ÂNGELA PREZA RAMOS

AÇÃO DE AUXINA E BRASSINOSTEROIDE NA FUNCIONALIDADE DO XILEMA, COMPOSIÇÃO MINERAL, ESTRESSE OXIDATIVO E QUALIDADE DE MAÇÃS 'GALAXY'

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

Orientador: Prof. PhD. Cassandro Vidal Talamini do Amarante

LAGES - SC
2017

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

Preza Ramos, Ângela
Ação de auxina e brassinosteroide na funcionalidade do xilema, composição mineral, estresse oxidativo e qualidade de maçãs Galaxy / Ângela Preza Ramos. - Lages , 2017.
83 p.

Orientador: Cassandro Vidal Talamini do Amarante
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2017.

1. Malus domestica Borkh. 2. catasterona. 3. ácido naftleno acético. 4. estresse oxidativo. I. Vidal Talamini do Amarante, Cassandro . II. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação. III. Título.

ÂNGELA PREZA RAMOS

AÇÃO DE AUXINA E BRASSINOSTEROIDE NA FUNCIONALIDADE DO XILEMA, COMPOSIÇÃO MINERAL, ESTRESSE OXIDATIVO E QUALIDADE DE MAÇÃS 'GALAXY'

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

Banca Examinadora:

Orientador: _____
Prof. PhD. Cassandro Vidal Talamini do Amarante
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: _____
Prof. Dr. Clenilso Sehnen Mota
Instituto Federal Catarinense – Campus Rio do Sul

Membro: _____
Prof. Dr. Cristiano André Steffens
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: _____
Profa. Dra. Aquidauana Miqueloto
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia
de Santa Catarina – Campus São Miguel do Oeste

Membro: _____
Dr. Marcos Vinicius Hendges
Universidade do Estado de Santa Catarina

Lages, 29 de setembro de 2017

AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta etapa, lembro-me de muitas pessoas a quem ressalto reconhecimento, pois, esta conquista concretiza-se com a contribuição de cada uma delas, seja direta ou indiretamente. Expresso meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma participaram da minha trajetória.

Agradeço aos meus familiares pelo incentivo na busca de conhecimentos, pelos seus ensinamentos e valores passados, aos meus amigos que proporcionaram momentos de descontração e aprendizado, bem como aqueles que me auxiliaram na execução deste trabalho.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, uma instituição pública e idônea, com ensino de qualidade, por fornecer a estrutura necessária. À toda equipe do Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita do CAV-UDESC, pela parceria e ajuda incondicional em todo o experimento.

Aos professores, agradeço-os imensamente pela contribuição de cada um na minha formação, responsáveis pelos ensinamentos que instigaram e fomentaram a busca por conhecimento e sobretudo o crescimento pessoal e profissional.

Gostaria de agradecer em especial ao meu orientador Professor PhD. Cassandro Vidal Talamini do Amarante, que me conduziu durante o período do Curso, pelo seu apoio e profissionalismo, e ao Professor Cristiano André Steffens pela presença constante no laboratório, sempre incentivando a realização das atividades e sanando as dúvidas que surgiram no caminho. Não posso deixar de agradecer a Aquidauana Miqueloto, que além da sua amizade, propiciou muito aprendizado pelas instruções e informações repassadas, pela ajuda na execução do projeto, fatores que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Ao Professor Adaucto Bellarmino de Pereira Netto, docente da Universidade Federal do Paraná (UFPR), que cedeu amostra de catasterona, permitindo a utilização deste fitormônio.

À empresa Schio, que permitiu que executasse meu trabalho na sua área de produção, e concedeu os frutos.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da Bolsa de Mestrado Acadêmico.

RESUMO

RAMOS, Ângela Preza. **Ação de auxina e brassinosteroide na funcionalidade do xilema, composição mineral, estresse oxidativo e qualidade de maçãs 'Galaxy'.** 2017. 83 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Área Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2017.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de aplicações de auxina (ácido naftaleno acético - ANA) e brassinosteroide (catasterona) na funcionalidade dos vasos do xilema, composição mineral, estresse oxidativo e atributos físico-químicos dos frutos em macieiras 'Galaxy' cobertas com tela antigranizo de cor preta (malha de 7 x 4 mm). O estudo foi realizado em um pomar comercial no município de Vacaria, no Estado do Rio Grande do Sul. Os tratamentos avaliados foram água (controle), ANA (0,1%), catasterona (10^{-6} M) e ANA (0,1%) + catasterona (10^{-6} M). As aplicações foram realizadas via pedúnculo dos frutos, com auxílio de um pincel, utilizando um volume de 300 µL pedúnculo^{-1}, a cada 15 dias, no período compreendido entre os 40 a 127 dias após a plena floração (DAPF), nas safras 2015/2016 e 2016/2017. Foi realizada avaliação de funcionalidade do xilema e análise dos teores minerais nos frutos a cada 15 dias, após os 40 DAPF. Na colheita comercial (136 DAPF), os frutos foram avaliados quanto aos atributos físico-químicos e relacionados ao estresse oxidativo. Frutos tratados com catasterona e com ANA tiveram maior número de elementos de vasos de xilema coloridos nas regiões proximal, mediana e distal, em relação aos tratados com ANA + catasterona e controle. A aplicação exógena de catasterona em maçãs 'Galaxy' aumentou a atividade antioxidante total, o teor de compostos fenólicos totais e a atividade da peroxidase, e reduziu o conteúdo de malondialdeído (produto da peroxidação de lipídios). O tratamento com ANA aumentou a coloração vermelha na epiderme dos frutos, evidenciado pelo maior teor de antocianinas, menor ângulo *hue*, e maior índice de cor vermelha (ICV). Os efeitos da aplicação de ANA e catasterona sobre os atributos de qualidade avaliados na colheita comercial foram variados. Frutos tratados com catasterona apresentaram menor produção de etileno, enquanto frutos tratados com ANA obtiveram maior índice de iodo-amido e menores valores de sólidos solúveis e acidez titulável. Variáveis de firmeza de polpa e textura não foram afetadas pela aplicação dos fitormônios. As aplicações de ANA e catasterona durante o desenvolvimento dos frutos podem contribuir para manutenção da qualidade de maçãs 'Galaxy', proporcionando maior funcionalidade do xilema, trazendo efeitos benéficos nos fatores relacionados ao estresse oxidativo, coloração e produção de etileno, em combinação ou isoladamente.

Palavras-chave: *Malus domestica* Borkh. Catasterona. Ácido naftaleno acético. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

RAMOS, Ângela Preza. **Auxin and brassinosteroid effects on xylem functionality, mineral composition, oxidative stress and quality of 'Galaxy' apples**. Dissertation (Plant Production Master's Degree - Area of Postharvest Physiology and Technology) - Santa Catarina State University. Postgraduate Program in Plant Production, Lages, 2017.

The objective of this work was to evaluate the effects of auxin (naphthalene acetic acid - NAA) and brassinosteroid (catasterone) on xylem vessel function, mineral composition, oxidative stress, and physico-chemical attributes of the fruit of 'Galaxy' apple trees protected by anti-hail black knit color.The study was carried out in a commercial orchard in Vacaria, State of Rio Grande do Sul (southern Brazil). The treatments were water (control), NAA (0.1%), catasterone (10^{-6} M) and ANA (0.1%) + catasterone (10^{-6} M). The applications were made through the fruit peduncle with the aid of a brush, using a volume of 300 uL/peduncle, every 15 days, during the period from 40 to 127 days after full bloom (DAFB), in 2015/2016 and 2016/2017. Xylem functionality evaluation and mineral content analysis were performed on the fruits every 15 days after the 40 DAPF. At commercial harvest (136 DAPF), fruit were evaluated for physico-chemical attributes and attributes related to oxidative stress. Fruit treated with catasterone and ANA had a higher number of colored xylem vessels in the proximal, medial and distal regions, compared to those treated with ANA + catasterone and control. Exogenous application of catasterone in 'Galaxy' apples increased total antioxidant activity, total phenolic content and peroxidase activity, and reduced the content of malondialdehyde (lipid peroxidation product). ANA treatment increased the red coloration in the fruit epidermis, evidenced by the higher content of anthocyanins, lower hue angle, and higher red color index. Application of ANA and catasterone had variable effects on fruit quality attributes evaluated at commercial harvest. Fruits treated with catasterone had lower ethylene production, while ANA-treated fruits had higher starch-iodine index and lower soluble solids content and titratable acidity, variables of flesh firmness and texture were not affected. The applications of ANA and catasterone during fruit development may contribute to preserve the quality of 'Galaxy' apples, providing greater functionality of xylem, bringing beneficial effects in factors related to oxidative stress, skin red color and ethylene production, in combination or in isolation.

Keywords: *Malus domestica* Borkh. Catasterone. Naphthalene acetic acid. Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Técnica de infusão do corante, utilizada para avaliação da funcionalidade do xilema em maçãs ‘Galaxy’ tratadas com água destilada (controle), ácido naftaleno acético (ANA), catasterona (brassinosteroide) e ANA + catasterona. 36

Figura 2 - Frutos de maçãs 'Galaxy' cortados transversalmente e visualmente avaliados quanto ao número e distribuição dos feixes vasculares corados, nas partes proximal mediana e distal. 36

Figura 3 - Massa fresca de maçãs ‘Galaxy’ tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (*p*<0,05). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados da safra 2015/16. 44

Figura 4 - Número de vasos de xilema coloridos no sistema cortical primário, nas regiões a) proximal, b) mediana e c) distal de maçãs ‘Galaxy’, tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, durante o período de 40 a 127 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16. 46

Figura 5 - Atividade antioxidante total, quantificada através do método ABTS, a) na polpa b) na casca de maçãs ‘Galaxy’ tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17. 56

Figura 6 - Teor de compostos fenólicos totais (mg EAG.100 g^{-1} massa fresca) a) na polpa e b) na casca de maçãs ‘Galaxy’ tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17. 57

Figura 7 - a) Peroxidação de lipídeo b) conteúdo de radical peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em maçãs 'Galaxy' tratados com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, em frutos colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17. 60

Figura 8 - a) Atividade da peroxidase da b) superóxido dismutase (SOD) em maçãs 'Galaxy' tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, em frutos colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17. 60

Figura 9 - Teor de antocianinas na casca de maçãs 'Galaxy' tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.....62

Figura 10 - a) Cor da casca nos lados mais e b) menos exposto a radiação solar em frutos de macieiras 'Galaxy' tratados com água destilada (Controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidos aos 136 dias após a plena floração. Safra 2016/17. 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teores (mg kg^{-1} de massa fresca) de nitrogênio (N), cálcio (Ca), potássio (K) e magnésio (Mg) na polpa, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy' tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6}), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16. 49

Tabela 2 - Teores (mg kg^{-1} de massa fresca) de nitrogênio (N), cálcio (Ca), potássio (K) e magnésio (Mg) na casca, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy' tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6} M), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16. 50

Tabela 3 - Relações Mg/Ca, N/Ca, K/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na polpa, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy', tratados com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1 %, catasterona (10^{-6}) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6}), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16. 51

Tabela 4 - Relações Mg/Ca, N/Ca, K/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na casca, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy', tratados com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1 %, catasterona (10^{-6}) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6}), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16. 52

Tabela 5 - Respiração, produção de etileno, índice iodo-amido, pH, conteúdo de sólidos solúveis (SS; ^{o}Brix) e acidez titulável (AT; % de ácido málico) em frutos de macieiras 'Galaxy' tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6} M), colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17. 64

Tabela 6 - Cor da casca (atributos *L*, *C* e *h*°) nos lados mais e menos expostos a radiação solar, firmeza de polpa (FP), força de ruptura da casca (FRC) e força para a penetração na polpa (FPP), em frutos de macieiras 'Galaxy' tratada tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6} M), colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17. 64

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

AAT	Atividade antioxidante total
ABA	Ácido abscísico
ABTS	2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico
AC	Atmosfera controlada
ACC	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
AIA	Ácido indolacético
AIB	Ácido indolbutírico
ANA	Ácido naftalenoacético
ANT	Antocianinas
APX	Enzima peroxidase do ascorbato
AT	Acidez titulável
ATP	Adenosina trifosfato
Ax	Auxina
°Brix	Graus Brix
BL	Brassinolídeo
BR	Brassinosteroide
Ca	Cálcio
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAT	Enzima catalase
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
°C	Graus celsius

CFT	Compostos fenólicos totais
CHI	Chalcona isomerase
CHS	Chalcona sintase
CS	Catasterona
CV	Coeficiente de variação
CO_2	Gás carbônico
C_2H_4	Etileno
DAPF	Dias após a plena floração
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazil
EBR	Epibrassinolídeo
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Et	Etileno
EDTA	ácido etilenodiaminotetracético
FP	Firmeza de polpa
FRC	Força para a ruptura da casca
FRP	Força para a ruptura da polpa
g	Gramas
GA	Giberelina
ha	Hectare
HCl	Ácido clorídrico
HF	Horas frio

H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
ICV	Índice de cor vermelha
JA	Jasmonatos
K	Potássio
kg	Quilograma
L	Litro
M	Molar
mM	Milimolar
m	Metros
Mg	Magnésio
mg	Miligrama
mL	Mililitro
N	Nitrogênio
N	Newton
NaOH	Hidróxido de sódio
NBT	azul de p-nitro tetrazólio
O	Oeste
O_2	Oxigênio
O_2^-	Radical superóxido
p	Probabilidade
POD	Enzima peroxidase
pH	Potencial de hidrogênio
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfônico
RS	Estado do Rio Grande do Sul

S	Sul
s	Segundos
SA	Ácido salicílico
SC	Estado de Santa Catarina
SS	Sólidos solúveis
SOD	Enzima superóxido dismutase
t	Toneladas
TCA	Ácido tricloroacético
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
UR	Umidade relativa do ar
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UV	Ultravioleta
µ	Micro
λ	Comprimento de onda
ηmol	Nanomolar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 27

2 MATERIAL E MÉTODOS 35

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 43

3.1 FUNCIONALIDADE DO XILEMA E COMPOSIÇÃO MINERAL DOS FRUTOS 43

3.2 FATORES RELACIONADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO E ATRIBUTOS DE QUALIDADE DOS FRUTOS 55

4 CONCLUSÕES 68

REFERÊNCIAS 70

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de frutas e com sua imensa diversidade de climas e de solos, possui condições favoráveis para a produção de uma ampla quantidade de frutas tropicais, subtropicais e temperadas (FACHINELLO; NACHTIGAL; KERSTEN, 2008).

Apesar da grande expressividade de frutíferas de clima tropical e subtropical, a produção de frutas de clima temperado possui posição de destaque, sendo distribuída em cerca de onze estados brasileiros (FACHINELLO et al., 2011). No entanto, a grande parcela produtiva se encontra na região Sul do país, nos Estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná.

A cultura da macieira (*Malus domestica* Borkhausen) é a frutífera mais cultivada, dentre as espécies de clima temperado, pertence à família Rosaceae, subfamília Pomoideae, gênero Malus e espécie *Malus x domestica*, é uma espécie de fruteira lenhosa e decídua (EMBRAPA, 2013). Desde o início de seu cultivo há mais de três décadas, a produção de maçãs vem crescendo, especialmente as cultivares Gala, Fuji e seus clones, que possuem grande aceitação nacional e internacional. Isso possibilitou que o Brasil deixasse de ser importador, passando a ser um exportador de maçãs (FACHINELLO; NACHTIGAL; KERSTEN, 2008).

A cadeia produtiva da maçã possui inserção destacada no cenário da fruticultura brasileira, o que lhe confere inquestionável importância na cadeia agroalimentar do país (BITTENCOURT et al., 2011). Segundo Kist (2015), a macieira possui graduais avanços alcançados em organização, pesquisa e tecnologia, sendo produzida em larga escala em regiões de elevada altitude do Rio Grande do Sul, de Santa Catarina e também do Sul do Paraná.

Em 2016 a produção de maçã chegou a 1.064.708 toneladas, em uma área colhida de 34399 hectares, sendo que a região Sul possui a maior área participativa da produção de macieira, totalizando 98,8%, com o Estado do Rio Grande do Sul possuindo uma participação de 45,6% do total Nacional (IBGE, 2016).

O principal critério para o zoneamento climático da macieira no Rio Grande do Sul foi o acúmulo de frio hibernal, que deve ser de 600 HF ou mais, para que uma região seja considerada preferencial para cultivo (CARDOSO et al., 2012). O polo gaúcho de Vacaria tornou-se realidade em vista da sua topografia, da altitude e do

clima adequados para pomares de grande porte, ao lado da concessão de incentivos governamentais (KIST, 2015).

O município de Vacaria conta com um total de 68 produtores, sendo o principal produtor de maçã no Estado do Rio Grande do Sul, contando com uma área total de cultivo de 6.638,20 ha, sendo que 4.053,72 ha são destinados a clones de ‘Gala’ (AGAPOMI, 2017).

Na cultivar Gala destacam-se os clones ‘Royal Gala’, ‘Imperial Gala’ e ‘Galaxy’, que apresentam coloração mais vermelha dos frutos e tem bastante aceitação no mercado consumidor (SEBRAE, 2016). A Embrapa (2010) descreve o clone ‘Galaxy’, utilizado neste estudo, como tendo frutos atrativos, de coloração vermelha mais intensa que ‘Royal Gala’, ‘Imperial Gala’ e ‘Gala Real’. O clone ‘Galaxy’ originou-se na Nova Zelândia, tendo qualidade padrão para os clones do grupo ‘Gala’, apresentando vigor médio sobre porta-enxertos M-9 e Marubakaido com interenxerto de M-9.

Apesar da alta produção e tecnificação da cadeia produtiva da maçã no país, ainda se tem perdas pré e pós-colheita, ocasionadas por fatores diversos (SESTARI, 2006). Sestari (2006), afirma ainda que as perdas pós-colheita em maçãs são superiores a 20%, dependendo de uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos aos frutos. Conforme a Associação Brasileira de Produtores de Maçã (2004), quase toda a produção de maçãs é destinada ao armazenamento refrigerado e parte em atmosfera controlada (AC), para que a fruta seja oferecida ao consumidor o ano inteiro. Contudo, é necessário a manutenção da qualidade destes frutos durante esse período, evitando perdas. Desta forma, busca-se alternativas para fortalecer ainda mais a cadeia produtiva da maçã, a fim de melhorar a qualidade dos frutos, possibilitando reduzir perdas em pré e pós-colheita dos frutos, bem como, propiciar a manutenção da qualidade dos frutos durante a frigoconservação. A aplicação de fitormônios, como auxina e brassinosteroide pode ter viabilidade, trazendo benefícios aos aspectos qualitativos dos frutos.

Os hormônios são mensageiros químicos, produzidos em uma célula, que modulam os processos celulares em outra célula, interagindo com proteínas específicas que funcionam como receptores ligados a rotas de transdução de sinal. Como em células animais, a maioria dos hormônios é sintetizada em um tecido e age, em concentrações extremamente baixas, sobre sítios-alvo específicos em outros tecidos, bem como nos tecidos onde são produzidos (TAIZ; ZIEGER, 2013).

De acordo com Hawerroth et al. (2016), os reguladores de crescimento podem ser utilizados em diversas situações na fruticultura de clima temperado, tais como: micropropagação, formação de mudas, indução da brotação, aumento da densidade floral, aumento da frutificação efetiva, raleio de flores e frutos, controle do desenvolvimento vegetativo, aumento do calibre dos frutos, antecipação e retardo na maturação, diminuição da queda pré-colheita, aumento da capacidade de conservação dos frutos, redução da ocorrência de distúrbios fisiológicos e na melhoria da qualidade geral dos frutos.

Os fitormônios são classificados em auxinas (Axs), giberelinas (GAs), citocininas (CKs), etileno (Et), ácido abscísico (ABA), jasmonatos (JAs), brassinosteroides (BRs) e ácido salicílico (SA) (PELEG; BLUMWALD, 2011).

Dentre os fitormônios destacam-se as auxinas, produzidas especialmente em locais de crescimento ativo nas plantas, como os meristemas, gemas axilares e folhas jovens, havendo também sua síntese em folhas adultas (TAIZ; ZIEGER, 2013). O transporte dessas substâncias ocorre do ápice do caule ou de outro órgão para a base da planta. Em geral, as principais auxinas são o ácido indolacético (AIA), o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftalenoacético (ANA) e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (FACHINELLO; NACHTIGAL; KERSTEN, 2008). Essas substâncias têm em comum a capacidade de atuar na expansão e no alongamento celular, ajudando também na divisão celular em cultura de tecidos, principalmente no enraizamento (KRIKORIAN, 1991).

A aplicação de auxinas de forma exógena em maçãs foi estudada por Devoghalaere et al. (2012), que observaram que estes fitormônios são capazes de aumentar o tamanho dos frutos, comprovando, pelo menos em parte, que as auxinas são fatores limitantes no controle da expansão celular.

A auxina é um hormônio sintetizado em estruturas em desenvolvimento, apresenta transporte polar e basípeto e atua na regulação do desenvolvimento dos frutos e na indução e diferenciação de elementos de vasos de xilema (TAIZ; ZEIGER, 2013). Dessa forma, a indução da xilogênese pela auxina pode aumentar o aporte de cálcio (Ca) aos frutos e contribuir com a manutenção da qualidade dos mesmo.

Outra classe de fitormônio que vem ganhando destaque são os brassinosteroides (BRs), amplamente distribuídos no reino vegetal. Podem ser encontrados em diversas partes das plantas (folhas, raízes, pólen, frutos), em maior

ou em menor concentrações. É considerado um novo hormônio vegetal, com alta atividade fisiológica e que desempenha importante função na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas. Além disso, este hormônio aumenta a frutificação, atividade dos antioxidantes, mantém a qualidade dos frutos (ZHAO-QU; LIU; XIA, 2007), induz a diferenciação dos vasos do xilema (NAGATA; ASAMI; YOSHIDA, 2001) e protege as plantas e os frutos contra estresses bióticos e abióticos (LIU et al., 2009).

Os BRs isolados de pólen foram originalmente descobertos como substâncias promotoras de crescimento, sendo os seus efeitos como fitormônios confirmados em estudos de fotomorfogênese (TAIZ; ZEIGER, 2013). São hormônios esteroides envolvidos em vários aspectos do crescimento e desenvolvimento vegetal, tais como divisão e expansão celular, diferenciação vascular, crescimento de raiz, resposta à luz, resistência ao estresse e senescência (KIM; WANG, 2010), estão distribuídos em todo o reino vegetal, e caracterizam-se, por possuírem uma estrutura química esteroidal e por estimularem a divisão e o alongamento celular nos tecidos jovens da planta (FUJIOKA; SAKURAI, 1997).

Atualmente, são conhecidos e caracterizados mais de 50 tipos de BRs, sendo brassinolídeo e catasterona os mais abundantes e de mais ampla distribuição (BAJGUZ, 2011; MAZORRA; NÚÑEZ, 2008; ORTEGA-RODÉS et al., 2003). Os BRs são sintetizados a partir de campesterol e silosterol, encontrados em abundância nas membranas vegetais, e colesterol, presente em níveis relativamente baixos. De forma simplificada, na rota de biossíntese dos BRs, o esterol campesterol é inicialmente convertido em campestanol, duas rotas o convergem para catasterona (CS), e esta é convertida em brassinolídeo (BL) (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Pesquisas revelaram que algumas das respostas induzidas pelas plantas através da utilização dos BRs são a ativação da fotossíntese, ativação de bombas de prótons, regulação da assimilação e alocação de carboidratos, promoção do alongamento e divisão celular, aumento da diferenciação dos elementos traqueais, promoção da síntese de etileno, dentre outros (BAJGUZ, 2011; GODA et al., 2004; NAKAMURA et al., 2003). Para Müssig e Altmann (2002), o principal efeito de promoção do crescimento através do uso dos BRs é a estimulação do alongamento celular.

Utilizando o BR sintético DAA-6 (BIOBRAS-6) em cana-de-açúcar, Ortega-Rodés et al. (2003) perceberam que com concentrações de 10^{-6} molar, o

crescimento das raízes aumentou em mais de 460%. Observaram também, que a aplicação deste BR propiciou o incremento no tamanho dos caules. Porém, em concentrações maiores de 10^{-6} molar houve queda no estímulo de crescimento e em níveis abaixo deste, não houve estímulo.

Realizando o tratamento de *Arabidopsi*s com o ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano *(*ACC) em associação ao epibrassinolídeo (EBR), De Grauwe et al. (2005) perceberam aumento na diferenciação dos feixes vasculares do hipocótilo. Aplicação exógena de BRs em *Arabidopsis* promoveu a expressão de uma série de genes responsáveis pela expansão celular e crescimento de plantas (MÜSSIG; ALTMANN, 2002).

Segundo Taiz e Zeiger (2013), os BRs estão envolvidos em uma grande diversidade de processos de desenvolvimento, que incluem desenvolvimento de fibra no algodão, desenvolvimento de raízes laterais, manutenção da dominância apical, diferenciação vascular e crescimento do tubo polínico. Algumas pesquisas apontam que existe interação entre BRs e auxinas, ambos modulando a expressão de genes envolvidos nos mesmos processos fisiológicos (NEMHAUSER; MOCKLER; CHOR, 2004).

De acordo com Taiz e Zeiger (2013), a auxina e os BRs parecem aumentar o crescimento dos tecidos da parte aérea de maneira sinérgica e interdependente, indicando que cada hormônio necessita da presença do outro para a atividade ótima. Os BRs também aumentam o transporte de auxina e estimulam o crescimento da raiz lateral, bem como o crescimento diferencial em resposta ao gravitropismo.

O modelo atual sugere que os BRs promovem parcialmente o desenvolvimento da raiz lateral por influência do transporte polar da auxina. O tratamento com BR promove o transporte acrópeto da auxina, o qual é necessário para o desenvolvimento de raízes laterais (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A sinalização da auxina funciona em cada aspecto do crescimento e desenvolvimento dos vegetais. Evidencia-se que o transporte de auxina é um determinante primário na diferenciação vascular. Em vegetais lenhosos perenes a auxina estimula a ativação do câmbio, na direção basípeta. A diferenciação vascular em alguns tecidos envolve interações da auxina com outros hormônios. Os BRs são hormônios também envolvidos na divisão e expansão celular e na diferenciação do xilema durante o desenvolvimento vascular (TAIZ; ZEIGER, 2013). A aplicação

exógena de BRs e auxina podem promover o aumento da funcionalidade do xilema e do aporte de Ca para o fruto (GODA et al., 2004; De GRAUWE et al., 2005).

O Ca é transportado via xilema para os frutos, e à medida que estes desenvolvem, ocorre uma progressiva disfunção dos vasos do xilema, acarretando a uma distribuição irregular de nutrientes, principalmente do Ca. No entanto, o floema, vaso condutor de outros elementos móveis, como potássio (K), magnésio (Mg) e nitrogênio (N), se mantém intacto, o que pode garantir o transporte desses minerais durante o desenvolvimento dos frutos, causando desequilíbrio com o Ca (DRAŽETA et al., 2004; MIQUELOTO et al., 2011). Portanto, a aplicação de BRs e auxina pode favorecer a funcionalidade dos vasos de xilema, mantendo o aporte de Ca aos frutos, reduzindo o desequilíbrio nutricional, mantendo a composição mineral do fruto adequada durante o ciclo. Além disso, a aplicação exógena desses fitormônios pode ter efeitos sobre o estresse oxidativo e mecanismo de defesa dos frutos. O estresse oxidativo ocorre quando a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) excede a capacidade da planta para manter a homeostase celular, ou quando a produção de EROs excede a capacidade da planta para eliminá-las (HODGES, 2003; HEINZEN, 2016).

Conforme Karuppanapandian et al. (2011), o oxigênio molecular (O_2) é necessário para o desempenho das funções celulares. O O_2 inevitavelmente leva à formação de EROs em eventos metabólicos que ocorrem, principalmente, nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é a principal EROs produzida que aciona moléculas para a indução de genes de defesa e a polimerização de proteínas que compõe a parede celular, além de estimular a produção de enzimas antioxidativas ou de limpeza (ŁUKASIK; GOŁAWSKA; WÓJCICKA, 2012).

As EROs ocasionam a peroxidação de ácidos graxos polinsaturados dos fosfolipídeos das membranas das células, desintegrando-as. O dano às membranas é tomado como parâmetro para determinar o nível de destruição de lipídeos sob vários estresses (KUSS, 2005). A peroxidação lipídica ocorre quando níveis de EROs se elevam acima de um limiar, assim, não só afetando diretamente o funcionamento celular normal, mas também agrava o estresse oxidativo através da produção de radicais derivados de lipídeos (GILL; NARENDRA, 2010). A fosfolipase, ativada pelas espécies tóxicas, desintegra os fosfolipídeos, liberando os ácidos graxos não saturados (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989), causando ações

deletérias dos peróxidos lipídicos, como elucidado por Kuss (2005), levando a formação de resíduos químicos como o malondialdeído (MDA).

Uma vez produzidos, a maior parte dos radicais livres são removidos pelas defesas antioxidantes da célula que incluem enzimas e moléculas não enzimáticas. A manutenção do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes é uma condição essencial para o funcionamento normal da célula (VALKO et al., 2007).

Segundo Flores et al. (2014), “para que a célula não se deteriore por intoxicação, elas possuem eficiente mecanismo de enzimas removedoras de EROs”. De acordo com Nkang, Omokaro e Egbe (2000), as enzimas removedoras de radicais livres (glutationa redutase, superóxido dismutase, catalase e peroxidase) podem reduzir os produtos tóxicos derivados do ataque de radicais livres, antes que os danos ocorram.

As enzimas superóxido dismutase (SOD) tem um papel importante na ajuda e eliminação dos radicais livres. As enzimas SOD são as primeiras que atuam na defesa do organismo contra as EROs. As peroxidases de plantas aumentam em resposta a vários estresses bióticos e abióticos, participam no catabolismo de auxinas e em processos de síntese de parede celular, como a oxidação de fenóis (SYROS et al., 2004). A remoção de H_2O_2 por peroxidases requer uma pequena molécula redutora (ou proteínas como o citocromo c ou tioredoxina), para agir como um cofator de regeneração e não leva à evolução de O_2, porque a água é o produto da reação (MHAMDI; NOCTOR; BACKER, 2012).

É importante verificar a atividade antioxidante total do tecido, bem como, os compostos fenólicos que estão relacionados principalmente com a proteção, pois na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010). De acordo com Imeh e Khokhar (2002), em função da elevada atividade antioxidante que os compostos fenólicos possuem, eles podem atuar sobre o estresse oxidativo.

A auxina e os BRs podem atuar nos mecanismos de defesa, aumentando a atividade enzimática e a atividade antioxidante. Além disso, é relevante constatar seus efeitos em relação aos atributos físico-químicos dos frutos, como a textura, a firmeza da polpa, o índice de degradação do amido, o teor de sólidos solúveis, a acidez titulável e o índice de cor de fundo da epiderme, além do metabolismo respiratório.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de ácido naftalenoacético (ANA – uma auxina) e de catasterona (um BR) na diferenciação e funcionalidade dos vasos do xilema, na composição mineral, na atividade de enzimas envolvidas no estresse oxidativo, na atividade antioxidante e no teor de compostos fenólicos, bem como nos atributos físico-químicos de maçãs ‘Galaxy’.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em um pomar comercial no município de Vacaria, no Estado do Rio Grande do Sul (coordenadas geográficas 28º 28' 11,50" S e 50º 48' 47,12" O), altitude de 946 m) utilizando macieiras da cultivar Gala, clone 'Galaxy', sobre porta-enxerto 'Marubakaido' com filtro de M9 (20 cm), com 9 anos de idade, conduzidas em líder central e espaçamento 4 x 0,72 m, cobertas com tela antigranizo de coloração preta, malha 7 x 4 mm.

Macieiras 'Galaxy' foram submetidas a aplicacões no pedúnculo dos frutos, com auxílio de um pincel, utilizando um volume de 300 µL pedúnculo^{-1} de ácido naftaleno acético (ANA 0,1%), catasterona (10^{-6} M) e a combinação de catasterona (10^{-6} M) + ANA (0,1%), além do tratamento controle (água destilada). As aplicações foram realizadas a cada 15 dias, no período compreendido entre os 40 a 127 dias após a plena floração (DAPF), nas safras 2015/2016 e 2016/2017.

Após os 40 DAPF, foi realizada avaliação de funcionalidade do xilema a cada 15 dias até os 127 DAPF, e aos 80, 97 e 136 DAPF foi realizada análise dos teores de cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e nitrogênio (N) totais, na safra 2015/2016. Na colheita comercial (136 DAPF), nas safras 2015/2016 e 2016/2017, os frutos foram avaliados quanto a massa fresca, comprimento, diâmetro, cor da epiderme, índice de cor vermelha (ICV), índice de iodo-amido, firmeza de polpa, textura (forças para ruptura da casca e penetração da polpa), taxas respiratória (produção de CO_2) e de produção de etileno (C_2H_4), acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante total (AAT; pelo método ABTS), antocianinas, atividade enzimática da peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD), e de espécies reativas de oxigênio (EROs) para peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxidação de lipídios. Nas avaliações realizadas nas duas safras, são apresentados os resultados médios de ambas.

Para avaliação da funcionalidade do xilema nos frutos foi utilizada a técnica de infusão de corante, seguindo metodologia descrita por Dražeta et al. (2004). Doze frutos por tratamento foram colhidos em intervalos quinzenais, dos 40 aos 127 DAPF. Estes foram acondicionados em sacos de polietileno contendo água destilada para evitar a embolia do xilema e transportados ao laboratório para a determinação da massa fresca e funcionalidade do xilema. A funcionalidade do xilema foi

examinada após imersão da base dos frutos em um pequeno recipiente contendo fucsina ácida 1% (Figura 1).

Figura 1 - Técnica de infusão do corante, utilizada para avaliação da funcionalidade do xilema em maçãs ‘Galaxy’ tratadas com água destilada (controle), ácido naftaleno acético (ANA), catasterona (brassinosteroide) e ANA + catasterona.

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

A base do pedúnculo de cada fruto foi seccionada com um estilete, seguido de imediata imersão em solução de corante. O corante foi infiltrado nos frutos por meio do pedúnculo durante aproximadamente 15 horas, em condições normais de transpiração (temperatura de 20 a 25°C e umidade relativa do ar de 60 a 70%), com a utilização de um ventilador para remover os efeitos da camada limítrofe do ar. Os frutos infiltrados foram cortados transversalmente, formando discos de tecidos de 20 mm de espessura, a partir do cálice, e visualmente avaliados quanto ao número e distribuição dos feixes vasculares corados (Figura 2).

Figura 2 - Frutos de maçãs 'Galaxy' cortados transversalmente e visualmente avaliados quanto ao número e distribuição dos feixes vasculares corados, nas partes proximal mediana e distal.

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os frutos foram avaliados quanto aos teores totais de Ca, Mg, K e N, somente na casca e na polpa, na seção distal.

O N foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl, via digestão úmida do tecido, seguindo a metodologia descrita por Tedesco et al. (1995). Para determinação de Ca, Mg, K totais, as amostras foram submetidas ao processamento em uma multiprocessadora de alimentos, marca Phillips Wallita, modelo RI 7625, e homogeneizados com auxílio de um mixer (modelo Braun Multiquick MR40). Pesou-se 5 g da amostra em cadinhos de porcelana M-2, que foram submetidos ao forno mufla, a 600 °C por 5h, para calcinação do tecido. Às cinzas, adicionou-se 15 mL de solução de ácido clorídrico (1,8 N), formando o extrato original.

Para a determinação de Ca total, retirou-se uma alíquota de 3 mL do extrato original e se adicionou 3 mL de lantânio, conforme metodologia descrita por Tedesco et al. (1995), efetuando a leitura em equipamento de absorção atômica (modelo AAnalyst 200). Para Mg total, utilizou-se 2 mL do extrato original adicionados a 10 mL de água destilada. Desta solução, retirou-se 3 mL, seguindo a mesma metodologia descrita para a determinação de Ca. Para o K, 1 mL do extrato original foi adicionado a 7 mL de água destilada e as amostras lidas em fotômetro de chama (Digimed DM-61).

A quantificação da peroxidação de lipídeos nas membranas celulares foi realizada seguindo a metodologia descrita por Heath e Packer (1968), com algumas modificações, na colheita dos frutos. Para isso, 0,3 g de tecido da polpa dos frutos

foi macerado em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA; 0,1%), colocados em tubos eppendorf e centrifugados a 10.000 rpm em uma centrífuga Hitachi, modelo CR 22N, (Hamburgo, Alemanha) por 15 minutos a 4 °C. Em seguida, foi retirada uma alíquota de 350 µL do sobrenadante e adicionado em eppendorf contendo 1,5 mL de TCA (20%) e 0,5% de ácido tiobarbitúrico (MERCK, Darmstadt, Alemanha). As amostras foram incubadas por 25 minutos à temperatura de 90-95 °C e, em seguida, acondicionadas em gelo para deter a reação. Após isso, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos. Finalmente, 350 µL da amostra foi depositada em placas de Elisa para a leitura da absorbância em comprimentos de onda de 400, 532 e 600 nm, com auxílio de um leitor de microplacas (modelo EnSpire, PerkinElmer, EUA). Para a prova em branco foi utilizado 500 µL de TCA (0,1%). A determinação da integridade de membrana foi expressa em $nmol.g^{-1}$ MF de malondialdeído (MDA) formado (peroxidação de lipídeos).

As atividades da peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) foram determinadas de acordo com o método proposto por Kar e Mishra (1976) e Del Longo et al. (1993), respectivamente, com modificações. Para obtenção do extrato enzimático da POD e SOD foram utilizados 0,3 g do tecido da polpa previamente triturado em nitrogênio líquido foi macerado em 3 mL do meio de extração, composto de tampão fosfato de potássio 0,1 M (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM (Dinâmica, Diadema, Brasil) e fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM (SIGMA, St. Louis, EUA). O extrato foi acondicionado em eppendorfs, seguido de centrifugação a 10000 rpm, a temperatura de 4 ºC, por 15 minutos, com auxílio de uma centrífuga Hitachi, modelo CR 22N, (Hamburgo, Alemanha). Em todas as etapas as amostras foram mantidas em gelo picado para deter a reação.

A atividade da POD foi determinada pela adição de 600 µL do extrato enzimático em um tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, guaiacol 20 mM e H_2O_2 20 mM. O decréscimo na absorbância a 420 nm, na temperatura de 25 °C, foi medida durante 1 minuto da reação, com auxílio de uma leitora de microplacas modelo EnSpire (PerkinElmer, EUA), e a atividade expressa em µmol min^{-1} mg^{-1} de proteína. Para a SOD retirou-se uma alíquota de 50 µL do sobrenadante, acondicionando-o em banho de gelo, no qual adicionado a 2,95 mL do meio de reação, composto de tampão de fosfato de sódio 50 mM (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), pH 7,8, metionina 13 mM (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), azul de p-nitro

tetrazólio (NBT) 75 µM (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), EDTA 0,1 mM (Dinâmica, Diadema, Brasil) e riboflavina 2 µM (Vetec, Duque de Caxias, Brasil). A reação foi conduzida na temperatura de 25 °C, em uma câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15W, mantida no interior de uma caixa fechada. Após 10 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e o composto azul produzido pela redução do NBT foi quantificado no comprimento de onda de 560 nm, utilizando uma leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, EUA) e a atividade expressa em µmol min^{-1} mg^{-1} de proteína.

Para a quantificação de compostos fenólicos totais (CFT) e da atividade antioxidante total (AAT) foram obtidos extratos, utilizando-se amostras maceradas em nitrogênio líquido, sendo 5 g e 2,5 g de polpa e casca, respectivamente. As amostras foram homogeneizadas com 10 mL metanol (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) 50%, com o auxílio de ultraturrax Heidolph, modelo D-91126 (Schwabach, Alemanha), permanecendo em repouso por 1 hora, seguido de centrifugação a 10000 rpm, a temperatura de 4 ºC, por 10 minutos, em centrífuga Hitachi, modelo CR 22N, (Hamburgo, Alemanha). Realizou-se a filtragem do sobrenadante, e ao precipitado adicionou-se 10 mL de acetona 70% (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), seguido de homogeneização com auxílio de ultraturrax Heidolph, modelo D-91126 (Schwabach, Alemanha), deixando-se repousar por 1 hora, seguido de centrifugação a 10.000 rpm, a temperatura de 4 ºC, por 10 minutos, em centrífuga Hitachi, modelo CR 22N, (Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi colocado para filtração juntamente com o anterior, e o volume completado para 25 mL com água destilada. Deste extrato efetuou-se as análises de CFT e AAT.

A determinação de CFT foi realizada empregando o reagente Folin-Ciocalteau. A curva padrão foi obtida com ácido gálico (BIOTEC, Pinhais, Brasil), nas concentrações de 0, 10, 30, 50, 70, 90 e 100 ppm. Para análise foram adicionados 2,5 mL de Folin-Ciocalteau (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, EUA) (1:3), 0,5 mL de amostra diluída (1:20) e 2,0 mL da solução de carbonato de sódio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) 10%. Os tubos foram agitados em vortex e incubados por uma hora em ausência de luz. Realizou-se a leitura da absorbância no comprimento de onda (λ) de 765 nm em leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, EUA). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de massa fresca da amostra (mg EAG.100 g^{-1} MF).

A determinação da AAT foi baseada na extinção da absorção dos radicais ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico). O radical foi gerado a partir da reação da solução estoque de ABTS (7 mM) com o persulfato de potássio (140 mM), mantido no escuro por 16 h, a 20ºC. Antes da análise, o radical ABTS foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorbância de 0,70 (±0,05) no λ=734 nm. A partir do extrato hidroalcoólico, foram preparadas, em tubos falcon de 15 mL, três diluições diferentes, em triplicata. Foram transferidas alíquotas de 30 µL de cada diluição do extrato para tubos com 3,0 mL do radical ABTS, e homogeneizadas em agitador de tubos. A leitura foi realizada após reação de 6 minutos em leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, EUA) no λ=734 nm, e os resultados expressos em µmol de equivalente Trolox g^{-1} de massa fresca.

A quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), na avaliação de EROs, foi feita de acordo com o método proposto por Gay, Collins e Gebicki (1999) e Hermes-Lima, Willmore e Storey (1995), com modificações. Um grama da amostra foi macerado em nitrogênio líquido e homogeneizado em 10 mL de metanol (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) a 0 °C, com auxílio de ultraturrax Heidolph, modelo D-91126 (Schwabach, Alemanha). Após a completa homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm, a temperatura de 4 ºC, por 10 minutos, com auxílio de uma centrífuga Hitachi, modelo CR 22N (Hamburgo, Alemanha). Em seguida, retirou-se uma alíquota de 35 µL do sobrenadante, à qual foi adicionada a placa de Elisa contendo 500 µL de sulfato de amônio ferroso [$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$] 1 Mm (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e 200 µL de ácido sulfúrico [H_2SO_4] 250 mM (MERCK, Darmstadt, Alemanha), que permaneceu em reação por 5 minutos no escuro. Em seguida adicionou-se 100 µL de xylenol laranja 1 mM (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, EUA) e a mistura foi mantida no escuro por 20 minutos, quando então procedeu-se à leitura da absorbância das amostras no λ=560 nm em leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, EUA). As leituras foram comparadas com uma curva padrão com concentrações conhecidas de peróxido de hidrogênio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e os resultados expressos em µmol g^{-1} de massa fresca.

As antocianinas totais (ANT) foram determinadas conforme metodologia adaptada por Fuleki e Francis (1968). Para determinação de ANT, foi utilizado 5,0 g de amostra de casca, adicionado a 15 mL de etanol/água destilada (95:5, v/v),

acidificado com etanol/ácido clorídrico (HCl, 1,5 N) (85:15, v/v). As amostras foram homogeneizadas em ultra turrax, marca Heidolph, modelo D-91126 (Schwabach, Alemanha), mantidas durante 24 h a 4 °C, e posteriormente centrifugadas durante 20 min a 12.880 g, a 4 °C, em uma centrífuga Hitachi, modelo CR 22N, (Hamburgo, Alemanha). Foi transferido 2 mL do sobrenadante para um balão volumétrico e completado o volume para 50 mL com o solvente extrator. As leituras foram realizadas em leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, EUA), no λ=535 nm. A ANT foi expressa em mg cianidina 3-glicosídeo por 100 g de massa fresca (mg cianidina 3-glicosídeo 100 g^{-1} MF).

As determinações das taxas respiratórias (nmol de CO_2 kg^{-1} s^{-1}) e de produção de etileno (nmol de C_2H_4 kg^{-1} s^{-1}) foram realizadas em uma subamostra de aproximadamente 1.000 g de frutos, retirada de cada amostra, a qual foi acondicionada em recipientes de 4.100 mL, hermeticamente fechados, por 30 minutos. Após, foram coletadas três amostras da atmosfera do espaço livre, com seringas plásticas de 1 mL, e o volume de gás imediatamente injetado em um cromatógrafo a gás Varian®, modelo CP-3800 (Palo Alto, CA, EUA), equipado com uma coluna de aço inox 1/8” de 3,0 m de comprimento, preparada com Porapak N80/100, um metanador e um detector de ionização de chama. As temperaturas da coluna, detector, metanador e injetor foram de 45, 120, 300 e 110 °C, respectivamente. Os fluxos de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético foram de 70, 30 e 300 mL min^{-1}, respectivamente.

A massa fresca de 12 frutos por tratamento foi aferida em uma balança digital de precisão (0,0001g), modelo GE1302, marca Sartorius. Os valores de comprimento e diâmetro de 20 frutos por repetição foram quantificados com o uso de um paquímetro universal, série 125, exatidão 0,003 – 0,002 mm (Starrett, Itu, São Paulo, Brasil).

A cor de fundo da epiderme foi determinada com base nos parâmetros *L* (*lightness*), *C* (croma) e *h*˚ (ângulo 'hue') obtidos com um colorímetro Minolta®, modelo CR 400 (Konica, Tóquio, Japão). O *L* permite detectar as tonalidades da cor (valores baixos correspondem à coloração escura e valores altos à coloração clara da epiderme dos frutos), *C* expressa a saturação da cor (0= cinza e 60= cores vivas) e o *h*˚ define a coloração básica (0° = vermelho, 90° = amarelo e 180° = verde). As leituras foram realizadas em dois pontos opostos na região equatorial dos frutos, nos lados mais e menos expostos à radiação solar. O índice de cor vermelha (ICV) foi

determinado pela avaliação da superfície dos frutos recoberta com coloração vermelha, à qual foram atribuídas notas de 1 a 4 para as percentagens da superfície dos frutos pigmentada de vermelho de 0–25, 26–50, 51–75 e 76–100%, respectivamente (STEFFENS et al., 2006).

O índice de iodo-amido foi avaliado através da submersão da parte proximal do fruto (cortado transversalmente na região equatorial) em solução composta de iodeto de potássio e iodo metálico, sendo avaliados em uma escala de 1 (muito amido) a 5 (pouco amido).

A firmeza de polpa (N) foi determinada na região equatorial dos frutos, com auxílio de um penetrômetro eletrônico (GÜSS Manufacturing Ltd., África do Sul), equipado com ponteira de 11 mm de diâmetro, em dois lados opostos, onde foi retirada, previamente, uma pequena porção da epiderme.

Os atributos de textura (N) foram avaliados quanto às forças para ruptura da epiderme e para penetração da polpa. Estas análises foram realizadas com um analisador de textura modelo TAXT-Plus® (Stable Micro Systems Ltda, Surrey, Reino Unido). Para a quantificação da força para ruptura da epiderme e para a penetração na polpa foi utilizada uma ponteira, modelo PS2, com 2 mm de diâmetro, sem remoção da epiderme, a qual é introduzida na polpa a uma profundidade de 5 mm com velocidades pré-teste, teste e pós-teste de 30, 5 e 30 mm s^{-1}, respectivamente.

A AT (% ácido málico) foi determinada em amostra de 10 mL de suco dos frutos, previamente extraído de fatias transversais retiradas da região equatorial de maçãs e triturado em uma centrífuga elétrica. Esta amostra foi diluída em 90 mL de água destilada e titulada com solução de NaOH 0,1 N até pH 8,1, utilizando um titulador automático TitroLine Easy® (Schott Instruments, Mainz, Rheinland-Pfalz, Alemanha). Os teores de SS (%) foram determinados com auxílio de um refratômetro digital (modelo PR201α, Atago, Tókio, Japão), utilizando-se o suco extraído conforme descrito para AT, com correção do efeito da temperatura (20 °C).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com 4 tratamentos, 5 repetições, cada repetição constituída de 4 plantas, sendo as aplicações realizadas em 50 frutos por planta. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software estatístico SAS, versão 9.1 (SAS INSTITUTE, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

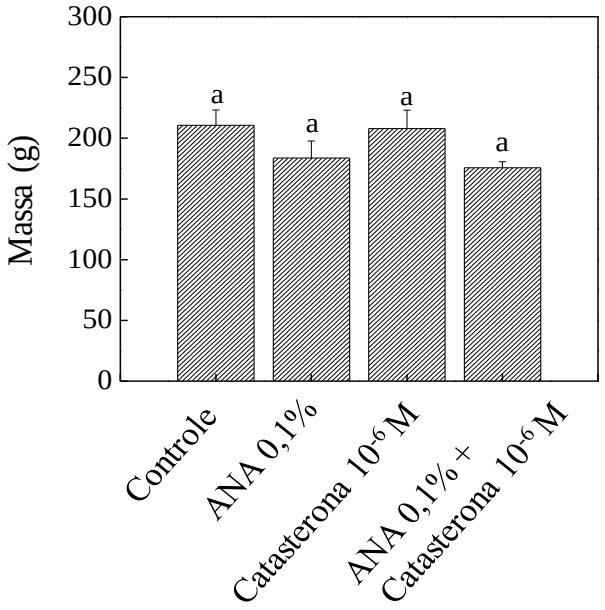
3.1 FUNCIONALIDADE DO XILEMA E COMPOSIÇÃO MINERAL DOS FRUTOS

A massa fresca na colheita comercial (136 DAPF) dos frutos tratados com ácido naftaleno acético (ANA), catasterona e ANA + catasterona foi similar ao controle (Figura 3).

O aumento da massa fresca dos frutos ou aumento do tamanho ocorre inicialmente pelo aumento no número células e, posteriormente, pelo acúmulo de matéria seca e água nos frutos, com o alongamento das células (LAKSO; GOFFINET, 2013). O número de células dos frutos é determinado nos primeiros 30 dias de desenvolvimento pelo processo de divisão celular (LAKSO; GOFFINET, 2013). Esse processo consiste em uma série de alternâncias de fases, como a replicação do DNA (fase S) e a mitose (fase M), intercaladas pelas fases G1 e G2 da interfase. As proteínas ciclinas (cyclin D3-CyD3) são responsáveis por ativar as ciclinas CDK/a e CDK/b, que controlam as transições de G1 para S e de G2 para M (HU; BAO; LI, 2000). Neste sentido, os BRs e auxinas promovem um aumento nos níveis dos transcritos de CyD3 e CDK/a, o que pode aumentar o processo de divisão celular (HU; BAO; LI, 2000) nas fases iniciais de desenvolvimento dos frutos. Contudo, como a catasterona e ANA foram aplicados a partir dos 40 DAPF, esses hormônios não promoveram o aumento da massa fresca (tamanho) dos frutos, provavelmente porque eles não foram capazes de induzir um aumento nos níveis dos transcritos e na atividade das proteínas CyD3 e CDK/a.

Scarpella et al. (2002), Laffont et al. (2010), Atkinson e Elsen (2012), explicam que a rota de transporte de auxina polar está funcionalmente ligada à expressão gênica (na parte aérea e na raiz) por meio de regulação de fatores como a diferenciação de células procambiais, lignina e flavonoides. Estudos recentes utilizando técnicas genéticas e bioquímicas identificaram o receptor de BRs, algumas moléculas-chave de sinalização e expressão gênica relacionada a BRs (YADAV et al., 2018). A ação de ANA + catasterona em conjunto pode afetar a expressão da atividade das proteínas CyD3 e CDK/a, no entanto, estudos que avaliam a ação desses hormônios anterior aos 40 DAPF devem ser conduzidos para elucidar os efeitos desses compostos no crescimento e no acúmulo de massa fresca dos frutos.

Figura 3 - Massa fresca de maçãs ‘Galaxy’ tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (*p*<0,05). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados da safra 2015/16.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Na região proximal o controle obteve os menores valores de funcionalidade do xilema. Nas porções mediana e distal, os menores valores de funcionalidade dos vasos condutores ocorreu no tratamento ANA + catasterona (Figura 3).

Atkinson e Elsen (2012) explicam que a funcionalidade de um órgão ou meristema, através de sua capacidade de exportar auxina (fonte) via rota polar de transporte, fornece uma medida mecanicista e quantificável de "força" para atrair fotoassimilados e íons minerais.

As aplicações de ANA e catasterona isoladas apresentaram maior número de vasos de xilema nas regiões proximal, mediana e distal (Figura 4, a-c). A maior funcionalidade dos vasos condutores nestes dois tratamentos pode ser devido a xilogênese que é promovida por BRs e auxinas em plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Nakaya et al. (2002) e Choe et al. (2001) também relatam que estes hormônios são importantes para a expansão e divisão celular em partes aéreas e diferenciação do xilema durante o desenvolvimento vascular. Em *Arabidopsis thaliana*, BRs e auxinas controlam a expressão de genes responsáveis pela diferenciação de vasos do

xilema, como AtHB8 (MATTSSON; CKURSHUMOVA; BERLETH, 2003; FUKUDA, 2004). Em Plantas de *Lepdium sativa* cultivadas com brassinazole, um inibidor de BRs, apresentaram maior diferenciação de vasos do floema em detrimento ao xilema, quando comparadas ao controle (NAGATA; ASAMI; YOSHIDA, 2001). Isso demonstra que os BRs desempenham um papel importante no desenvolvimento do xilema (NAGATA; ASAMI; YOSHIDA, 2001), enquanto o inibidor de BRs reduz a diferenciação de elementos de vasos de xilema.

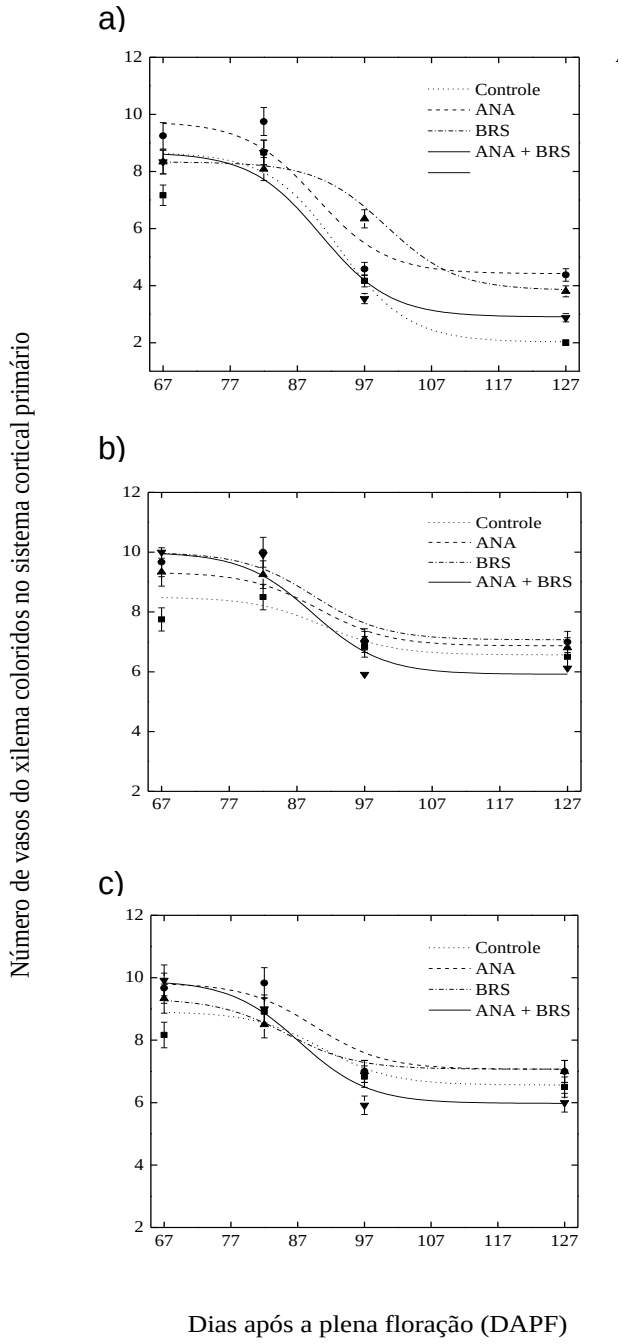
Jacobsen, Ayala e Pratt (2018) relataram que em algumas espécies, elementos de vasos dentro do xilema secundário podem levar várias semanas para se desenvolver, amadurecer e abrir antes de se tornarem hidraulicamente funcionais, muitas das transições entre os diferentes estágios do tempo de vida funcional do vaso dependem de interações com elementos vivos do xilema, particularmente células de contato no parênquima do xilema. A diferenciação de novos elementos de vasos de xilema somente ocorre no período de 40 a 100 DAPF, quando as células do procâmbio são capazes de originar esses elementos (TAIZ et al., 2017).

A capacidade das plantas de alterar a coorte de vasos funcionais hidraulicamente através da maturação de novos vasos e a oclusão de vasos é um mecanismo subvalorizado para o xilema, um tecido vivo, para responder às mudanças nas condições e requisitos hidráulicos (JACOBSEN; AYALA; PRATT, 2018). O xilema de muitas espécies frutíferas perde a funcionalidade com o desenvolvimento do fruto (DRAŽETA et al., 2004). A perda da sua função ocorre devido ao aumento no tamanho dos frutos (expansão celular), que promove uma compressão dos vasos do xilema, causando o colapso e a perda da sua funcionalidade (DRAŽETA et al., 2004). Miqueloto (2014) observou em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’, a perda da funcionalidade do xilema no sistema cortical primário e secundário, durante o período de 40 a 188 dias após a plena floração (DAPF).

Dessa forma, como a catasterona e o ANA foram aplicados durante o período de 40 a 127 DAPF, esses hormônios devem ter induzido as células do procâmbio a diferenciar novos elementos de vasos do xilema, ou contribuído para a manutenção funcional desses vasos por um maior período de tempo em relação aos frutos tratados com ANA + catasterona e o tratamento controle (Figura 4). Por outro lado, a associação de ANA + catasterona, exogenamente pode promover modificações no

balanço hormonal endógeno da planta e reduzir a diferenciação de elementos de vasos de xilema na parte distal do fruto.

Figura 4 - Número de vasos de xilema coloridos no sistema cortical primário, nas regiões a) proximal, b) mediana e c) distal de maçãs ‘Galaxy’, tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, durante o período de 40 a 127 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

As concentrações minerais de N, Ca, K e Mg total da polpa e da casca, na região distal, foram quantificadas durante o período de crescimento e desenvolvimento dos frutos (80, 97 e 136 DAPF) para todos os tratamentos (Tabelas 1 e 2).

Os frutos submetidos a aplicação com ANA aos 97 DAPF apresentaram maior teores de Ca na polpa quando comparados aos frutos tratados com ANA + catasterona e aos frutos do tratamento controle, não diferindo dos frutos que receberam aplicação de catasterona (Tabela 1). Na casca dos frutos, constatou-se diferença significativa aos 80 DAPF, em que os frutos tratados com ANA apresentaram maior teor de Ca em relação ao controle (Tabela 2). Pode ser verificado na Figura 4c que nestes mesmos períodos, os frutos tratados com ANA e catasterona, aplicados de forma isolada, apresentaram maior número de vasos de xilema funcionais na região distal.

Em experimento conduzido por Atkinson e Else (2012), observou-se que, as concentrações de N, P e K foram maiores em ramos jovens, isso sugere alocação diferencial, em relação àquela observada com o declínio nas concentrações de folhas volumosas e no conteúdo total de folhas, para Ca, Mn e Mg. Mecanisticamente, a entrega a granel de soluto de xilema, ligada ao acúmulo de íons em ramos mais jovens, pode apenas levar em conta o padrão observado com, por exemplo, Ca (ATKINSO; ELSE, 2012).

Conforme Dražeta et al. (2004) e Miqueloto et al. (2011), o Ca é transportado para os frutos através dos vasos do xilema. No entanto, o floema, vaso condutor de outros elementos, como K, Mg e N, se mantém intacto, o que pode garantir o transporte desses minerais durante o desenvolvimento dos frutos, causando desequilíbrio com o Ca. Desta forma é importante a manutenção da funcionalidade do xilema proporcionada pela aplicação de ANA e catasterona, para não reduzir o aporte de Ca aos frutos.

De acordo com Freitas et al. (2014) e Miqueloto et al. (2011), o Ca é importante para a manutenção e integridade da membrana plasmática, através das ligações iônicas com o ânion fosfato de fosfolípideos. Os autores também evidenciam que altos teores de K e Mg, pode acarretar em competição destes elementos pelos sítios de ligação do Ca na membrana plasmática. Contudo, o K e o

Mg não desempenham a mesma função de integridade de membranas que o Ca, o que provoca o colapso da membrana e a morte celular.

O Ca é um importante componente da parede celular, estando associado com os grupos carboxílicos livres da pectina, para que esta mantenha sua estrutura. Além disso, à medida que ocorre a desmetilação da lamela média, pela ação da pectinametilesterase, o Ca^{+2} volta a ligar-se, formando ligação de natureza cooperativa, assim, mantendo a firmeza do fruto (EVANGELISTA, 1999). Com isso, o Ca tem recebido atenção, nos últimos anos, não somente em relação às desordens fisiológicas, mas também por causa de seu efeito desejável nos frutos, atuando na manutenção da firmeza de polpa. No entanto, os resultados obtidos, demonstram que não houveram diferenças significativas na firmeza de polpa e atributos de textura dos frutos entre os diferentes tratamentos (Tabela 6).

De acordo com Kerbauy (2008), frutos com deficiência de Ca tem tendência a apresentar aumento nas taxas respiratórias e de produção de etileno. Neste trabalho, os frutos tratados com catasterona, apresentaram menor produção de etileno em relação ao controle na colheita, não diferindo dos demais (Tabela 5), o que pode estar relacionado ao aporte ideal de Ca aos frutos, ocorrendo retardo do amadurecimento e senescência.

Possíveis mecanismos de envolvimento da sinalização de cálcio na formação de espécies reativas de oxigênio em células vegetais e indução de resistência ao calor de células vegetais pela ação de BRs exógena têm sido discutidos (KOLUPAEV et al., 2015).

Tabela 1 - Teores (mg kg^{-1} de massa fresca) de nitrogênio (N), cálcio (Ca), potássio (K) e magnésio (Mg) na polpa, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy' tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6}), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16.

Tratamento	N	Ca	K	Mg
		80 DAPF		
Controle	732,8 a	52,13 a	1297,7 a	63,43 a
ANA 0,1%	892,7 a	66,34 a	1161,1 a	59,01 a
Catasterona 10^{-6} M	719,7 a	54,05 a	1253,8 a	48,47 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	777,1 a	63,05 a	1042,4 a	59,93 a
CV (%)	12,38	16,73	14,38	15,33
		97 DAPF		
Controle	930,5 a	44,26 b	884,1 ab	44,84 a
ANA 0,1%	1044,7 a	62,99 a	836,2 b	47,52 a
Catasterona 10^{-6} M	862,5 a	58,04 ab	1174, a	49,48 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	858,8 a	41,34 b	825,5 b	51,03 a
CV (%)	23,4	23,18	21,47	14,59
		136 DAPF		
Controle	504,6 a	62,92 a	1043,3 a	43,07 a
ANA 0,1%	759,6 a	68,93 a	633,5 a	41,96 a
Catasterona 10^{-6} M	920,1 a	64,94 a	864,6 a	45,61 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	754,6 a	61,46 a	891,1 a	49,01 a
CV (%)	22,5	12,86	27,28	30,05

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, em cada data de coleta dos frutos, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Tabela 2 - Teores (mg kg^{-1} de massa fresca) de nitrogênio (N), cálcio (Ca), potássio (K) e magnésio (Mg) na casca, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy' tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6} M), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16.

Tratamento	N	Ca	K	Mg
		80 DAPF		
Controle	642,9 b	133,4 b	981,2 a	76,16 c
ANA 0,1%	898,5 ab	209,1 a	960,9 a	102,88 b
Catasterona 10^{-6} M	832,6 ab	160,7ab	1021,3a	79,12 c
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	987,1 a	181,1 ab	1536,5 a	120,13 a
CV (%)	23,80	24,65	49,14	21,17
		97 DAPF		
Controle	527,2 c	143,5 a	1374,3 a	32,35 b
ANA 0,1%	929,5 ab	245,5 a	1528,0 a	48,01 a
Catasterona 10^{-6} M	797,6 b	156,2 a	1669,2 a	35,77 b
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	1070,6 a	243,0 a	1501,7 a	39,68 ab
CV (%)	22,45	34,87	30,52	18,58
		136 DAPF		
Controle	726,1 a	153,2 a	851,1 b	41,47 a
ANA 0,1%	605,6 a	189,7 a	1133,2 a	33,84 a
Catasterona 10^{-6} M	536,7 a	175,7 a	1249,0 a	31,03 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	932,4 a	150,5 a	1269,6 a	37,28 a
CV (%)	23,20	22,01	16,31	21,88

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, para uma mesma data de coleta de frutos, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Tabela 3 - Relações Mg/Ca, N/Ca, K/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na polpa, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy', tratados com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1 %, catasterona (10^{-6}) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6}), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16.

Tratamento	Mg/Ca	N/Ca	K/Ca	(K+Mg)/Ca	(K+Mg+N)/Ca
			80 DAPF		
Controle	1,226 a	14,16 a	25,33 a	26,56 a	40,72 a
ANA 0,1%	0,900 b	13,64 a	17,61 b	18,51 b	32,15 a
Catasterona 10^{-6} M	0,891b	13,34 a	23,39 a	24,27 a	37,62 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	0,966 b	12,55 a	16,65 b	17,62 b	30,17 a
CV (%)	17,71	26,92	13,92	22,08	18,28
			97 DAPF		
Controle	1,025 a	20,61 a	13,58 a	21,15 a	41,76 a
ANA 0,1%	0,759 a	16,77 a	10,24 a	14,21 a	30,98 a
Catasterona 10^{-6} M	0,868 a	15,22 a	16,04 a	21,41 a	36,64 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	1,371 a	22,91 a	11,87 a	23,18 a	46,09 a
CV (%)	41,22	38,01	38,01	30,61	38,86
			136 DAPF		
Controle	0,691 a	8,618 a	17,60 a	18,29 a	26,91 a
ANA 0,1%	0,648 a	11,75 a	10,09 a	10,74 a	22,48 a
Catasterona 10^{-6} M	0,490 a	10,95 a	10,99 a	11,48 a	22,43 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	0,620 a	8,857 a	11,45 a	12,07 a	20,92 a
CV (%)	27,80	40,39	43,80	42,56	35,71

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, para uma mesma data de coleta de frutos, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Tabela 4 - Relações Mg/Ca, N/Ca, K/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na casca, na região distal de frutos de macieiras 'Galaxy', tratados com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1 %, catasterona (10^{-6}) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6}), colhidos aos 80, 97 e 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados da safra 2015/16.

Tratamento	Mg/Ca	N/Ca	K/Ca	(K+Mg)/Ca	(K+Mg+N)/Ca
			80 DAPF		
Controle	0,588 a	5,024 a	5,262 a	5,850 a	10,87 a
ANA 0,1%	0,498 a	4,420 a	4,846 a	5,344 a	9,764 a
Catasterona 10^{-6} M	0,493a	5,334 a	6,549 a	7,042 a	12,38 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	0,689 a	5,698 a	9,006 a	9,695 a	15,39 a
CV (%)	24,04	30,40	52,71	49,66	39,08
			97 DAPF		
Controle	0,227 a	3,745 a	9,618 a	9,844 a	13,58 a
ANA 0,1%	0,198 a	3,891 a	6,153 a	6,351 a	10,24 a
Catasterona 10^{-6} M	0,230 a	5,172 a	10,64 a	10,87 a	16,04 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	0,177 a	4,943 a	6,754 a	6,931 a	11,87 a
CV (%)	16,31	30,31	35,85	28,20	35,27
			136 DAPF		
Controle	0,164 b	2,874 a	3,362 a	3,526 b	6,400 b
ANA 0,1%	0,118 b	3,820 a	7,440 a	7,617 a	11,43 a
Catasterona 10^{-6} M	0,185 ab	3,547 a	8,004 a	8,189 a	11,74 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	0,251a	6,507 a	8,573 a	8,824 a	15,33 a
CV (%)	23,12	57,84	50,22	49,29	49,09

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, para uma mesma data de coleta de frutos, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Neste trabalho o teor de N diferiu entre tratamentos apenas na casca, onde aos 80 DAPF os frutos tratados com os dois fitormônios combinados obtiveram maiores teores comparados ao controle. Aos 97 DAPF os frutos tratados com água destilada (controle), obtiveram menor teor de N que os demais tratamentos. E a combinação de ANA + catasterona apresentou os teores mais elevados deste elemento se comparado a catasterona de forma isolada (Tabela 2). Aos 136 DAPF, não foi verificado diferenças entre os tratamentos para o teor de N nos frutos (Tabela 2).

O N é um elemento que em elevada disponibilidade nos solos pode afetar de forma positiva a produtividade e o tamanho dos frutos, porém, pode ser desfavorável para coloração dos frutos, para a firmeza da polpa, pode propiciar o desenvolvimento de distúrbios fisiológicos, aumento na respiração e a produção de etileno (WARGO; MERWIN; WATKINS, 2003; SOUZA et al., 2013). Desordens fisiológicas estão associadas ao excesso de N, e a deficiência de Ca, pois o N, induz a o crescimento vegetativo, aumenta a competição entre frutos e folhas pelo Ca, uma vez que os frutos transpiram menos que as folhas, e acabam concentrando menos Ca (NAVA; DECHEN; NACHTIGALL., 2008). Neste trabalho, não houveram diferenças entre os tratamentos e datas de avaliação para a relação N/Ca nos tecidos de polpa e casca (Tabelas 3 e 4).

Para os teores de K, foram verificadas diferenças na polpa somente aos 97 DAPF (Tabela 1), onde os frutos tratados com catasterona obtiveram maior teor deste mineral, quando comparados aos que receberam aplicação de ANA, seja de forma isolada ou em combinação com catasterona, e os frutos tratados com hormônios não diferiram do grupo controle (Tabela 1). E na casca, aos 136 DAPF, os frutos que receberam as aplicações hormonais isoladas e em combinação apresentaram maiores teores deste mineral em relação ao grupo controle (Tabela 2).

O K pode influenciar os aspectos de qualidade nos frutos, podendo alterar a firmeza e o conteúdo de açúcares. A deficiência de K reduz o transporte de açúcares das folhas para os frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005), o que pode ter ocorrido neste estudo, pois o teor de SS foi menor nos frutos tratados com ANA (Tabela 5), que também obtiveram menor teor de K em uma das datas de avaliação, entretanto este valor não é considerado relativamente baixo para frutos de maçãs, em trabalho

realizado por Amarante et al. (2012) foi encontrado 1.029 mg kg^{-1} de K em pomares de Vacaria-RS, mesma cidade de onde derivaram os frutos deste experimento.

Ernani, Dias e Flores (2002) evidenciaram que a deficiência de K, é um limitante à produtividade, podendo prejudicar o tamanho e a coloração das maçãs. No entanto, seu excesso também favorece o aparecimento de distúrbios fisiológicos, pela competição com os sítios de ligação do Ca. A relação K/Ca diferiu na polpa dos frutos aos 80 DAPF, sendo mais baixo nos tratamentos com ANA e ANA + catasterona (Tabela 3).

O Mg diferiu entre os tratamentos apenas na casca dos frutos, aos 80 e 97 DAPF, onde os tratamentos com a utilização de ANA, isolado ou em combinação com a catasterona, tiveram maior teor deste mineral (Tabela 2). A relação Mg/Ca diferiu entre tratamentos aos 80 DAPF na polpa (Tabela 3) e aos 136 DAPF na casca (Tabela 4) dos frutos. Na polpa, o controle apresentou maior relação Mg/Ca em relação aos demais tratamentos. Na casca, a maior relação Mg/Ca foi observada na combinação de ANA + catasterona, quando comparado aos tratamentos ANA e controle.

A relação (K+Mg)/Ca na polpa dos frutos diferiu entre os tratamentos aos 80 DAPF (Tabela 3), tendo valores menores nos tratamentos com ANA e ANA + catasterona. Na casca dos frutos, verificou-se diferenças na colheita (136 DAPF), em que os frutos controle apresentaram menor relação (K+Mg)/Ca quando comparados aos demais tratamentos. Este comportamento foi constatado tanto para (K+Mg)/Ca como também para (K+Mg+N)/Ca (Tabela 4).

Amarante, Chaves e Ernani (2006) observaram a incidência de distúrbio fisiológico, no caso o “bitter pit” em maçãs ‘Gala’ apresentando, na casca, valores das relações K/Ca>12,4, Mg/Ca>2,0, (K+Mg)/Ca>14,3 e (K+Mg+N)/Ca>18,4. Neste trabalho, essas relações mantiveram-se abaixo destes valores em todas as datas de avaliação e tratamentos (Tabela 4), e não houve a incidência deste distúrbio fisiológico.

3.2 FATORES RELACIONADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO E ATRIBUTOS DE QUALIDADE DOS FRUTOS

BRs desempenham papel crucial no crescimento das plantas, desenvolvimento e tolerância ao estresse (AHAMMED et al., 2015). A atividade antioxidante total (ATT) quantificada através do método ABTS, na polpa e casca, foi superior nos frutos tratados com catasterona em comparação aos frutos tratados com ANA e não diferiu dos demais tratamentos (Figuras 5a e 5b). O conteúdo de antioxidantes, aminoácidos e tióis também aumentou com a aplicação do catasterona, relatado por Yadav et al. (2018). As plantas possuem um sistema antioxidante único composto de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para neutralizar o nível prejudicial de EROs, a fim de manter a função celular normal (BAXTER; MITTLER; SUZUKI, 2014). Já o teor de CFT na polpa foi superior em frutos tratados com catasterona e ANA + catasterona, em relação ao controle, sem diferir do tratamento com ANA (Figura 6a). Para o CFT na casca, não foi verificada diferença entre os tratamentos (Figura 6b).

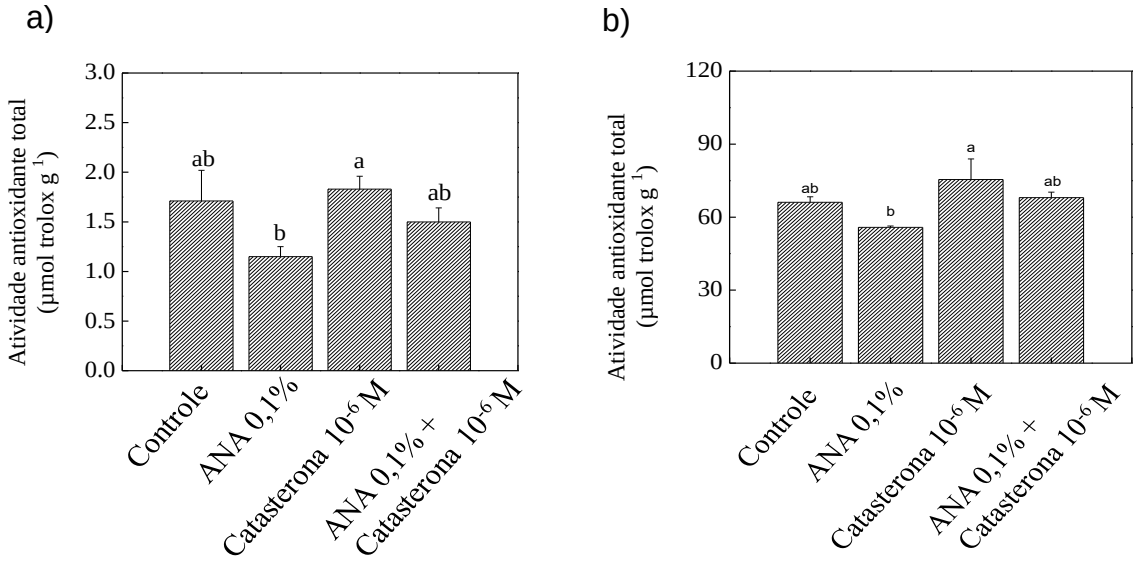
Os antioxidantes totais são substâncias capazes de dissipar EROs, que ocasionam danos a nível de membrana das células. As BRs aumentam o conteúdo de pigmentos fotossintéticos, a eficiência de assimilação de CO_2, o potencial antioxidante e a expressão gênica relacionada, especialmente durante estresse abiótico (AHAMMED et al., 2015).

Dentre os vários compostos antioxidantes, os que mais se destacam são os compostos fenólicos. Estes compostos apresentam excelente atividade de detoxificação da ação do oxigênio como radical superóxido, radical hidroxila e oxigênio singleto, e inibe a peroxidação de lipídios. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma importante espécie reativa de oxigênio (ERO), funcionando não só como molécula sinalizadora, mas também como indutor de estresse oxidativo (BAXTER; MITTLER; SUZUKI, 2014). Por causa de sua relativa longa vida útil, seu acúmulo é frequentemente considerado como um marcador de estresse oxidativo (AHAMMED et al., 2015). A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo.

Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (SOARES, 2002).

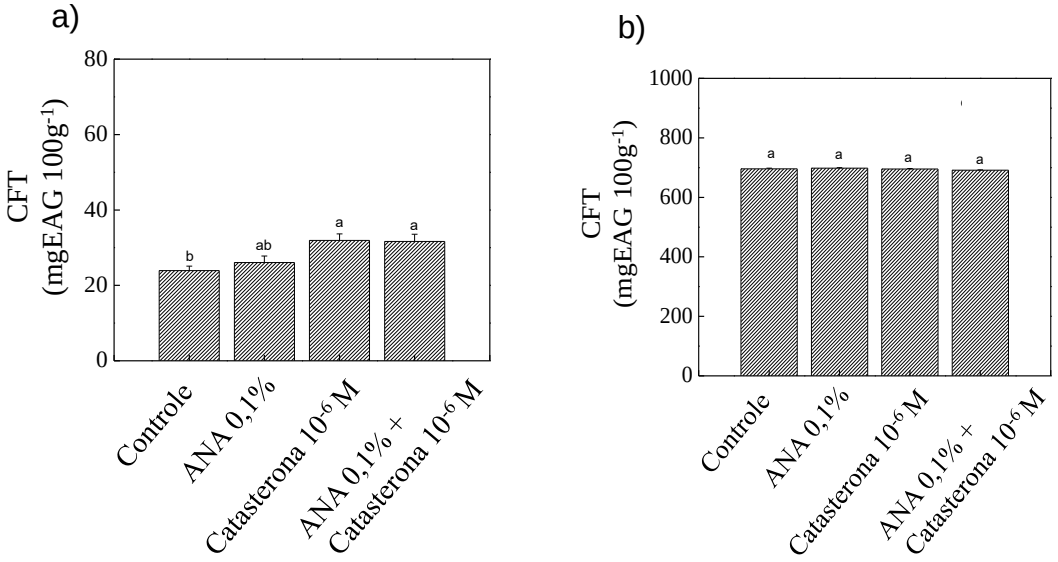
Cao et al. (2005) evidenciam que a aplicação exógena de BR estimula as defesas antioxidantes das plantas em geral, no entanto, ainda não está claro se estes compostos modulam direta ou indiretamente a resposta das plantas ao estresse oxidativo. Conforme Bajguz (2000), a aplicação de BRs normalmente promove a atividade do sistema de defesa antioxidante, aumentando a ATT, evidenciando ainda que resultados obtidos pela aplicação do 24-epibrassinolídeo estão relacionados com a regulação da atividade do sistema enzimático antioxidante.

Figura 5 - Atividade antioxidante total, quantificada através do método ABTS, a) na polpa b) na casca de maçãs 'Galaxy' tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Figura 6 - Teor de compostos fenólicos totais (mg EAG.100 g^{-1} massa fresca) a) na polpa e b) na casca de maçãs 'Galaxy' tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os frutos tratados com catasterona e ANA + catasterona exibiram menor concentração de malonaldeído (produto da peroxidação de lipídeos das membranas) em relação aos frutos tratados com ANA e aos frutos do controle (Figura 7a). Além disso, os frutos submetidos a aplicação de catasterona tiveram maior atividade da enzima peroxidase quando comparado aos demais tratamentos (Figura 8a). Já para a quantidade de H_2O_2 produzido e atividade da enzima SOD, não foi verificada diferenças entre os tratamentos (Figuras 7b e 8b).

A peroxidação de lipídeos em membranas ocorre em função do acúmulo de algumas EROs, como H_2O_2, oxigênio singleto, superóxido e radical hidróxido, que causam danos oxidativos nas membranas das células vegetais (OGWENO et al., 2008). Para dissipar essas EROs, os vegetais apresentam alguns mecanismos, como a indução e o aumento da atividade de algumas enzimas do estresse antioxidativo, além da indução da atividade dos compostos antioxidantes. O que provavelmente pode ter

ocorrido neste trabalho, em que o tratamento com brassinosteroide, pela indução de maior atividade da enzima POD e maior teor de compostos antioxidantes, proporcionou dissipação das EROs, e isso refletiu na menor concentração de malonaldeído. Estes resultados corroboram com Ershova e Khripach (1996), que verificaram inibição na degradação oxidativa de lipídios com o uso de BR, diminuindo os teores de malondialdeído (produto da peroxidação de lipídios), agindo assim como um protetor de membrana.

Assim, estes resultados demonstram que frutos tratados com castasterona 10^{-6} M possuem menor peroxidação de lipídeos na membrana plasmática em função da menor quantidade formada de H_2O_2 pelo aumento da atividade da enzima do estresse antioxidativo (peroxidase) que dissipa as EROs. A dissipação das EROs tem como consequências retardo no processo de maturação e senescência e manutenção da qualidade pós-colheita dos frutos.

No estresse oxidativo ocorrem diferentes reações enzimáticas e não enzimáticas com formação e degradação dos radicais livres. O sistema defensivo enzimático envolve ação de enzimas como a SOD, catalase (CAT), POD, glutationa peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutationa redutase (GR) e glutationa S-transferase (GSTs) (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERTEDT, 2003; SCANDALIOS, 2005).

A SOD é a primeira linha de defesa enzimática contra as EROs. Essa enzima tem como função dismutar o ânion superóxido (O_2^-) em H_2O_2. No entanto, o H_2O_2 é um composto muito tóxico e também precisa ser eliminado. Nesse sentido, existem as POD que têm como principal função a conversão de H_2O_2 em H_2O e a dissipação completa das EROs (MITTLER, 2002; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

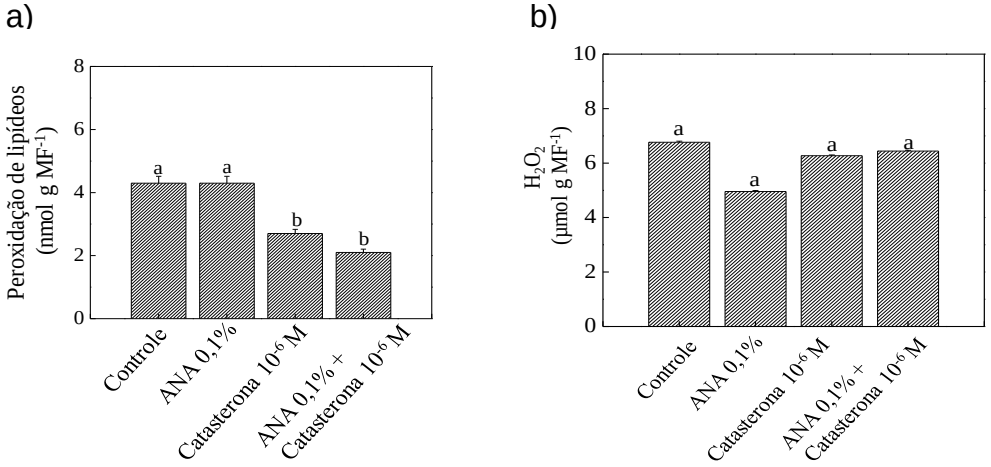
A POD é uma importante enzima das plantas e está envolvida em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação do alongamento de células e outras. Essa enzima é responsável pela degradação do H_2O_2 produzido durante o estresse oxidativo, como também aquele produzido pelas reações da SOD (BOR; OZDEMIR; TURKAN, 2003). Assim, os resultados demonstram que frutos tratados com BR exibem menor peroxidação de lipídeos na membrana plasmática porque apresentaram maior atividade de enzimas do

estresse antioxidativo, neste caso a POD, e maior atividade de compostos antioxidantes, que dissipam as EROs causadores de danos a nível de membrana.

Mazorra et al. (2001), avaliando a resposta de enzimas antioxidantes em tomate pré-incubados com 2,4 epibrassinolídeo e um análogo espirostânico polihidroxilado de brassinosteroide (MH5), constataram que o tratamento com ambos os compostos incrementou as atividades da SOD e da POD, comparados ao controle, sugerindo que os BRs e seus análogos induzem aumento na atividade antioxidante.

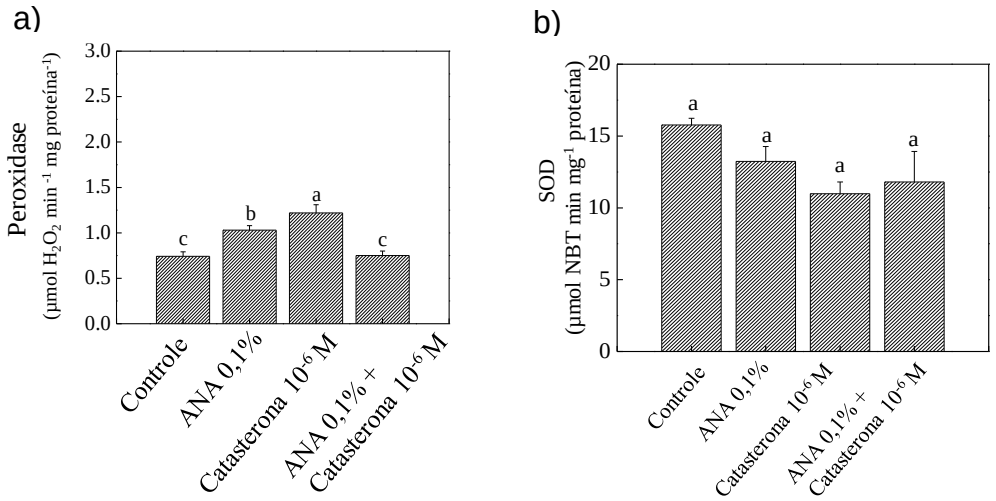
No entanto, apesar de frutos tratados com catasterona apresentarem maior atividade da POD, exibiram quantidades similares de H_2O_2 em relação aos demais tratamentos. Estes resultados demonstram que provavelmente os frutos tratados com catasterona tiveram maior atividade da POD quando comparado aos demais tratamentos com o intuito de combater algumas EROs, como o H_2O_2, que poderiam se encontrar mais elevados nesses frutos. Conforme Neill (2005), a xilogênese é iniciada pela formação de óxido nítrico, seguido por um aumento na síntese de H_2O_2. Desta forma os BRs podem induzir a formação de H_2O_2, de forma localizada para a xilogênese, aumentando os níveis de POD, evitando níveis tóxicos de EROs para a célula.

Figura 7 - a) Peroxidação de lipídeo b) conteúdo de radical peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em maçãs 'Galaxy' tratados com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, em frutos colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Figura 8 - a) Atividade da peroxidase da b) superóxido dismutase (SOD) em maçãs 'Galaxy' tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, em frutos colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

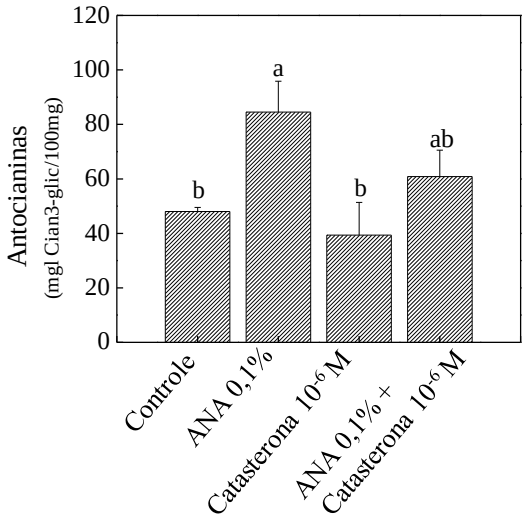
O uso dos fitormônios em conjunto, podem causar um antagonismo como é apresentado na figura 8a, onde o uso associado de BRs + ANA decaiu ainda mais na peroxidase, em estudo realizado por Chaiwanon e Wang (2015), observou-se que a importância do antagonismo do BR com auxina (AIA) no crescimento das raízes é apoiada pelas interações genéticas e fisiológicas entre os dois hormônios, além disso, o co-tratamento com BR e auxina aliviou os efeitos um do outro sobre o alongamento celular e crescimento radicular, indicando que a inibição da raiz observada por níveis elevados de BR ou auxina sozinho, é em parte devido a um desequilíbrio entre esses dois hormônios.

Em resultados encontrados por Ma et al. (2016), sugerem que os genes envolvidos na determinação do fenótipo anão na maçã autotetraplóide têm papéis na via de transdução de sinal de auxina e na biossíntese de BR e nas vias de transdução de sinal, evidenciando uma possível interferência entre auxina e BRs, pois tanto a AIA como o BRs promovem a expansão das células.

Maçãs ‘Galaxy’ submetidas aos tratamentos com ANA e ANA + catasterona exibiram maior concentração de antocianinas na casca quando comparadas aos tratamentos controle e catasterona (Figura 9). As antocianinas são o maior grupo de pigmentos heterosídeos hidrossolúveis (pigmentos associados com açúcares), encontrados no vacúolo das células de plantas (TANAKA et al., 2010; LIN-WANG et al., 2011), e são esses pigmentos que dão coloração vermelha na casca das maçãs.

A via de biossíntese de antocianinas é regulada por estímulos ambientais bióticos e abióticos, coordenada pela regulação da transcrição de vários genes (WEISS, 2000) envolvendo a atividade de enzimas, entre elas a chalcona sintase (CHS). Esta enzima catalisa a reação de condensação de três moléculas de malonil-CoA com uma molécula de *p*-coumaroil-CoA, para produzir naringenina chalcona (tetrahidroxichalcona), o primeiro flavonoide formado em muitas plantas (HE et al., 2011). Reações enzimáticas subsequentes para formar naringenina são catalisadas pela chalcona isomerase (CHI). A chalcona fornece o precursor para todas as classes de flavonoides (LIU et al., 2012).

Figura 9 - Teor de antocianinas na casca de maçãs ‘Galaxy’ tratadas com água destilada (controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidas aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o erro padrão da média. Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Dessa forma, os resultados obtidos permitem inferir que os frutos tratados com ANA exibiram maior teor de antocianinas e consequentemente maior coloração vermelha da epiderme, pois o ANA pode ter induzido a maior expressão dos genes ou aumentado a atividade ou síntese de algumas enzimas envolvidas na rota de biossíntese desses pigmentos. Conforme a Tabela 6, os resultados mostram que frutos tratados com ANA apresentaram coloração vermelha mais intensa (menor *h*°) e menor luminosidade (menor *L*) quando comparados aos frutos tratados com catasterona 10^{-6} M e água (controle). Esse comportamento ocorreu em ambos as regiões (mais e menos expostas à radiação solar) do fruto. Resultados semelhantes foram obtidos por Amarante, Ernani e Steffens (2009), mostrando que o acúmulo de antocianinas ocasiona redução nos valores de *L* e *h*º e reflete a mudança de cor verde para vermelha.

A coloração vermelha mais intensa em ambas as regiões dos frutos tratados com ANA, aplicada isolada ou em combinação com catasterona, também pode ser verificada através do índice de cor vermelha (ICV) (Tabela 6). Os frutos submetidos ao tratamento com catasterona e água (controle) exibiram menor pigmentação vermelha ao longo de toda epiderme. O efeito da auxina sobre a coloração dos frutos, pode ser verificada na Figura 10. Visualmente é possível observar que os frutos tratados com ANA apresentavam coloração mais vermelha.

Não foi observado diferenças nos CFT na casca dos frutos (Figura 6b), contudo pode-se aferir que houve maior acúmulo de antocianinas ocasionado pela auxina, visto que além da sua importância na coloração das maçãs, esses pigmentos são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides, grupo de pigmentos naturais amplamente distribuídos no reino vegetal.

Tabela 5 - Respiração, produção de etileno, índice iodo-amido, pH, conteúdo de sólidos solúveis (SS; ^{o}Brix) e acidez titulável (AT; % de ácido málico) em frutos de macieiras 'Galaxy' tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6} M), colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.

Tratamento	Respiração (nmol CO_2 kg^{-1} s^{-1})	Etileno (nmol de C_2H_4 $kg^{-1}s^{-1}$)	Índice de iodo-amido (1 -5)	pH	SS (°Brix)	AT (% ácido málico)
Controle	114,99 ab	0,12 a	2,06 b	3,00 a	10,00 ab	0,65 a
ANA 0,1%	124,86 a	0,10 ab	3,62 a	2,77 a	9,58 b	0,64 b
Catasterona 10^{-6} M	120,61 ab	0,07 b	2,70 b	2,97 a	10,78 a	0,67 a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	107,25 b	0,09 ab	2,55 b	2,69 a	10,13 ab	0,63 b
CV (%)	7,98	2,33	23,87	6,61	5,46	3,38

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

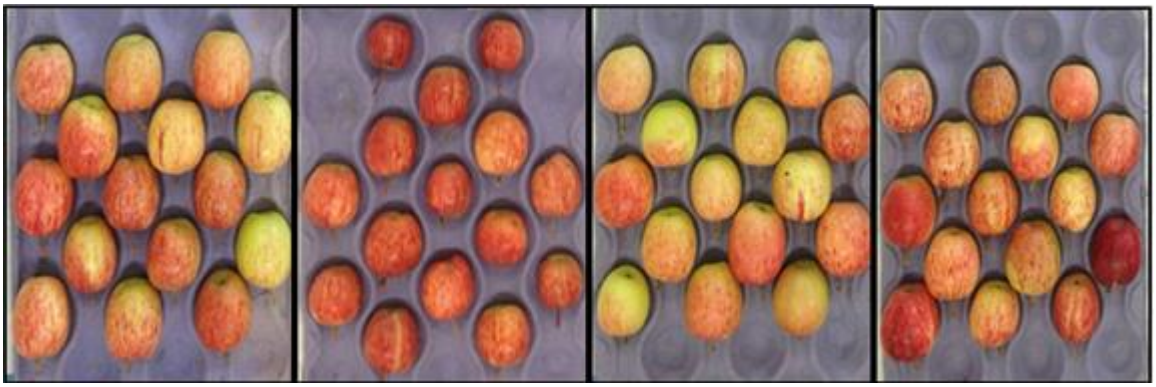
Tabela 6 - Cor da casca (atributos *L*, *C* e *h*°) nos lados mais e menos expostos a radiação solar, firmeza de polpa (FP), força de ruptura da casca (FRC) e força para a penetração na polpa (FPP), em frutos de macieiras 'Galaxy' tratada tratadas com água (controle), ácido naftaleno acético (ANA) 0,1%, catasterona (10^{-6} M) e ANA 0,1% + catasterona (10^{-6} M), colhidos aos 136 dias após a plena floração (DAPF). Dados médios das safras 2015/16 e 2016/17.

Tratamento	Cor da casca do lado mais exposto à radiação solar			Cor da casca do lado menos exposto à radiação solar			ICV (1-4)	FP (N)	FRC (N)	FPP (N)
	L	*C*	*h*°	*L*	*C*	*h*°				
Controle	52,61 a	36,39 a	42,44 a	72,31 ab	34,45 a	92,82 ab	2,94a	80,56a	12,67a	3,82a
ANA 0,1%	46,84 b	36,46 a	34,38 b	67,63 c	32,96 a	82,16 b	3,96b	77,00a	11,14a	3,83a
Catasterona 10^{-6} M	52,77 a	37,32 a	41,85 a	74,54 a	37,70 a	97,52 a	2,87a	77,30a	12,26a	3,70a
ANA 0,1% + Catasterona 10^{-6} M	50,20 ab	36,73 a	37,54 ab	70,90 bc	33,45 a	87,83 ab	3,89b	77,87a	11,66a	3,96a
CV (%)	9,02	5,10	14,97	4,82	6,75	10,78	9,41	6,41	17,02	9,76

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Figura 10 - Cor da casca nos lados mais (A) e menos exposto a radiação solar (B), em frutos de macieiras ‘Galaxy’ tratados com água destilada (Controle), ANA, catasterona e ANA + catasterona, colhidos aos 136 dias após a plena floração. Safra 2016/17.

a)



b)

Controle ANA Catasterona ANA + catasterona

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Frutos tratados com ANA apresentaram um maior índice de iodo-amido em relação aos demais tratamentos, o que poderia indicar que os frutos deste tratamento estavam em um estágio mais avançado de maturação (Tabela 5). O que também pode ser verificado através da menor AT nos frutos tratados com ANA e ANA + catasterona.

Os frutos tratados com ANA apresentaram menor teor de SS quando comparados ao tratamento catasterona, que apresentou maior teor de SS (Tabela 5). Em experimento realizado por Xu et al. (2015) observou-se, que o tratamento com 24-

epibrassinolídeo (EBR) – um BRs exógeno, aumentou acentuadamente o teor de açúcares solúveis nas bagas de uvas, os BRs medeiam muitos processos fisiológicos em plantas, incluindo o metabolismo de carboidratos. Vale ressaltar, que a medição dos SS não representa o teor exato de açúcares, pois outras substâncias também se encontram dissolvidas na seiva vacuolar, assim como ácidos orgânicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Resultados semelhantes foram obtidos por Tecchio et al. (2009), em que frutos de uva Niágara Rosada tratados com ANA, apresentaram menores valores de SS e AT, porém sem efeitos sobre o pH, como também ocorreu neste trabalho (Tabela 5).

Quanto à firmeza de polpa (FP), força para a ruptura da casca (FRC) e força para a penetração da polpa (FPP) (Tabela 6), não houve diferença entre os tratamentos.

Para os atributos fisiológicos, a taxa respiratória foi maior nos frutos tratados com ANA, quando comparado ao tratamento ANA + catasterona. Os frutos tratados com catasterona apresentaram redução na produção de etileno em relação aos frutos do tratamento controle (Tabela 5). O etileno é formado inicialmente pela transformação do S-adenosil L-metionina em ácido aminociclopropano 1-carboxilíco (ACC), pela sintase do ACC, e esse é convertido a etileno pela oxidase do ACC (ALEXANDER; GRIERSON, 2002).

Carrasco (2012) relatou que, dependendo do período de aplicação e concentração exógena de BRs, pode haver o retardamento ou aceleração no processo de maturação dos frutos. O etileno é um hormônio conhecido por induzir a maturação e senescência dos frutos (TAIZ; ZEIGER, 2013). No presente estudo, a castasterona aplicada durante o período de 40 a 127 DAPF, foi capaz de reduzir a biossíntese do etileno, o que também pode ter contribuído para a redução da coloração vermelha na epiderme, em função do retardo na maturação dos frutos.

Porém, resultados diferentes ao deste estudo foram reportados por Tanaka et al. (2003) e Arteca e Arteca (2008), em que constataram que os BRs promovem produção de etileno em *Arabidopsis thaliana*, bem como, Bötcher, Boss e Davies (2011), verificaram que o efeito da auxina sobre a rota de biossíntese de etileno é dependente do período de desenvolvimento do fruto em que esse regulador de crescimento é

aplicado. A aplicação de auxina nos estágios iniciais de desenvolvimento de frutos de kiwi proporcionou menor produção de etileno, decorrente do reduzido nível de expressão de genes que codificam para oxidase do ACC, retardando o processo de maturação dos frutos (FABRONNI et al., 2006). Miqueloto (2014) também verificou que frutos tratados com ANA apresentaram redução significativa nas taxas respiratórias e de produção de etileno, quando comparados a frutos tratados com o inibidor de auxina TIBA.

He et al. (2018) observaram que os BRs regulam numerosos processos na planta, incluindo o amadurecimento de frutos, em experimento com frutos de caqui (*Diospyros kaki* L.) foram tratados com 24-epibrassinolídeo (EBR), os resultados mostram que os conteúdos endógenos de BR aumentaram gradualmente durante o amadurecimento dos frutos de caqui, sendo que o tratamento com EBR aumentou significativamente tanto o conteúdo de pectina solúvel em água como as atividades de poligalacturonase, pectato liase e endo-1,4-beta-glucanase, mas reduziu significativamente o conteúdo de pectina solúvel em ácido e celulose, resultando em um rápido abrandamento da fruta, ocorreu também, a promoção da produção de etileno e a taxa de respiração, desta forma, estes resultados sugerem que os BRs estão envolvidos no amadurecimento de frutos de caqui influenciando as enzimas que degradam a parede celular e a biossíntese de etileno. O uso de uma diferente fonte de BRs na aplicação exógena em frutos climatéricos, pode ser a explicação para a redução da biossíntese de etileno pela a catasterona. Lv et al. (2018) explicam que o BR exógeno aplicado mostrou que os BRs regulam positivamente ou negativamente a biossíntese de etileno de uma maneira dependente da concentração.

4 CONCLUSÕES

1 - A aplicação pré-colheita de ácido naftaleno acético 0,1% e catasterona 10^{-6} M no pedúnculo dos frutos de macieiras ‘Galaxy’, no período compreendido entre os 40 a 127 dias após a plena floração (DAPF), retarda a perda da funcionalidade dos elementos de vasos de xilema.

2 - A aplicação pré-colheita de catasterona 10^{-6} M em maçãs ‘Galaxy’ aumentou a atividade antioxidante na polpa e na casca dos frutos, como também, elevou o teor de compostos fenólicos na polpa dos frutos, havendo o incremento da atividade da peroxidase e menor peroxidação de lipídios, evidenciando seu papel nas defesas ao estresse oxidativo.

3 - O tratamento com ANA 0,1% aumentou a coloração vermelha em maçãs ‘Galaxy’ na colheita comercial.

4 - Frutos tratados com catasterona 10^{-6}M apresentaram menor produção de etileno, enquanto frutos tratados com ANA 0,1% obtiveram maior índice iodo-amido e menores valores de SS e AT, mas as variáveis de firmeza e textura não foram afetadas pela aplicação dos hormônios.

REFERÊNCIAS

AGAPOMI – Associação Gaúcha de Produtores de Maçã. **Dados Estatísticos.** 2017. Disponível em < http://agapomi.com.br/>. Acesso em: 01 mai. 2017.

AHAMMED, G. J.; LI, X.; XIA, X. J.; SHI, K.; ZHOU, Y. H. Enhanced photosynthetic capacity and antioxidant potential mediate brassinosteriod-induced phenanthrene stress tolerance in tomato. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 201, n. 7, p. 58-66, 2015.

ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 53, n. 377, p. 2039-2055, 2002.

AMARANTE, C.V.T. do; CHAVES, D.V.; ERNANI, P.R. Análise multivariada de atributos nutricionais associados ao “bitter pit” em maçãs ‘Gala’. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 841-846, 2006.

AMARANTE, C.V.T. do; ERNANI, P.R.; STEFFENS, C.A. Predição de "bitter pit" em maçãs 'Gala' por meio da infiltração dos frutos com magnésio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 962-968, 2009.

AMARANTE, C. V. T. do; ARGENTA, L. C.; BASSO, C.; SUZUKI, A. Composição mineral de maçãs 'Gala' e 'Fuji' produzidas no Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 4, p. 550-560, 2012.

ARTECA, R.N.; ARTECA, J.M. Effects of brassinosteroid, auxin, and cytokinin on ethylene production in *Arabidopsis thaliana* plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, n. 11, p. 3019-3026, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃS. **Caderno estatístico**. 2004. Disponível em <http://www.abpm.org.br>. Acesso em: 30 abr. 2017.

ATKINSON, C.J.; ELSE, M.A. Hydraulic conductivity and PAT determine hierarchical resource partitioning and ramet development along Fragaria stolons. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 14, p. 5093-5104, 2012.

BAJGUZ, A. Brassinosteroids: A class of plant hormone In: HAYAT, S.; AHMAD, A. **Brassinosteroids – Occurrence and chemical structures in plants.** Estados Unidos: Springer, 2011. p. 1-28.

BAJGUZ, A. Effect of brassinosteroids on nucleic acid and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 38, n. 3, p. 209-215, 2000.

BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 5, p. 1229-1240, 2014.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BOR, M.; ÖZDEMIR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, Limerick, v. 164, n. 1, p. 77-84, 2003.

BÖTTCHER, C.; BOSS, P.K.; DAVIES, C. Acyl substrate preferences of an IAA-amido synthetase account for variations in grape (*Vitis vinifera* L.) berry ripening caused by different auxinic compounds indicating the importance of auxin conjugation in plant development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 12, p.4267-4280, 2011.

BITTENCOURT, C.C.; MATTEI, L.F.; SANT'ANNA de, P.R.; LONGO, O.C.; BARONE, F.M. A cadeia produtiva da maçã em Santa Catarina: competitividade segundo produção e *packing house*. **Revista de Administração Pública**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 4, p. 1199-1222, 2011.

CAO, S.; XU, Q.; CAO, Y., QIAN, K.; AN, K.; ZHU, Y.; BINZENG, H.; ZHAO, H.; KUA, B. Loss-of-function mutations in DET2 gene lead to an enhanced resistance to oxidative stress in Arabidopsis. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 123, n. 1, p. 57-66, 2005.

CARRASCO, K. B. R. **Expression profiling in developing peach seed and mesocarp as affected by growth regulators**. 2012. 115 f. Tese (Doutorado em culturas arborícolas e sistemas florestais) - Universita Degli Studi Di Bologna, Bologna, 2012.

CARDOSO, L.S.; BERGAMASCHI, H.; BOSCO, L.C.; PAULA, V.A. de; MARODIN, G.A. B.; CASAMALI, B.; NACHTIGALL, G.R. Disponibilidades climáticas para macieira na região de Vacaria, RS. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 1960-1967, 2012.

CHAIWANON, J.; WANG, Z. Y. Spatiotemporal Brassinosteroid Signaling and Antagonism with Auxin Pattern Stem Cell Dynamics in Arabidopsis Roots. **Current Biology**, [S. l.], v. 25, n. 8, p. 1031-1042, 2015.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças:** fisiologia e manuseio. 2 ed., Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005. 783 p.

CHOE, S.; FUJIOKA, S.; NOGUCHI, T.; TAKATSUTO, S.; YOSHIDA, S.; FELDMANN, K. A.. Overexpression of *DWARF4* in the brassinosteroid biosynthetic pathway results in increased vegetative growth and seed yield in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, Tucson, v. 26, n.6, p. 573-582, 2001.

DE GRAUWE, L.; VANDENBUSSCHE, F.; TIETZ, O.; PALME, K.; VAN DER STRAETEN, D. Auxin, ethylene and brassinosteroids: Tripartite control of growth in the Arabidopsis hypocotyl. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 46, n. 6, p. 827-836, 2005.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, C.A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyper oxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 34, n. 7, p. 1023-1028, 1993.

DEVOGHALAERE, F.; DOUCEN, T.; GUITTON, B.; KEELING, J.; PAYNE, W.; LING, T.J.; ROSS, J.J.; HALLETT, I.C.; GUNASEELAN, K.; DAYATILAKE, G.A.; DIAK, R.; BREEN, K. C.; TUSTIN, D. S.; COSTES, E.; CHAGNÉ, D.; SCHAFFER, R. J.; DAVID, K.M. A genomics approach to understanding the role of auxin in apple (*Malus* x *domestica*) fruit size control. **BMC Plant Biology**, Auckland, v. 12, n. 7, p. 1-5, 2012.

DRAŽETA, L.; LANG, A.; HALL A.J. ; VOLZ, R.K.; JAMESON, P.E. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. **Annals of Botany**, London, v. 93, n. 3, p. 275-282, 2004.

ERNANI, P.R.; DIAS, J.; FLORE, J.A. Annual additions of potassium to the soil increased apple yield in Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 33, n. 7, p. 1291-1304, 2002

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultura da macieira no Rio Grande do Sul: análise situacional e descrição varietal**. 1 ed. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. 60 p.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Maçã**. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, 2013. 239 p.

ERSHOVA, A.; KHRIPACH, V. Effect of epibrassinolide on lipid peroxidation in *Pisum sativum* at normal aeration and under oxygen deficiency. **Russian Journal Plant Physiology**, Nauka, v. 43, n. 2, p. 520-750, 1996.

EVANGELISTA, R.M. **Qualidade mangas 'Tommy Atkins' armazenadas sob refrigeração e tratadas com cloreto de cálcio pré-colheita.** 1999. 129f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

EVERETTE, J.D.; BRYANT, Q.M.; GREEN, A.M.; ABBEY, Y.A.; WANGILA, G.W.; WALKER, R.B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteou reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 14, p. 8139-8144, 2010.

FABBRONI, C.; COSTA, F.; BREGOLI, A.M.; COSTA, G. Effect of auxin on fruit morphogenesis: physiological and molecular aspects in kiwifruit ripening. **Acta Horticulturae**, Lueven, v. 753, n. 46, p. 541-547, 2006.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura - fundamentos e práticas.** 1 ed. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2008. 183 p.

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

FLORES, A.V.; BORGES, E.E.L.; GUIMARÃES, V.M.; GONÇALVES, J.F.C.; ATAÍDE, G.M.; BARROS, D.P. Atividade enzimática durante a germinação de sementes de

Melanoxylon brauna schott sob diferentes temperaturas. **CERNE**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 401-408, 2014.

FUJIOKA, S.; SAKURAI, A. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. **Physiology Plantarum**, Redwood City, v. 100, n. 3, p. 710-715, 1997.

FUKUDA, H. Signals that control plant vascular cell differentiation. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, London, v .5, n. 5, p. 379-391, 2004.

FREITAS, S.J.; SANTOS, P.C.; BERILLI da, S.; LOPES, L.C.; CARVALHO, A.J. Brotação, desenvolvimento e composição nutricional de mudas de abacaxizeiro provenientes de gemas axilares submetidas ao brassinosteroide. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Pernambuco, v. 9, n. 1, p. 19-24, 2014.

FULEKI, T; FRANCIS, F.J. Quantitative methods for anthocyanins. extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, New York, v. 33, n. 3, p. 72-77, 1968.

GAY, C.; COLLINS, J.; GEBICKI, J.M. Hydroperoxide assay with the ferric-xylenol orange complex. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 273, n. 2, p. 149-155, 1999.

GILL, S.S.; NARENDRA, T. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GODA, H.; SAWA, S.; ASAMI, T.; FUJIOKA, S.; SHIMADA, Y.; YOSHIDA, S. Comprehensive comparison of auxin-regulated and brassinosteroid-regulated genes in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 134, p. 1555-1573, 2004.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in Biology and Medicine.** Oxford: Clarendon Press, 1989, 543 p.

HAWERROTH, F.J.; MACEDO, C.K.B. de; MAGRIN, F.P.; PETRI, J.L. **Reguladores de crescimento, importância, perspectivas e utilização**. Suplemento especial do 12º Seminário Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado. São Joaquim, 2016.

HE, Q.; SHEN, Y.; WANG, M.; HUANG, M.; YANG, R.; ZHU, S.; WANG, L.; XU, Y.; WU, R. Natural variation in petal color in *Lycoris longituba* revealed by anthocyanin components. **PloS One**, San Francisco, v. 6, n. 8, p. 1-8, 2011.

HE, Y.; LI, J.; BAN, Q.; HAN, S.; RAO, J. Role of Brassinosteroids in Persimmon (*Diospyros kaki* L.) Fruit Ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 66, n. 11, p. 2637-2644, 2018.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidationin isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation, **Archives of Biochemistry Biophysic**, Berkeley, v.125, [s. n.], p. 189-198, 1968.

HEINZEN, S.A. **Qualidade de ameixas 'Laetitia' frigoconservadas e submetidas ao estresse inicial por baixo oxigênio, tratamento térmico e vapor de etanol.** 2016. 126 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages, 2016.

HERMES-LIMA, M.; WILLMORE, W.G.; STOREY, K.B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (III) xylenol orange complex formation. **Free Radicals in Biology and Medicine**, San Diego, v. 19, n. 3, p. 271-280, 1995.

HODGES, D.M. **Postharvest oxidative stress in horticultural crops.** New York, US : Haworth Press, 2003. 266 p.

HU, Y.; BAO, F.; LI, J. Promotive effect of brassinosteroids on cell division involves a distinct CycD3-induction pathway in Arabidopsis. **The Plant Journal**, Beijing, v. 24, n. 5, p. 693-701, 2000.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.** 2016. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 30 abr. 2017.

IMEH. U.; KHOKHAR. S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 22, p. 6301-6306, 2002.

JACOBSEN, A. L.; AYALA, J. V.; PRATT, R. B. Functional lifespans of xylem vessels: Development, hydraulic function, and post-function of vessels in several species of woody plants. **American Journal of Botany**, [S. l.], v. 105, n. 2, p. 142 - 150, 2018.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 57, n. 2, p. 315 - 319, 1976.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.C.; KIM, C. MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, [S. l.], v. 5, n. 6, p. 709 - 725, 2011.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 431 p.

KIM, T.; WANG, Z. Brassinosteroid signal transduction from receptor kinases to transcription factors. **Annual Review of Planta Biology**, Palo Alto, v. 61, [s. n.], p. 681-704, 2010.

KIST, B.B. **Anuário brasileiro da maçã 2015.** 1 ed. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2015. 72 p.

KOLUPAEV, Y. E.; VAYNER, A. A.; YASTREB, T.O.; OBOZNYI, A. I.; KHRIPACH, V. A. Role of Ca ions in the induction of heat-resistance of wheat coleoptiles by brassinosteroids. **The Ukrainian Biochemical Journal**, Ukraine, v. 87, n. 1, p. 127-133, 2015.

KUSS, F. **Agentes oxidantes e antioxidantes**. 1 ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. 10 p.

KRIKORIAN, A.D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W.M.; MROGINSKY, L.A . **Plant Physiology Cultivo de tejidos en la agricultura**: fundamentos y aplicaciones. Cali: CIAT, 1991. p. 41-77.

LAFFONT, C.; BLANCHET, S.; LAPIERRE, C.; BROCARD, L.; RATET, P.; CRESPI, M.; MATHESIUS, U., FRUGIER, F. The compact root architecture1 gene regulates lignification, flavonoid production, and polar auxin transport in Medicago truncatula. **Plant Physiology**, Rockville, v. 153, [s. n.], p. 1597-1607, 2010.

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

LIU, X.J.; CHUANG, Y.N.; CHIOU, C.Y.; CHIN, D.C.; SHEN, F.Q.; YEH K.W. Methylation effect on chalcone synthase gene expression determines anthocyanin pigmentation in floral tissues of two *Oncidium* orchid cultivars. **Planta**, Zhejiang, v. 236, n. 2, p. 401-409, 2012.

LIU, Y.; ZHAO, Z.; SI, J.; DI; C.; HAN, J.; AN, L. Brassinosteroids alleviate chilling-induced oxidative damage by enhancing antioxidant defense system in suspension cultured cells of *Chorispora bungeana.* **Plant Growth Regulation**, Lanzhou, v. 59, n. 3, p. 207-214, 2009.

LIN-WANG, K.; MICHELETTI, D.; PALMER, J.; VOLZ, R.; LOZANO, L.; ESPLEY, R.; HELLENS, R.P.; CHAGNÈ, D.; ROWAN, D.D.; TROGGIO, M.; IGLESIAS, I.; ALLAN, A.C. High temperature reduces apple fruit colour via modulation of the anthocyanin regulatory complex. **Plant, Cell & Environment**, Auckland, v. 34, n. 7, p. 1176-1190, 2011.

ŁUKASIK, I.; GOŁAWSKA, S.; WÓJCICKA, A. Effect of cereal aphid infestation on ascorbate content and ascorbate peroxidase activity in triticale. **Polish Journal of Environmental Studies**, Siedlce, v. 21, n. 6, p. 1937-1941, 2012.

LV, B.; TIAN, H.; ZHANG, F.; LIU, J.; LU, S.; BAI, M.; LI, C.; DING, Z. Brassinosteroids regulate root growth by controlling reactive oxygen species homeostasis and dual effect on ethylene synthesis in *Arabidopsis*. **PLoS Genetic**, San Francisco, v. 14, n. 1, p. 37-59, 2018.

MHAMDI, A.; NOCTOR G.; BAKER, A. Plant catalases: Peroxisomal redox guardians. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Orsay Cedex, v. 525, n. 2, p. 181-194, 2012.

MA, Y.; XUE, H.; ZHANG, L. ZHANG, F.; OU, C.; WANG, F.; ZHANG, Z. Involvement of Auxin and Brassinosteroid in Dwarfism of Autotetraploid Apple (*Malus×domestica*). **Scientif Reports**, [S .l.: s. n.] v. 6, p. 1-14, 2016.

MATTSSON, J.; CKURSHUMOVA, W.; BERLETH, T. Auxin signaling in *Arabidopsis* leaf vascular development. **Plant Physiology**, Rockville, v. 131, n. 3, p. 1327-1339, 2003.

MAZORRA, L.; NÚÑEZ, M.; HECHAVARRIA, M.; COLL, F. Influence of brassinosteroid treatments on catalase, peroxidase and superoxide dismutase activity in tomato leaf discs at two different temperatures. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 58, n. 4, p. 7-19, 2001.

MAZORRA, L.M.; NÚÑEZ, M. Estado actual sobre el conocimiento de las biosíntesis y los mecanismos moleculares de acción de los brasinoesteroides em las plantas. **Cultivos Tropicales**, San José de las Lajas, v. 29, n. 1, p. 91-105, 2008.

MIQUELOTO, A. **Ação das auxinas na funcionalidade do xilema e ocorrência de "Bitter pit" em maçãs.** 2014. 46 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2014.

MIQUELOTO, A.; AMARANTE, C.V.T. do; STEFFENS, C.A.; SANTOS, A. dos; MIQUELOTO, T.; SILVEIRA, J.P.G. Atributos fisiológicos, físico-químicos e minerais associados à ocorrência de "bitter pit" em maçãs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 7, p. 689-696, 2011.

MITTLER, R, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, [S. l.], v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MÜSSIG, C.; FISCHER, S.; ALTMANN, T. Brassinosteroid-regulated gene expression. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, n. 3., p. 1241-1251, 2002.

NAGATA, N.; ASAMI, T.; YOSHIDA, S. Brassinazole, an inhibitor of brassinosteroid biosynthesis, inhibits development of secondary xylem in cress plants (*Lepidium sativum*). **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 42, n. 9, p. 1006-1011, 2001.

NAKAMURA, A.; HIGUCHI, K.; GODA, H.; FUJIWARA, M.T.; SAWA, S.; KOSHIBA, T.; SHIMADA, Y.; YOSHIDA, S. Brassinolide induces *IAA5*, *IAA19*, and DR5, a synthetic

auxin response element in Arabidopsis, implying a cross talk point of brassinosteroid and auxin signaling. **Plant Physiology**, Rockville, v. 133, n. 4, p. 1843-1853, 2003.

NAKAYA M.; TSUKAYA, H.; MURAKAMI, N.; KATO, M. Brassinosteroids control the proliferation of leaf cells of *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 239-244, 2002.

NAVA, G.; DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. Nitrogen and potassium fertilization affect apple fruit quality in Southern Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 39, n. 1, p. 96-107, 2008.

NEMHAUSER, J.L.; MOCKLER, T.C.; CHOR, J. Interdependency of brassinosteroid and auxin signalin in Arabdopsis. **PLoS Biology**, San Francisco, v. 2, n. 9, p. 258-268, 2004.

NEILL, S. NO way to die – nitric oxide, programmed cell death and xylogenesis. **New Phytologist**, [S. l.], v. 165, n. 1, p. 5-8, 2005.

NKANG, A.; OMOKARO, D.; EGBE, A. Effects of desiccation on the lipid peroxidation and activities of peroxidase and polyphenoloxidase in seeds of *Telfairia occidentalis*. **Seed Science and Technology**, Zürick, v. 28, n. 1, p. 1-9, 2000.

OGWENO, J.O.; SONG, X.S.; SHI, K.; HU, W.H.; MAO, W.H.; ZHOU, Y.H. Brassinosteroids alleviate heat-induced inhibition of photosynthesis by increasing carboxylation efficiency and enhancing antioxidant systems in *Lycopersicon esculentum*. **Journal of Plant Growth Regulation**, Hangzhou, v. 27, n. 1, p. 49 - 57, 2008.

ORTEGA-RODÉS, P.; GARCÍA, R.R.; DELGADO, E.O.; GARCÍA, L.F.; DIEZ-CABEZAS, M.; GARCÍA, V. Efecto de un brasinoesteroide sintético (DAA-6) sobre el crecimiento del vástago y las raíces de la caña de azúcar. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, Playa, v. 34, n. 2, p. 67-72, 2003.

PELEG, Z.; BLUMWALD, E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 14, n. 3, p. 290-295, 2011.

SAURE, M.C. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. **Scientia Horticulturae**, Netherlands, v.105, n. 1, p. 65-89, 2005.

SAS INSTITUTE. **Getting started with the SAS learning edition.** Cary: SAS, 2009.200p.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCARPELLA, E.; BOOT, K. J. M.; RUEB, S.; MEIJER, A. H. The procambium specification gene Oshox1 promotes polar auxin transport capacity and reduces its sensitivity toward inhibition. **Plant Physiology**, Rockville, v. 130, n. 3, p. 1349-1360, 2002.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **O cultivo e o mercado da maçã.** 2016. Disponível em <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-maca, ea7a9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 02 mai. 2017.

SESTARI, I. **Avaliação dos métodos para predição potencial de ocorrência do "bitter pit" em maçãs**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Marília, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, F. de; ARGENTA, L.C.; NAVA, G.; ERNANI, P. R.; AMARANTE, C.V.T. do. Qualidade de maçãs 'Fuji' influenciada pela adubação nitrogenada e potássica em dois tipos de solo. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 1, p. 305-315, 2013.

STEFFENS, C.A.; GUARIENTI, A.J.W.; STORCK, L.; BRACKMANN, A. Maturação da maçã 'Gala' com a aplicação pré-colheita de aminoetoxivinilglicina e ethephon. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 434-440, 2006.

SYROS, T.; YUPSANIS, T.; ZAFIRIADIS, H.; ECONOMOU, A. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 161, n. 1, p. 69-77, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 958 p.

TAIZ, L.; ZEIGER,E.; MOLLER,I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artemed, 2017. 858 p.

TANAKA Y.; BRUGLIERA F.; KALC, G.; SENIOR, M.; DYSON, B.; NAKAMURA, N.; KATSUMOTO, Y.; CHANDLER, S. Flower color modification by engineering of the flavonoid biosynthetic pathway: Practical perspectives. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, [S. l.], v. 74, n. 9, p.1760-769, 2010.

TECCHIO, M.A.; TERRA, M.M.; CIA, P.; PAIOLI-PIRES, E.J.; MOURA, M.F.; SANCHES, J.; BENATO, E.A.; HERNANDES, J.L.; VALENTINI, S.R.T.; SIGRIST, J.M.M. Efeito do ácido naftalenoacético e do cloreto de cálcio na redução das perdas pós-colheita em uva 'Niagara'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 53-61, 2009.

TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHMEN, H. **Análise do solo, plantas e outros materiais**. 2. Ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174 p.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Quebec, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

WARGO, J.M.; MERWIN, I.A.; WATKINS, C.B. Fruit size, yield, and market value of 'GoldRush' apple are affected by amount, timing and method of nitrogen fertilization. **HortTechnology**, Alexandria, v. 13, n. 1, p. 153-161, 2003.

WEISS D. Regulation of flower pigmentation and growth: Multiple signaling pathways control anthocyanin synthesis in expanding petals. **Physiologia Plantarum**, [S. l.], v. 110, n. 2, p. 152-157, 2000.

XU, F.; XI, Z. M.; ZHANG, H.; ZHANG, C. J.; ZHANG, Z. W. Brassinosteroids are involved in controlling sugar unloading in Vitis vinifera 'Cabernet Sauvignon' berries during véraison. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 94, [s. n.], p. 197-208, 2015.

YADAV, P.; KAUR, R.; KANWAR, M. K.; SHARMA, A.; VERMA, V.; SIRHINDI, G.; BHARDWAJ, R. Castasterone confers copper stress tolerance by regulating antioxidant enzyme responses, antioxidants, and amino acid balance in *B. juncea* seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** [S. l.], v. 147, n. 5, p. 725-734, 2018.

ZHAO-QU, Y.; LIU C.; XIA Y. Physiological effects of Brassinosteroids and its Application on fruit trees. **Northern Horticulturae,** Wenling, v. 5, [s. n.], p. 114-131, 2007.