; BRUNNER, 2014; GREENE, 2014; STERN, 2014).

Mathieu et al., (2016.) apontam que o poder raleante do metamitron está relacionado com a dosagem aplicada, porém, as cultivares de macieira reagem de maneira diferente ao produto. O diâmetro dos frutos entre 6 e 18 mm foi determinado como uma janela de tempo possível para aplicação do metamitron, sendo a atividade mais forte obtida com aplicações em frutos com diâmetro entre 10 e 13 mm, desta forma, o ajuste de dosagem e época de aplicação deve ser específico para cada cultivar (CLEVER, 2018).

A eficácia do metamitron como raleante pode ser variável entre os anos, bem como, dentro do mesmo ano (CLEVER, 2018), visto que podem haver variações de temperatura entre as regiões produtoras. Byers (2002) foi capaz de demonstrar que uma temperatura média noturna de 10 °C é um limiar crítico para a queda de frutos, sendo que temperaturas superiores aumentam a taxa respiratória e assim, podem aumentar a queda de frutos.

Fatores ambientais, como altas temperaturas no momento da aplicação podem potencializar o efeito de alguns raleantes, como é o caso do etefom, precursor do etileno, que se mostra altamente variável com a temperatura, temperaturas acima de 25°C, seu efeito raleante pode ser potencializado devido à maior taxa de síntese de etileno e taxa respiratória dos frutos, podendo resultar em raleio excessivo. A benziladenina (BA), apresenta potencial de uso no raleio químico de frutos em várias cultivares de macieira (MAAS, 2006; ROBINSON, 2004). A benziladenina é considerada um bom raleante porque a substância mimetiza a ação biológica da citocinina que é sintetizada nas plantas e apresenta baixa toxicidade (YUAN; GREENE, 2000). Segundo Greene (2005), a benziladenina promove aumento na divisão celular, refletindo no maior tamanho de fruto na ausência de raleio. Segundo Petri et al., (2006), a benziladenina em concentrações iguais ou superiores 170 mg L⁻¹ reduziu a frutificação efetiva de macieiras 'Fuji' quando aplicado em frutos com aproximadamente 10 mm de diâmetro. A promoção de abscisão excessiva pode ocorrer com concentrações acima de 200 mg L⁻¹ (DORIGONI, 2004).

Segundo Dennis Jr. (2000), nos produtos químicos utilizados no raleio em pós-floração, os principais mecanismos propostos para explicar sua ação são: a) Abortamento ou inibição do desenvolvimento do embrião; b) Retardamento da abscisão de frutos com crescente concorrência entre os frutos por nutrientes; c) A

inibição do transporte de fotoassimilados via floema para os frutos; d) Diminuição da força de dreno dos frutos; e) Inibição da síntese de auxina pelas sementes; f) Inibição do transporte de auxina a partir das sementes; g) Promoção da síntese de etileno; e h) Inibição da fotossíntese e aumento da respiração noturna. A maior agilidade dos raleantes químicos como o ácido naftaleno acético e a benziladenina, é notada quando estes são aplicados em frutos que estão em um estágio de rápido crescimento, sugerindo que estas substâncias desempenham sua ação raleante reduzindo a produção ou a translocação de carboidratos, o que intensifica competição entre os diferentes tecidos drenos, incluindo frutos em desenvolvimento (GREENE, 2002). Yuan e Greene (2000) sugerem que a ação raleante da benziladenina de maçãs é devida principalmente à redução de carboidratos disponíveis para os frutos em desenvolvimento.

A combinação de diferentes mecanismos de ação de raleantes pode potencializar os efeitos do raleio químico (WERTHEIM; WEBSTER, 2005). Nesse contexto, a benziladenina tem provado ser extremamente útil no raleio de macieiras, quando em combinação com ácido naftaleno acético (ANA) (WERTHEIM; WEBSTER, 2005; PETRI et al., 2006; PETRI, 2007).

Nas condições climáticas brasileiras a aplicação de met amitron isolado ou em combinação com benziladenina promoveu o ajuste de carga nas macieiras 'Maxi Gala' e 'Fred Hough', sem aumentar a incidência de russeting (PETRI et al., 2016). Conforme estudos realizados por Gabardo et al. (2017a), nas condições ambientais brasileiras, mais especificamente no meio oeste catarinense, o princípio ativo met amitron tem potencial para uso num programa de raleio químico em macieira, visto que o mesmo reduz a frutificação. Porém, devem ser considerados alguns fatores, como a época de aplicação de met amitron, uma vez que a mesma influencia a eficiência do produto. Aplicações de met amitron interferem diretamente na taxa fotossintética das plantas, reduzindo-a drasticamente logo nos primeiros dias após a aplicação, permanecendo assim por no mínimo oito dias, porém seu efeito raleante é reduzido em frutos com diâmetro superior a 25mm (GABARDO et al., 2017b).

Aplicações de met amitron nos períodos iniciais de desenvolvimento dos frutos (na queda de pétalas) promoveram o adequado ajuste da carga produtiva em plantas de macieira. A produção por planta reduziu, enquanto que a alocação dos frutos em categorias de maior calibre aumentou, proporcionalmente ao aumento da concentração de met amitron aplicada, o que pode causar queda demasiada de frutos

em concentrações elevadas. A mistura de metamitron com benziladenina, promove a queda de frutos, entretanto, não foi observado efeito aditivo entre a mistura e a aplicação individual de metamitron (GABARDO et al., 2017a).

2.1.5 Crescimento e desenvolvimento dos frutos

O ajuste da carga de frutos da planta é fundamental à obtenção de frutos de maior calibre e melhor qualidade. Em geral, a carga produtiva atual da planta e a carga genética que a mesma carrega determinará o potencial de desenvolvimento do tamanho dos frutos da macieira. No entanto, o meio ambiente em que a fruta é cultivada pode atenuar essa potencialidade (FRANCESCATTO, 2014). De acordo com a mesma autora, o tamanho final do fruto é diretamente influenciado por dois processos distintos, o processo de crescimento e maturação do fruto, embora estes dois processos estejam fisiologicamente inter-relacionados.

Segundo HARADA et al. (2005) nos primeiros 35 a 50 dias após a fertilização, há intensa divisão celular nos frutos formados. Após este período, o crescimento do fruto torna-se praticamente linear devido à expansão celular; primeiramente caracterizado pela vacuolização das células, depois pelo rápido aumento de tamanho das células individualmente, e finalmente pelo rápido desenvolvimento dos espaços intercelulares.

O tamanho final dos frutos está associado à densidade e dimensão das células presentes no fruto, sendo que estes fatores são determinados pela expressão genica, que delimita a duração das fases de divisão e alongação celular durante o crescimento e desenvolvimento dos frutos (MALLADI; HIRST, 2010, BOGRE et al., 2008, CONG; BARREDO; TANKSLEY, 2008). O fator genético vai predeterminar o tamanho final dos frutos, mas pode ser influenciado pelo estado nutricional das plantas, tratos culturais e fatores ambientais (KRIZEK, 2009).

O tamanho final dos frutos está intimamente ligado ao número e tamanho de células. Um fruto de maçã possui milhares de células, porém o tamanho dos frutos pode variar. De acordo com Hirst (2013), algumas maçãs têm maior tamanho por possuir um número grande de células e outras maçãs tem maior tamanho por possuir células com tamanho grande.

Por ser o tamanho final de uma maçã determinado pelo número de células de um fruto, o mesmo é coordenado pela produção de células e expansão das mesmas durante o crescimento e desenvolvimento do fruto. O crescimento precoce dos frutos

de maçã é facilitado pela proliferação de células onde o número de células é amplificado durante 3 - 4 semanas após a polinização e fertilização (BAIN e ROBERTSON, 1951; DENNE, 1960; HARADA et al., 2005), podendo chegar a 50 dias após a floração. Em estádios mais tardios o crescimento dos frutos está amplamente associado com a expansão celular. Diferenças no tamanho de frutos na colheita são resultados da diferença no número de células e não no tamanho das células (MCARTNEY, 2011).

A prática cultural de raleio, manejo da carga de frutos, equilibrando o número de frutos conforme a capacidade de produção da planta é o fator mais importante que os produtores podem influenciar. Pois, ao fazer o raleio, se reduz a carga de frutos na planta, o que permite aos frutos remanescentes a possibilidade de maior crescimento e ganho em calibre. Raleio aumenta o tamanho de frutos, permitindo maior aporte para número de células nos frutos que ficam na planta. Geralmente, quanto mais cedo se realiza a prática do raleio, melhor é o incremento no tamanho de frutos (HIRST, 2013). Produtos com ação hormonal, como a benziladenina, podem promover aumento na divisão celular e conseqüentemente maior calibre aos frutos. Porém, não se sabe até quando este benefício pode ser alcançado com a aplicação da benziladenina aos frutos. Pressupõe-se também que produtos que afetem diretamente o processo fotossintético, como o metamitron, possam interferir negativamente no processo de divisão celular, visto que este processo ocorre dentro do período residual da aplicação do produto, que pode ultrapassar vinte dias.

A taxa de crescimento dos frutos, quando acelerada, pode influenciar negativamente a qualidade desses frutos, no que se diz respeito ao potencial de armazenamento, devido à redução/interrupção do transporte de nutrientes para os frutos. Conforme Miqueloto et al., (2014) os vasos do xilema perdem a funcionalidade com o crescimento do fruto e conseqüentemente a capacidade de transportar nutrientes essenciais como o Ca. O Ca é um mineral essencial à manutenção da integridade das membranas e previne o desenvolvimento de distúrbios fisiológicos.

3. PROTOCOLO (ADAPTADO) PARA DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE E DIMENSÃO CELULAR DE MAÇÃS¹

Gentil Carneiro Gabardo^a, Mariuccia Schlichting De Martin^b, Aike Anneliese Kretzschmar^a, José Luiz Petri^b, Cristhian Leonardo Fenili^a, Aquidauana Miqueloto Zanardi^c

^a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, Brasil

^b Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Caçador, SC, Brasil

^c Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC), São Miguel do Oeste, SC, Brasil.

Resumo – O objetivo deste trabalho foi adaptar um protocolo para realização de análises anatômicas, pelo qual se permite estimar a densidade e dimensão celular em maçãs. Até então, não havia nada específico para este fim, e ainda, uma grande divergência entre métodos anteriormente utilizados, como a duração de cada etapa do processo; a necessidade ou não de refrigeração das amostras; espessura de corte das amostras; confecção e coloração das lâminas para microscopia; análise das imagens coletadas.

Palavras-chave: Histologia, Histoiresina, Microscopia óptica.

PROTOCOL (ADAPTED) FOR DETERMINATION OF DENSITY AND CELLULAR DIMENSION OF APPLES

Abstract – The aim of this work was to adapt a protocol to perform anatomical analysis, by which it is possible to estimate the density and cellular size in apples. Until then, there was nothing specific for this purpose, as well as a great divergence between previously used methods, such as the duration of each stage of the process; the need for refrigeration of samples; cut thickness of samples; preparation and staining of the slides for microscopy; analysis of the collected images.

Keywords: Histology, Histoiresin, Optical microscopy.

¹ Trabalho submetido à Revista Eletrônica Científica da UERGS, na categoria Nota Científica, em 12/02/2019.

3.1 INTRODUÇÃO

São muitos os fatores que podem influenciar no calibre dos frutos produzidos pelas plantas de um pomar, como temperatura, pluviosidade, o genótipo e os tratamentos culturais realizados, como a poda (QUEIROGA et al., 2008). O tamanho final dos frutos pode ser influenciado pela carga de frutos presentes na planta, uma vez que os frutos em desenvolvimento são os principais drenos dos carboidratos produzidos pela planta (TAIZ et al., 2017). Na fruticultura a técnica de ajuste de carga (raleio) é de fundamental importância à obtenção de frutos de maior calibre, bem como evitar a alternância de produção (PETRI et al., 2016a). A aplicação de produtos químicos, visando promover o raleio químico, pode influenciar a anatomia dos frutos produzidos. Segundo Greene (2005), a benziladenina promove aumento na divisão celular, refletindo no maior tamanho de fruto na ausência de raleio. Já a área e densidade celular irão determinar o tamanho final dos frutos, assim como suas características físicas.

Para possibilitar a determinação da densidade e dimensão celular dos frutos se faz necessário armazenar e preservar as características anatômicas desses frutos, bem como, acondicionar as amostras de modo que permitam a realização de cortes de espessura mínima, a qual permita a confecção de lâminas, que são preparados permanentes para a observação em microscópio óptico. Entre os procedimentos realizados, estão a coleta do material, fixação, clivagem, processamento, inclusão, microtomia e coloração (NUNES; CINSA, 2016).

O presente trabalho foi desenvolvido com intuito de adaptar um protocolo para análise histológica, o qual permite estimar a densidade e dimensão celular em maçãs. Definiram-se parâmetros, métodos de amostragem e duração de todas as etapas envolvidas no processo, bem como, técnicas que permitem a obtenção de imagens de microscopia de maneira prática e simplificada. As amostras foram fixadas em solução conservante (KARNOVSKI, 1965), desidratadas em série etílica e incluídas em hidroxietilmetacrilato (Historesin), com a determinação do período ideal de permanência das amostras em cada solução, bem como a pressão a ser utilizada em câmara de vácuo. Critérios importantes no processamento das amostras foram descritos, assim como, adaptações do protocolo às peculiaridades dos frutos de macieiras, assim como feito por Rocha et al., (2010) para analisar possíveis variações

na polpa de melões, e o estudo da funcionalidade do xilema e mobilização de minerais na polpa de maçãs (DAŽĚTA et al., 2004; MIQUELOTO et al., 2014). Dicas importantes sobre cuidados necessários durante a manipulação das amostras de tecido e reagentes envolvidos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Para macieira, fundamental que haja uma padronização dos frutos no momento da amostragem, visto que existe diferença na capacidade de crescimento e desenvolvimento dos frutos em relação a estrutura que lhe deu origem. Por exemplo: frutos oriundos de gemas terminais de brindilas tem maior capacidade de crescimento e desenvolvimento, do que frutos oriundo de estruturas de menor qualidade, como esporões e gemas axilares.

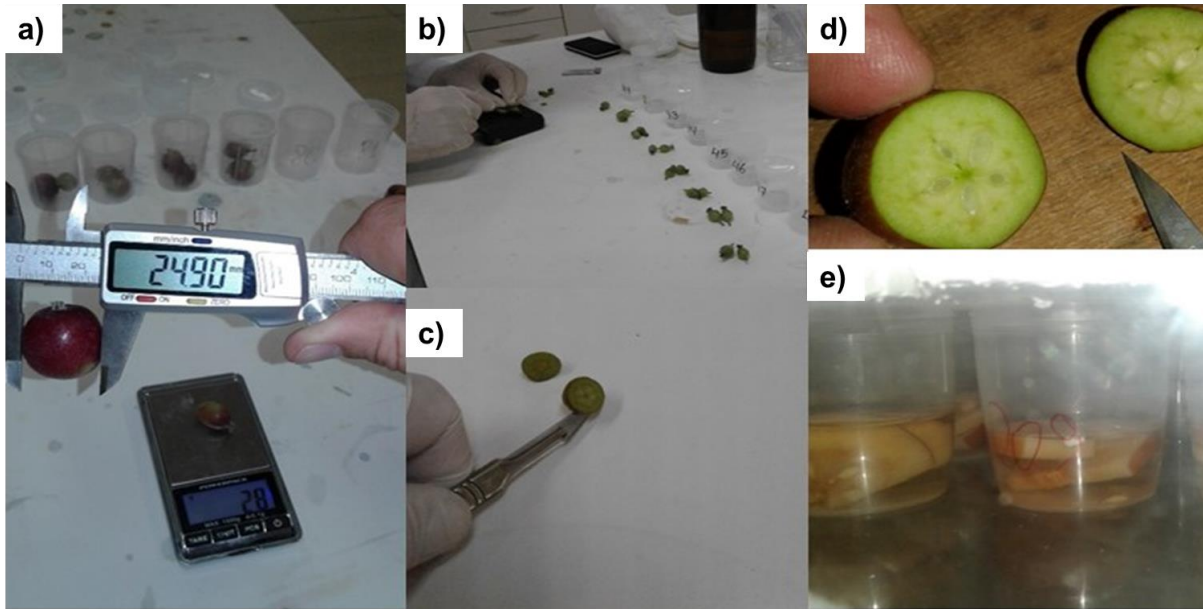
Amostragem e confecção de lâminas para microscopia

Para se ter êxito no uso desta técnica, é indispensável que os frutos sejam processados imediatamente após a coleta, afim de evitar perdas por desidratação, oxidação e/ou degradação dos tecidos. Caso os frutos não sejam processados imediatamente após a coleta, estes devem ser mantidos sob refrigeração em embalagem que os proteja da desidratação. Posteriormente ao início da segunda fase deste protocolo, não há a necessidade de refrigeração das amostras, podendo estas serem mantidas à temperatura ambiente.

Desta forma, devem ser seguidas as seguintes etapas: primeira fase: Identificação, mensuração e preparo da amostra; segunda fase: Acondicionamento em solução conservante; terceira fase: Desidratação etílica; quarta fase: Pré-infiltração, Infiltração, Confecção de blocos em meio de montagem (Historesina); quinta fase: Cortes em micrótomo, Confecção de lâminas de microscopia; sexta fase: Coleta e análise de imagens.

Primeira fase: após a coleta, faz-se a mensuração da massa fresca dos frutos (g) em balança de precisão, bem como, a mensuração da altura e diâmetro equatorial dos frutos com paquímetro; posteriormente, faz-se o corte de uma fatia da porção equatorial do fruto, e caso possível, contagem de sementes viáveis, visto que estas sementes poderão influenciar o desenvolvimento e formato do fruto (Figura 1).

Figura 1 – Processamento de amostras de frutos para avaliação dos aspectos anatômicos: mensuração de massa e diâmetro equatorial (a), amostragem, corte na região equatorial do fruto (b, c), contagem de sementes possivelmente viáveis (d), e acondicionamento das amostras em frascos com solução conservante (e).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Segunda fase: posteriormente ao corte da fatia equatorial do fruto, denominada agora como 'amostra', faz-se o procedimento de fixação. O processo de fixação procura preservar a estrutura celular, sem alterar a química da célula. Os fixadores são agentes físicos (calor, frio, dessecação) ou químicos, sendo que estes últimos, coagulam ou precipitam proteínas celulares e endurecem os tecidos.

Neste caso, se utiliza como fixador a solução de FAA (50mL de Formaldeído 37% + 50mL de Ácido acético glacial + 900mL de Álcool etílico PA 95%), na qual as amostras permanecem imersas e, em câmara de vácuo por um período de 48 horas. Após este período, as amostras devem ser mantidas em solução de álcool 70% até a realização da próxima fase. Sendo que permanecem viáveis por tempo indeterminado, podendo superar 12 meses de armazenagem, nesta forma. O ambiente "câmara de vácuo", consiste na instalação de uma bomba de vácuo acoplada à um dessecador, ou câmara hermeticamente fechada, no qual se mantem uma pressão negativa estabilizada em -500 mmHg, sendo esta pressão padronizada e adotada nas etapas posteriormente descritas (Figura 2).

Figura 2 – Câmaras de vácuo utilizadas durante exposição a solução conservadora FAA e as fases de desidratação etílica, pré-infiltração e infiltração de historesina.

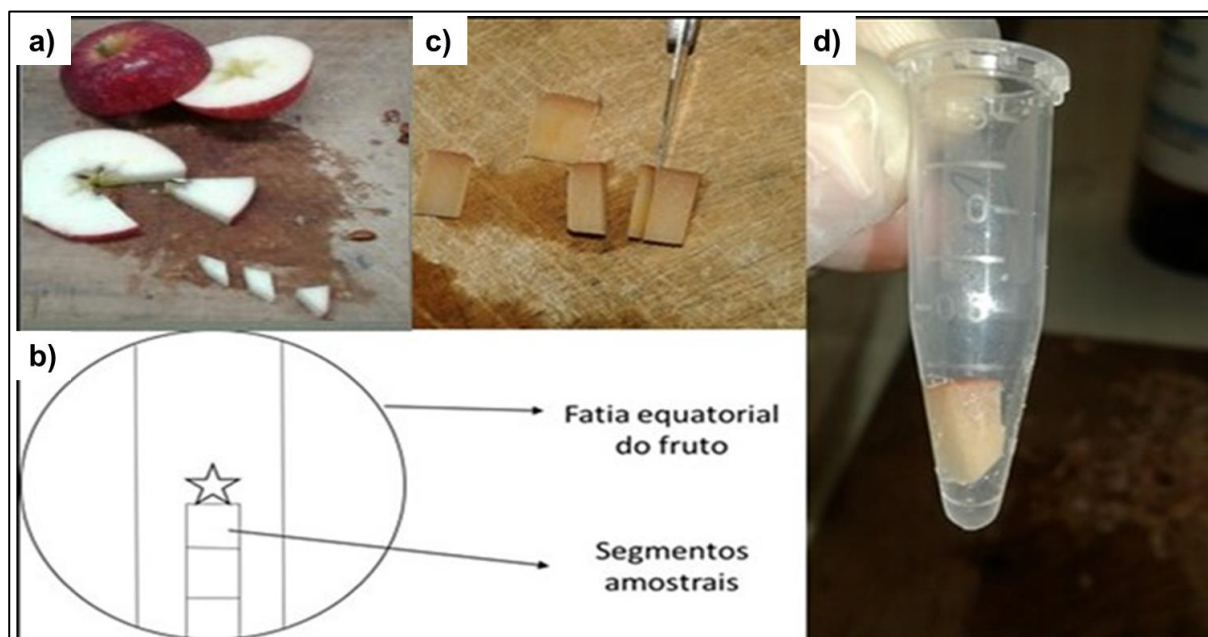


Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Terceira fase: fracionamento da amostra, compreendida da epiderme do fruto até a proximidade com o carpelo, sendo que, o número de segmentos de divisão da amostra pode variar de acordo com o diâmetro do fruto. Deve-se tomar o cuidado com a posição que estão localizados os segmentos no momento do corte e fazer as devidas anotações. Manter um sistema de identificação nos segmentos, visto que os cortes em micrótomo deverão ser realizados na posição horizontal, seguindo a porção equatorial dos frutos. Para isso, pode-se utilizar a técnica de corte dos segmentos em bisel, facilitando assim a identificação da posição que os frutos devem ser mantidos.

Em seguida, os segmentos amostrais, acondicionados em microtubos (Figura 3), seguem para a desidratação etílica, que consiste na submissão das amostras à concentrações alcoólicas crescentes (70, 80, 90, 95%) em câmara de vácuo por um período de 60 minutos em cada concentração. A desidratação remove a água dos tecidos fixados e endurecidos, para que a matriz possa penetrar nas células e tornar o material resistente ao impacto do micrótomo.

Figura 3 – Esquema de fracionamento da amostra de fruto: seccionamento da fatia equatorial dos frutos (a, b, c) e acondicionamento em microtubos (d).



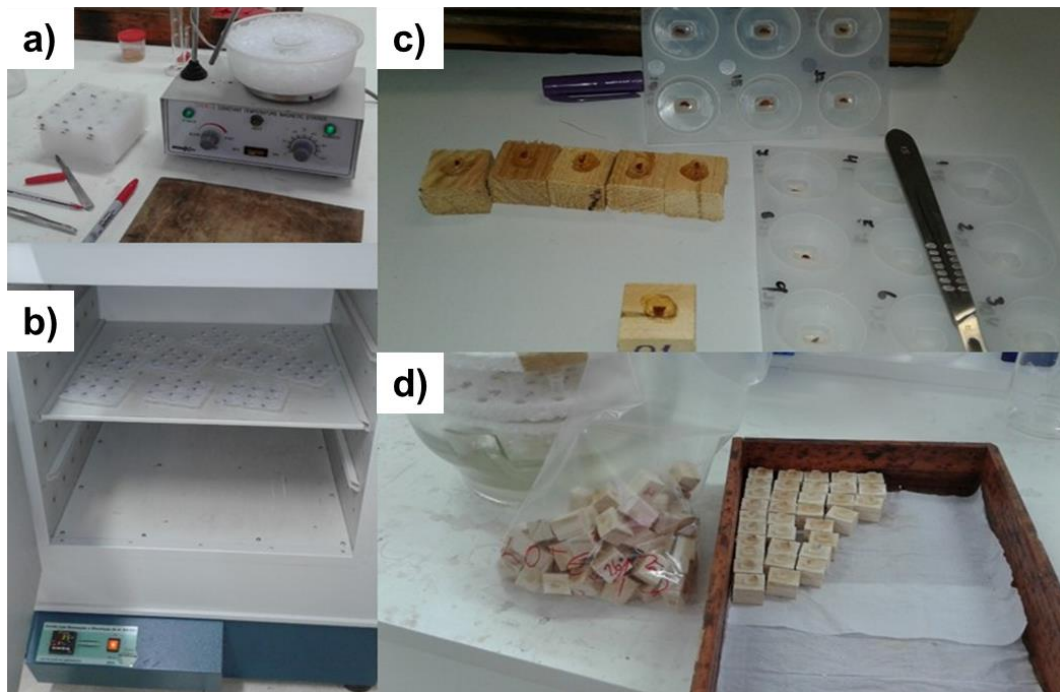
Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Antecedendo a próxima fase, preparam-se duas soluções contendo historesina, conforme recomendações do fabricante (Leica Biosystems®): Solução 01 - Meio de montagem (50 mL de historesina HistoResin da + ativador (dibenzoyperoxide 0,5g)); e Solução 02 – Solução para pré-infiltração (Solução 1 + álcool etílico PA, na proporção de 1x1).

Quarta fase: inicia-se a pré-infiltração, na qual os segmentos amostrais são imersos em solução previamente preparada – Solução 02, e mantidas nesta solução por 24 horas em câmara de vácuo. Encerrado o período de pré-infiltração, a Solução 02 é drenada e descartada em recipiente específico para descarte de resíduos laboratoriais. Posteriormente, inicia-se a infiltração: submissão dos segmentos amostrais em Solução 01, e manutenção nesta solução por 7 dias (168 horas) em câmara de vácuo. Sendo que após este período, a solução 01 deve ser drenada completamente, deixando as amostras prontas para a confecção de blocos para corte com micrótomo. Essa solução pode ser reutilizada sem problemas, apenas para confecção da Solução 02, desde que seja mantida sob refrigeração. A manutenção das amostras em câmara de vácuo é de fundamental importância para a maior infiltração e penetração da resina penetra nos tecidos, ocupando os espaços anteriormente preenchidos por água.

Na inclusão (emblocamento) a resina envolve o exterior da amostra e, após endurecer, forma um bloco que será submetido posteriormente à microtomia (Figura 4). As peças impregnadas são colocadas com a superfície a ser seccionada voltada para baixo em um molde. Existem moldes plásticos específicas com poços para colocar a amostra (tomando cuidado para mante-lo na posição horizontal, mesma posição em que foi retirado do fruto), juntamente com a historresina pura + catalizador, após ativação ocorrerá a reação de polimerização e solidificação do bloco. Com o molde preenchido, com a Solução 03 (15 mL da Solução 01 + 1mL de catalizador/Hardener- Leica Biosystems®), tomando cuidado para que as amostras permaneçam imersas e na posição desejada, pois há possibilidade de flutuação.

Figura 4 – Confeção de blocos para posterior corte em micrótomo: a) organização do material utilizado (moldes, pinça, bisturi) e manutenção do meio de montagem (solução historesina + catalizador) em contato com gelo e em agitação constante; b) secagem das amostras emblocadas em estufa 35°C, por 48 horas; c) retirada da amostra emblocada bloco do molde e colagem em bloco de madeira com cola instantânea; e d) amostras armazenadas em lotes devidamente identificados.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

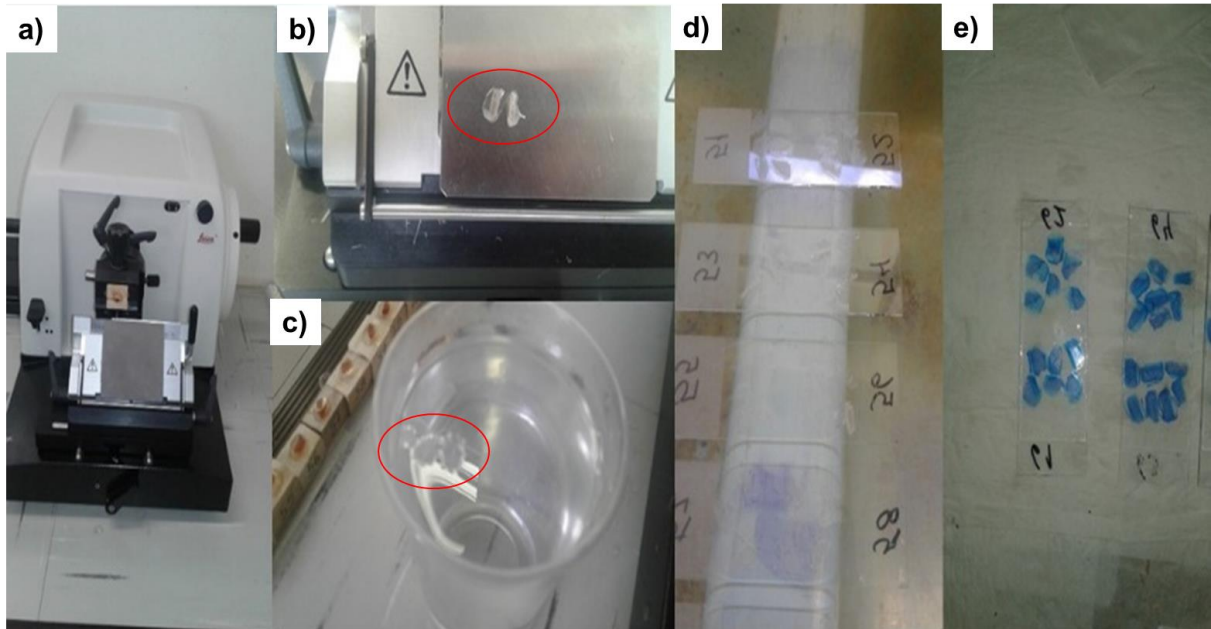
É importante estar atento à posição em que as peças serão colocadas no molde, visto que isso determinará a incidência de corte que será realizada. A Solução 03, deve ser mantida em banho maria em recipiente em contato direto com gelo

durante o processo, pois a resina solidifica rapidamente, mesmo em temperatura ambiente. A secagem dos blocos, consiste na manutenção destes em estufa por um período de 48 horas, na temperatura de 35°C.

Quinta fase:- preparo das lâminas permanentes: Para seccionar o material no micrótomo é preciso unir o material infiltrado e incluído a um bloco de madeira pequeno que servirá como apoio no micrótomo. Esta união pode ser feita com cola instantânea, no caso da historesina. Os blocos são submetidos a cortes em micrótomo, produzindo fatias finas, com 8µm de espessura em micrótomo rotatório Leica 2125RT (utilizando-se de navalha descartável de aço inoxidável), que posteriormente são montadas sobre lâminas para microscopia (Figura 5). No processo de montagem, as fatias da amostra devem ser levadas, com o auxílio de uma pinça e com delicadeza, ao banho-maria à temperatura aproximada de 50°C para que elas se distendam sobre a água, evitando a formação de dobras. Com os cortes devidamente prontos, faz-se a captura destes com as respectivas lâminas de microscopia. Em um movimento de imersão da lâmina na água e posterior suspensão desta, lentamente, a amostra tende a se aderir ao vidro, de maneira totalmente expandida. Palitos de madeira podem ser utilizados para conduzir as amostras até as lâminas, facilitando assim a sua deposição e aderência. As lâminas previamente identificadas e com amostras aderidas, permanecem ao ar livre até a secagem.

Após os procedimentos realizados, as células se encontram incolores, transparentes. Portanto, para que seja possível sua visualização em microscópio óptico, é necessário que os tecidos sejam corados. Neste caso, são coloridas (mantidas em contato com solução corante - azul de toluidina 0,25%, por um período de dois minutos), lavadas com água destilada e cobertas com lamínula. O azul de toluidina é um corante metacromático, que exibe coloração diferente de acordo com o substrato que reage. Pectinas coram de roxo e paredes lignificadas e fenólicos não estruturais coram de verde ou azul esverdeado.

Figura 5 – Processamento das amostras de tecido: a) corte de amostras (blocos) em micrótopo; b) amostra cortada, fatia com 8 micrometros de espessura; c) deposição da fatia para distensão sobre água morna (50°C), para posterior captura com a própria lâmina de microscopia; d) secagem das amostras (fatias) sobre as lâminas; e) lâminas após coloração com azul de toluidina 0,25% e cobertura com laminula.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

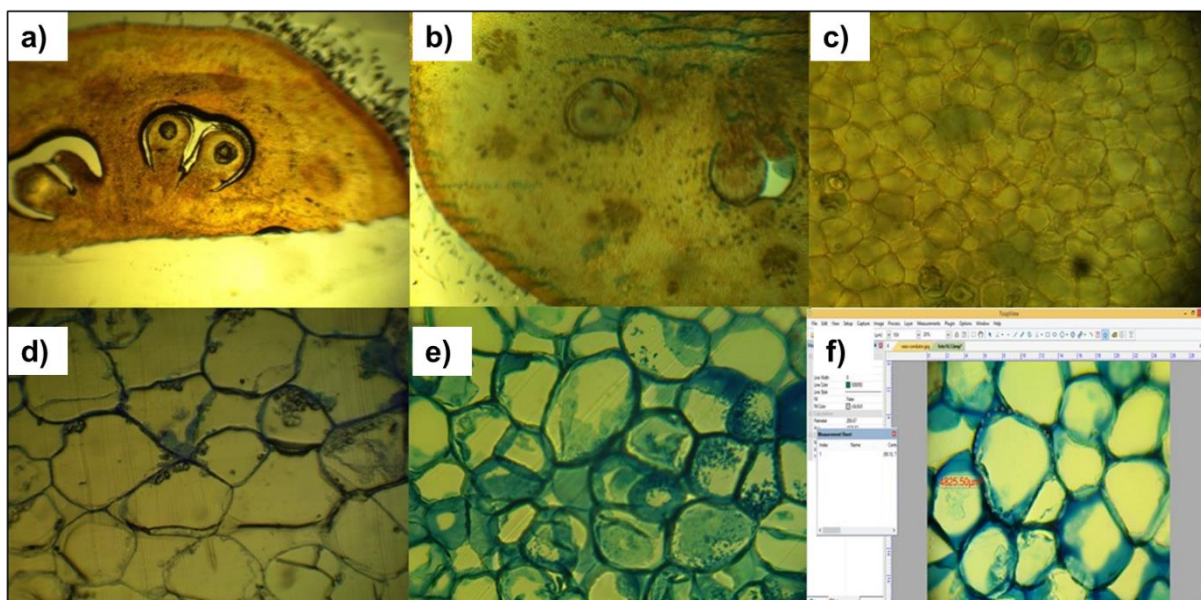
Alguns problemas podem ocorrer durante o processo de confecção das lâminas e cortes histológicos, como Nunes e Cinsa (2016) explicam, o surgimento de imperfeições no corte pode ser devido ao estado inadequado da navalha ou a problemas ocorridos durante etapas anteriores, no processamento. Por exemplo, fatias de corte curvas ou irregulares podem surgir quando a navalha e o bloco não estão paralelos, ou porque na impregnação na resina houve a presença de impurezas ou a não homogeneização da resina e solução catalizadora. Quando há formação de cortes comprimidos ou pregueados, é porque a navalha não estava bem afiada. Cortes fragmentados ou rasgados surgem quando houve exposição da amostra a temperaturas elevadas, acima de 60°C, e quando o tecido se separa do bloco é pelas seguintes razões: o álcool não foi completamente removido, ou a infiltração foi insuficiente.

Caso ocorra a formação de bolhas, durante a colocação da lamínula sobre o tecido, estas podem ser facilmente removidas pressionando a lamínula até que a bolha seja expulsa do campo. E, para que não sejam observadas manchas e sombras ao microscópio, é imprescindível que as lamínulas estejam bem limpas (translúcidas).

O tempo de imersão das lâminas em cada corante também deve ser respeitado, bem como a remoção de excesso de corante para melhor nitidez e contraste dos elementos teciduais durante a visualização em microscópio.

Sexta fase:- em microscópio ótico de luz, com câmera fotográfica acoplada coletam-se imagens do campo de visão. As imagens, posteriormente, são analisadas em software específico para trabalho com imagens, porém é fundamental que os equipamentos estejam devidamente calibrados (Figura 6). Com a contagem das células presentes nas imagens, e ciente de suas dimensões, se obtém a densidade de células por mm^2 que permite estimar o número de células por área de secção equatorial dos frutos, conforme formula: $\text{NCS} = \text{DCel} \times \text{ASF}$ (NCS: número de células por secção equatorial do fruto; DCel: densidade celular - células mm^{-2} ; ASF: Área de secção do fruto - mm^2).

Figura 6 – Cortes de frutos vistos em microscópio de luz: a, b) frutos aos 7DAPF (aumento de 40x), c) tecido da polpa de fruto de maçã aos 7DAPF (aumento de 100x); d, e) tecido da polpa de fruto de maçã 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema' na colheita (aumento de 100x), f) processamento de imagens no Software ToupView®.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

É de suma importância que as normas de segurança sejam mantidas durante todas as fases do processo, pois é indispensável o uso dos equipamentos de proteção individual ao trabalhar com os reagentes envolvidos durante o processo.

3.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A simplificação de um protocolo e adaptação do mesmo as necessidades do pesquisador são fundamentais à obtenção de resultados expressivos. A determinação da duração de cada fase, bem como, os cuidados a serem tomados durante as fases, permitem agilizar o processamento de um maior número de amostras, garantindo a qualidade final das lâminas de microscopia geradas.

O período em que a amostra permanece na fase de infiltração pode ser melhor estudado em estudos futuros. Caso ocorra a possibilidade de redução da duração dessa fase, será possível reduzir o tempo e agilizar o processo, sem perdas na qualidade.

A determinação da densidade e dimensão celular é uma ferramenta de grande valia para auxiliar pesquisadores na explicação de possíveis alterações em frutos observadas em seus estudos e experimentos. Visto que, algumas técnicas de manejo podem interferir no crescimento e desenvolvimento dos frutos.

Durante todo o processo de confecção das amostras, devem ser tomadas medidas de controle das atividades, anotações, cadastros, visto que as fases de todo processo metodológico são sequenciais e que requerem, ao mesmo tempo, observação dos protocolos e capacidade de adaptação dos mesmos diante da necessidade de cada amostra, que é única.

4. ESTUDOS HISTOLÓGICOS - EFEITO DE RALEIO MANUAL EM DIFERENTES ÉPOCAS DE REALIZAÇÃO, NAS MACIEIRAS 'MAXIGALA' E 'FUJI SUPREMA'²

Gentil Carneiro Gabardo^a, Aike Anneliese Kretzschmar^a, José Luiz Petri^b, Mariuccia Schlichting De Martin^b, Andre Amarildo Sezerino^b

^a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, Brasil.

^b Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Caçador, SC, Brasil.

Resumo – O objetivo principal deste trabalho foi de identificar possíveis alterações anatômicas e de qualidade nos frutos produzidos por macieiras 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema', submetidas a realização de raleio manual em diferentes épocas em pós-floração. Os trabalhos foram conduzidos na Região Meio Oeste de Santa Catarina, nas safras de 2016/17 e 2017/18. No primeiro ano de estudo foram avaliadas sete épocas de realização de raleio manual (7, 14, 21, 28, 35, 70 e 90 DAPF-dias após a plena floração), em ambas as cultivares. Já no segundo ano, avaliou-se apenas a 'Fuji Suprema'. A taxa de crescimento dos frutos não foi alterada pelas diferentes épocas de realização do raleio manual, independentemente da cultivar ou estrutura de frutificação avaliada. Em 'MaxiGala' o raleio manual promoveu redução da porcentagem de frutos de menor calibre e aumento da porcentagem de frutos de calibre mediano, indiferentemente da época de realização. O tamanho final dos frutos tem maior relação com a estrutura em que lhe deu origem, do que com fatores ambientais, polinização e o número de sementes. Sendo que, o número de células presentes nos frutos, bem como a dimensão celular, pode sofrer alterações pela técnica de raleio de frutos, porém, muitas vezes o tamanho final dos frutos, assim como o formato dos mesmos, não é alterado.

Palavras-chave: Histologia, Capacidade produtiva, Densidade celular.

HISTOLOGICAL STUDIES - EFFECT OF HAND THINNING IN DIFFERENT TIMES OF REALIZATION IN 'MAXIGALA' E 'FUJI SUPREMA' APPLE TREES

Abstract – The aim of this work was to identify possible anatomical and quality changes in the fruits produced by 'MaxiGala' and 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to manual thinning at different post-flowering periods. The work was conducted in the Midwest Region of Santa Catarina, in seasons of 2016/17 and 2017/18. In the first season of the study, seven periods of manual scaling (7, 14, 21, 28, 35, 70 and 90 DAPF-days after full flowering) were evaluated in both cultivars. In the second season, only 'Fuji Suprema' was evaluated. The fruit growth rate was not altered by the different times of manual harvesting, regardless of the evaluated fruiting or fruiting structure. In 'MaxiGala' the manual thinning promoted the reduction of the percentage of smaller caliber fruits and increased the percentage of medium caliber fruits, regardless of the season. The final size of the fruits has more relation with the structure in which it

² Trabalho submetido à Revista Brasileira de Fruticultura, em 08/03/2019.

originated, than with environmental factors, pollination and the number of seeds. As the number of cells present in the fruits, as well as the cell size, can be altered by the fruit thinning technique, but the final size of the fruits, as well as their shape, is often not altered.

Keywords: Histology. Productive capacity. Cellular density.

4.1 INTRODUÇÃO

A macieira normalmente apresenta florada abundante e elevada frutificação efetiva em condições favoráveis. Desta forma, o raleio de frutos é necessário para manter um bom equilíbrio entre a vegetação e a produção para altos rendimento, evitar alternância de produção, aumentar o tamanho e a qualidade dos frutos, bem como, a distribuição dos frutos nas classes de maior valor comercial (COSTA; DAL CIN; RAMINA, 2006; GREENE; COSTA, 2013; FERNANDES; OLIVEIRA; MOTA, 2013).

Dentre os diferentes métodos de raleio (manual, mecânico e químico), o raleio manual seria o método que permite a obtenção de frutos de melhor qualidade, pois permite a seleção dos frutos permanentes na planta, porém a demanda por mão-de-obra para sua realização é alta, bem como a época para sua realização é bastante restrita (GREENE; COSTA, 2013). De acordo com Petri et al., (2011), nas condições climáticas brasileiras o raleio em pós-floração é o mais utilizado, devido a insegurança em relação a ocorrência de geadas tardias ou fatores ambientais que possam interferir na frutificação efetiva. Isso, restringe ainda mais o período para a realização do raleio, visto que os maiores ganhos na qualidade final dos frutos são obtidos com a retirada da carga excedente de frutos nas fases iniciais de seu desenvolvimento (GREENE, 2005). A tolerância ao excesso de produção é variável entre as cultivares e, se desconhece até que época pode-se realizar o raleio manual e ainda obter benefícios na melhoria de calibre e qualidade dos frutos (WERTHEIM; WEBSTER, 2005).

O tamanho final dos frutos está intimamente ligado a densidade e área celular, sendo que um fruto de maçã possui milhares de células, porém o tamanho dos frutos pode variar. O tamanho final dos frutos é determinado pela progressão coordenada da divisão e expansão celular durante o crescimento e desenvolvimento dos frutos (MALLADI; HIRST, 2010), e pode ser influenciado pelos fatores ambientais (KRIZEK, 2009). O período de divisão e alongação celular é delimitado pela expressão de genes específicos, associados a síntese de enzimas envolvidas durante tais processos fisiológicos (BOGRE et al., 2008, CONG; BARREDO; TANKSLEY, 2008).

O crescimento e desenvolvimento dos frutos está relacionado ao balanço hormonal, no qual a frutificação efetiva é controlada pela presença e concentrações de auxinas, citocininas e giberelinas, que inicialmente, são responsáveis por uma intensa divisão celular e posterior período de alongação celular. Desta forma, a presença e concentração destes fitormônios durante as fases do desenvolvimento, irão determinar o tamanho final dos frutos (KUMAR; KHURANA; SHARMA, 2014). Além das condições ambientais, nutricionais e capacidade produtiva das plantas (fonte/dreno), a expressão gênica regula as fases de divisão e alongação celular, bem como, o amadurecimento dos frutos (MALLADI; HIRST, 2010). Diante disso, faz-se necessária a identificação e quantificação do período de divisão e alongação celular, bem como a melhor época para se realizar o raleio manual, garantindo os melhores benefícios na qualidade final dos frutos.

O objetivo do presente estudo foi de identificar possíveis alterações anatômicas e de qualidade nos frutos produzidos por macieiras 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema' na região Meio Oeste do estado de Santa Catarina, submetidas a realização de raleio manual em diferentes épocas em pós-floração.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos a campo em pomar experimental na Região Meio Oeste de Santa Catarina, município de Caçador, nos anos agrícolas de 2016/17 e 2017/18. Foram utilizadas macieiras das cultivares Fuji Suprema e Maxi Gala, com porta-enxerto Marubakaido/M-9, com densidade de plantio de 2.500 plantas ha⁻¹, ambas conduzidas no sistema líder central e manejadas de acordo com recomendações do sistema de produção da macieira (EPAGRI, 2006).

No primeiro ano de estudo, o experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados, composto por 8 tratamentos com cinco repetições, sendo a unidade experimental formada por uma planta, totalizando 80 plantas, 40 plantas por cultivar. Foram avaliadas sete épocas de realização de raleio manual (7, 14, 21, 28, 35, 70 e 90 DAPF-Dias Após a Plena Floração), em ambas as cultivares, sendo que foram deixados dois frutos em gemas terminais de brindila e um fruto em gemas de esporão, sem nenhuma forma de raleio químico.

No segundo ano, foi utilizado apenas a 'Fuji Suprema', em virtude da baixa frutificação efetiva observada na 'Maxi Gala', com alterações nas épocas de raleio

manual. O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados, composto por 8 tratamentos com cinco repetições, sendo a unidade experimental formada por uma planta, totalizando 40 plantas. Foram avaliadas sete épocas de realização de raleio manual (14, 21, 28, 35, 42, 70 e 90 DAPF), sem nenhuma forma de raleio químico. Nesse ano, foi utilizado o critério de capacidade produtiva (CP), que consiste na multiplicação da área de secção do tronco da planta (medida 20 cm acima do nível do solo) por cinco (5), obtendo assim, a densidade de frutos a ser deixada nas plantas.

Para ambos os anos de estudo, as variáveis avaliadas foram: taxa de crescimento dos frutos; produção (kg planta^{-1} e frutos planta^{-1}); eficiência produtiva (kg cm^{-2} e frutos cm^{-2}); massa fresca média dos frutos (g); classificação dos frutos por classes de tamanho (%); coloração dos frutos (%); número de sementes por fruto; firmeza da polpa (lbpol^{-2}) e sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) conforme Scolaro et al. (2015); densidade e área celular.

A taxa de crescimento dos frutos foi determinada pela marcação de cinco frutos por planta, previamente identificados, e mensurado o diâmetro equatorial semanalmente com um paquímetro. No primeiro ano foram marcados apenas frutos de brindilas, enquanto que, no segundo ano foram marcados três frutos de brindila e dois de esporão.

Para as análises anatômicas dos frutos foram coletados dois frutos por planta durante o ciclo, apenas de gemas terminais de brindilas. No entanto, no segundo ano de avaliação, no momento da colheita, foram coletados frutos de esporões e brindilas para a comparação dessas estruturas.

Após a coleta, as amostras foram fixadas em solução FAA (Formalina/Ácido acético/Álcool etílico 1:1:8), fracionadas e processadas, inclusas em historesina, submetidas à microtomia, confecção e coloração de lâminas de microscopia e captura e análise de imagens em software específico (ToupView[®]).

No primeiro ano de ensaio, foram coletadas amostras de frutos no momento da realização do raleio e ao longo do ciclo nas plantas que tiveram os frutos raleados. As coletas foram realizadas aos 7, 14, 21, 35, 50, 70, 90, 120, 136 DAPF (colheita 'Maxi Gala') e 156 DAPF (colheita 'Fuji Suprema'). No segundo ano, apenas no momento da realização do raleio manual e no momento da colheita, ou seja, as coletas foram aos 14, 21, 35, 42, 70, 90, e 166 DAPF (colheita).

A análise estatística dos dados foi realizada através da análise de variância e as variáveis cujos resultados revelarem significância ($p < 0,05$) foram submetidas à comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Em etapa anterior a análise estatística os dados descritos em porcentagem foram transformados pela equação $\text{arc sen } (x / 100)^{1/2}$. As análises estatísticas foram executadas pelo programa Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2010).

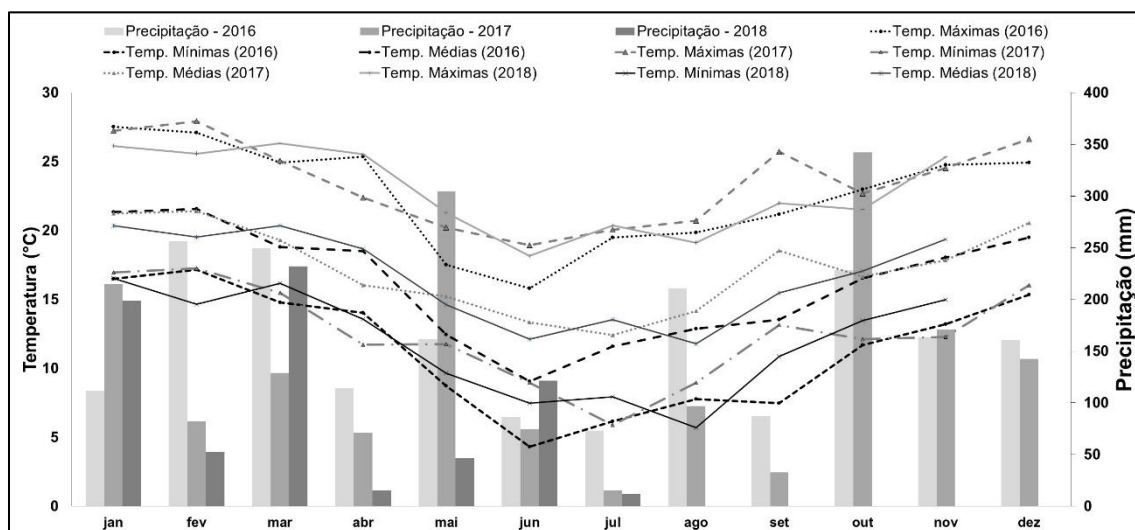
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A safra 2016/17 foi considerada um ano atípico para a pomicultura, visto que ocorreu queda natural dos frutos, do início do desenvolvimento até frutos com diâmetro equatorial superior a 20 mm. Este problema foi relatado nas diversas áreas produtoras e com maior expressão nas macieiras do grupo 'Gala', sendo que as áreas de implantação dos experimentos, aqui relatados, também apresentaram o problema. Para a cultivar 'Fuji Suprema' não se observou problema de queda natural em frutos de maior calibre, mas sim alta frutificação efetiva, caracterizado pela alta porcentagem de inflorescências com mais de quatro frutos.

Esta grande redução na produtividade, na safra estudada, pode estar relacionada com a baixa qualidade da floração, que foi bastante desuniforme, assim como aos fatores climáticos, como pluviosidade e dias nublados que podem ter favorecido essa queda de frutos em estágio de desenvolvimento adiantado, devido à redução da taxa fotossintética e possível esgotamento das reservas de carboidratos na planta. A capacidade de acúmulo de reservas das plantas foi comprometido, nas macieiras 'MaxiGala', devido a severa desfolha causada por mancha de glomerela (*Colletotrichum gloeosporioides*). Além disso, a polinização pode ser comprometida em condições climáticas adversas uma vez que afeta negativamente o forrageamento dos agentes polinizadores na área.

De acordo com as condições climáticas observadas, houve uma grande variação entre as duas safras estudadas. A temperatura média do ar registrada a partir da quebra de dormência até a brotação, no ano de 2016 e 2017, foi de 13,5°C e 18,6°C, respectivamente. O mesmo ocorreu com as temperaturas mínimas, as quais foram mais baixas durante o mês de setembro de 2016 (Figura 7).

Figura 7 – Precipitação (mm) e Temperaturas máximas, mínimas e médias mensais do município de Caçador-SC, nos anos de 2016, 2017 e 2018. Caçador-SC, 2019.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

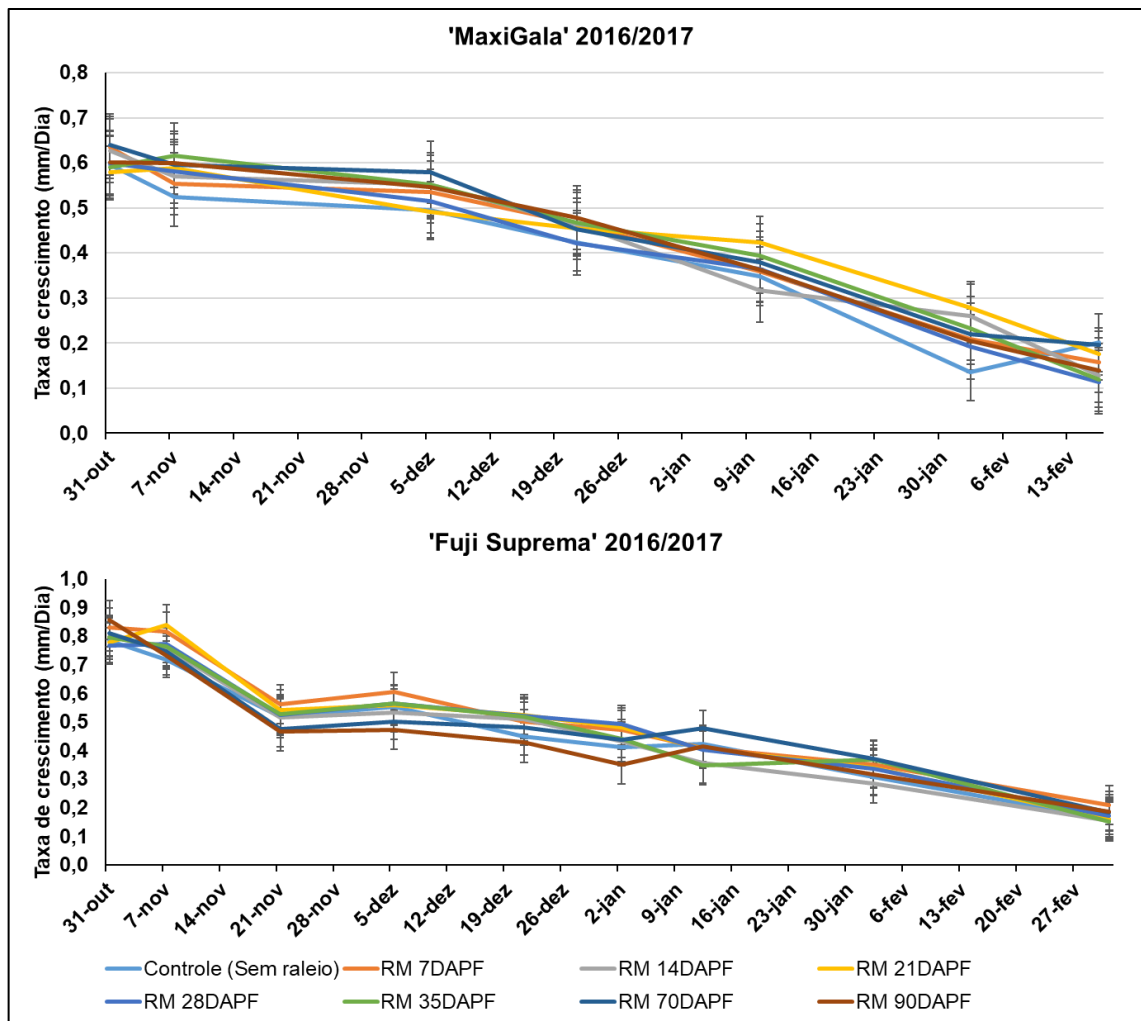
A precipitação acumulada no mês de setembro do ano de 2016 também foi superior (87,1 mm em 2016 e 32,6 mm em 2017), fator que pode ter contribuído para a redução da massa média dos frutos colhidos na safra 2017/18. Com relação ao acúmulo de frio (período de 01 de abril à 30 de setembro), o ano agrícola de 2016/17 ficou acima da média histórica, com 700 horas de frio igual ou abaixo de 7,2 °C, já no ano agrícola 2017/18, o acúmulo de frio foi bem abaixo da média histórica, com apenas 313 horas de frio, enquanto que a média histórica se encontra em torno de 534 horas de frio (EPAGRI/CIRAM, 2018). Variações no acúmulo de frio entre as safras, podem implicar em alterações no comportamento fenológico das plantas, como brotação, floração e maturação, e características como o tamanho dos frutos que irão refletir na produtividade final das plantas (FRAGA et al., 2015; SANTOS, COSTA, FRAGA, 2016). Isso foi percebido, com uma variação de seis dias na observação do estágio fenológico de F₂ (Plena floração-PF) entre uma safra e outra, sendo que, a PF ocorreu em 03/10/2016 e 27/09/2017, primeira e segunda safra de estudo, respectivamente.

Primeiro ano de estudo, safra 2016/2017:

A taxa de crescimento dos frutos (mm/dia) foi similar nos frutos avaliados ao longo do desenvolvimento em ambas as cultivares, indiferentemente da época de realização do raleio manual (Figura 8). No momento da colheita, aos 136 DAPF e 149 DAPF, das cultivares MaxiGala e Fuji Suprema, respectivamente, o tamanho dos

frutos foi similar entre os tratamentos. Este fato pode estar mais associado ao tipo de estrutura que deu origem ao fruto (gema terminal de brindila), do que a época de realização do raleio manual.

Figura 8 – Taxa de crescimento dos frutos (mm/dia) ao longo do desenvolvimento, nas macieiras 'Maxi Gala' e da macieira 'Fuji Suprema', submetidas a diferentes épocas de raleio manual. Safra 2016/17. Caçador-SC, 2019.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Plantas de 'MaxiGala', submetidas ao raleio manual realizado aos 35DAPF mantiveram produção (kg planta^{-1}) semelhante as plantas sem raleio, com ligeira redução do número de frutos por planta, e acréscimo na massa média dos frutos. Todas as demais épocas de raleio testadas reduziram a produção individual das plantas, tanto em kg planta^{-1} , quanto, frutos planta^{-1} (Tabela 1). Apenas o raleio realizado aos 7 DAPF não mostrou incremento em massa média dos frutos, quando comparado às plantas sem raleio. O raleio manual é eficaz para aumentar o tamanho dos frutos quando realizado logo após a queda natural dos frutos, porém, o custo para

sua realização é elevado, fazendo o raleio químico uma alternativa mais barata aos produtores, se aplicado adequadamente (VERJANS et al., 2018).

Tabela 1 – Produção, MMF (massa média dos frutos - g) frutos de macieiras 'MaxiGala', submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2016/2017. Caçador-SC, 2019.

Épocas	Produção / Planta		MMF (g)	Eficiência Produtiva	
	Kg	frutos		kg cm ²	frutos cm ²
Controle	16,3 a	193,4 a	83,4 b	0,90 a	11,42 a
RM 07DAPF	7,5 b	96,4 c	81,0 b	0,45 b	5,23 b
RM 14DAPF	9,2 b	90,8 c	101,4 a	0,59 b	6,09 b
RM 21DAPF	10,6 b	97,2 c	109,9 a	0,38 b	3,50 b
RM 28DAPF	10,0 b	95,4 c	107,4 a	0,39 b	4,08 b
RM 35DAPF	15,7 a	140,0 b	113,1 a	0,42 b	3,78 b
RM 70DAPF	11,9 b	104,0 c	114,6 a	0,31 b	2,74 b
RM 90DAPF	8,7 b	83,4 c	104,4 a	0,28 b	2,71 b
Média	11,3	112,6	101,9	0,47	4,94
CV (%)	39,1	35,2	17,0	60,7	69,3

Épocas	Calibre (%)			Brix ^o	Firmeza de Polpa (Lib)
	>180	140-150	<135		
Controle	70,2 a	29,3 b	0,5 ^{ns}	10,4 ^{ns}	19,7 ^{ns}
RM 07DAPF	48,9 b	49,6 a	1,5	11,8	19,7
RM 14DAPF	41,0 b	57,7 a	1,3	11,7	20,6
RM 21DAPF	29,0 b	68,2 a	2,8	11,2	18,8
RM 28DAPF	34,7 b	56,6 a	8,7	11,2	19,9
RM 35DAPF	30,0 b	65,2 a	4,8	11,0	18,5
RM 70DAPF	25,7 b	69,3 a	5,0	11,4	19,0
RM 90DAPF	39,0 b	56,4 a	4,5	10,7	18,6
Média	39,8	56,5	3,7	11,2	19,4
CV (%)	28,0	20,6	84,8	7,0	13,8

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). *ns: não significativo ($P \geq 0,05$). RM: Raleio manual.

De acordo com Greene (2005), a retirada de parte desses frutos, principalmente nas fases iniciais do desenvolvimento, seria favorável ao aumento de calibre dos frutos permanentes na planta. Porém, no presente estudo, todas as épocas de realização do raleio manual promoveram melhor alocação dos frutos em categorias de maior calibre, independentemente da época de realização.

A análise da eficiência produtiva (kg cm⁻² e frutos cm⁻²), baseada na área de seção do tronco das plantas mostrou significativa redução da eficiência produtiva em todas as épocas de raleio manual em comparação às plantas não raleadas, que

apresentaram os maiores valores de produção individual. Em relação às variáveis de qualidade dos frutos colhidos não foram percebidas alterações na firmeza da polpa, nem na porcentagem de sólidos solúveis (°Brix).

Em média 70,2 % dos frutos das plantas sem raleio foram classificados como frutos pequenos (massa inferior a 100g), enquanto que a média de frutos pequenos nos tratamentos com raleio manual, independentemente da data em que o mesmo foi realizado, ficou em 35,5 %. Tal influência dos tratamentos de raleio também foi observada no aumento da porcentagem de frutos de tamanho médio, com massa média entre 100 e 130g, que ficou em 60,4% para plantas submetidas ao raleio (independente da data), enquanto que na testemunha, a porcentagem de frutos de calibre médio ficou em 29,3%. Não se observou diferença significativa entre os tratamentos quanto à porcentagem de frutos de calibre grande (massa superior a 135g). Conforme Malladi e Hirst (2010), quanto mais cedo se realiza a prática do raleio, melhor é o incremento no tamanho de frutos, pois o raleio aumenta o aporte de carboidratos aos frutos remanescentes, contribuindo para a divisão e alongação celular. Os maiores benefícios para aumento do calibre dos frutos e redução do risco de alternância de produção, bem como melhoria na qualidade de gemas floríferas para o próximo ano, se tem quando o raleio é realizado no período máximo de 40DAPF, em frutos com no máximo 12mm de diâmetro (PETRI et al., 2017).

Na cultivar Fuji Suprema não se observou alteração da produção (kg planta^{-1}), nem mesmo da massa média dos frutos colhidos nas plantas submetidas a diferentes épocas de realização de raleio manual, embora tenha sido observado maior número médio de frutos colhidos nas plantas raleadas aos 21 e 90 DAPF (Tabela 2). Esta grande variação observada entre os tratamentos pode estar associada a baixa uniformidade das plantas do pomar, bem como o porte das mesmas. No entanto, ao avaliar a eficiência produtiva das plantas não se observou diferença significativa entre plantas que receberam tratamentos de raleio manual em diferentes épocas e plantas não raleadas. As características dos frutos colhidos, como calibre, firmeza de polpa e °Brix, não foram influenciadas pelo raleio, nem épocas de realização.

Tabela 2 – Produção, MMF (Massa Média dos Frutos - g) frutos de macieiras ‘Fuji Suprema’, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2016/2017. Caçador-SC, 2019.

Épocas	Produção / Planta		MMF (g)	Eficiência Produtiva	
	kg	Frutos		kg cm ²	frutos cm ²
Controle	24,2 ^{ns}	208,6 b	118,5 ^{ns}	0,60 ^{ns}	5,14 ^{ns}
RM 07DAPF	23,5	195,2 b	127,2	1,07	9,22
RM 14DAPF	27,7	282,6 b	103,5	1,08	11,11
RM 21DAPF	36,7	356,8 a	104,6	1,33	13,08
RM 28DAPF	28,6	233,8 b	126,9	0,99	8,04
RM 35DAPF	27,8	239,2 b	125,3	1,12	9,68
RM 70DAPF	26,7	260,4 b	102,8	1,10	10,76
RM 90DAPF	34,7	361,4 a	96,7	1,01	10,53
Média	28,7	267,3	113,2	1,04	9,69
CV (%)	30,1	34,3	16,9	29,4	36,1

Épocas	Calibre (%)			Brix°	Firmeza de Polpa (Lib)
	<100	100 – 130	>135		
Controle	51,4 ^{ns}	39,5 ^{ns}	9,2 ^{ns}	11,5 ^{ns}	18,6 ^{ns}
RM 07DAPF	39,5	40,5	20,0	11,7	17,5
RM 14DAPF	58,9	32,5	8,5	11,8	17,5
RM 21DAPF	55,7	38,1	6,9	10,9	18,3
RM 28DAPF	54,5	45,5	11,5	12,1	20,0
RM 35DAPF	54,9	45,1	12,2	11,9	19,7
RM 70DAPF	50,5	45,0	4,5	12,1	20,3
RM 90DAPF	57,4	39,2	3,4	11,1	18,7
Média	52,8	40,7	9,5	11,6	18,8
CV (%)	18,3	16,2	47,4	9,7	11,1

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). *ns: não significativo ($P \geq 0,05$). RM: Raleio manual.

As características anatômicas dos frutos colhidos, de ‘MaxiGala’ apresentaram alterações significativas associadas a época de realização do raleio manual (Tabela 3). Frutos oriundos de plantas sem raleio (controle) e plantas submetidas a raleio manual aos 7 DAPF apresentaram menor área média celular (μm^2) em comparação às plantas que receberam raleio em épocas mais adiantadas do desenvolvimento dos frutos (tardias), ou seja, frutos com células menores. Porém, não foi observada diferença significativa em relação ao NCASF (número de células por área de secção do fruto). Embora tenha sido observado menor número de sementes nos frutos oriundos de plantas que foram submetidas ao raleio manual aos 21 e 28 DAPF, em comparação com os demais tratamentos, o formato dos frutos não sofreu nenhuma alteração.

Embora tenham sido coletados frutos de estruturas semelhantes (gemas terminais de brindilas), foram observadas alterações no formato dos frutos na 'Fuji Suprema'. O diâmetro dos frutos produzidos por plantas sem raleio e/ou plantas que receberam raleio mais tardio (35, 70 e 90 DAPF) foi inferior ao diâmetro dos frutos produzidos por plantas submetidas ao raleio manual em épocas mais precoces (7 a 28 DAPF). No entanto, a dimensão celular (μm^2) não apresentou diferença significativa entre os frutos colhidos, indiferentemente da época de realização do raleio manual. Desta forma, o que justificaria esses frutos terem maior diâmetro, seria o número de células total no fruto, o que realmente corrobora com maior número de células por área de secção observado em frutos oriundos de plantas submetidas a raleio manual nas épocas mais precoces (7, 14 e 21 DAPF).

Tabela 3 – Dimensão celular (μm^2), Número de Células por Área de Secção do Fruto (NCASF); Número médio de sementes (NMS) e Diâmetro médio dos frutos - DMF (mm) em frutos de macieiras 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema', oriundos de diferentes estruturas de frutificação, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2016/2017. Caçador-SC, 2019.

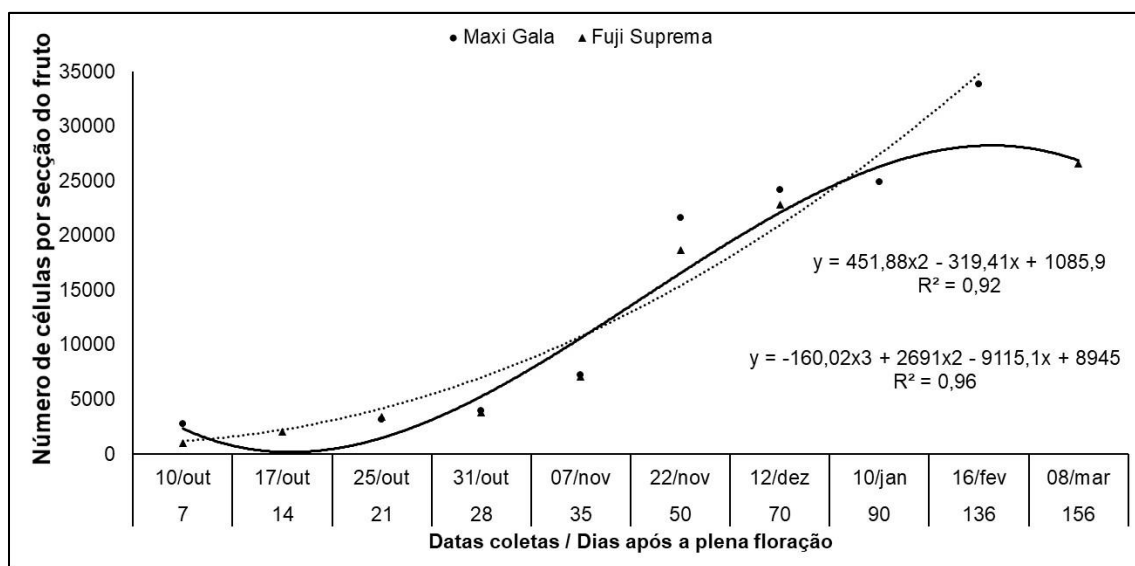
Épocas	Dimensão celular	NCASF	DMF (mm)	NMS
	μm^2			
'MaxiGala'				
Controle	92956,9 b	33870,8 ^{ns}	62,2 ^{ns}	7,5 a
RM 07DAPF	100999,5 b	33135,5	65,0	8,3 a
RM 14DAPF	114125,7 a	30750,6	65,1	7,7 a
RM 21DAPF	107582,5 a	32410,5	64,7	6,5 a
RM 28DAPF	117854,7 a	28352,3	64,3	4,8 b
RM 35DAPF	111637,7 a	31196,5	66,0	5,5 b
RM 70DAPF	111412,1 a	31577,9	65,9	7,5 a
RM 90DAPF	117483,8 a	29822,2	65,6	7,3 a
Média geral	109256,6	31389,5	64,8	7,0 a
CV (%)	9,3	15,4	4,8	6,8
Épocas	Dimensão celular	NCASF	DMF (mm)	NMS
	μm^2			
'Fuji Suprema'				
Controle (Sem Raleio)	134932,0 ^{ns}	26628,1 b	66,3 b	4,3 ^{ns}
RM 07DAPF	140675,4	31280,9 a	73,6 a	7,0
RM 14DAPF	134175,0	31305,0 a	71,4 a	6,5
RM 21DAPF	131802,7	32728,2 a	71,9 a	8,0
RM 28DAPF	143162,3	28352,3 b	71,0 a	6,2
RM 35DAPF	130168,0	28984,0 b	68,5 b	7,3
RM 70DAPF	133239,2	26445,1 b	65,7 b	6,7
RM 90DAPF	136158,4	25228,0 b	64,8 b	7,3
Média geral	135539,1	28869,0	69,2	6,7
CV (%)	9,6	12,0	3,8	27,9

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). *ns: não significativo ($P \geq 0,05$). RM: Raleio manual.

O número de células por área de secção dos frutos de plantas de macieira, sem ajuste de carga (controle), ao longo do ciclo de desenvolvimento, na safra 2016/2017, apresentou comportamento diferenciado entre as cultivares (Figura 9). A análise de regressão mostrou significância para ajuste quadrático, na 'Maxi Gala', e ajuste cúbico para 'Fuji Suprema'. Percebe-se rápido aumento no número de células por área de secção dos frutos entre os 28 e 70 DAPF, o que pode ser atribuído ao período de maior divisão celular.

Figura 9 – NCASF -Número de células por área de secção do fruto ao longo do desenvolvimento (DAPF), em macieiras 'MaxiGala' e 'Fuji Suprema', na safra 2016/17. Caçador-SC, 2019.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

De acordo com Hirst (2013), algumas maçãs têm maior tamanho por possuir um número grande de células e outras tem maior tamanho por possuir células com tamanho grande. Além das condições ambientais e nutricionais das plantas, o fator genético vai predeterminar o tamanho final dos frutos. A combinação de maior capacidade de divisão celular e um maior grau de aumento da célula estão envolvidos no aumento do tamanho dos frutos de macieiras, fator este, que é determinado pela carga genética de cada cultivar (HARADA et al., 2005)

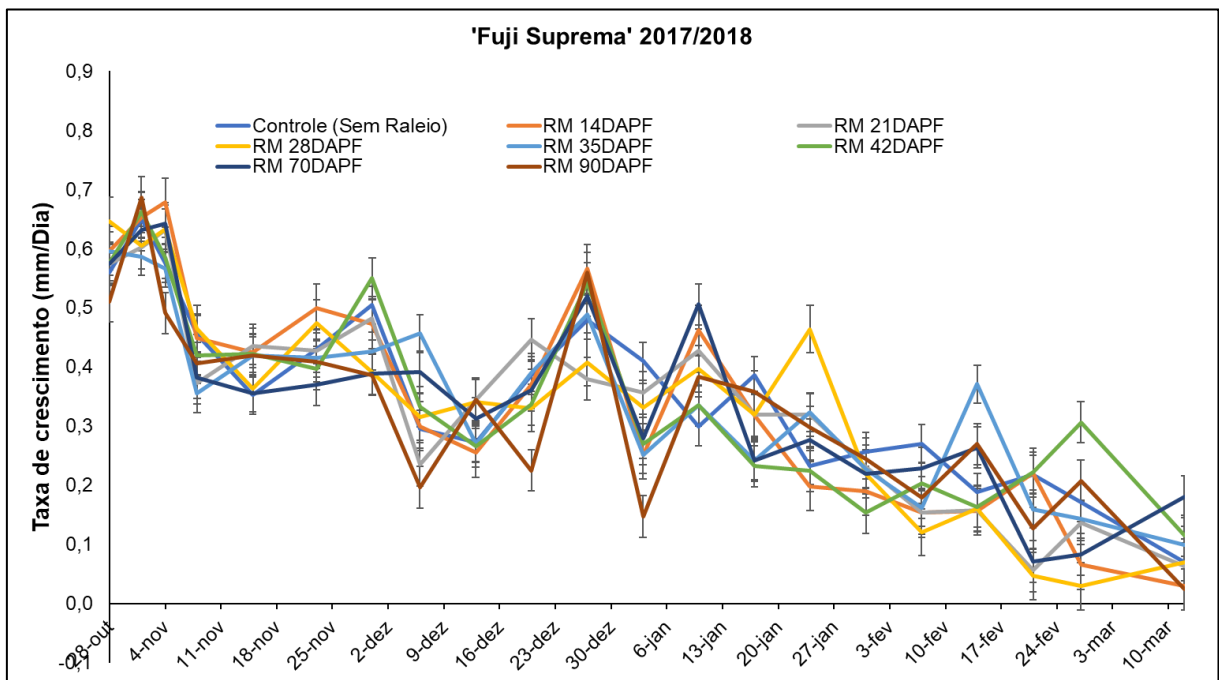
Segundo HARADA et al. (2005) nos primeiros 35 a 50 dias após a fertilização, há intensa divisão celular nos frutos formados. Após este período, o crescimento do fruto torna-se praticamente linear devido à expansão celular; primeiramente caracterizado pela vacuolização das células, depois pelo rápido aumento de tamanho

das células individualmente, e finalmente pelo rápido desenvolvimento dos espaços intercelulares.

Segundo ano de estudo, safra 2017/2018:

Diferentemente do primeiro ano de estudo, a taxa média de crescimento dos frutos (mm/dia) sofreu varias oscilações durante o período de desenvolvimento variando entre os tratamentos, porem sem grandes alterações no tamanho final dos frutos (Figura 10). Ao comparar diferentes estruturas de frutificação (esporões e brindilas) não foi identificada diferença na taxa de crescimento dos frutos (dados não apresentados), embora, no momento da colheita tenha sido evidente a diferença de tamanho de frutos produzidos em diferentes estruturas.

Figura 10 – Taxa de crescimento (mm dia⁻¹) de frutos de macieiras 'Fuji Suprema', submetidas a ajuste de carga (Raleio Manual) em diferentes épocas (dias após a plena floração - DAPF) na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

A produção por planta (kg planta⁻¹ e frutos planta⁻¹) foi reduzida pelo raleio manual, indiferentemente da época de sua realização. Foi observada grande redução da eficiência produtiva das plantas submetidas a raleio manual, aos 21, 28 e 90 DAPF, para kg de frutos por cm² de área de tronco, também redução para frutos por cm², no raleio aos 42DAPF. No entanto, a massa média dos frutos, bem como disposição dos frutos em classes de calibre (%), não diferiram entre os tratamentos de raleio manual e plantas sem raleio (controle). A firmeza de polpa não sofreu alteração, no momento

da colheita, no entanto, a concentração de sólidos solúveis (Brix⁰) teve uma ligeira variação entre os tratamentos avaliados (Tabela 4). Vale destacar que o pomar experimental utilizado, sofreu com severa incidência de podridões de frutos na safra 2017/18, o que refletiu em elevada queda de frutos e perdas em pré-colheita, podendo isso ter afetado os resultados aqui apresentados de produção final das plantas.

Tabela 4 – Produção, MMF (Massa Média dos Frutos - g) frutos de macieiras 'Fuji Suprema', submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.

Épocas	Produção / Planta		MMF (g)	Eficiência Produtiva	
	Kg	Frutos		kg cm ²	frutos cm ²
Controle	24,4 a	287,2 a	86,3 ^{ns}	0,57 a	6,69 a
RM 14DAPF	14,4 b	180,6 b	80,2	0,43 a	5,36 a
RM 21DAPF	10,1 b	122,2 b	80,8	0,29 b	3,54 b
RM 28DAPF	11,9 b	145,4 b	82,3	0,31 b	3,80 b
RM 35DAPF	15,1 b	178,8 b	86,3	0,45 a	5,32 a
RM 42DAPF	15,9 b	180,2 b	87,9	0,38 a	4,37 b
RM 70DAPF	13,9 b	158,8 b	88,4	0,46 a	5,33 a
RM 90DAPF	9,5 b	127,2 b	72,8	0,21 b	2,88 b
Média	14,4	172,6	83,1	0,39	4,66
CV (%)	36,3	37,4	10,4	33,8	34,6

Épocas	Calibre (%)			Brix ^o	Firmeza de Polpa (Lib)
	>180	140-150	<135		
Controle	54,0 ^{ns}	34,2 ^{ns}	11,8 ^{ns}	17,3 b	11,2 ^{ns}
RM 14DAPF	57,9	35,8	6,3	20,9 a	12,0
RM 21DAPF	61,1	33,5	5,3	19,7 a	12,3
RM 28DAPF	63,6	32,0	4,5	18,3 b	12,7
RM 35DAPF	53,1	41,8	5,0	20,8 a	11,4
RM 42DAPF	55,2	36,1	8,7	21,0 a	12,7
RM 70DAPF	51,9	42,7	5,5	16,8 b	10,9
RM 90DAPF	69,1	27,8	3,1	19,9 a	12,2
Média	58,2	35,5	6,3	19,3	11,9
CV (%)	14,6	15,4	39,0	12,6	8,9

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). *ns: não significativo ($P \geq 0,05$). RM: Raleio manual.

Ao observar os resultados das análises anatômicas dos frutos oriundos de diferentes estruturas reprodutivas (brindilas e esporões), foi possível perceber claras diferenças entre essas estruturas, bem como a influência da época de realização do raleio sobre os frutos produzidos (Tabela 5). A massa média dos frutos produzidos em gemas terminais de brindilas foi superior à de frutos produzidos em esporões, sendo

que a época de realização do raleio manual pode influenciar o desenvolvimento dos frutos das brindilas. Assim como na massa dos frutos, o formato dos frutos também é superior nos frutos produzidos por brindilas, com diâmetros e alturas superiores as observadas em esporões. Com base em tais observações nota-se que o tamanho final dos frutos tem maior relação com a estrutura em que lhe deu origem, do que com fatores ambientais, polinização e o número de sementes presentes em seu interior. Ao comparar diferentes estruturas de frutificação Francescatto et al., (2015) salienta que em condições de temperaturas altas após a aplicação dos indutores de brotação ocorre uma maior sincronia no desenvolvimento fenológico entre as estruturas de frutificação, desta forma, as condições climáticas do ano são primordiais à obtenção de uma colheita uniforme. Petri, Leite e Basso (2006), também verificaram que frutos oriundos de brindilas são de maior tamanho que os frutos produzidos em esporões, na cultivar Fuji, cultivada nas condições de clima ameno.

Tabela 5 – Massa fresca média (g), diâmetro médio, altura média e número médio de sementes de frutos de macieiras ‘Fuji Suprema’, oriundos de diferentes estruturas de frutificação, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.

Tipo de estrutura	Massa fresca média (g)			Diâmetro médio dos frutos (mm)		
Esporão	98,4 b			62,1 b		
Brindila	115,1 a			65,2 a		
Média	106,7			63,7		
CV (%)	18,1			6,9		

Época	Altura Média dos Frutos (mm)			Número médio de sementes		
	Brindila	Esporão	Média	Brindila	Esporão	Média
Controle (Sem Raleio)	52,7 Aa	48,2 Ab	50,4	4,8 ^{ns}	6,0 a	5,4 a
RM 14DAPF	52,1 Aa	49,0 Ab	50,5	5,6	5,8 a	5,7 a
RM 21DAPF	52,3 Aa	49,8 Ab	51,1	5,4	7,6 a	6,5 a
RM 28DAPF	49,1 Aa	48,0 Ab	48,5	4,6	7,0 a	5,8 a
RM 35DAPF	49,2 Ba	54,9 Aa	52,1	3,8	2,8 b	3,3 b
RM 42DAPF	54,6 Aa	48,4 Bb	51,5	3,4	4,8 b	4,1 b
RM 70DAPF	48,9 Aa	43,9 Bb	46,4	4,6	4,6 b	4,6 b
RM 90DAPF	47,7	47,1 b	47,4	2,8	3,4 b	3,1 b
Média	50,8	48,7	49,7	4,4	5,3	4,8
CV (%)	7,7			40,2		

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). *ns: não significativo ($P \geq 0,05$). RM: Raleio manual.

Em geral, a carga produtiva atual da planta e a carga genética que a mesma carrega determinará o potencial de desenvolvimento do tamanho dos frutos da

macieira. No entanto, o meio ambiente em que a fruta é cultivada pode atenuar essa potencialidade, sendo assim, o tamanho final do fruto é diretamente influenciado por dois processos distintos, o processo de crescimento e maturação do fruto, embora estes dois processos estejam fisiologicamente inter-relacionados (FRANCESCATTO et al, 2015). Apesar do raleio manual ter reduzido a produção e capacidade produtiva das plantas, a densidade (NCASF) e a dimensão celular (μm^2) não mostraram interação com a época de realização do raleio, nem mesmo entre as diferentes estruturas reprodutivas (Tabela 6).

Tabela 6 – Dimensão (μm^2) e densidade celular, número de células por área de secção do fruto (NCASF) em frutos de macieiras ‘Fuji Suprema’, submetidas a diferentes épocas de ajuste de carga (Raleio Manual) dias após a plena floração (DAPF), na safra 2017/2018. Caçador-SC, 2019.

Época	Dimensão celular μm^2	NCASF
Controle (Sem Raleio)	131542,1 ^{ns}	26616,8 ^{ns}
RM 14DAPF	127129,0	25970,4
RM 21DAPF	127326,3	26973,1
RM 28DAPF	128985,8	24449,2
RM 35DAPF	141554,7	22795,9
RM 42DAPF	132434,6	25131,5
RM 70DAPF	129813,6	24545,4
RM 90DAPF	134582,0	22413,8
Média geral	131671,0	24862,0
CV (%)	16,0	19,5

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). *ns: não significativo ($P \geq 0,05$). RM: Raleio manual.

O tamanho final dos frutos está intimamente ligado ao número e tamanho de células. Um fruto de maçã possui milhares de células, porém o tamanho dos frutos pode variar. O crescimento precoce dos frutos de maçã é facilitado pela proliferação de células onde o número de células é amplificado durante 3 - 4 semanas após a polinização e fertilização (HARADA et al., 2005), podendo chegar a 50 dias após a floração. Em estádios mais tardios o crescimento dos frutos está amplamente associado com a expansão celular. Diferenças no tamanho de frutos na colheita são resultados da diferença no número de células e não no tamanho das células (MCARTNEY, 2011).

A prática cultural de raleio, manejo da carga de frutos, equilibrando o número de frutos conforme o tamanho da planta é o fator mais importante que os produtores podem influenciar. Ao fazer o raleio, se reduz a carga de frutos na planta, o que permite aos frutos remanescentes a possibilidade de maior crescimento e ganho em

calibre. O raleio aumenta o tamanho de frutos permitindo maior aporte para número de células nos frutos que ficam na planta. Geralmente, quanto mais cedo se realiza a prática do raleio, melhor é o incremento no tamanho de frutos (HIRST, 2013).

4.4 CONCLUSÃO

Em 'Fuji Suprema', gemas terminais de brindila tendem a produzir frutos de maior massa média quando comparados a esporões, porém, a massa desses frutos tende a diminuir com o ajuste de carga tardio.

O raleio manual é uma alternativa pouco viável para grandes pomares comerciais devido ao elevado custo com de mão de obra e tempo necessário para sua realização, sendo destinado apenas para repasse após aplicação de raleantes químicos.

O número de células presentes nos frutos, bem como a dimensão celular, pode sofrer alterações pela técnica de raleio de frutos, porém, muitas vezes o tamanho final dos frutos, assim como o formato dos mesmos, não é alterado.

5. INFLUENCE OF POST-FLOWERING CHEMICAL THINNING ON DEVELOPMENT AND FRUIT QUALITY OF 'FUJI SUPREMA' AND 'MAXIGALA' APPLE TREES³

Gentil Carneiro Gabardo^a, Aike Anneliese Kretzschmar^a, José Luiz Petri^b, Mariuccia Schlichting De Martin^b, Andre Amarildo Sezerino^b e Edson Blattmann^c

^a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, Brasil.

^b Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Caçador, SC, Brasil.

^c Faculdades Integradas do Iguazu (Uniguazu), União da Vitoria, PR, Brasil.

Abstract - The main objective of this work was to evaluate possible alterations in the development, anatomy and quality of fruits from 'Maxi Gala' and 'Fuji Suprema' apple plants treated with metامتروم (MM) and benzyladenine (BA) alone or in combination, applied at different stages of fruit development in the Midwestern region of the state of Santa Catarina. The experiment was arranged in a randomized block design with five replicates. Place and Duration of Study: The experiment was carried out in the municipality of Caçador-SC, Brazil, during the growing season of 2016/2017. Two products, BA (with hormonal action) and MM (photosynthesis inhibitor) were applied individually or in a tank mix in post-flowering periods (in fruits of 5-10 mm and 15-20 mm in equatorial diameter), which were compared with plants with no thinning and manual thinning of both cultivars. Treatments were as follows: Control (no thinning) MM, BA, MM + BA (in fruits of 5-10 mm in diameter); MM, BA, MM + BA, manual thinning (in fruits of 15-20mm in diameter). The phenological stage of F2 (Full flowering (FF) was observed on September 28, 2016 for both cultivars. Evaluations of the anatomical characteristics of fruits at the time of harvest did not show any alteration in cell size (mean cell area - μm^2) and cell density (number of cells per fruit section area); the mean fruit mass was higher in MM 350 mg L^{-1} (5-10 mm), MM $350 \text{ mg L}^{-1} + \text{BA } 40 \text{ mg L}^{-1}$ (5-10 mm), and MM 350 mg L^{-1} (15-20mm) treatments. In the 'Fuji Suprema' cultivar, except for control treatments, MM 350 mg L^{-1} (5-10mm) and BA 80 mg L^{-1} (5-10mm), a significant reduction in production was observed (kg plant^{-1} and fruit^{-1}). While in 'MaxiGala', all the thinning treatments reduced yield per plant. The cultural thinning practice, fruit load management, adapting the number of fruits according to plant size is the most important factor that producers are able to influence. Thinning reduces fruit load in the plant, which allows remaining fruits the possibility of greater growth and size gain. The combination of MM + BA is efficient in the thinning of apple fruits, especially when applied at the beginning of fruit development (5-10 mm in diameter). The application of chemical thinners, such as MM and BA, may influence the early stages of fruit development.

Keywords: Histology. Productive capacity. Cellular density.

³ Artigo publicado no Journal of Experimental Agriculture International: Gabardo, G.C.; Kretzschmar, A.A.; Petri, J.L.; De Martin, M.S.; Sezerino, A.A.; Blattmann, E. Influence of Post-Flowering Chemical Thinning on Development and Fruit Quality of 'Fuji Suprema' and 'Maxigala' Apple Trees. **Journal of Experimental Agriculture International**, v.32, n.4, p. 1-13, 2019. <https://doi.org/10.9734/jeai/2019/v32i430107>

Resumo - O objetivo principal deste trabalho foi avaliar possíveis alterações no desenvolvimento, anatomia e qualidade de frutos de macieira 'Maxi Gala' e 'Fuji Suprema' tratadas com metامترون (MM) e benziladenina (BA) isoladamente ou em associação. aplicado em diferentes estágios de desenvolvimento de frutos na região Centro-Oeste do estado de Santa Catarina. O experimento foi organizado em blocos ao acaso, com cinco repetições. Local e duração do estudo: O experimento foi realizado no município de Caçador-SC, no período de crescimento de 2016/2017. Dois produtos, BA (com ação hormonal) e MM (inibidor de fotossíntese) foram aplicados individualmente ou em mistura de tanque em períodos pós-floração (em frutos de 5-10 mm e 15-20 mm em diâmetro equatorial), que foram comparados com plantas sem raleio e raleio manual de ambas as cultivares. Os tratamentos foram os seguintes: Controle (sem raleio) MM, BA, MM + BA (em frutos de 5-10 mm de diâmetro); MM, BA, MM + BA, raleio manual (em frutos de 15-20mm de diâmetro). O estágio fenológico de F2 (Plena floração) foi observado em 28 de setembro de 2016. As avaliações das características anatômicas dos frutos no momento da colheita não mostraram alteração no tamanho das células (área celular média - μm^2) e densidade celular (número de células por área de seção de frutos), a massa média de frutos foi maior em MM 350 mg L⁻¹ (5-10 mm), MM 350 mg L⁻¹ + BA 40 mg L⁻¹ (5-10 mm e tratamentos MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm) Na cultivar Fuji Suprema, exceto para tratamentos controle, MM 350mg L⁻¹ (5-10mm) e BA 80mg L⁻¹ (5-10mm) , observou-se redução significativa na produção (kg planta⁻¹ e fruto⁻¹), enquanto em 'MaxiGala', todos os tratamentos de raleio reduziram a produtividade por planta. O manejo da carga de frutos na prática de raleio cultural, adaptando o número de frutos de acordo com o tamanho da planta, é o fator mais importante que os produtores podem influenciar. O raleio reduz a carga de frutos na planta, o que permite aos frutos remanescentes a possibilidade de maior crescimento e ganho de calibre. A combinação de MM + BA é eficiente no afinamento de frutos de maçã, especialmente quando aplicado no início do desenvolvimento da fruta (5-10 mm de diâmetro). A aplicação de diluentes químicos, como MM e BA, pode influenciar os estágios iniciais do desenvolvimento dos frutos.

Palavras-chave: Histologia. Capacidade produtiva. Densidade celular.

5.1 INTRODUCTION

In Brazil, the main cultivars produced belong to the groups Gala, Fuji and their colorful clones (PETRI et al, 2011), whose plantations are located and restricted to regions with the highest winter cold.

The apple is included as the second most produced fruit in the world, whose production was estimated at 83.1 million tons, being surpassed only by the banana. Worldwide, China has a prominent position in production, reaching 49.8% of the total production, with around 41.4 million tons. According to Faostat (2019), in Brazil production in 2017 was around 1.3 million tons. The states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul account for 96% of the Brazilian production of apples. Where the apple tree culture involves more than 2,300 Brazilian producers, being 1,627 in Santa

Catarina, 700 in Rio Grande do Sul, and 100 in Paraná (DAL'SANT, 2013). The outflow of apple production is divided by internal natura consumption, representing 67.6%, external raw consumption only 7% of the total commercialized, and industrialization represents 25.4% of this total (FERNANDES, 2018).

In apple trees, the fruit thinning practice is necessary to balance vegetation / production, maintain regular production, avoid alternating production and increase fruit size and quality, as well as fruit distribution into classes of higher commercial value (GREENE, 2013). Plant load adjustment presents the best results when carried out in the early stages of fruit development (VERJANS et al., 2018); however, the cost is high due to the great need of manual labor in a short period of time. In this way, chemical thinning is a cheaper alternative to producers when properly applied (ROSA et al., 2018).

The mode of action of the product can determine the chemical thinning efficiency (DECKERS; SCHOOFS; VERJANS, 2010). For example, MM is a photosynthesis inhibitor and its thinning effect is dose dependent (MCARTNEY; OBERMILLER, 2012; GABARDO, et al., 2017; MATHIEU, et al., 2016) and apple cultivars respond differently to the product (CLEVER, 2018); thus, dose adjustment and application time should be specific for each cultivar. In addition, it should be considered that the MM efficacy as thinner can be variable in different years and within the same year (BAYERS, 2012), and due to environmental conditions such as low luminosity and mainly increase in night temperature after application, fruit fall may be intensified (BOTTON, et al., 2010).

Products with hormonal action, such as BA have the ability to stimulate fruit growth and vegetative activity, influence cell division, increasing competition for assimilates, reducing the energy available for fruit development, and reducing the rate of net CO₂ assimilation, which results in increased fruit fall (OUMA, 2012). Cytokinins increase fruit size in apple trees, even in the absence of thinning due to the promotion of cell division in apple tissues (MALLADI; HIRST, 2010).

The final fruit size is determined by the coordinated progression of cell division and cell expansion during fruit growth and development (CONG; BARRERO; TANKSLEY, 2018). The cell division and elongation period is limited by the expression of specific genes associated with the synthesis of enzymes involved in such physiological processes (CONG; BARRERO; TANKSLEY, 2018; KRIZEK, 2009). The genetic factor will determine the final fruit size, but can be influenced by the nutritional

state of plants, cultural treatments and environmental factors (KRIZEK, 2009). The possible anatomical and histological interferences caused in fruits by the application of chemical products for load adjustment are still little known.

The aim of the present study was to identify possible alterations in development, anatomy and quality of fruits from 'MaxiGala' and 'Fuji Suprema' apple trees treated with MM and BA alone or in combination, applied at different stages of fruit development in the Midwestern region of the state of Santa Catarina.

5.2 MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in an experimental orchard in the Midwestern region of Santa Catarina, in the municipality of Caçador (latitude 26°46 'S, longitude 51° W, altitude 960 meters), in the 2016/17 season. Apple trees of "Fuji Suprema" and "Maxi Gala" cultivars, with Marubakaido / M-9 rootstock and planting density of 2,500 ha⁻¹ plants were used, both conducted in the central-leader system.

The experiment was conducted in a randomized blocks experimental design consisting of 8 treatments with five replicates, the experimental unit consisting of one plant, totaling 80 plants, 40 plants per cultivar. Two products, Benziladenina (BA) (with hormonal action) and Metamitron (MM) (photosynthesis inhibitor) were applied individually or in a tank mix in post-flowering periods (in fruits of 5-10 mm and 15-20 mm in equatorial diameter), which were compared with plants with no thinning and manual thinning of both cultivars. Treatments were as follows: T1-Control (no thinning); T2-MM, T3-BA, T4-MM + BA (in fruits of 5-10 mm in diameter on October 14, 2016); T5-MM, T6-BA, T7-MM + BA, T8-manual thinning (in fruits of 15-20mm in diameter on October 28,2016). The phenological stage of F2 (FF) was observed on September 28, 2016 for both cultivars.

The concentrations adopted were: BA 80mg L⁻¹ for 'Fuji Suprema' and 40mg L⁻¹ for 'Maxi Gala'; MM 350mg L⁻¹ for both cultivars. Commercial product MaxCel® (2% BA) was used as source of 6-benzyladenine (BA), and as source of Metamitron, commercial product Goltix® 700 WG was used. Products were applied with a motorized costal spray (20L) with tip containing three fan-type D-S nozzles, with average flow rate of 1000 L Ha⁻¹. Manual thinning adopted the criterion of two fruits in twigs and one fruit in spur, and in the chemical thinning, no manual thinning complement was performed.

The variables evaluated were: fruit growth rate; production (kg plant^{-1} and fruits plant^{-1}); productive efficiency (kg cm^{-2} and fruits cm^{-2}); average fresh fruit mass (g); classification of fruits by size classes (%); fruit color (%); number of seeds per fruit; pulp firmness (lb inch^{-2}) and soluble solids ($^{\circ}$ Brix) according to Scolaro et al. (2015); density and cell area; and mineral content of fruits (SCHVEITZER; SUZUKI, 2013).

The fruit growth rate was determined by the weekly measurement of ten fruits per plant (duly identified). The equatorial measure of the fruits was taken with digital pachymeter, always in the same position (region of the fruit marked with permanent writing pen). The gain in diameter at each reading was divided by the number of days referring to the period between the readings.

For the anatomical analyses of fruits, two fruits per plant were collected during the cycle, only of terminal twig buds. After collection, samples were fixed in FAA solution (Formalin / acetic acid / ethyl alcohol 1: 1:8); fractionated and processed; included in historesin; submitted to microtomy, confection and staining of microscopy slides; capture and analysis of images in specific software.

Fruit collections were performed according to the following scheme:

- First collection: Fruits T1, T2, T3 and T4 (20 days after full flowering (DAFF) October 18, 2016 fruits with 5-10 mm in diameter (4 days after first application).
- Second collection: Fruits T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 and T8. (33 DAFF) October 31, 2016 fruits with 15-20 mm in diameter (3 days after second application).
- Third collection: Fruits T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 and T8. Harvest (149 DAFF 'Fuji Suprema'); (133 DAFF 'Maxi Gala').

Fruit growth rate was determined by the marking of five fruits per plant, only previously identified twig fruits, and the equatorial diameter of fruits was weekly measured with the aid of a pachymeter.

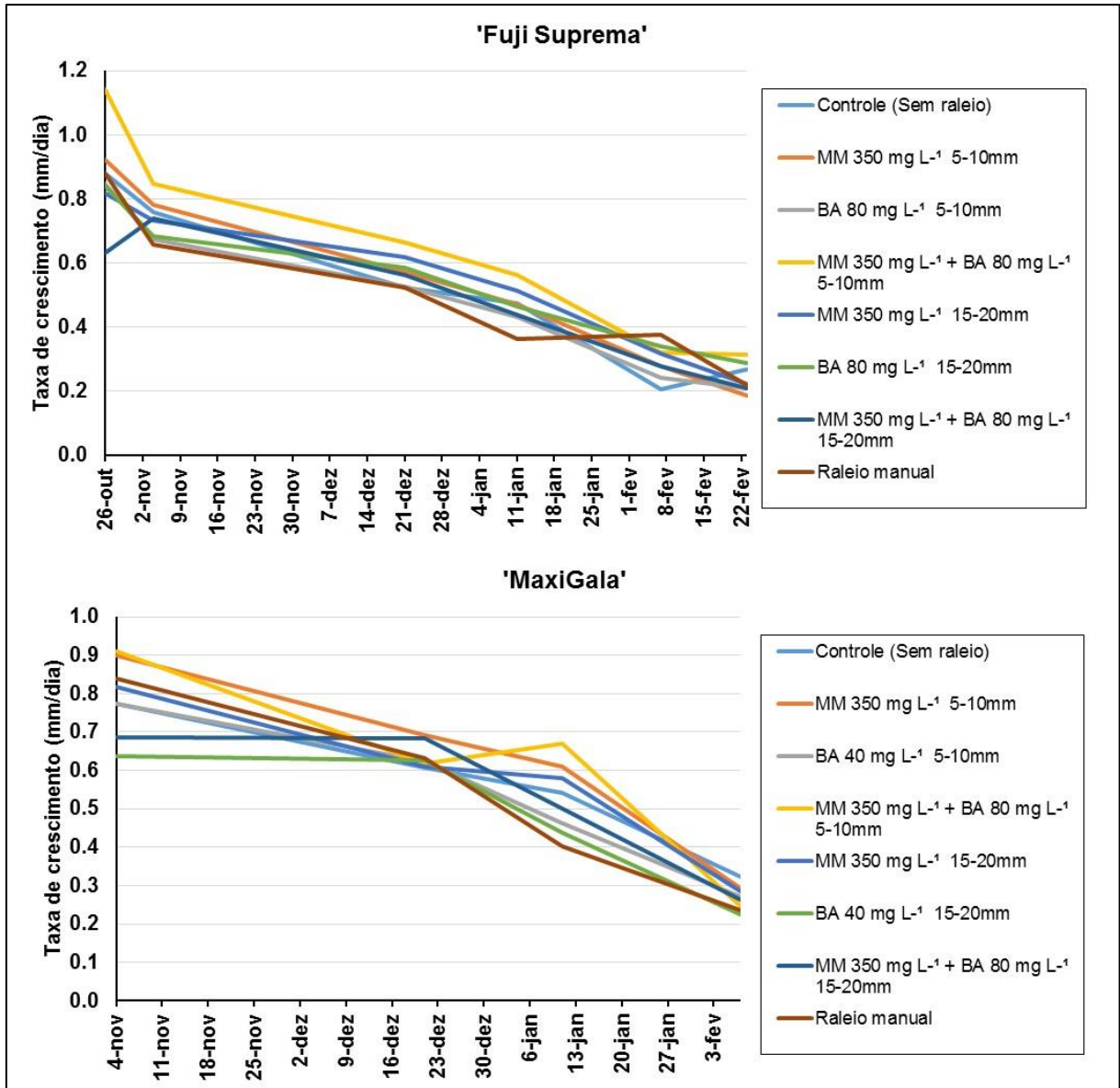
Statistical analysis of data was performed through analysis of variance, and variables whose results revealed significance ($P < 0.05$) were submitted to comparison of means by the Scott-Knott test at 5% probability. Statistical analyses were performed by the Sisvar software, version 5.6 (FERREIRA, 2010).

5.3 RESULTS AND DISCUSSION

The fruit growth rate (mm/day) was quite variable among cultivars, and the load adjustment treatments showed a certain influence on fruit development (Figure 11). In the 'Fuji Suprema' cultivar, ununiform fruit growth was observed among plants during

the cycle; however, MM 350 mg L⁻¹ + BA 80mg L⁻¹ (5-10mm) treatment showed fruits with the largest diameters at the time of harvest, while the other treatments did not differ from each other or from control (without thinning). For 'Maxi Gala' cultivar, the fruit growth rate was also quite variable among treatments during the evaluation period; however, at the time of harvest, it was observed that fruits from plants treated with MM 350 mg L⁻¹ (5-10 mm) showed greater diameter gain compared to the other treatments, which results were even higher than those observed in manual thinning treatment. This interference in fruit development was also observed by Rosa et al., (2018), who reported an increase in the growth rate of 'Royal Gala', 'Cripps Pink' and 'Red Delicious' fruits treated with MM 165 mg L⁻¹ at 8-12 mm in diameter, and the increase in final fruit size was higher than plants treated with BA 150 mg L⁻¹.

Figure 11 - Fruit growth rate (mm/day) of 'Fuji Suprema' and 'Maxi Gala' apple trees submitted to different load adjustment treatments. 2016/2017 agricultural years with BA and MM application, in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019



Source: Prepared by the author, 2019.

In 'Fuji Suprema' cultivar, except for control, MM 350 mg L⁻¹ (5-10mm) and BA 80mg L⁻¹ (5-10mm) treatments, significant production reduction was observed (kg plant⁻¹ and fruits plant⁻¹). Among treatments evaluated, the combination of MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm) provided the highest fruit mass (g fruit⁻¹), followed by MM 350mg L⁻¹ (5-10mm), MM 350mg L⁻¹ (15-20mm) and MM 350mg L⁻¹ + BA 80mg L⁻¹ (15-20mm) treatments. With the exception of BA 80mg L⁻¹ (5-10mm), all plants that

received load adjustment treatments were superior to control treatment (without thinning), that is, they showed fruit mass gain (Table 7).

Table 7 – Production and average fruit mass (AFM) of 'Fuji Suprema' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

Treatments	Production / plant		AFM (g)	Productive efficiency	
	kg	fruits		kg cm ²	fruits (cm ²)
T1-Control	20.5 a	161.0 a	127.0 d	1.33 a	10.41 a
T2-MM*	18.7 a	116.6 a	165.0 b	1.38 a	8.70 a
T3-BA*	23.6 a	175.2 a	134.1 d	1.88 a	13.96 a
T4-MM + BA*	12.5 b	63.0 b	197.9 a	0.82 b	4.15 b
T5-MM**	14.9 b	87.2 b	172.0 b	0.88 b	5.28 b
T6-BA**	11.1 b	74.6 b	147.5 c	0.66 b	4.46 b
T7-MM + BA**	9.9 b	62.8 b	160.4 b	0.57 b	3.62 b
T8-Manual thinning**	9.5 b	63.6 b	153.5 c	0.60 b	3.99 b
Mean	15.1	100.5	157.2	1.02	6.82
VC (%)	39.4	40.5	8.4	49.0	50.9

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: *Applied on fruits with 5 to 10mm diameter; **Applied on fruits with 15 to 20mm diameter. Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test (P=.05)

MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm); MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm); BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm); MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm) and manual thinning treatments reduced the productive efficiency of plants (kg cm⁻² and fruits cm⁻²), being efficient in adjusting fruit load. The fruit size was improved in some treatments (Table 8), especially MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm), which resulted in higher allocation of fruits into the greatest size category (<135) and significantly reduced the percentage of small fruits (> 180). Plants with no thinning, BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm), BA 80 mg L⁻¹ (15-20 mm) and manual thinning showed the highest percentages of small fruits and low percentage of large-sized fruits, when compared to other treatments. However, the percentage of fruits produced and allocated into the intermediate size category was similar in all treatments.

Table 8 – Fruit classification by size, ° Brix and pulp firmness, of 'Fuji Suprema' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

Treatments	Size			Brix°	Pulp firmness (Lb)
	>180	140-150	<135		
T1-Control	41.5 a	40.8 ^{ns}	17.7 c	7.5 b	17.2 ^{ns}
T2-MM*	13.5 c	35.9	50.7 b	6.5 b	16.6
T3-BA*	32.4 a	45.7	21.9 c	5.1 c	18.0
T4-MM + BA*	10.3 c	25.7	64.0 a	9.6 a	18.3
T5-MM**	17.4 b	37.2	45.4 b	9.4 a	17.1
T6-BA**	35.6 a	32.5	31.9 c	9.9 a	18.1
T7-MM + BA**	22.4 b	32.1	45.5 b	8.9 a	20.1
T8-Manual thinning**	29.8 a	32.4	37.8 b	10.9 a	17.9
Mean	25.4	35.3	39.3	8.5	17.9
VC (%)	16.7	15.2	19.8	16.4	8.0

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: *Applied on fruits with 5 to 10mm diameter; **Applied on fruits with 15 to 20mm diameter. Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test (P=.05)

The physicochemical characteristics of fruits were improved in MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm); MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm); BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm); MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (15-20 mm) and manual thinning treatments, in which the highest levels of soluble sugars (°Brix) were observed at the time of harvest compared to the other treatments. On the other hand, pulp firmness was not affected by treatments at the time of harvest (Table 08).

The visual characteristics of harvested fruits were improved in MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm); MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm); BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm); MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm) treatments, where significant reductions in the percentage of fruits with red coloration below 50% were observed, as well as increase of the percentage of colored fruits, that is, with more than 80% of colored epidermis (Table 9).

Table 9 - Red coloration of 'Fuji Suprema' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

Treatments	Red coloration of fruits (%)		
	<50	50-80	>80
T1-Control	37.6 a	48.3 ^{ns}	14.1 b
T2-MM*	25.7 a	48.4	25.9 b
T3-BA*	28.4 a	49.1	22.5 b
T4-MM + BA*	13.4 b	29.6	57.0 a
T5-MM**	20.3 b	33.1	46.7 a
T6-BA**	16.7 b	37.7	45.6 a
T7-MM + BA**	16.2 b	28.6	55.2 a
T8-Manual thinning**	16.6 b	36.4	47.0 a
Mean	21.9	38.9	39.2
VC (%)	25.5	30.6	27.4

Source: Prepared by the author, 2019.

Nota: *Applied on fruits with 5 to 10mm diameter; **Applied on fruits with 15 to 20mm diameter. Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test ($P=0.05$)

In 'MaxiGala' cultivar, all thinning treatments reduced the average number of fruits per plant in comparison to plants without thinning and, consequently, production per plant also suffered reduction. However, the average fruit mass did not change among treatments (Table 10). Rosa et al., (2018), emphasize the greater effectiveness to promote fruit fall of MM compared to 6-BA, when applied in fruits with diameter between 8 and 12 mm in 'Royal Gala', 'Cripps Pink' and 'Red Delicious' cultivars. It is important to point out that the studied harvest season, 2016/17, was a very atypical period, in which excessive natural fruit fall in 'Gala' apple trees was observed in most of producing regions, with the fall of fruits with diameter greater than 20 mm. There are many hypotheses to try to explain such phenomenon such as the nutritional status of plants and climatic factors. This excessive natural fall made it very difficult to implant and evaluate experiments with chemical thinners. Thinning treatments significantly reduced the productive efficiency (kg cm^{-2} and fruits cm^{-2}) of treated plants in comparison to plants without thinning, and in some cases promoting excessive thinning MM 350 mg L^{-1} (5-10 mm), MM 350 mg L^{-1} + BA 40 mg L^{-1} (5-10 mm) and (15-20 mm) treatments provided higher fruit distribution into higher size categories compared to the other treatments. No significant difference among treatments for pulp firmness was observed; however, the concentration of soluble sugars ($^{\circ}\text{Brix}$) was higher in plants that received some form of thinning in comparison to control plants (without thinning) (Table 10).

Table 10 - Production, average fruit mass-g (AFM) of 'MaxiGala' fruits submitted to different load adjustment treatments (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

Treatments	Production / plant		AFM (g)	Productive efficiency	
	kg	fruits		kg cm ²	fruits cm ²
T1-Control	9.7 a	58.8 a	165.7 ^{ns}	0.65 a	3.98 a
T2-MM*	1.8 c	8.4 c	212.0	0.12 c	0.59 c
T3-BA*	5.5 b	34.2 b	162.2	0.44 b	2.76 b
T4-MM + BA*	1.4 c	7.6 c	188.4	0.09 c	0.47 c
T5-MM**	3.5 c	15.8 c	246.8	0.19 c	0.84 c
T6-BA**	1.2 c	7.4 c	154.9	0.07 c	0.42 c
T7-MM + BA**	1.8 c	11.2 c	178.5	0.09 c	0.57 c
T8-Manual thinning**	1.5 c	9.6 c	153.6	0.11 c	0.72 c
Mean	3.3	19.1	182.8	0.22	1.29
VC (%)	51.9	56.6	33.1	66.6	71.1

Treatments	Size			Brix ^o	Pulp firmness (Lib)
	>180	140-150	<135		
T1-Control	10.2 ^{ns}	49.9 a	39.9 b	9.3 b	18.2 ^{ns}
T2-MM*	2.2	12.1 b	85.7 a	12.3 a	20.0
T3-BA*	13.8	47.1 a	39.1 b	12.4 a	19.4
T4-MM + BA*	5.5	18.0 b	76.6 a	13.3 a	19.1
T5-MM**	6.1	39.9 a	54.0 b	12.4 a	17.5
T6-BA**	11.8	43.6 a	44.6 b	12.5 a	18.8
T7-MM + BA**	3.5	29.5 b	67.0 a	12.1 a	18.2
T8-Manual thinning**	15.7	41.7 a	42.6 b	12.3 a	21.7
Mean	8.6	35.2	56.2	12.1	19.1
VC (%)	92.1	47.5	34.0	9.9	12.4

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: *Applied on fruits with 5 to 10mm diameter; **Applied on fruits with 15 to 20mm diameter. Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test (P=.05). ns: not significant (P>.05)

When analyzing fruit growth and development, significant reduction in the average fruit mass was observed in 'Fuji Suprema' cultivar at four days after application of treatments: MM 350 mg L⁻¹ (5-10mm); BA 80 mg L⁻¹ (5-10mm); and MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10mm); resulting from the initial action of thinners (Table 11). Fruits from the control treatment (without thinning) showed average fruit mass 0.27 g above fruits from treatments with chemical thinners, characterizing a direct interference of thinners on fruit development, a result that is in agreement with that reported by Gabardo et al. (2017), in which the use of Metamitron did not change fruit growth.

Table 11 – Average fruit mass (g) AFM, diameter (mm), height (mm) and height/diameter ratio (A/D), Average number of seeds (ANS) and cell area (μm^2), of apple fruits from different lead adjustment treatments, Fuji Suprema cultivar, at 24, 33 and 149 DAFF in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019

Treatments	AFM (g)	Diameter (mm)	Height (mm)	A/D	ANS	Cell area μm^2
24DAFF. Four days after the application of treatments						
T1-Control	0.88 a	10.38 ^{ns}	12.9 a	1.24 ^{ns}	5.67 a	24924.52 a
T2-MM*	0.68 b	8.99	10.7 b	1.19	3.50 b	24789.19 a
T3-BA*	0.58 b	9.33	11.7 a	1.26	6.17 a	17522.78 b
T4-MM + BA*	0.57 b	8.65	10.4 b	1.20	3.50 b	21771.40 a
Mean	0.7	9.3	11.4	1.2	4.7	22251.9
VC (%)	24.0	11.9	12.6	7.2	30.8	18.4
33 DAFF. Three days after the application of treatments in 15-20mm fruits						
T1-Control	4.02 ^{ns}	18.69 ^{ns}	20.10 ^{ns}	1.08a	4.79 ^{ns}	-
T2-MM*	4.42	19.42	21.30	1.10a	4.00	61028.78 b
T3-BA*	3.85	19.05	19.81	1.04b	5.67	65315.36 a
T4-MM + BA*	4.05	18.77	21.79	1.16a	4.33	56089.02 b
T5-MM**	3.78	18.41	20.29	1.10a	5.33	57960.28 b
T6-BA**	3.80	18.01	19.31	1.07a	3.67	68749.34 a
T7-MM + BA**	4.12	19.35	19.89	1.03b	6.00	62538.70 b
T8-Manual thinning**	4.37	19.01	20.90	1.10a	4.17	73403.19 a
Mean	4.05	18.8	20.4	1.1	4.7	63583.5
VC (%)	14.9	9.6	20.4	5.9	33.9	14.2
149 DAFF. Fruit harvest						
T1-Control	176.2 b	73.8 b	64.95 b	0.88 ^{ns}	5.8 ^{ns}	130231.7 ^{ns}
T2-MM*	217.9 b	77.9 b	67.43 b	0.87	4.83	139670.6
T3-BA*	215.3 b	79.3 b	68.22 b	0.86	7.17	147628.4
T4-MM + BA*	254.67 a	81.9 a	75.75 a	0.93	4.00	143414.9
T5-MM**	255.2 a	83.5 a	75.21 a	0.90	3.83	156436.5
T6-BA**	232.9a	82.3 a	69.46 b	0.85	3.67	149956.6
T7-MM + BA**	222.9 b	82.3 a	67.05 b	0.81	4.33	159987.4
T8-Manual thinning**	198.6 b	79.3 b	65.21 b	0.82	5.83	150590.5
Mean	221.7	80.0	69.16	0.87	4.94	147239.6
VC (%)	14.0	5.3	7.2	7.3	41.9	11.8

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: *Applied on fruits with 5 to 10mm diameter; **Applied on fruits with 15 to 20mm diameter. Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test ($P=0.05$). ns: not significant ($P>0.05$)

Fruit height variable shows that the initial action of isolated BA used in fruit of 5-10 mm did not significantly alter fruit morphology in comparison to untreated plants (without thinning). However, significant reduction in the mean height of fruits treated with MM was observed, alone or in association with BA (Table 11). However, there was no expressiveness for the A / D ratio, which indicates that the fruit shape was not affected by treatments.

Differences were observed in the average number of seeds, cell area and number of cells per section (Table 11). In fruits from BA treatment, due to the cell division action of the product, an inverse relationship between cell area and cell density was observed. This difference, for this cultivar, also relates the number of cells per

section with the average number of seeds, which shows that the initial action of BA altered the morphological characteristic of fruits. Carminatti (2016), obtained results similar to those of this work; however, the effect of the product varied according to the application period, and at 17 days after petal fall (DAPF) the effect was less expressive.

At 33 DAPF, three days after the application of treatments in fruits of 15-20 mm and thirteen days after the application of treatments in fruits of 5-10 mm in diameter, no difference was observed for the following variables: average fruit mass and fruit diameter and height. However, the A / D ratio presented alterations in BA 80 mg L⁻¹ (5-10mm) and MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm) treatments, with reduction in values compared to the other treatments, which characterizes the production of flattened fruits, an undesired characteristic for the consumer market.

For variables average number of seeds, cell density and number of cells per section, no difference was observed; however, it was observed that, for cell area, manual thinning and treatments with BA applied alone, showed cell size increase (Table 11), an effect described by Byers (2002) as a stimulant in cell division, resulting from cytokinin mimicking.

The analysis of fruits collected at the time of harvest presented changes for average mass, in which MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10mm); MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm); BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm) treatments produced fruits with the and testing two MM doses (350 and 700mg L⁻¹) applied isolated or in combination with BA (0.8mg L⁻¹), observed higher allocation of fruits in the highest size categories and significant reduction of small size fruits (less than 100g). For fruit diameter, an increase in MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10mm); MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm); BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm); MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (15-20mm) treatments was observed. For height, an increase in MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm); MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm) treatments was observed. However, it did not present for A / D ratio, sustaining the shape of the fruits. The evaluations of the anatomical characteristics of fruits at the time of harvest did not show any alteration in cell size (average cell area - μm²) and cell density (number of cells - cell mm²) among treatments, although the average mass of sampled fruits for the cell count was higher in MM 350 mg L⁻¹ (5-10 mm), MM 350 mg L⁻¹ + BA 40 mg L⁻¹ (5-10 mm), and MM 350 mg L⁻¹ (15-20mm) treatments. Fruit shape did not change among treatments, and no significant difference in the number of seeds per fruit was observed, which may influence fruit development (receptacle).

In the 'MaxiGala' cultivar, when analyzing fruits collected four days after the application of treatments in the 5-10 mm phase, it was observed that plants treated

with MM suffered a reduction in the average fruit mass. Basak (2011) obtained satisfactory results in their experiment with the use of MM in single and repeated applications, both at concentration of 350 mg L⁻¹, in which the final fruit diameter was elevated with MM, while those treated with BA presented higher average fruit mass. For fruit diameter and height, treatments with MM were inferior to treatment with BA and Control (No thinning) (Table 12). Petri et al. (2016), reported that the use of BA or MM alone provided fruits with lower mass in relation to their combined use.

Table 12 – Average fruit mass (g) AFM, diameter (mm), height (mm) and height/diameter ratio (A/D), Average number of seeds (ANS), cell area (µm²) and Average number of cells per fruit section area (ANCFSA) of apple fruits from different lead adjustment treatments, MaxiGala cultivar, fruit diameter of 5-10 mm in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

Treatments	AFM	Diameter (mm)	Height (mm)	A/D	ANS	Cell area µm ²	ANCFSA
24 DAF. Four days after the application of treatments							
T1-Control	0.32 b	6.59 a	7.22 a	1.11 ^{ns}	4.0 b	16837.3 b	2042.8 ^{ns}
T2-MM*	0.22 c	5.27 b	5.58 b	1.06	4.8 b	13477.0 c	1653.4
T3-BA*	0.45 a	7.75 a	8.29 a	1.07	6.7 a	20906.4 a	2307.1
T4-MM + BA*	0.18 c	5.46 b	6.09 b	1.12	6.0 a	14855.1 c	1611.5
Mean	0.29	6.27	6.79	1.09	5.4	16518.9	1903.7
VC (%)	16.9	16.2	13.8	6.1	27.5	12.2	27.7
133 DAFF. Fruit harvest							
T1-Control	167.1 b	72.2 ^{ns}	65.1 ^{ns}	0.90 ^{ns}	6.5 ^{ns}	108346.8 ^{ns}	39942.9 ^{ns}
T2-MM*	201.0 a	73.6	69.2	0.94	7.5	106094.5	42395.9
T3-BA*	180.6 b	72.9	65.6	0.90	6.7	111793.5	39047.7
T4-MM + BA*	194.5 a	74.5	69.9	0.94	8.0	113821.1	39915.1
T5-MM**	184.6 a	74.3	69.4	0.93	6.7	119946.0	41265.7
T6-BA**	174.2 b	73.3	66.7	0.91	6.8	112446.1	39796.1
T7-MM + BA**	173.7 b	71.2	65.9	0.93	7.8	109986.9	38787.2
T8-Manual thinning**	162.3 b	70.2	61.9	0.88	7.0	110064.0	37400.9
Mean	179.7	72.8	66.7	0.92	7.1	111562.4	39818.9
CV (%)	11.4	3.5	6.6	6.7	27.5	10.4	11.9

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: *Applied on fruits with 5 to 10mm diameter; **Applied on fruits with 15 to 20mm diameter. Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test (P=.05). ns: not significant (P>.05).

Treatment with isolated BA increased cell area in comparison to the other treatments; in turn, treatments that included MM did not differ and were inferior to control (without thinning). At cell density level, BA showed the lowest values in cells per mm² and treatment with isolated MM provided the highest cell density. When comparing the cell density and area results, as well as the average number of cells per section, it was observed that cell development is not exclusively influenced by the number of seeds, since there was a variation in the average number of seeds among fruits from different treatments, and the highest cell density is not directly related to the high number of seeds (Table 12).

Analyzing fruits at the time of harvest, it was observed that only 350 mg L⁻¹ (5-10 mm); MM 350 mg L⁻¹ + BA 40 mg L⁻¹ (5-10mm); and MM 350 mg L⁻¹ (15-20 mm) treatments influenced the average fruit mass, increasing it in relation to the other treatments. However, this may be related to the higher allocation of fruits into higher size categories, such as the case of MM 350 mg L⁻¹ + BA 40 mg L⁻¹ (5-10 mm) treatment, which generally showed significant reduction of the number of fruits per plant and consequently higher average fruit mass. McArtney and Obermiller (2012) found similar results when using MM concentration of 350 mg L⁻¹ and observed the product efficiency as thinner, as well as the better distribution of fruits into categories of greater commercial value.

There was an increase in the average fruit mass as a function of MM treatment, but BA use did not show superiority in relation to Control (without thinning). These results are not in agreement with those found in the study by Cline, Bakker; Gunter (2018), in which the use of BA as thinner was efficient, generating an increase in fruit size, and results still contradict the hypothesis developed by the authors, since Table 11 shows that there was no significant change in size or number of cells as a function of treatments.

In Table 13, it is possible to observe variation in the mineral contents present in fruits as a function of the applied treatment and, consequently, the relationships among these minerals also changed. Ca is an essential nutrient for the post-harvest maintenance of fruits, and in 'Fuji Suprema' fruits, Ca had increased concentration in MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (10-15 mm) and manual thinning treatments in comparison to the other treatments. In 'Maxi Gala' cultivar, the highest Ca concentrations were observed in BA 40 mg L⁻¹ and MM 350 mg L⁻¹ + BA 40 mg L⁻¹ (5-10 mm) treatments. K was very influenced by thinning treatments, with high variation in contents found in both cultivars. Higher nitrogen (N) concentrations were observed in fruits from plants without treatment and plants treated with MM 350 mg L⁻¹ (5mm); BA 40 mg L⁻¹ (5-10mm); and MM 350 mg L⁻¹ + BA 40 mg L⁻¹ (5-10mm). All thinning treatments reduced P content in fruit pulp compared to untreated plants of 'Maxi Gala' cultivar, but in 'Fuji Suprema' cultivar, P concentration was higher in MM 350 mg L⁻¹ and MM 350 mg L⁻¹ + BA 80 mg L⁻¹ (5-10 mm) treatments, while the Mg contents were higher in 350 mg L⁻¹ (10-15 mm), MM 350 mg L⁻¹ + BA 40 mg L⁻¹ (10-15mm) and manual thinning (10-15mm) treatments. In 'Maxi Gala' cultivar, the N/ Ca ratio was higher in fruits harvested from control plants (No thinning) and in MM 350 mg L⁻¹ (5 mm) treatment. The other nutritional ratios (K/Ca and K + Mg/Ca) showed great variation among treatments in both cultivars.

Table 13 – Mineral contents and nutritional ratios of 'Fuji Suprema' and 'MaxiGala' apple trees submitted to different load adjustment treatments (thinning) in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

Treatments	Mineral contents (mg/Kg)					Nutritional ratios		
	N	P	K	Ca	Mg	N/Ca	K/Ca	K+Mg/Ca
'Fuji Suprema'								
T1-Control	371.0 a	162.7 b	961.7 c	38.7 c	53.0 b	9.7 a	24.7 b	26.3 b
T2-MM*	363.7 a	198.7 a	935.7 c	36.0 c	49.7 b	10.0 a	26.0 b	27.3 b
T3-BA*	291.0 c	169.0 b	1056.0 b	43.7 b	58.3 a	6.3 d	24.3 b	25.7 b
T4-MM + BA*	312.3 b	186.7 a	1093.0 b	44.7 b	54.3 b	7.0 c	24.3 b	25.7 b
T5-MM**	312.3 b	161.7 b	1349.3 a	41.7 b	60.3 a	7.7 b	32.7 a	34.3 a
T6-BA**	298.0 c	165.7 b	1194.3 b	43.7 b	49.7 b	7.0 c	28.3 a	29.3 b
T7-MM + BA**	265.3 d	159.7 b	1466.3 a	47.3 a	52.3 b	5.7 e	31.0 a	32.0 a
T8-Manual thinning**	295.3 c	136.3 c	1456.7 a	48.3 a	61.0 a	5.7 e	30.0 a	31.3 a
Mean	313.6	167.5	1189.1	43.0	54.8	7.4	27.7	29.0
VC (%)	3.9	9.0	9.5	6.7	6.2	6.6	11.0	10.3
'MaxiGala'								
T1-Control	344.0 a	387.7 a	1241.7 b	43.7 b	56.0 b	8.0 a	28.7 a	29.7 a
T2-MM*	379.3 a	321.0 b	965.0 d	43.7 b	51.0 b	9.0 a	22.3 b	23.3 b
T3-BA*	336.0 a	245.0 c	953.3 d	49.0 a	51.7 b	7.0 b	19.3 c	20.3 c
T4-MM + BA*	353.7 a	299.3 b	1114.3 c	52.7 a	56.7 b	6.7 b	21.3 c	22.3 c
T5-MM**	310.3 b	213.3 d	1231.0 b	44.0 b	70.7 a	7.0 b	28.0 a	29.7 a
T6-BA**	283.7 b	236.0 c	1036.7 c	44.0 b	61.3 b	6.3 b	24.3 b	25.3 b
T7-MM + BA**	316.0 b	263.3 c	1399.3 a	45.7 b	70.3 a	6.7 b	30.3 a	31.7 a
T8-Manual thinning**	312.7 b	330.7 b	1203.0 c	44.7 b	70.7 a	7.0 b	26.7 a	28.7 a
Mean	329.5	287.0	1143.0	45.9	61.0	7.2	25.1	26.4
CV (%)	8.8	8.2	7.9	6.3	12.0	11.7	9.6	9.0

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: *Applied on fruits with 5 to 10mm diameter; **Applied on fruits with 15 to 20mm diameter. Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test ($P=0.05$). ns: not significant ($P>0.05$).

All load adjusting treatments promoted improvements in fruit quality, especially in relation to size gain without changes in fruit shape, which justifies the use of this tool. According to Argenta et al., (2015), apples are classified according to external characteristics, among them formation defects. Therefore, for better sector profitability, fruits classified into better categories are desired, so, the non-alteration of the natural fruit shape through the use of the product is a desirable situation.

Petri et al. (2013), reported that BA has thinning effect on post-flowering 'Fuji Suprema' apple trees, obtaining results similar to manual thinning without the need for manual application after chemical thinning. In this study, higher average fruit mass, diameter and height results were observed in treatments in which the use of BA was associated with MM in fruits of 5-10 mm. Cytokinins, such as BA-Benzyladenine, have the ability to stimulate fruit growth and vegetative activity, influencing cell division, increasing competition for assimilates, reducing the energy available for fruit development, reducing the net CO₂ assimilation rate, resulting in increased fruit drop

(OUMA, 2012). Cytokinins increase fruit size, even in the absence of thinning, due to the promotion of cell division in apple tissues (MALLADI; HIRST, 2010).

The best benefits of fruit thinning are related to the time of its application, and the earlier it is performed, the better the results (HIRST, 2013). MM has stronger activity with applications in fruits with diameter between 10 and 13 mm (CLEVER, 2018), losing the thinning potential in fruits with diameter greater than 25 mm (MATHIEU, et al., 2016).

According to Harada et al. (2005), in the first 35 to 50 days after fertilization, there is intense cell division in fruits formed. After this period, fruit growth becomes practically linear due to cellular expansion; first characterized by cell vacuolization, then by the rapid increase in the size of individual cells, and finally by the rapid development of intercellular spaces. Later fruit growth stages are largely associated with cell expansion. Differences in fruit size at harvest are results of the difference in the number of cells and not in cell size (GABARDO et al., 2017).

In the present study, it was found that the combination of increased cell division capacity and higher degree of cell growth are involved in the increase in fruit size, which is determined by the genetic load of each cultivar (HARADA et al., 2005).

5.4 CONCLUSION

The cultural thinning practice to manage fruit load, balancing the number of fruits according to plant size is the most important factor that producers can influence, because thinning reduces fruit load in the plant, which allows the remaining fruits the possibility of greater growth and size gain.

The combination of MM + BA is efficient in the thinning of apple fruits, especially when applied at the beginning of fruit development (5-10 mm in diameter).

The application of chemical thinners, such as MM and BA, may influence fruit development.

The application of chemical thinners reduces the labor force for this practice in apple trees.

6. DIFFERENT SOURCES AND CONCENTRATIONS OF 6-BA IN CHEMICAL THINNING OF POST-FLOWERING IN APPLE TREE⁴

Gentil Carneiro Gabardo^a, José Luiz Petri^b, Aike Anneliese Kretschmar^a, Mariuccia Schlichting De Martin^b, André Amarildo Sezerino^b e Willian Coser^c

^a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, Brasil.

^b Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Caçador, SC, Brasil.

^c Universidade Alto Vale do Rio do Peixe (Uniarp), Caçador, SC, Brasil.

Abstract - The aim of this work was to evaluate the efficiency of sources and dosages of 6-benzyladenine in the chemical thinning of the apple tree 'Fuji Suprema', as well as possible histological changes in the fruits produced, in the Midwestern region of the state of Santa Catarina. The experiment was arranged in a randomized block design and replicated six replications. The experiment was carried out in the municipality of Caçador, Brazil (latitude 26°46' S, longitude 51° W, altitude 960 meters), during the growing season of 2016/2017. Two commercial products based on 6-BA (Benzyladenine), Exilis[®] and Maxcel[®], both with 2% BA in their composition, were tested and applied individually in post-flowering period (in fruits of 5-10 mm), which were compared with plants with no thinning and manual thinning. Treatments were as follows: Control (no thinning); manual thinning; Exilis[®] (1.5, 3.0, 4.5 and 6.0 L ha⁻¹) and Maxcel[®] 4.5 L ha⁻¹), using a spray volume equivalent to 1000 L ha⁻¹. The fruit set and the number of fruit per cm² branch, was reduced in treated plants, regardless of the concentration of BA or formulation used. The productivity ranged from 38 to 56.5 t ha⁻¹ in the treatments of Exilis[®], 60.5 t ha⁻¹ in manual scaling and 24.5 t ha⁻¹ in the Maxcel[®] 4.5 L ha⁻¹, characterizing excessive thinning. BA is efficient in fruit thinning in 'Fuji Suprema' apple trees, being the reduction of fruiting, and increase of fruit size, proportional to the applied concentration. There may be differentiated efficiency of the product by its formulation, even though they have concentrations of active ingredient equivalent. Exilis[®] was efficient in thinning of apple 'Fuji Suprema', when applied to fruit 5 to 10 mm in diameter reduced the need for manual thinning, without causing toxicity. BA can promote the increase in the cell density of fruits produced in proportion to the applied concentration.

Keywords: Histology. Productive capacity. Cellular density.

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de fontes e dosagens de 6-benziladenina no raleio químico da macieira 'Fuji Suprema', bem como possíveis alterações histológicas nos frutos produzidos, na região Centro-Oeste do Estado. estado de Santa Catarina. O experimento foi organizado em delineamento de blocos casualizados e replicados em seis repetições. O experimento foi conduzido no

⁴ Artigo publicado no Journal of Experimental Agriculture International: Gabardo, G., Petri, J., Kretschmar, A., de Martin, M., Sezerino, A., & Coser, W. Different Sources and Concentrations of 6-BA in Chemical Thinning of Post-flowering in Apple Trees. **Journal of Experimental Agriculture International**, v.32, n.6, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.9734/jeai/2019/v32i630121>

município de Caçador (latitude 26°46 'S, longitude 51° W, altitude 960 metros), durante a safra de 2016/2017. Dois produtos comerciais à base de 6-BA (Benziladenina), Exilis® e Maxcel®, ambos com 2% de BA em sua composição, foram testados e aplicados individualmente no período pós-floração (em frutos de 5-10 mm), que foram comparados com plantas sem desbaste e desbaste manual. Os tratamentos foram os seguintes: Controle (sem desbaste); desbaste manual; Exilis® (1,5, 3,0, 4,5 e 6,0 L ha⁻¹) e Maxcel® 4,5 L ha⁻¹), utilizando um volume de calda equivalente a 1000 L ha⁻¹. O conjunto de frutos e o número de frutos por cm² de ramo foram reduzidos nas plantas tratadas, independentemente da concentração de BA ou formulação utilizada. A produtividade variou de 38 a 56,5 t ha⁻¹ nos tratamentos Exilis®, 60,5 t ha⁻¹ no raleio manual e 24,5 t ha⁻¹ na Maxcel® 4,5 L ha⁻¹, caracterizando desbaste excessivo. A BA é eficiente no afinamento de frutos em macieiras 'Fuji Suprema', sendo a redução da frutificação e o aumento do tamanho do fruto, proporcional à concentração aplicada. Pode haver eficiência diferenciada do produto por sua formulação, mesmo que tenham concentrações de ingrediente ativo equivalente. O Exilis® foi eficiente no afinamento da maçã 'Fuji Suprema', quando aplicado em frutos de 5 a 10 mm de diâmetro reduziu a necessidade de desbaste manual, sem causar toxicidade. A BA pode promover o aumento da densidade celular de frutos produzidos proporcionalmente à concentração aplicada.

Palavras-chave: Histologia. Capacidade produtiva. Densidade celular.

6.1 INTRODUCTION

Fruit plants, such as apple trees, generally produce more flowers than are necessary for a commercial crop. In years with abundant flowering and favorable environmental conditions for pollination, fruit set can be excessive, so that there is excess fruit on the plant, making it difficult to obtain large fruits and consequently of high commercial value. If all the flowers are fertilized and develop, the plant may lack photosynthetic resources or structural integrity for adequate fruit ripening (GREENE; COSTA, 2013). In these conditions, thinning is a necessary and indispensable practice to obtain fruits of better quality (higher caliber and uniform color) and greater market value, as well as to avoid the alternation of production (COSTA et al., 2013; PETRI et al., 2017; FERNANDES, 2018).

The use of chemical products aimed at fruit thinning is a technique consolidated in the apple tree culture, mainly due to the practicality of application, as it allows an adequate adjustment of the fruit load when applied correctly and at the right moment of the development (stage) of the fruits (VERJANS et al., 2018). As the time of application of the chemical thinners, the formulation, the mode of action of these products, as well as the worked cultivar can determine the efficacy of chemical thinning (MATHIEU et al., 2016, ROSA et al., 2018, BARRETO et al., 2018).

Among the chemical thinners for the culture of the apple tree, stand out: ANA Acetic Naphthalene Acetic (ANA), carbaryl, ethephon, metamitron and Benzyladenine (BA). The results of the application of BA in the thinning can vary, according to the concentration, temperature, humidity, luminosity, volume of syrup applied and stage of fruit development in moment of application (PETRI et al. 2013, GREENE; CROVETTI; PIENAAR, 2016, CLEVER, 2018). The knowledge of temperature and light in the three to four days after the application of chemical thinners has made the thinning process more predictable and reliable (BYERS, 2002).

BA is a compound of the cytokinins group, which has the ability to stimulate fruit growth and vegetative activity, influences cell division, thus increasing competition for assimilates, reducing the energy available for fruit development, reducing the rate of net CO₂ assimilation, which results in an increased fruit fall (BOTTON et al., 2011).

Cytokinins increase fruit size in apples, even in the absence of thinning, due to the promotion of cell division in apple tissue (OUMA, 2012, GREENE; CROVETTI; PIENAAR, 2016). According to Yuan and Greene (2000), BA is considered a good product because it has low toxicological profile and imitates the biological action of the cytokinin that is synthesized in plants.

The final size of the fruits is associated with the density and size of the cells present in the fruit, and these factors are determined by the genetic expression, which delimits the duration of the phases of cell division and elongation during fruit growth and development (MALLADI; HIRST, 2010, BOGRE et al., 2008, CONG; BARREDO; TANKSLEY, 2008). The genetic factor will predetermine the final size of the fruits, but may be influenced by the nutritional state of the plants, cultural traits and environmental factors (KRIZEK, 2009).

Advances in the understanding of the physiological responses of plants and factors involved in the development of fruits, aim to improve technologies for adjusting loads to acceptable levels, with less dependence on manual thinning (CLINE; BAKKER; GUNTER, 2018). Information about possible anatomical and histological interferences caused in fruits by the application of chemicals for load adjustment, or even manual thinning, is still limited. The objective of the present study was to evaluate the efficiency of sources and dosages of 6-BA in the chemical thinning of 'Fuji Suprema' apple tree in the Midwest region of the state of Santa Catarina, as well as possible histological changes in the fruits produced.

6.2 MATERIALS AND METHODS

The study was conducted in an experimental orchard in the Midwestern region of Santa Catarina, in the municipality of Caçador (latitude 26°46 'S, longitude 51° W, altitude 960 meters), in the 2016/17 season. Apple trees of “Fuji Suprema” cultivar, with Marubakaido / M-9 rootstock and planting density of 2.500 plants ha⁻¹ were used.

The 'Fuji Suprema' apple tree is a mutation of the 'Fuji' group, with high effective fruiting and fixation of 3 to 5 fruits per inflorescence. It is managed plants in the central leader in driving system, according to the recommendations of the apple production system (SEZERINO, 2018), and management practices in the integrated system of apple production (SANHUEZA; PROTAS; FREIRE; 2006).

The experimental design was randomized blocks with seven treatments and six replicates. The treatments were: Control (No thinning); MT - Manual thinning; Exilis® (1.5, 3.0, 4.5 and 6.0 L ha⁻¹, values equivalent to the concentrations of BA 30, 60, 90 and 120 mg L⁻¹) and Maxcel® 4.5 L ha⁻¹ (BA 90 mg L⁻¹). The products used were: Exilis® SL (20g / L 6-BA), toxicological class I; Maxcel® SC (20 g / L 6-BA)) toxicological class II. The treatment of manual scaling was performed using scissors, following the criterion of two fruits in terminal buds of brindila (long branches) and one fruit in spur, according to CP - productive capacity of the plants, 5 to 6 fruits per cm² of trunk section area (SEZERINO, 2018). The application of the treatments with chemical thinners was performed with a motorized costal spray, containing a tip with three D-S spray nozzles, using a volume of syrup equivalent to 1000 L ha⁻¹, up to the point of dripping.

The application of the treatments was performed on October 13, 2016, eighteen days after PF - full bloom, which occurred on September 25, 2016, when fruits were with an equatorial diameter between 5 and 10 mm. In the first days after the application of the treatments a significant increase in the maximum, minimum and average temperatures, and precipitation of 4.8mm was registered in the first day after the application (Table 14). The fruits were harvested at 166 days after PF, on March 10, 2017.

Table 14 – Meteorological data observed three days before and three days after the application of the different treatments for load adjustment (thinning). Caçador, SC, Brazil, 2019.

Date	Temperature (°C)			Precipitation (mm)
	Maximum	Mmimum	Averege	
1) 10/10/16	23.4	6.8	15.2	19.9
2) 11/10/16	18.6	11.2	13.8	13.2
3) 12/10/16	18.6	11.0	14.9	0.0
4) 13/10/16	22.4	13.2	17.0	0.0
5) 14/10/16	26.0	11.0	18.2	4.8
6) 15/10/16	22.0	16.5	19.1	0.0
7) 16/10/16	31.2	16.4	23.4	0.0

Source: Prepared by the author, 2019.

The variables evaluated were: The fruit set (%), determined in two branches per plant, was evaluated in the number of flower bunches during the PF and the number of fruits, 30 days after. In these same branches were counted the number of floral clusters with fruits, resulting in percentage of floral clusters with fruits, and number of fruits per inflorescence. At harvest (March 13, 2017): production (kg plant⁻¹ and fruits plant⁻¹); productive efficiency (kg cm⁻² and fruits cm⁻²); average fresh fruit mass (g); classification of fruits by size classes (%); number of seeds per fruit; pulp firmness (lbfol⁻²) and soluble solids (° Brix) according to Scolaro et al. (2015).

For the anatomical analyses of fruits, two fruits per plant were collected during the cycle, only of terminal twig buds. After collection, samples were fixed in FAA solution (Formalin / acetic acid / ethyl alcohol 1: 1: 8); fractionated and processed; included in historesin; submitted to microtomy, confection and staining of microscopy slides; capture and analysis of images in specific software (ToupView®).

Statistical analysis of data was performed through analysis of variance, and variables whose results revealed significance ($p < 0.05$) were submitted to comparison of means by the Scott-Knott test and, or regression analysis at 5% probability. Statistical analyses were performed by the Sisvar software, version 5.6 (FERREIRA, 2010).

6.3 RESULTS AND DISCUSSION

When the effective fruiting and the number of fruits per cm⁻² branch were observed, after the application of the treatments with chemical thinners, a significant reduction of these parameters in the treated plants was observed, independently of the concentration or formulation of BA used (Table 15). The mean number of fruits per inflorescence did not present significant differences.

Table 15 – Fruit set (%), mean number of fruits per inflorescence and number of fruits per cm² of branch cross section, Fuji Suprema cultivar, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019

Treatments	Fruit set (%)	n° fruits cm ⁻² branch	Fruits per inflorescence
Control (no thinning)	109.0 a	6.9 a	2.5 ^{ns}
Manual thinning	119.9 a	6.2 a	2.2
Exilis® 1.5 L ha ⁻¹	59.5 b	2.9 b	1.8
Exilis® 3.0 L ha ⁻¹	58.3 b	3.3 b	1.8
Exilis® 4.5 L ha ⁻¹	76.0 b	3.7 b	2.0
Exilis® 6.0 L ha ⁻¹	66.6 b	2.6 b	1.7
Maxcel® 4.5 L ha ⁻¹	25.9 b	1.4 b	1.2
Average	73.6	3.9	1.9
VC (%)	33.7	39.3	32.4

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test ($P=0.05$). ns: not significant ($P>0.05$).

This situation can be alarming, because in some cases, when considering the CP-productive capacity of apple trees, which according to Sezerino (2018) would be around five fruits per cm², the reduction in fruiting caused by the thinners in the crop studied, may have been very severe, leading to a large reduction in orchard productivity. Considering a stand of 2,500 plants ha⁻¹, the treatments of Exilis® presented a productivity ranging from 38 to 56.5 t ha⁻¹, with manual thinning of 60.5 t ha⁻¹ and Maxcel® treatment 4.5 L ha⁻¹ of 24.5 t ha⁻¹, which is much below the production capacity, showing excessive thinning. In addition to the applied concentration, the time and the residual period of the product can help in the understanding and justify the results observed here. According to Ambrožič Turk and Stopar (2010), BA can be active as a raleante in a broader period of phenological phases, from the end of flowering to fruits with 20 mm in diameter, not only in fruit between 10 mm, indicated by many reports, and the persistence of the raleante effect of BA can extend for up to 18 days after application. For an efficient chemical thinning with BA, the dose of the product must be taken into account, together with the climatic conditions and the cultivar (BARRETO et al., 2018).

Plant production (kg plant⁻¹) was significantly reduced by the application of Exilis® 3.0 L ha⁻¹ and Maxcel® 4.5 L ha⁻¹ treatments (Table 16). But when we analyzed the number of fruits per plant and the productive efficiency (kg cm⁻²) all treatments with chemical thinners differed significantly from the control treatment and manual thinning, however, Maxcel® 4.5 L ha⁻¹ was the treatment that caused the highest production efficiency. The mean mass of the fruits presented differences between the treatments, characterized by the significant increase in the mass of the fruits from plants submitted

to the treatments of chemical thinning. Regardless of the concentration of the commercial Exilis® product applied, the average fruit masses were higher than the treatments of manual thinning and Control, but lower than the treatment of Maxcel® 4.5 L ha⁻¹, which can be attributed to a reduction productivity caused by this treatment. It should be noted that the average mass of the fruits harvested in the plants of the treatment Maxcel® 4.5 L ha⁻¹ increased 54,8% in relation to the Control.

Table 16 – Production (kg and fruits plant⁻¹), AFM (average fresh mass - g fruits⁻¹), productive efficiency and firmness pulp of fruit 'Fuji Suprema' apple tree, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

Treatments	Production / Plant		AFM (g)	Productive Efficiency	
	kg	fruits		kg cm ²	frutos cm ²
Control (no thinning)	25.2 a	191.5 a	131.4 c	1.3 a	10.0 a
Manual thinning	24.2 a	177.7 a	137.2 c	1.4 a	10.5 a
Exilis® 1.5 L ha ⁻¹	22.6 a	142.8 b	158.4 b	1.0 b	6.1 b
Exilis® 3.0 L ha ⁻¹	15.2 b	92.8 c	163.5 b	1.0 b	6.1 b
Exilis® 4.5 L ha ⁻¹	20.8 a	124.0 c	170.2 b	0.9 b	5.5 b
Exilis® 6.0 L ha ⁻¹	20.5 a	118.3 c	173.6 b	1.0 b	6.1 b
Maxcel® 4.5 L ha ⁻¹	9.8 b	47.5 d	203.4 a	0.4 c	1.8 c
Average	19.8	127.8	162.5	1.0	6.6
CV (%)	24.0	24.0	10.2	25.4	27.8
Treatments	Caliber			Brix°	Firmness of Pulp (Lib)
	>65 mm	55-65 mm	<55 mm		
Control (no thinning)	29.7 d	48.8 a	21.4 a	11.3 b	16.4 b
Manual thinning	44.5 c	39.2 b	16.2 a	11.8 b	16.5 b
Exilis® 1.5 L ha ⁻¹	60.2 b	28.0 c	11.8 b	11.3 b	16.3 b
Exilis® 3.0 L ha ⁻¹	59.0 b	31.3 b	9.6 b	12.1 a	18.0 a
Exilis® 4.5 L ha ⁻¹	67.4 b	23.3 c	9.3 b	12.3 a	16.0 b
Exilis® 6.0 L ha ⁻¹	67.7 b	25.3 c	7.0 b	12.0 b	16.6 b
Maxcel® 4.5 L ha ⁻¹	83.4 a	10.2 d	6.4 b	13.1 a	18.4 a
Average	58.8	29.5	11.7	12.0	16.9
CV (%)	11.3	17.0	28.3	7.8	8.8

Source: Prepared by the author, 2019.

Note: Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test (P=.05). ns: not significant (P>.05).

Similar behavior was observed in fruit classification, where the largest size class (65mm), which presented the highest commercial value, all treatments of Exilis® differed significantly from the control and manual thinning treatments, increasing the percentage of fruits of larger caliber and reducing however, the Maxcel® 4.5 L ha⁻¹ was superior to all treatments tested. Szot et al., (2018), obtained excellent results with the application of BA 300mg L⁻¹ (Maxcel® 7.5 L ha⁻¹) and BA 300mg L⁻¹ + Extract of algae, characterized by a very uniform crop formed by only two fruit size classes, 75-85 mm and above 85 mm in diameter, such results would be excellent at the producer level, as it would eliminate the need for manual thinning and increase profitability. Petri et al.

(2013), working with concentrations of 80 and 120 mg L⁻¹ of BA obtained large fruit proportions (<135) greater than 75% and when associated BA 80 mg L⁻¹ + Carbaryl 1000 mg L⁻¹ the results were superior to 80% of the fruits in categories of greater commercial value.

Marchioretto et al. (2019), reported the occurrence of changes in the physical-chemical characteristics of 'Fuji Suprema' apple fruits treated with BA at 60 mg L⁻¹ compared to untreated plants, characterized by an increase in soluble solids concentration and firmness of pulp, as was observed in the present study, in which Exilis® 3.0 L ha⁻¹, Exilis® 4.5 L ha⁻¹ and Maxcel® 4.5 L ha⁻¹ were superior to the other treatments of thinning and plants without control.

When analyzing the characteristics of the fruits harvested, the plants treated with Maxcel® 4,5 L ha⁻¹ presented the highest values for the variables average fresh mass, height and diameter of the fruits, surpassing all other treatments (Table 17). These results can be related to the great reduction of the effective fructification caused by this treatment, as well as the type of structure that gave origin to these fruits, which in this case were only fruits from brindilas, structures with greater productive capacity and that produce fruits of better quality (FRANCESCATTO et al., 2014). Although differences were found in the number of seeds present in the fruits, this did not cause a change in the shape of the fruits harvested. Although there was no difference in cell size (µm²), fruits from plants submitted to manual thinning, Exilis® 3.0 L ha⁻¹ and Maxcel® 4,5 L ha⁻¹ had cell density of cells per fruit section area) increased by 18.5%, 21.1% and 30.1%, respectively, compared to fruits of plants with no thinning (Control). Several studies corroborate the results observed in the present study, such as Marchioretto et al. (2019), who observed an increase in the mean fresh mass, in the height and diameter of the fruits of 'Fuji Suprema' apple trees treated with BA at 60 mg L⁻¹. Szot et al., (2018) report the fruit yield of 'Jonagold Red Prince' apples with a mean mass of 68.3% higher than the no-rale plants, with the application of BA 300mg L⁻¹ (Maxcel® 7.5L ha⁻¹), with fruits with a mean mass of 304.6 g and 181.0 g, respectively.

Table 17 – MFM (mean fresh mass - g fruits⁻¹), diameter and height (mm) and height / diameter ratio (A / D), mean number of seeds (NMS), cell area of cells per fruit section area (NCASF) of the fruits of brindilas, harvested from 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.

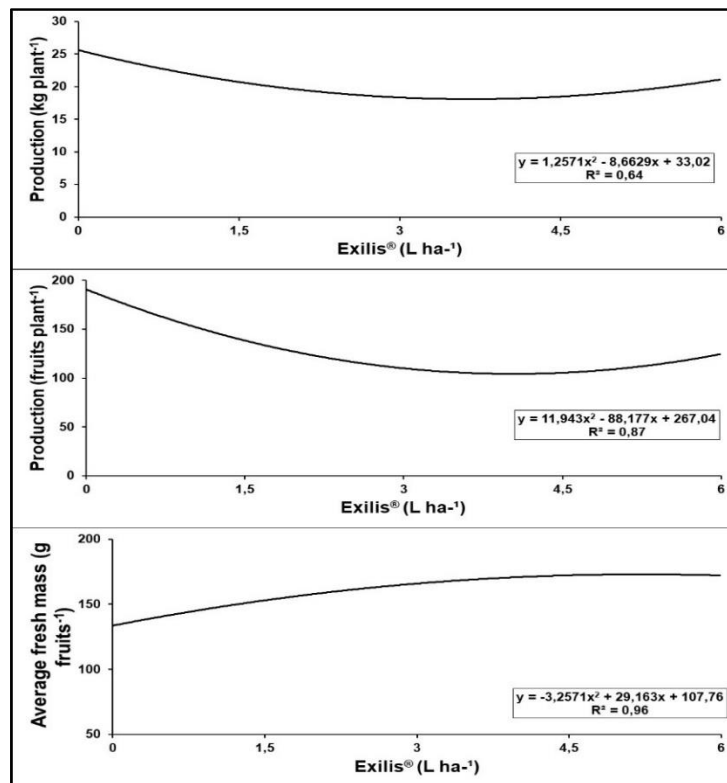
Treatments	MFM (g)	DØ	Hei.	A/D	NMS	Area cell (µm ²)	NCASF
		mm					
Control (no thinning)	189.6 b	75.9 b	64.5 b	0.85 ^{ns}	7.5 a	132844.17 ^{ns}	34607.85 b
Manual thinning	179.9 b	78.4 b	64.6 b	0.82	5.8 b	118157.49	41010.51 a
Exilis® 1.5 L ha ⁻¹	205.4 b	80.1 b	65.8 b	0.82	6.4 b	131140.91	38815.61 b
Exilis® 3.0 L ha ⁻¹	223.3 b	80.8 b	67.2 b	0.83	7.8 a	123031.67	41928.62 a
Exilis® 4.5 L ha ⁻¹	217.0 b	78.6 b	68.6 b	0.87	5.9 b	128621.05	37735.46 b
Exilis® 6.0 L ha ⁻¹	201.9 b	76.7 b	66.2 b	0.86	6.3 b	128990.22	35836.01 b
Maxcel® 4.5 L ha ⁻¹	281.9 a	86.6 a	73.7 a	0.85	6.9 a	131740.23	45032.66 a
Average	214.1	79.6	67.2	0.85	6.7	127789.39	39280.96
VC (%)	16,6	5,7	6,6	6,1	15,2	8,8	11,5

Source: Prepared by the author, 2019.

Nota: Means followed by the same letter in the column do not differ from one another by the Scott-Knott test (P=.05). ns: not significant (P>.05).

When analyzing the concentrations of BA applied, more specifically the Exilis® formulation (1.5, 3.0, 4.5 and 6.0 L ha⁻¹, values equivalent to the concentrations of BA 30, 60, 90 and 120 mg L⁻¹), a quadratic response (kg plant⁻¹ and fruits plant⁻¹), with maximum reduction of production (kg plant⁻¹ and fruits plant⁻¹) in doses of 3.44 L ha⁻¹ (68.9 mgL⁻¹) and 3.69 L ha⁻¹ (73.8 mgL⁻¹), respectively (Figure 12). However, for the average fresh fruit mass, the opposite behavior was observed, with a maximum increase in the mean fruit mass in the dose of Exilis 4,53 L ha⁻¹ (90.6 mgL⁻¹). Similar results are presented by other authors, such as Barreto et al. (2018), which, working with increasing doses of BA for load adjustment in peach trees, reported behavior similar to those observed in the present study, characterized by an increase in the percentage of abscission and mass of fruits, in response to the increase of applied dosage, excess of fruits with doses of 400 mg L⁻¹. For 'Fuji Suprema' apple trees it has already been proven in other studies that the highest concentrations of BA are more effective in the thinning, however, there is some reduction in its effectiveness when applied to fruits with a diameter greater than 10 mm in comparison to the application in fruits (PETRI et al., 2013).

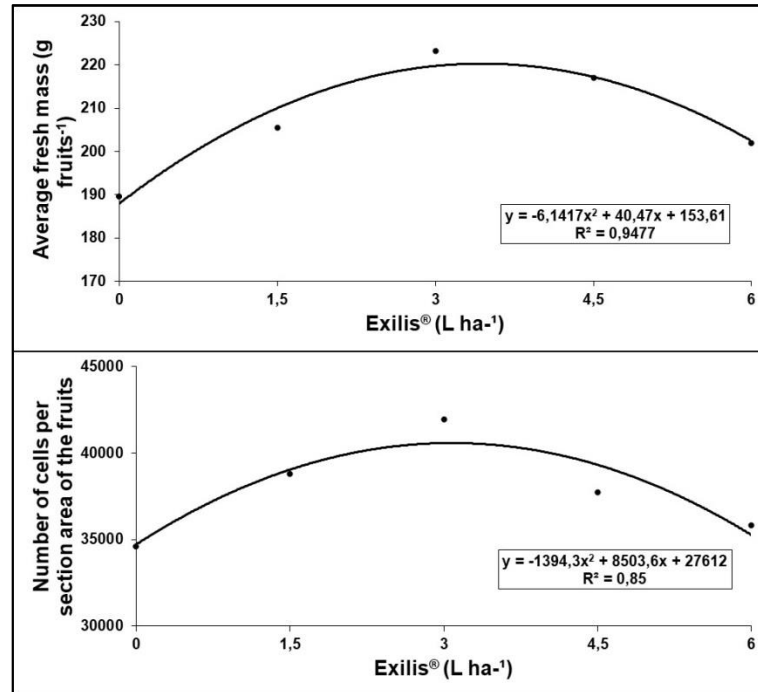
Figure 12 – Production trend lines (kg plant⁻¹ and fruits plant⁻¹) and average fresh mass of 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.



Source: Prepared by the author, 2019.

When analyzing only the characteristics of fruits harvested from thinned trees, no changes were observed in fruit shape (height and diameter), but the average fresh fruit mass has a quadratic behavior proportional to the dose increase of Exilis[®] applied, reaching the maximum point yield at the dosage of 3.2 L ha⁻¹, which corresponds to 65.9 mg L⁻¹ BA. Cellular dimensions were not altered by increasing doses of Exilis[®] applied, however, cell density had a similar behavior to fruit mass, with a greater increase in the number of cells per section of the fruits with the dose of 3.04 L ha⁻¹ of Exilis[®], corresponding to 60.8 mg L⁻¹ BA (Figure 13).

Figure 13 – Trend lines for average fresh mass (g fruit⁻¹) and Number of cells per section area of the fruits of brindilas, harvested from 'Fuji Suprema' apple trees, submitted to different treatments for load adjustment (thinning), in the 2016/2017 season, Caçador-SC, Brazil, 2019.



Source: Prepared by the author, 2019.

6.4 CONCLUSION

The BA is efficient in adjusting fruit load in 'Fuji Suprema' apple trees, reducing fruiting, as well as improving fruit quality and caliber proportional to the applied concentration.

There is a differentiated response in the efficiency of the chemical thinners by their formulation, even though both have concentrations of active ingredient equivalent.

Exilis® was efficient in the thinning of the 'Fuji Suprema' apple tree, when applied in fruits with 5 to 10 mm of diameter increased the percentage of fruits of greater caliber that has greater commercial value. With higher gains in the mean fruit mass with the application of the 4.53 L ha⁻¹ dose (90.6 mgL⁻¹ BA).

BA can promote the increase in the cell density of fruits produced in proportion to the applied concentration.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o desenvolvimento do presente estudo foi possível constatar que alguns fatores, antes apontados como limitantes ao crescimento e desenvolvimento dos frutos, são na verdade secundários, e que o tamanho final do fruto está mais ligado com a estrutura que lhe deu origem, tipo de gema, acúmulo de reservas no ciclo anterior, do que com os fatores ambientais, polinização e o número de sementes. Já o número de células presentes nos frutos, bem como a dimensão celular, pode sofrer alterações pela técnica de raleio de frutos, porém, muitas vezes o tamanho final dos frutos, assim como o formato dos mesmos, não é alterado.

O protocolo 'ajustado' para determinação da densidade e dimensão celular, descrito detalhadamente neste trabalho, irá contribuir para que novas pesquisas sejam desenvolvidas e assim ajudar pesquisadores na tomada de suas conclusões. Possíveis melhorias ainda poderão ser implementadas, visando a otimização do tempo e maior agilidade no processamento de amostras.

A prática cultural de raleio, manejo da carga de frutos, equilibrando o número de frutos conforme o tamanho e capacidade produtiva da planta é o fator mais importante que os produtores podem influenciar. Além do que, com a estratégia de raleio correta, os frutos que irão permanecer fixados as plantas serão aqueles com maior potencial de desenvolvimento e oriundos de gemas mais fortes (maior capacidade de reservas). Também, o raleio leva a formação de gemas de melhor qualidade para o próximo ciclo.

A combinação de MM + BA é eficiente no raleio de frutos de macieira, principalmente, quando aplicada no início do desenvolvimento dos frutos (5 a 10mm de diâmetro). A aplicação de raleantes químicos, como MM e BA, pode influenciar o desenvolvimento inicial dos frutos, possivelmente pela interferência direta no acúmulo de carboidratos, no caso do MM, e pelo estímulo na divisão celular promovido pela BA.

A BA é eficiente no raleio de frutos em macieiras 'Fuji Suprema', sendo a redução da frutificação, e aumento de calibre dos frutos, proporcional a concentração aplicada. Podendo haver eficiência diferenciada do produto pela sua formulação, mesmo que possuam concentrações de ingrediente ativo equivalente. A BA pode promover o aumento da densidade celular dos frutos produzidos de modo proporcional a concentração aplicada.

REFERENCIAS

AMBROŽIČ TURK, B.; STOPAR, M. Effect of 6-benzyladenine application time on apple thinning of cv. 'Golden Delicious' and cv. 'Idared'. **Acta Agriculturae, Slovenica**, v.95, n.1, p.69-73, 2010.

ARGENTA LC, VIEIRA MJ, SOUZA F, PEREIRA WSP, EDAGI FK. Diagnóstico da qualidade de maçãs no mercado varejista brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.1 n.37, p.48-63, 2015.

BAIN J.M.; ROBERTSON R.N. The physiology of growth in apple fruits. I. Cell size, cell number and fruit development. **Australian Journal of Scientific Research Series B-Biological Sciences**, v.4, n.3, p.75-91, 1951.

BARRETO, C. F.; NAVROSKI, R.; ZANDONA, R. R.; DE MELLO FARIAS, R.; MALGARIM, M. B.; DE MELLO-FARIAS, P. C. Effect of chemical thinning using 6-benzyladenine (BA) on Maciel peach (*Prunus persica* L.) [online]. **Australian Journal of Crop Science**, v.12, n.6, p.980-984, 2018.

BASAK, A. Efficiency of fruitlet thinning in apple 'Gala Must' by use of met amitron and artificial shading. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, Skierniewice, v. 19, n.7, p.51-62, 2011.

BOGRE L, MAGYAR Z, LOPEZ-JUEZ E. New clues to organ size control in plants. **Genome Biology**, v.226, n.4, p.1867–1834, 2008.

BOTTON, A., ECCHER, G., FORCATO, C., FERRARINI, A., BEGHELDO, M., ZERMIANI, M., MOSCATELLO, S., BATTISTELLI, A., VELASCO, R., RUPERTI, B., HAMINA, A. Signaling Pathways Mediating the Induction of Apple Fruitlet Abscission. **Plant Physiology**, v.1, n.5, p.185–208, 2010.

BYERS RE. Influence of temperature and darkness on apple fruit abscission and chemical thinning. **Journal of Tree Fruit Production**, v.1, n.3, p.41-53, 2002.

BYERS, R.E.; COSTA, G.; VIZZOTTO, G. Flower and fruit thinning of peach and other *Prunus*. **Horticultural Review**, v. 28, n. 4, p. 351-392, 2003.

CAMILO, A.P.; PEREIRA, A.J. Raleio de frutos. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis, p. 419-461, 2006.

CARMINATTI JF. **Eficácia de raleantesquímicos para macieiraemfunção da variação da taxa de carboidratosna planta, 2016**, Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina - SC, Lages, 2016.

CLEVER M. Effects of solar irradiation and night-time temperature on the thinning efficacy of metامترون (Brevis®) in apple. **Acta Horticulturae**. v.1221, n.3, p.23–30, 2018.

CLINE J, BAKKER CJ, GUNTER A. Response of “Royal Gala” apple to multiple applications of chemical thinners and the dynamics of fruitlet drop. **Canadian Journal of Plant Science**, v.1139, n.1, p.1-36, 2018.

CONEVA, E.D.; CLINE, J. Blossom thinners reduce crop load and increase fruit size and quality of peaches. **HortScience**, v. 41, n. 2, p. 1596-1601, 2006.

CONG B, BARRERO LS, TANKSLEY SD. Regulatory change in YABBY-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size during tomato domestication. **Nature Genetics**, v.40, n.3, p. 800–804, 2008.

COSTA, G. What’s new in plant bioregulators? **Acta Horticulturae**, v. 998, n.3, p. 27–36, 2013.

COSTA, G., DAL CIN, V., RAMINA, A. Physiological, molecular and practical aspects of fruit abscission. **Acta Horticulturae**, v.727, n.4, p. 301–310, 2006.

COSTA, G.; BONANY, J.; CARBO, J.; CASALS, M.; STOPAR, M.; LAFER, G.; DORIGONI, A.; VIZZOTTO, G.; BOMBEN, C. Multilocation analysis of ats and ba thinning efficacy on 'Golden Delicious'. **Acta Horticulturae**, Toronto, v. 636, n.3, p. 303-310, 2004.

DAL’SANT, S. R. Reguladores Vegetais na Frutificação e Produção da Macieira ‘Imperial Gala’, 2013. (Tese de Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

DAVIS, K.; STOVER, E.; WIRTH, F. Economics of fruit thinning: A review focusing on apple and citrus. **HortTechnology**, v.14, n. 2, p. 282-289, 2004.

DECKERS T, SCHOOF H, VERJANS W. Looking for solutions for chemical fruit thinning on apple. **Acta Horticulturae**, v.884, n.4, p. 237-244, 2010.

DENNE, P. The growth of apple fruitlet and the effect of early thinning on fruit development. **Annals of Botany** v. 24, n. 4, p. 397-406, 1960

DENNIS JR, F.G. The history of fruit thinning. **Plant Growth Regulation**, v.31, n.1, p.1-16, 2000.

DORIGONI, A. Apple Fruit thinning alternative in Northern Italy. **Compact Fruit Tree**, v. 37, n.1, p. 26-29, 2004.

DRAŽĚTA, L.L., LANG, A., HALL, A.J., VOLZ, R.K.. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. **Annals of Botany**. V.93, n.3, p. 275–282, 2004.

ECCHER, G., BOTTON, A., DIMAURO, M., BOSCHETTI, A., RUPERTI, B., RAMINA, A., Early induction of apple fruitlet abscission is characterized by an increase of 100 bothisoprene emission and abscisic acid content. *Plant Physiol*, v.16, n.2, p.1952–1969, 2013.

EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 743p., 2006

EPAGRI/CIRAM-Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina. **Monitoramento do Frio**. Boletim Outubro – n° 005/2018. Disponível em: http://ciram.epagri.sc.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=510&Itemid=480 Acesso em: 17 de dezembro 2018.

FALLAHI, E.; KIESTER, M.J.; FALLAHI, B.; GREENE, D.W. Influence of potentially new post-bloom thinners on apple fruit thinning. **Acta Horticulturae**, v.1042, n.4, p.183-188, 2014.

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

FERNANDES CA. Two-year study on chemical thinning agents for “Rocha” pear (*Pyrus communis* L.). **Acta Horticulturae**, v.1221, n.1, p. 59-64, 2018.

FERNANDES, C.; OLIVEIRA, C.M.; MOTA, M. Fruit thinning agents for apple cultivar ‘Fuji’: comparison among formulates. **Acta Horticulture**, v. 998, n.2, p. 37-42, 2013.

FERREIRA, D. F. **SISVAR – programa estatístico**. Versão 5.6 (Build 86). Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2010.

FRAGA, H., COSTA, R., MOUTINHO-PEREIRA, J., CORREIA, C. M., DINIS, L.-T., GONCALVES, I., SILVESTRE, J., EIRAS-DIAS, J., MALHEIRO, A. C., SANTOS, J. A. Modeling Phenology, Water Status, and Yield Components of Three Portuguese Grapevines Using the STICS Crop Model. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.4, n.66, p.482–491, 2015.

FRANCESCATTO, P. **Development of the reproductive structures of the apple tree (*Malus domestica* Borkh.) Under different climatic conditions: from bud formation to fruit harvesting**. (Thesis doctorate) - Federal University of Santa Catarina, Center for Agrarian Sciences, Post-Graduate Program in Plant Genetic Resources, Florianópolis, 2014.

FRANCESCATTO, P., PETRI, J. L., RACSKO, J., COUTO, M., SILVA, A. L. DA. Avaliação fenológica das diferentes estruturas de frutificação das macieiras ‘gala’ e ‘fuji’ na Região de Caçador-SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.4, n.37, p. 913-923, 2015.

GABARDO GC, PETRI JL, HAWERROTH FJ, COUTO M, ARGENTA LC, KRETZSCHMAR AA. Use of met amitron as an apple thinner. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.3, n. 39, p. e-514, 2017.

GABARDO, G.C.; KRETZSCHMAR, A.A.; PETRI, J.L.; COUTO, M.; HAWERROTH, F.J.; SILVA, C.D.S. Taxa fotossintética em macieiras tratadas com met amitron. *Revista Eletrônica Científica UERGS*, v.3, n.3, p.617-633, 2017.

GOULART, C., ANDRADE, S.B., BENDER, B., SCHIAVON, A. V., AGUIAR, G. A., MALGARIM, M. B. Met amitron and Different Plant Growth Regulators Combinations in the Chemical Thinning of ‘Eva’ Apple Trees. *Journal of Experimental Agriculture International*, v.2, n.18, p.1-6, 2017.

GREENE, D.W. Development of 6-Benzyladenine as an Apple Thinner. **HortScience** v.12, n.51, p.1448-1451, 2016.

GREENE D. W, COSTA G. Fruit thinning in pome- and stone-fruit: State of the art. **Acta Horticulturae**, v.998, n.3, p.93-102, 2013.

GREENE, D. W.; CROVETTI, A. J.; PIENAAR, J. Development of 6-Benzyladenine as an Apple Thinner. **HortScience**, v.12, n.51, p.1448–1451, 2016.

GREENE, D.W. Effects of repeated yearly application of chemical thinners on 'McIntosh' Apples. **HortScience**, v. 40, n.2, p.401-403, 2005.

GREENE, D.W., AUTIO, W.R. ,ERF, J.A. and ZHONGYUAN, Y.M. Mode of action of benzyladenine when used as a chemical tinner. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v.117, n.3, p.775-779, 1992.

GREENE, D.W., AUTIO, W.R. and MILLER, P. Thinning activity of benzyladenine on several apple cultivars. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v.115, n.4, p. 390-400, 1990.

GREENE, D.W., COSTA, G. Fruit thinning in pome- and stone-fruit: State of the Art. **Acta Horticulturae**, v.998, n.2, p. 93–102, 2013.

GREENE, D.W. Chemicals, timing, and environmental factors involved in thinner efficacy on apple. **HortScience**, v.37, n.2, p.477-481, 2003.

HARADA T, KURAHASHI W, YANAI M, WAKASA Y, SATOH T. Involvement of cell proliferation and cell enlargement in increasing the fruit size of *Malus* species. **Scientia Horticulturae**, v.105, n.1, p. 447–456, 2005.

HIRST P. **How Apple Fruit Size Is Determined and Affected**. 2013. Disponível em: <<http://articles.extension.org/pages/69069/how-apple-fruit-size-is-determined-and-affected>>. Acesso em: 10 janeiro, 2019.

HUDINA, M.; ŠTAMPAR, F. Effect of Chemical and Hand Thinning on Quality and Quantity of Pear Fruits (*Pyrus communis* L.) cv. Williams. **Acta Horticulturae**, v. 800, n.4, p. 211-214, 2008.

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

JACKSON, J.E. **Biology of apples and pears**. Cambridge University Press, p. 487, 2003.

KARNOVSKY, D.A.A. Formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, n.2, p.137-138, 1965.

KRIZEK BA. Making bigger plants: key regulators of organ size. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n.3, p. 17–22, 2009.

KUMAR, R.; KHURANA, A.; SHARMA, A. K. Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits *Journal of Experimental Botany*, v. 65, n.1, p. 4561–4575, 2014.

LAFER, G. Effects of Chemical Thinning with Metamitron on Fruit Set, Yield and Fruit Quality of 'Elstar' **Acta Horticulturae**, v.884, n, 2, p.531-536, 2010.

LINK, H. Significance of flower and fruit thinning on fruit quality. **Plant Growth Regulation**, v.31, n.3, p.17-26, 2000.

MAAS, F. Thinning 'Elstar' Apple with Benzyladenine. **Acta Horticulturae**, v. 727, n. 2, p. 415-422, 2006.

MALLADI P, HIRST M. Increase in fruit size of a spontaneous mutant of 'Gala' apple (*Malus domestica* Borkh.) is facilitated by altered cell production and enhanced cell size. **Journal of Experimental Botany**, v.11, n.61, p. 3003-3013, 2010.

MARCHIORETTO, L. D. R.; DE ROSSI, A.; AMARAL, L. O. DO.; RIBEIRO, A. M. A. S. Efficacy and mode of action of blossom thinners on "Fuji More" apple trees. **Scientia Horticulturae**, v. 246, n.1, p.634–642, 2019.

MATHIEU V, LAVOISIER C, BOUNIOL M, SAINT HILARY JF. Apple thinning by photosynthesis inhibition. **Acta Horticulturae**, v.1138, n.4, p.19-26, 2016.

MCARTNEY SJ, OBERMILLER JD. Comparison of the effects of metamitron on chlorophyll fluorescence and fruit set in apple and peach. **HortScience**, v.4, n.47, p. 509-514, 2012.

McARTNEY, S. Apple Growth and Crop-load Management. Mountain Horticultural Crops Research & Extension Center, North Carolina State University. Presented the 2011 Mid-Atlantic Fruit & Vegetable Convention, Hershey, PA, 2011.

MCARTNEY, S. J.; OBERMILLER, J. D. Use of 1-Aminocyclopropane Carboxylic Acid and Metamitron for Delayed Thinning of Apple Fruit. **HortScience**, v. 47, n. 11, p.1612-1616, 2012.

MIQUELOTO, A., AMARANTE, C. V. T. DO, STEFFENS, C. A., DOS SANTOS, A., MITCHAM, E. Relationship between xylem functionality, calcium content and the incidence of bitter pit in apple fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 165, n. 3, p. 319–323, 2014.

NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. Raleio. In: FACHINELO, J.C.; NACHTICAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura Fundamentos e Práticas**, 2010. Disponível on line: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/livro/fruticultura_fundamentos_pratica/8.1.htm>. Acesso em: 05 maio de 2017.

NUNES, C. S., CINSA, L. A. Principles Of Histological Processing **Interdisciplinary Journal of Experimental Studies**, v. 8, n. único, p. 31-40, 2016.

OUMA G. Fruit thinning with specific reference to citrus species: a review. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v.4, n.3, p. 75-191, 2012.

PETRI JL, HAWERROTH FJ, LEITEGB; COUTO M. Raleio químico em macieiras 'Fuji Suprema' e 'Lisgala'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n.1, p. 170-182, 2013.

PETRI, J. L. ; SEZERINO, A. A. ; PASA, M. S. ; HAWERROTH, F. J. Raleio de frutos na cultura da macieira. (Epagri Technical Bulletin, 179), Florianópolis. Epagri, p.61, 2017.

PETRI, J. L. et al. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. especial 1, p.048-056, 2011.

PETRI, J. L., COUTO, M., GABARDO, G. C., FRANCESCOTTO, P., HAWERROTH, F. J. Metamitron replacing carbaryl in post bloom thinning of apple trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.4, n. 38, p. 1-14, 2016.

PETRI, J. L., LEITE, G. B., BASSO, C. Chemical thinning of 'Fuji' apples growing in a mild winter climate. **Acta Horticulturae**, v. 727, n.2, p. 429–436. 2006.

PETRI, J. L.; COUTO, M.; GABARDO, G. C.; FRANCESCOTTO, P.; HAWERROTH, F. J. Metamitron replacing carbaryl in post bloom thinning of apple trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 38, n. 4, p. e-903, 2016.

PETRI, J. L.; et al. Raleio químico de floração com complemento de pós floração na macieira grupo “gala”. **Revista Eletrônica Científica Uergs**, Porto Alegre, v.2 n.2, p. 175-181, 2016.

QUEIROGA, R. C. F; PUIATTI, M.; FONTES, P. C. R.; CECON, P. R. Produtividade e qualidade de frutos de meloeiro variando número de frutos e de folhas por planta. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n.1, p.209-215, 2008.

REGINATO, G.; OSORIO, H.; NAVARRETE, J. A single Metamitron spray thinning ‘Brookfield Gala’ apples as effectively as to a programo f treatments based on NAA, Carbaryl and BA. In: 10th International Symposium on Orchard Systems, December, 2012, Programme & abstract book, Stellenbosch, South Africa, ISHS, v.1, n.4, p.76, 2012.

REIGHARD, G.L.; OUELLETTE, D.R.; BROCK, K.H. Pre-bloom thinning of peach flower buds with soybean oil in South Carolina. **Acta Horticulturae**, v.727, n.351, p 345-351, 2006.

ROBINSON, T.L.; LAKSO, A.N. Between Year and Within Year Variation in Chemical Fruit Thinning Efficacy of Apple during Cool Springs. **Acta Horticulturae**, v. 636, n. 3, p. 283-294, 2004.

ROCHA R. H. C.; SILVA E. O.; SALOMÃO, L. C. C.; VENTRELLA, M. C. Caracterização morfoanatômica do melão gália no ponto de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 375-385, 2010.

ROSA N, VERJANS W, OLIVEIRA C, BYLEMANS D, REMY S. Comparison between 6-benzyladenine and metamitron as thinning agents in “Royal Gala”, “Cripps Pink” and “Red Delicious” apple cultivars. **Acta Horticulturae**, v. 1221, n. 2, p. 51–58, 2018.

SANHUEZA, R.M.V.; PROTAS, J.F.S.; FREIRE, J.M. **Manejo da Macieira no Sistema de Produção Integrada de Frutas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 164p.

SANTOS, J. A., COSTA, R., FRAGA, H. Climate change impacts on thermal growing conditions of main fruit species in Portugal. **Climatic Change**, v. 2, n. 140, p. 273–286, 2016.

SCHVEITZER B, SUZUKI A. **Métodos de análises químicas de polpa fresca de maçã**. Florianópolis (Epagri - Documentos nº 241). Maio, 2013. 23p.

SCOLARO AMT, ARGENTA LC, AMARANTE CVT, PETRI JL, HAWERROTH FJ. Controle da maturação pré-colheita de maçãs 'Royal Gala' pela inibição da ação ou síntese do etileno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.1, n.37, p. 38-47, 2015.

SEZERINO AA. **Sistema de produção para a cultura da macieira em Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2018, 136p.

STERN, R., A. The photosynthesis inhibitor metamitron is an effective fruitlet thinner for 'Gala' apple in the warm climate of Israel. **Scientia Horticulturae**, v. 178, n. 2, p. 163–167, 2014.

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

SZOT, I., LIPA, T., KRAWIEC, P., BASAK, A. The estimation of effectiveness of ATS, metamitron, 6-BA and ACC in flowers' and fruitlets' thinning of "Jonagold Red Prince" apple trees. **Acta Horticulturae**, v.1221, n3, p.39–44, 2018.

TAHERI, A.; CLINE, J. A.; JAYASANKAR, S.; PAULS, P. K. Etefom-inuduced abscission of "Redhaven" peach. *American Journal of Plant Sciences*, v.3, n.1, p.295-301, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. Artmed, 6ª ed. Porto Alegre-RS, 2017. 888 p.

TROMP & WERTHEIM (2005) Fruit growth and development. In: TROMP, J.; WEBSTER, A.D.; WERTHEIM, S.J. **Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production**. Backhuys Publishers Leiden. The Netherlands, p.240-266, 2005.

TROMP, J. Flower-bud formation in pome fruits as affected by fruit thinning. **Plant Growth Regulation**, v. 31, n.3, p. 27-34, 2000.

VERJANS W, DECKERS T, VANDERMAESEN J, BYLEMANS D, REMY S. A comparison of different fruit thinning agents in apple cultivar "Golden Delicious." **Acta Horticulturae**, Alexandria, v. 1221, n.1, p. 9-16, 2018.

WAY, R. D.; ALDWINCKLE, H. S.; LAMB, R. C.; REJMAN, A.; SANSAVINI, S.; SHEN, T.; WATKINS, R.; WESTWOOD, M. N.; YOSHIDA, Y. Apples (*Malus*). **Acta Horticulturae**, v. 290, n.1, p. 1-62, 1990.

WERTHEIM, S.J.; WEBSTER, A.D. Manipulation of growth and development by plant bioregulators. In: TROMP, J.; WEBSTER, A.D.; WERTHEIM, S.J. **Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production**. Backhuys Publishers Leiden. The Netherlands, p. 267-294, 2005.

WISMER, P.T.; PROCTOR, J.T.A.; ELFVING, D.C. Benzyladenine effects cell division and cell size during apple fruit thinning. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v.5, n.120, p.802-807, 1995.

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. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.125, n.1, p. 169–176, 2000a.

YUAN, R.; GREENE, D.W. Benzyladenine as chemical thinner for 'McIntosh' apples. II. Effect of benzyladenine, bourse shoot tip removal, and life number on fruit retention **Journal American Society of Horticultural Science**, v. 125, n.3, p. 177-182, 2000b.