

GERALDINE DE ANDRADE MEYER

ABSCISÃO FOLIAR EM MACIEIRAS

Tese apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Leo Rufato

Co-orientadores: Dra. Rosa Maria Valdebenito Sanhueza; Dra. Andrea De Rossi Rufato; Dr. José Antonio Yuri.

LAGES/SC

2014

M612a

Meyer, Geraldine de Andrade

Abscisão foliar em macieiras / Geraldine de Andrade Meyer. –
Lages, 2014.

128 p.: il.; 21 cm

Orientador: Leo Rufato

Coorientadora: Rosa Maria Valdebenito Sanhueza

Coorientadora: Andrea De Rossi Rufato

Coorientador: José Antonio Yuri

Bibliografia: p. 109-123

Tese (doutorado) – Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2014.

1. Malus. 2. Senescência. 3. Desfolha. 4. Zona de
abscisão. I. Meyer, Geraldine de Andrade. II. Rufato, Leo. III.
Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Produção Vegetal. IV. Título

CDD: 634.11 – 20.ed.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial do CAV/ UDESC

GERALDINE DE ANDRADE MEYER

ABSCISÃO FOLIAR EM MACIEIRAS

Tese apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

BANCA EXAMINADORA:

Orientador:

Dr. Leo Rufato
CAV/UEDESC

Co-orientadora

Dra. Rosa Maria Valdebenito Sanhueza
Proterra Engenharia Agronômica Ltda

Membro:

Dr. Ruy Inácio Neiva de Carvalho
PUCPR

Membro:

Dra. Aike A. Kretzschmar
CAV/UEDESC

Membro suplente:

Dr. Cristiano Steffens
CAV/UEDESC

Lages, 24/04/2014

AGRADECIMENTOS

Ao Meu Pai Amado Celestial, meu Deus, que me sustentou todos os dias desta caminhada, concedendo-me saúde, ânimo, fé, sabedoria, aperfeiçoando-me em cada desafio, e por cuidar do meu filho enquanto eu estudo.

Ao Dr. Leo Rufato pela orientação, oportunidade deste aperfeiçoamento profissional, pela compreensão e principalmente pela amizade ao longo desses anos.

À Dra. Rosa Maria Valdebenito Sanhueza pela co-orientação, ensinamentos diários, ética, parceria, paciência e por nossa amizade de muitos anos.

À Dra. Andrea De Rossi Rufato pelo apoio, colaboração, dedicação, incentivo e amizade.

À Dra. Marisa Santos por aceitar este desafio e me ensinar pacientemente anatomia vegetal, tornando-se uma ilustre e querida amiga.

À Dra. Aike A. Kretzschmar por sua amizade, palavras de conforto e disponibilidade em me ajudar incondicionalmente, mesmo sempre muito atarefada.

Ao Dr. Jose Antonio Yuri por me orientar e oportunizar meu Doutorado Saundúche no Centro de Pomaceas, junto a Universidad de Talca, Chile, disponibilizando toda infra estrutura e principalmente sua equipe: Msc Valeria Lepe, Dr. Jaime Gonzalez, MSc. Alvaro Sepulveda, Sra. Amalia Neri, os estudantes Nicol Vargas e Miguel Palma, e as amigas, Ivett Bustamante e Brenda Fuentes.

À minha mãe Ivanete por suas infinitas orações, as sabias palavras de ânimo, por sua parceria e presença em cada dia independentemente da distância.

Ao meu pai Luiz Geraldo (*in memorian*), que foi uma das bases para que eu chegasse até aqui.

Ao meu filho Luiz Arthur por compreender as inúmeras horas de ausência mesmo presente em casa.

Aos meus irmãos Evelise e Eduardo pelo apoio e por acreditarem em mim durante mais este estudo.

À minha família de coração, Zulmira, Joni, Indianara, Rodrigo, Silvana, Rudinei e Valentina e todos os amigos, Fabiana Lazzerini da Fonseca, Claudio Barros, Cláudia Paganin e Roveda Leoni, que vivenciaram a construção deste sonho.

Ao meu marido Eng^o Agr^o. Luiz Zanetti por toda ajuda e por sempre me dar motivos para focar cada vez mais nos meus desafios.

Aos amigos e companheiros de pós-graduação Marcio Bueno, Jardel Talamini e Ana Paula Lima pela amizade e o companheirismo, nos trabalhos e avaliações realizados durante estes anos.

À Empresa Proterra Engenharia Agrônômica Ltda pelo apoio de infra-estrutura, logística e pessoal, especialmente ao estudante José Ari Amaral Neto.

À todo grupo da fruticultura, em especial aos colegas Alberto Ramos Luz, Janaína Muniz, José Luiz Marcon, pela amizade e colaboração na realização dos trabalhos.

À empresa Rasip, que cedeu a área experimental e tornou possível a realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa e apoio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa e realização do curso de Doutorado na Universidade do Estado de Santa Catarina.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, aos funcionários e professores do Centro de Ciências Agroveterinárias que participaram de minha formação profissional e humana.

À todos que de me apoiaram, compreenderam e colaboraram de alguma forma durante esse período, para conclusão do trabalho.

RESUMO

MEYER, Geradine de Andrade. **ABSCISÃO FOLIAR EM MACIEIRAS**. 2014. 128p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal – Áreas: Ciências Agrárias e Agronomia)-Universidade de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2014.

O processo de desfolha de macieiras nas condições brasileiras ocorre naturalmente durante todo outono. O período é crítico para o manejo fitossanitário de pós-colheita para o controle de manchas foliares que causam desfolha precoce e de outras doenças que iniciam sua infecção através da lesão da queda da folha. Além de físico, o fenômeno de queda das folhas envolve transformações anatômicas e bioquímicas na base do pecíolo, chamada zona de abscisão. O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos da desfolha com etefon 1 g L^{-1} , AVG $0,06\text{ g L}^{-1}$, cloreto de cálcio 23 g L^{-1} e ácido abscísico (ABA) $1,5\text{ g L}^{-1}$, em macieiras ‘Fuji Standard’ e ‘Fuji Raku Raku’ em idade produtiva. Juntamente foi definido um método para observar a formação da camada de abscisão, e caracterizar este processo. Para acompanhar os efeitos ecofisiológicos do etefon e ABA, foi determinada a atividade das proteínas totais e enzima peroxidase, a queda temporal das folhas, e a caracterização da sua funcionalidade com base na presença de clorofila e translocação de nitrogênio. Os experimentos de estudo da desfolha foram conduzidos, durante o outono, em pomares comerciais de macieira em Vacaria, RS, nos anos 2011 e 2012 e no Chile, na região de Maule, em San Clemente, em 2013. Como desfolhantes o etefon, o AVG e o cloreto de cálcio e o ABA causaram diferente progresso da desfolha em

‘Fuji Standard’. A pulverização de desfolhante em meados de abril, não causou efeito na diferenciação das gemas e na fenologia das plantas. Na situação de estiagem durante o verão e o outono no segundo ano, a desfolha com etefon em Vacaria foi igual ao tratamento com ABA no Chile. Porém, os defolhantes etefon e cloreto de cálcio podem afetar o pegamento das frutas e a produtividade da macieira cv, Fuji Standard. Os desfolhantes mais eficazes foram etefon e ABA. Quando se avaliou o efeito do ABA e etefon em ‘Fuji Raku Raku’, a senescência das folhas foi acelerada, promovendo a desfolha antecipada em comparação com a testemunha. A enzima peroxidase foi constatada no processo de abscisão foliar de ‘Fuji Raku Raku’ e teve seu pico de atividade em menos de 24 horas depois da aplicação no tratamento de ABA, enquanto que etefon foi cerca de 24 horas. Os valores do teor de clorofila, obtidos por um medidor de clorofila (SPAD 502), serviram para estimar a funcionalidade das folhas de macieira após a colheita das frutas. Índices SPAD abaixo de 40 indicam folhas senescentes, em processo de formação da camada de abscisão. Etefon e ABA mesmo antecipando a desfolha, permitiram a translocação de nitrogênio e não causaram atrasos nos estágios fenológicos da macieira. O método utilizado para o estudo da abscisão permitiu observar e caracterizar a zona de abscisão foliar em macieiras durante todo o processo. Observou-se que a zona de abscisão ocorre na parte proximal do pecíolo, apresentando células achatadas e em processo de lignificação. A formação da camada de abscisão dá-se no sentido da face adaxial para a face abaxial, da epiderme em direção aos tecidos vasculares.

Palavras-chave: *Malus*. Senescência. Desfolha. Zona de abscisão.

ABSTRACT

MEYER, Geradine de Andrade. **LEAF ABSCISSION OF APPLE TREES**. 2014. 128p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal – Áreas: Ciências Agrárias e Agronomia)-Universidade de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2014.

Defoliation process of apples trees in the Brazilian conditions occurs naturally throughout autumn. The period is critical to control of leaf spots disease in postharvest. This disease cause premature defoliation and other diseases can to start their infection through injuries of fall leaf. Apart from the physical, the phenomenon of falling leaves involves anatomical and biochemical changes in the base of the petiole, called the abscission zone. The objective of this research was to evaluate the effects of defoliation with 1 g L^{-1} ethephon, AVG $0,06\text{ g L}^{-1}$, calcium chloride 23 g L^{-1} and abscisic acid (ABA) $1,5\text{ g L}^{-1}$ in mature apple trees 'Fuji Standard' and 'Fuji Raku Raku'. A method to observe the formation of an abscission layer, and characterize the process was defined. To follow ecophysiological effects of ethephon and ABA, the activity of peroxidase enzyme and total protein, temporal falling leaves and functionality characterization based on the presence of chlorophyll and nitrogen translocation were determined. The experiments of defoliation were conducted during autumn in commercial apple orchards in Vacaria, RS, in 2011 and 2012 and in Region of Maule, San Clemente, in Chile in 2013. Defoliant as ethephon, AVG, calcium chloride and ABA caused the different defoliation progress on 'Fuji Standart'. The spraying of defoliant in mid-April caused no effect on the buds differentiation and phenology of apple trees. In the

situation of drought during summer and fall in the second year, defoliation with ethephon in Vacaria was equal to treatment with ABA in Chile. However, ethephon and calcium chloride as defoliants may affect fruit set and yield of 'Fuji Standart' apple trees. The most effective defoliants were ethephon and ABA. Early spraying of ABA and ethephon on 'Fuji Raku Raku' accelerated senescence process by promoting early defoliation compared to the control. Peroxidase enzyme was found in leaf abscission process of 'Fuji Raku Raku'. The peak of peroxidase enzyme occurred in less than 24 hours after ABA spray, whereas to ethephon treatment peak was about 24 hours. Chlorophyll content, obtained by a chlorophyll meter (SPAD 502) served to assess the functionality of the apple leaves on postharvest. SPAD index below 40 indicate senescent leaves, in the process of formation of abscission layer. Ethephon and ABA, even anticipating defoliation, allowed translocation of nitrogen and delays on phenological stages was not observed on apple trees. The process of leaf abscission zone in apple trees was observed and characterized by method in this research. The abscission zone occurs in proximal part of petiole, with flattened and lignificated cells. The formation of the abscission layer occurs towards adaxial to abaxial surface, epidermis toward the vascular tissues .

Key-words: *Malus*. Senescence. Defoliation. Abscission zone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Material utilizado nas lâminas para observação da camada e zona de abscisão. A - Segmento do caule, contendo gema axilar, base do pecíolo, em corte fresco longitudinal. B - Visão ampliada do segmento do caule com gema e base do pecíolo, em corte fresco longitudinal. Microscópio Ótico. Legenda: Ca: caule. Ge: gema. Pe: pecíolo. ZA: zona de abscisão. 46
- Figura 2. Indicação da leitura SPAD (círculo preto) realizada nas folhas de macieira ‘Fuji Raku Raku’, conforme a troca de coloração durante o processo de senescência acelerado pelo tratamento de etefon 1000 mg L⁻¹. Valores abaixo das folhas indicam o índice SPAD das folhas senescentes. 55
- Figura 3. A - Vista geral da secção analisada para a constatação da zona de abscisão da folha. B - Vista próxima da ZA, seta indica células estreitas e alongadas. Legenda: Ca: caule. Ge: gema. Pe: pecíolo. ZA: zona de abscisão. 58
- Figura 4. Secções de folha de macieira ‘Galaxy’ (A, B, C), analisadas para a constatação da zona de abscisão (ZA). A, - amostra in vivo e B e C, fixadas em glutaraldeído, contendo um segmento do pecíolo (Pe) e xilema (Xi), uma gema axilar (Ge) e um segmento do caule (Ca). A - destacado no retângulo branco sem evidência da ZA, em fevereiro de 2012. B - Vista detalhada da ZA foliar e as setas indicam células alongadas, com paredes delgadas e em processo de divisão, corada com azul de toluidina, encontradas em

fevereiro e março de 2012. C - Destacada a ZA, caracterizada com a coloração esverdeada, assim como as escamas da gema (Esc), devido à reação com azul de toluidina, em 8/05/2012..... 62

Figura 5. Secções de folha de macieira ‘Fuji’ (A, B, C), analisadas para a constatação da zona de abscisão (ZA). A amostra fixada em glutaraldeído, B e C - amostra in vivo, contendo um segmento do pecíolo (Pe) e xilema (Xi), uma gema axilar (Ge) e um segmento do caule (Ca). A- delimitada região ainda sem evidências da ZA, em 7/03/2012. B - Setas indicam a zona de abscisão parcial, sentido adaxial (Ada) para o abaxial (Aba), caracterizada pela presença de lignina nas paredes celulares, identificada pela reação positiva com azul de toluidina, em 8/05/2012. C - ZA total de coloração esverdeada, encontrada em 16/06/2012..... 63

Figura 6. Vista ampliada do rompimento da camada de abscisão foliar em corte fresco cv. ‘Fuji Standard’, corada com azul de toluidina 2,5%. Seta indica o sentido da abscisão da face adaxial para a abaxial, quando todas as células da camada de abscisão estão lignificadas. Material coletado em 22 de maio de 2012. Ge: gema, Pe: pecíolo e CA: camada de abscisão..... 64

Figura 7. Efeito dessecante desfolhante do cloreto de cálcio em macieiras Fuji, safra 2011/2012. A – Sintoma da planta após 7 dias após a pulverização (dap); B – Folhas dessecadas presentes na planta após 40 dap; C – Detalhe no círculo vermelho as folhas secas do ciclo anterior ao lado de folhas novas..... 67

- Figura 8. Percentual de desfolha temporal de macieiras ‘Fuji Standard’ em cada tratamento na safra 2011/2012, Vacaria, RS. Desfolha realizada em 20/04/2011 71
- Figura 9. Percentual de desfolha temporal de macieiras ‘Fuji Standard’ em cada tratamento na safra 2012/2013, Vacaria, RS. Desfolha realizada em 19/04/2012. 72
- Figura 10. Percentual de desfolha temporal de macieiras ‘Fuji Raku Raku’ em cada tratamento no outono, San Clemente, Maule, Chile. ABA: ácido abscísico. Médias de seis repetições..... 75
- Figura 11. Teor de proteína total presente no pecíolo de macieira ‘Fuji Raku Raku’, 0, 1, 2, 4 e 7 dias para as plantas em senescência natural (A) e durante o mesmo período após aplicação dos fitorreguladores, etefon 1000 mg L^{-1} (B) e ácido abscísico (ABA) 1500 mg L^{-1} (C). O dia 0 corresponde a 24 de abril de 2013. San Clemente, Região de Maule, Chile. 93
- Figura 12. Atividade da enzima peroxidase em pecíolos de ‘Fuji Raku Raku’, tratadas com etefon 1000 mg L^{-1} (A) e ácido abscísico (ABA) 1500 mg L^{-1} (B), medida em unidade de enzima definido por absorvância por minuto de μg de proteína total, 0, 1, 2, 4 e 7 dias após a pulverização. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013. San Clemente, Região de Maule, Chile..... 95
- Figura 13. Ramos do ano de macieira ‘Fuji Raku Raku’ com folhas mais senescentes nas suas bases. A - com folhas em processo natural da senescência; B – tratadas com etefon 1 g L^{-1} ; C- tratadas com ABA $1,5 \text{ g L}^{-1}$ em estágio avançado de senescência. San Clemente, Maule, Chile, em 6 de maio de 2013. 97

- Figura 14. Condições meteorológicas durante o ensaio. Temperatura média e radiação solar diariamente. A radiação solar foi medida desde 9:00 até 18:45h. San Clemente, Região Maule, Chile, abril e 2013. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013..... 98
- Figura 15. Relação entre percentagem de desfolha e taxa fotossintética A – e Taxa de fotossintética com índice SPAD (B) das folhas de plantas tratadas etefon, na dose de 1000 mg L⁻¹ e ácido abscísico (ABA), na dose de 1500 mg L⁻¹ em ‘Fuji Raku Raku’, em abril de 2013, San Clemente, Maule, Chile. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013. 100
- Figura 16. Correlação entre o percental de desfolha e a taxa de fotossíntese das folhas após aplicação dos tratamentos (A); Correlação entre a taxa de fotossíntese e índice SPAD em folhas de macieira ‘Fuji Raku Raku’ a após aplicação dos tratamentos, de etefon, na dose de 1000 mg L⁻¹, e ácido abscísico (ABA), na dose de 1500 mg L⁻¹ em ‘Fuji’, em abril de 2013, San Clemente, Maule, Chile. Curvas sigmóides foram ajustadas para a testemunha (controle), etefon e ABA. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013. 103
- Figura 17. Conteúdo de nitrogênio nas folhas nos primeiros 12 dias após os tratamento (A), conforme o percentual de desfolha (B) e índice SPAD, das plantas tratadas com etefon, na dose de 1000 mg L⁻¹, e ácido abscísico (ABA), na dose de 1500 mg L⁻¹. Curvas lineares foram ajustadas para cada tratamento (A e B). O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013..... 105
- Figura 18. Folhas de macieira ‘Fuji Raku Raku’ em processo de senescência, aspecto externo (A e C) e corte fresco

da base do pecíolo corados com azul de toluidina 2,5% (B e D). A – Folha em processo de degradação da clorofila com índice SPAD acima de 40; B – Secção longitudinal da base do pecíolo, contendo a gema (Ge) e início da formação da camada de abscisão (CA), indicada com seta vermelha, na zona de abscisão (ZA); C – Folha com pouca presença de clorofila em função do avançado estágio de senescência indicado pelo índice SPAD menor que 20; D – Setas vermelhas indicam a camada de abscisão totalmente formada, evidenciada pela coloração esverdeada devido a reação da lignina com azul de toluidina. San Clemente, Maule, Chile, em 6 de maio de 2013. 107

Figura 19. Estágios fenológicos conforme Chapman e Catlin (1976). Estágio 1- gema dormente; 2 - ponta prata; 3 – ponta verde; 4 – botão floral com folha em expansão aproximadamente 1 cm; 5 – todos os botões florais expostos com folha expandida; 6 – todos os botões vermelhos; 7 – plena florada; 8 – pétalas caídas; 9 – crescimento dos frutos 127

Figura 20. Adaptação da escala fenológica. Estágio 1 – gema dormente; 2 – ponta verde; 3 – botões florais amostra; 3,5 – botões florais com folhas em expansão; 4 – botões florais com folhas expandidas; 5 – botões vermelhos; 6 – botões florais ; 7 – uma flor aberta; 7,5 – mais de uma flor aberta; 8 – plena floradas; 8,5, pelo menos uma flor com queda das pétalas; 9 – todas flores sem pétalas; 9,5 – início do crescimento da fruta da primeira flor; 10 – frutas com mais de 3 mm de diâmetro, avaliação do *fruit set*. 128

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Desfolha temporal (%) de macieiras ‘Fuji Standard’ em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013 Vacaria, RS. (Continua).. 69
- Tabela 1. Desfolha temporal (%) de macieiras ‘Fuji Standard’ em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013 Vacaria, RS. (Conclusão).
..... 70
- Tabela 2. Desfolha temporal (%) de macieiras ‘Fuji Raku Raku’ em função dos tratamentos empregados, comparados com a testemunha, no outono, San Clemente, Maule, Chile. 74
- Tabela 3. Caracterização e diferenciação das gemas de esporão e de brindila de ‘Fuji Standard’ em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Continua)..... 76
- Tabela 3. Caracterização e diferenciação das gemas de esporão e de brindila de ‘Fuji Standard’ em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Conclusão). 77
- Tabela 4. Período em dias, compreendido entre cada estágio fenológico do retorno da brotação, e pegamento dos frutos em macieiras ‘Fuji Standard’ safra 2011/2012 e safra 2012/2013, Vacaria, RS. (Continua). 80
- Tabela 4. Período em dias, compreendido entre cada estágio fenológico do retorno da brotação, e pegamento dos frutos em macieiras ‘Fuji Standard’ safra 2011/2012 e safra 2012/2013, Vacaria, RS. (Conclusão). 81

Tabela 5. Produtividade estimada, massa média das frutas de ‘Fuji Standard’, safra 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Continua).....	82
Tabela 5. Produtividade estimada, massa média das frutas de ‘Fuji Standard’, safra 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Conclusão).	83
Tabela 6. Proteínas totais encontradas em pecíolos de folhas de macieiras ‘Fuji Raku Raku’, tratadas com fitorreguladores no outono antes da desfolha. San Clemente, Chile, 2013.	91
Tabela 7. Atividade da enzima peroxidase em pecíolos de ‘Fuji Raku Raku’ após tratamentos com os fitoreguladores etefon e ácido abscísico (ABA), em comparação com o padrão de senescência natural, sem tratamento. em San Clemente, Região de Maule, Chile, em abril e maio de 2013.....	94
Tabela 8. Valores de percentual de desfolha de ‘Fuji Raku Raku’ após os tratamentos com etefon e Ácido abscísico (ABA), analisados em cada data de avaliação.	101

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	OBJETIVOS GERAIS	21
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1	A CULTURA DA MACIEIRA	23
2.2	USO DA DESFOLHA EM FRUTÍFERAS	26
2.3	PROCESSO DA ABSCISÃO E EFEITO ECOFISIOLÓGICO EM MACIEIRAS	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1	DEFINIÇÃO DE UM MÉTODO PARA ESTUDO HISTOLÓGICO DA CAMADA DE ABSCISÃO EM POMÁCEAS	45
3.2	DESFOLHA DE MACIEIRAS COM DIFERENTES PRODUTOS E SEUS EFEITOS NA MORFOLOGIA DAS GEMAS E NA FENOLOGIA E FRUTIFICAÇÃO EFETIVA DAS MACIEIRAS	47
3.2.1	Estudo da Desfolha em Vacaria, RS	47
3.2.2	Estudos da Desfolha em San Clemente, Maule, Chile	51
3.3	EFEITOS ECOFISIOLÓGICOS da ABSCISÃO FOLIAR EM MACIEIRA	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1	RESULTADOS E DISCUSSÃO: DEFINIÇÃO DE UM MÉTODO PARA ESTUDO HISTOLÓGICO DA CAMADA DE ABSCISÃO EM POMÁCEAS	58
4.1.1	Conclusão	65
4.2	RESULTADOS: DESFOLHA DE MACIEIRAS COM DIFERENTES PRODUTOS E SEUS EFEITOS NA MORFOLOGIA DAS GEMAS E NA FENOLOGIA E FRUTIFICAÇÃO EFETIVA DAS MACIEIRAS	66
4.2.1	Avaliação da queda de folhas em Vacaria	66
4.2.2	Avaliação da queda de folhas em San Clemente, Maule	73

4.3	DISCUSSÃO: DESFOLHA DE MACIEIRAS COM DIFERENTES PRODUTOS E SEUS EFEITOS NA MORFOLOGIA DAS GEMAS E NA FENOLOGIA E FRUTIFICAÇÃO EFETIVA DAS MACIEIRAS.....	84
4.3.1	Conclusões.....	89
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO: EFEITOS ECOFISIOLÓGICOS da ABSCISÃO FOLIAR EM MACIEIRA.....	91
4.4.1	Conclusão.....	108
5	REFERÊNCIAS.....	109
6	ANEXOS.....	124

1 INTRODUÇÃO

A desfolha natural da plantas caducifólias é o último estágio da folha na planta, após findado o seu processo de senescência.

O processo de senescência pode ocorrer naturalmente no final do ciclo, ou pode ser induzido precocemente por um desfolhante artificial, ou um patógeno que acelera sua senescência e desencadeia o processo de abscisão. Este processo tem sido relatado por fisiologistas em *Arabidopsis thaliana*, visto que há uma série de interações entre mecanismos moleculares, químicos e físicos que resultam na queda de folhas, de frutos, flores, pétalas e brotações (LIM et al., 2007). Em folhas de *Impatiens sultani* e algodoeiro, a formação da camada de abscisão, que precede o processo de abscisão, pode definir a sua viabilidade, ou seja, até quando apresentam capacidade de gerar fotoassimilados e translocar estes nutrientes, assim como suas próprias organelas como fonte de reservas (ADDICOTT, 1982).

A época, a velocidade e como ocorre a formação desta zona de abscisão, induzida artificialmente ou sob pressão de patógenos desfolhantes e naturalmente, não são conhecidas em macieiras. Assim a caracterização do processo de abscisão das folhas em plantas saudáveis, juntamente com a desfolha artificial, permitirá conhecer os reais efeitos da desfolha precoce na planta, e como determinar até quando as folhas estão viáveis.

Na macieira a desfolha é demorada em função das temperaturas amenas constatadas no outono brasileiro, o que aumenta a permanência das folhas nas plantas e o número de pulverizações com fungicidas.

A realização de desfolha em diversas culturas tem sido empregada para facilitar a poda, diminuir custos de produção, no manejo de raleio de frutas, para modificar o retorno da

brotação, reduzir o vigor das plantas e a incidência de patógenos além de melhorar a eficiência do controle químico.

A crescente incidência de doenças foliares que provocam desfolha precoce em pomares de macieiras, como a Mancha Foliar da Gala causada por *Colletotrichum gloesporioides* e a Mancha Foliar de Marssonina (MFM) que afeta a cv. Fuji e seus clones, e é causada por *Marssonina coronaria*, têm despertado preocupações dos fruticultores e pesquisadores do setor. Isto em função dos seus efeitos sobre a fenologia, qualidade das gemas, frutificação efetiva, qualidade das frutas, produção e produtividade, das cultivares utilizadas nos plantios brasileiros. Recentemente, a constatação no Brasil do cancro europeu em pomáceas (*Neonectria ditissima*). A lesão provocada pela queda das folhas é um dos principais meios de entrada do fungo na planta e devem ser feitos tratamentos preventivos para proteger esse sítio de infecção. Neste caso, a adoção do manejo de desfolha constituirá provavelmente uma ferramenta para redução das aplicações de fungicidas.

A literatura menciona que o desfolhamento precoce em macieira, reduz o acúmulo de reservas e impede a boa diferenciação de gemas floríferas, o que se traduz em baixa produção de frutos, e frutos de má qualidade (KRETZSCHMAR et al., 2005; SHARMA et al., 2005). Com base nestas informações os tratamentos fitossanitários das plantas se estendem do fim da primavera até próximo à queda das folhas, o que acarreta na elevação dos custos de produção. Isto se justifica no Brasil por não se conhecer o período de abscisão, o processo de senescência nem quando ocorre a perda da funcionalidade das folhas.

A época, a velocidade e como ocorre a formação desta zona de abscisão, induzida artificialmente ou sob pressão de patógenos desfolhantes e naturalmente, não são conhecidas em macieiras. Assim a caracterização do processo de abscisão das folhas em plantas saudáveis, juntamente com a desfolha

artificial, permitirá conhecer os reais efeitos da desfolha precoce na planta, e como determinar até quando as folhas estão viáveis.

Algumas hipóteses fundamentaram este trabalho: 1) A constatação da camada de abscisão permite constatar a funcionalidade das folhas; 2) As folhas de macieiras se mantêm funcionais até 30 dias após a colheita sem incidência de geadas; 3) A desfolha precoce nas condições brasileiras antes da colheita reduz o acúmulo de reservas e afeta a diferenciação de gemas, resultando em baixa produção e frutas menores; 4) Os reguladores de crescimento, etefon e ácido abscísico, e aminoethoxyvinylglycine, servem como desfolhante artificial, e no aumento da viabilidade da folha, respectivamente, da macieira; 5) A utilização de um inibidor da síntese de etileno reduzir a velocidade do processo de senescência das folhas, mesmo com incidência de doença foliar; 6) Através do índice de clorofila das folhas de macieiras, medido com SPAD 502, é possível verificar a senescência das folhas.

1.1 OBJETIVOS GERAIS

Caracterizar anatomicamente a formação da camada de abscisão foliar e avaliar os efeitos ecofisiológicos na planta de produtos desfolhantes e fitorregulares e macieiras.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Validar um método para identificar a zona de abscisão das folhas de macieira
2. Definir os produtos e doses que resultam na desfolha, e realizar o acompanhamento da senescência das folhas em macieiras 'Fuji Standard'.

3. Prolongar a atividade foliar, mesmo com incidência da doença, através da utilização de um inibidor da síntese de etileno nas macieiras.

4. Determinar a fenologia, frutificação efetiva, qualidade das frutas e produtividade das plantas de macieira submetidas ou não a desfolha em macieiras com e sem doença foliar.

5. Definir a perda da funcionalidade da folha de macieiras ‘Fuji Raku Raku’, com base no início da sua senescência e atividade da enzima peroxidase e as proteínas totais após a aplicação de fitorreguladores usados como desfolhantes.

6. Correlacionar a formação da zona de abscisão foliar com o índice SPAD, em ‘Fuji Raku Raku’.

7. Indicar uma recomendação para o manejo da desfolha de macieiras.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA MACIEIRA

A macieira é uma espécie frutífera, de clima temperado, decídua, que perde suas folhas no outono, retornando a brotação na primavera. Segundo Joly (1993), a macieira pertence a família Rosaceae, que compreende mais de 100 gêneros de ampla distribuição na regiões temperadas do hemisfério norte. Na flora brasileira, os membros desta família estão representados por cinco gêneros, tendo como principal distribuição geográfica o sul do país. Nessa família os fatores de distinção entre as subfamílias são a forma do receptáculo floral, o número, a posição relativa dos carpelos e o caráter dos frutos (EPAGRI, 2002).

Pomoideae é a subfamília a que a macieira pertence, caracterizada por profundo receptáculo em forma de taça, onde as paredes inferiores se unem aos carpelos, que acabam se unindo entre si e contêm geralmente dois óvulos. Taxonomicamente a macieira já foi denominada de *Pyrus malus* Lineu, *Malus pumila* Miller, *Malus sylvestri* Miller, *Malus malus* Britton, *Malus communis* Poiret e *Malus domestica* Borkhausen. No entanto, em, 1803 de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, *M. domestica* Borkhausen. é a primeira denominação válida publicada para macieira cultivada, anulando todas as denominações publicadas a partir daquela data (EPAGRI, 2002).

A macieira é uma das fruteiras mais cultivadas em todo mundo, em 2010, registrou-se cerca de 4.696.259 hectares (ha) plantados, que produziram 69.511.975 toneladas (ton) de maçãs. A China deteve quase a metade da área mundial plantada e da produção, com 2.056.231 ha e 33.265.18 ton, respectivamente. Os demais países produtores apresentaram menos do que 191 mil ha de área plantada, e o Brasil teve aproximadamente 39 mil ha que produziram 1.279.030 ton de

maças (FAO, 2012). Na maioria dos países a produção de maçãs provém de macieiras dos grupos ‘Gala’, ‘Fuji’ e ‘Red Deliciosos’, que respondem por cerca de 70% da produção mundial (IGLESIAS et al., 2009)

No Brasil, a maçã é produzida principalmente nos Estados do Sul, e Santa Catarina responde por 51% da produção nacional, seguido do Rio Grande do Sul (44%) e do Paraná (5%). Os três grandes pólos produtores são Vacaria (RS), São Joaquim (SC) e Fraiburgo (SC). Em 2007, estimava-se um total de 2.731 produtores no País (ICEPA, 2009). Dentre os pólos produtores brasileiros as cultivares Gala e Fuji e seus clones responderam por 94,60% da produção de maçãs na safra 2009/2010 (FIORAVANÇO et al., 2010).

Na safra 2010/2011, o Rio Grande do Sul produziu 634.436 toneladas, ou seja, 47,38% da produção do país, estimada em 1.338.995 toneladas (IBGE, 2011). A principal região produtora é a Nordeste Rio-Grandense. Nessa região, localizam-se os dez principais municípios produtores do estado. Entre esses, destacam-se, Vacaria com 260.000 t de produção na safra 2010/2011, Caxias do Sul com 108.800 t, Bom Jesus com 98.000 t, Muitos Capões com 64.000 t e Monte Alegre dos Campos com 12.500 t. Também são integrantes desse grupo: São Francisco de Paula, São José dos Ausentes, Ipê, Lagoa Vermelha e Campestre da Serra. A região Nordeste Rio-Grandense foi responsável, na safra 2010/2011, por mais de 97% da área cultivada e 98% da produção do Estado, com um valor de 366.792 milhões de reais, 97% do valor da produção estadual (IBGE, 2011).

Acresce-se a sua importância econômica, o fato de que a produção de maçãs é uma das atividades que mais contribui para a oferta de empregos no mercado nacional brasileiro. Dentre as frutas de clima temperado é a mais comercializada como fruta fresca, sendo colhida manualmente o que exige um elevado número de trabalhadores, principalmente no período da colheita. Em média cada hectare plantado gera 1,5 empregos

diretos (TESSMER, 2009) que, estimando-se com base na área plantada em 2010, representa cerca de 58 mil trabalhadores nos pomares brasileiros, de médias e grandes empresas, de cooperativas e de pequenas propriedades de agricultura familiar.

Entre os principais fatores que afetam a produtividade da macieira no Sul do Brasil destacam-se o baixo número de horas de frio para cumprir com a necessidade de recesso vegetativo durante a dormência, alta precipitação na primavera e no verão, alta umidade relativa do ar e a ocorrência de pragas e doenças (BONETI et al., 2006).

Na macieira as doenças que causam manchas foliares com conseqüente queda das folhas, vêm adquirindo importância fitossanitária crescente nas regiões produtoras. Entre elas, a Mancha da Gala é conhecida como ‘Mancha Foliar da Gala’ (MFG) que juntamente com a sarna (*Venturia inaequalis*) são as doenças mais importantes da macieira no Sul do Brasil. A MFG por *Glomerella cingulata* atinge principalmente as cultivares do grupo ‘Gala’ e da ‘Golden Delicious’ (SANHUEZA et al., 2006). Em 2005, foi constatada no Brasil a ocorrência da desfolha precoce de macieiras Eva pela Mancha Foliar por Marssonina, no estado do Rio Grande do Sul (KRETZSCHMAR et al., 2005).

O controle das doenças desfolhantes é realizado principalmente a partir de métodos culturais no pomar e pulverizações preventivas e frequentes, conforme condições favoráveis para o desenvolvimento dos patógenos (BONETI et al., 1999; SANHUEZA, 1999).

As aplicações de fungicidas em um pomar de macieira ‘Gala’ adulto de baixa densidade podem compreender até 26% dos custos de produção (KREUZ et al., 2005; KREUZ et al., 2006). Quando há presença de epidemia de doenças foliares as recomendações de pulverização são de aplicações a cada 7 ou 10 dias, aumentando assim o número de pulverizações (SANHUEZA, 1999).

Segundo a recomendação técnica brasileira, deve-se após a colheita continuar a pulverização de macieiras infectadas até o fim de março para reduzir o inóculo no pomar, evitar a queda prematura das folhas e prevenir prejuízos no desenvolvimento e qualidade das gemas frutíferas para o próximo ciclo vegetativo (SANHUEZA et al., 2002).

Recentemente, a constatação do cancro europeu em pomáceas (*Neonectria ditissima*) brasileiras, reforça a necessidade de avaliar o uso de desfolha no outono como medida de mitigação e controle do patógeno. A lesão provocada pela queda das folhas é um dos principais meios de entrada do fungo na planta e devem ser feitos tratamentos preventivos para proteger esse sítio de infecção (SANHUEZA et al., 2012).

2.2 USO DA DESFOLHA EM FRUTÍFERAS

A perda natural das folhas ou desfolha, e de outros órgãos em plantas caducifólias faz parte do processo de senescência, a qual é regulada por fatores abióticos e bióticos. Entre eles a diminuição do fotoperíodo e da temperatura, juntamente com o balanço entre os níveis de auxina e etileno, são as principais causas (SEXTON, 2001). A desfolha em plantas também pode ser induzida por situações de injúrias causadas pela ação de algum patógeno, como em macieiras e pessegueiros (KRETZSCHMAR et al., 2005; ALVES e MAY-DE-MIO, 2008) ou praga, como consequência do uso de alguma substância ou pela execução de práticas de manejo do cultivo (TUSTIN et al., 1997; SILVA et al., 2011).

Inúmeras substâncias são capazes de liberar etileno, como o produto CGA 15281, 2-cloroetil-metilbis(fenilmetoxy) silane, (LARSEN et al., 1984) e a mais utilizada e efetiva, o ácido 2-cloroetil-fosfônico, mais conhecido como Ethrel, Etefon ou CEPA (RYUGO, 1988).

Na horticultura e fruticultura a desfolha artificial pode ser realizada com várias finalidades sendo elas: no manejo para acelerar o processo de arranquio de mudas em viveiro, de espécies de clima temperado antes da ocorrência de geadas fortes que possam danificar os botões (BASAK et al., 1973; GEARDTS et al., 1977; LARSEN et al., 1984; GUAK e FUCHIGAMI, 2001), em plantas em idade produtiva para favorecer o manejo de poda (JENSEN et al., 1984; FRACARO e BOLIANI, 2001; FRACARO et al., 2004), para alterar a profundidade da dormência e alterar padrões de crescimento (LLOYD e FIRTH, 1990; CHOI et al., 2003) e para minimizar a ocorrência de doenças (BI e SCAGEL, 2009; SILVA et al., 2011). Correlações entre graus de desfolha e quantidade de carboidratos de reserva têm sido analisadas sobre o efeito no crescimento dos ramos e raízes (NZIMA et al., 1999) e na frutificação efetiva das plantas (OUMA, 2007), no tamanho das frutas (ALBREGTS, et al., 1992), e abortamento floral em pereiras (LIMA et al., 2012).

O manejo de desfolha também pode ter seu efeito variável em função do produto utilizado (GEARDTS et al., 1977; JONES et al., 1974), da espécie (LLOYD e FIRTH, 1990; FRACARO e BOLIANI, 2001; FRACARO et al., 2004), da época (CHOI et al., 2003; BI e SCAGEL, 2009), das fases do ciclo vegetativo da planta (OUMA, 2007), da conformação genética, estágio fisiológico e quantidade de reservas de carboidratos (TREVISAN et al., 2003).

Fatores externos podem resultar em respostas distintas das plantas aos desfolhantes. Dentre eles podem ser citadas a temperatura, a umidade e precipitação, o período, concentração do produto, tipo de solo, idade da planta, quantidade de calda e adjuvante e pH da água (LARSEN, 1973). No entanto, estudos recentes são escassos e os produtos testados normalmente são registrados para outros fins, como sulfato ou nitrato de amônio em altas doses, o cloreto de cálcio ou sódio, e o sulfato de

zinco, por exemplo, empregados no cultivo de videiras na Califórnia (JENSEN et al., 1984).

Em 1977 a desfolha artificial com o etefon, biuret, sulfato de zinco com e sem óleo mineral, paraquat e cloreto de sódio, dodecyl polyethyleno glycol (D-WK), sulfato de zinco em duas doses, associado a etileno glycol em viveiros de pessegueiros, ameixeiras e nectarinas foi testada em San Joaquin Valley nos Estados Unidos. A finalidade foi retirar as folhas que permanecem nas plantas no final do ciclo que dificultam a realização da poda de inverno. As ameixeiras e nectarineiras foram facilmente desfolhadas em todos os tratamentos aproximadamente após oito dias da pulverização. Na primavera seguinte, os autores observaram que a brotação das gemas foi atrasada dois ou três dias no tratamento de biuret e de três a cinco dias nos tratamentos de etefon, sem nenhum efeito na produção. No entanto, observaram não haver diferença na densidade de florada, ou na produção, porém o cloreto de sódio causou injúrias nas gemas floríferas das plantas.

Couvillon e Lloyd (1978) constataram que o período em que a desfolha é feita resulta em modificações no padrão vegetativo e de crescimento produtivo em espécies de clima temperado. Em pessegueiro eles constaram que a desfolha antecipada resultou em atraso da florada na primavera. Este resultado também foi observado em pessegueiro precoces 'Flordaprince' e 'Flordagold', na Austrália, por Lloyd e Firth (1990). Estes autores verificaram que as diferentes épocas de desfolha (14 e 22 de abril e 2 maio), pulverizando sulfato de zinco na dose de 5%, tiveram efeito diferenciado na dormência e capacidade de crescimento das gemas. Quatro dias após a aplicação em cada data, as plantas estavam quase totalmente desfolhadas e as duas primeiras datas diminuíram o tempo da dormência de inverno das duas cultivares, além de diminuir o tamanho das gemas conforme a cultivar.

Larsen et al. (1984) testaram em viveiro de macieira ‘Red Chief Delicious’ e pereira ‘Bartlett’ o produto CGA 15281 (2-cloroetil-metilbis (fenilmetoxy) silane), usado como raleador em pessegueiros, com a finalidade de desfolhar as plantas precocemente. O produto foi aplicado em três doses, 1000, 1500 e 2000 mg L⁻¹ e foi observado que houve efeito diferenciado entre as espécies quanto a dose em relação aos danos nos lançamentos do ano e no atraso no retorno da brotação.

Na videira ‘Rubi’, a desfolha utilizando doses crescentes de etefon, 4500, 6000 e 7500 mg L⁻¹, aplicado em abril, antes da poda de produção, resultou que aos 20 dias antes da poda houve maior percentagem de desfolhamento, menor tempo de realização da poda, maior porcentagem de gemas brotadas e maior produção (FRACARO e BOLIANI, 2001). No entanto em videira ‘Niagara Rosada’, o etefon em doses mais altas, de 4500, 9000 e 13500 mg L⁻¹, foi eficiente em desfolhar as plantas, sem causar nenhum prejuízo a emissão de ramos e ao desenvolvimento das plantas (FRACARO et al, 2004). Estes estudos evidenciam o efeito distinto do etefon conforme a dose em diferentes espécies e condições do ambiente.

Em 1991, Dickson, na Índia observou que a desfolha em plantas lenhosas pode causar fatores de estresse, os quais levam a níveis baixos de reserva de carboidratos na planta, aumentando a suscetibilidade a temperaturas baixas e doenças, e também diminui a área foliar total da planta e o crescimento das raízes no ciclo seguinte. Em estudos realizados na Nova Zelândia em macieiras, Tustin et al. (1997) observaram que a desfolha precoce de 50 % das folhas 10 dias e um mês após a colheita, e 100% das folhas neste mesmo intervalo, causaram diferenças na fenologia e no desenvolvimento dos frutos (frutos menores) em relação as plantas que tiveram a desfolha natural no final do ciclo.

Em cerejeiras doce, na Califórnia, a desfolha com sulfato de zinco em doses menores do que o usado em desfolha

total foi realizada para alterar o período de dormência e retorno da brotação em variedades cujas condições ambientais de necessidade de horas de frio não eram supridas (GLOZER e GRANT, 2006).

Na Coreia, Choi et al. (2003), verificaram que diferentes intensidades de graus de desfolha precoce em plantas jovens de caqui 'Fuyu', diminuíram o tamanho dos frutos a medida que a intensidade foi maior. E quando a desfolha foi de 100% as frutas foram menos firmes, menos doces e menores.

Na Alemanha, outra aplicação da desfolha conforme o estágio vegetativo da planta, o efeito desfolhante do etefon foi comparado com o de raleantes químicos, ureia formaldeído e thiosulfato de amônia, em macieira cv. Elstar sobre porta-enxerto M9. Os resultados evidenciaram que o uso da desfolha parcial, ou seja, a retirada de um terço das folhas dos esporões durante o florescimento, reduziu a taxa de fotossíntese e resultou no aumento da abscisão dos frutos (diminuindo a frutificação efetiva) agindo com a mesma eficiência dos raleantes químicos (OUMA, 2007). O autor justifica que ausência das folhas, principal fonte produtora de carboidratos para o crescimento das frutas, foi responsável pela queda das frutas devido principalmente a competição por fotoassimilados entre elas e o crescimento vegetativo.

O manejo da poda verde (no verão) foi associado à desfolha com etefon na metade de fevereiro, em viveiros de mudas de Ateioia propagadas por estaquia na Austrália, e resultou em melhorar a estrutura das plantas e em acelerar sua entrada em produção (GEORGE e NISSEN, 1986).

No Brasil, a desfolha antecipada de pereira asiática 'Shinseiki', em meados de abril reduziu o abortamento floral e resultou em 85% dos primórdios florais sadios, enquanto que na testemunha, desfolhada naturalmente em fim de maio, o percentual foi de 60% (LIMA et al., 2012). Também no Brasil, devido à desfolha natural das macieiras ser prolongada no outono até o fim de maio, o que dificulta o controle das

doenças foliares, o uso da desfolha como ferramenta de manejo fitossanitário é importante para os produtores.

Poucas são as informações sobre uso de desfolhantes em macieiras nas condições brasileiras. Em estudos recentes, Meyer et al. (2012) avaliaram o efeito desfolhante de elevadas doses de cloreto de cálcio em macieiras 'Royal Gala'. A partir dos resultados verificou-se que a desfolha ocorre mais rapidamente na dose de 100 kg ha⁻¹, com cerca de 7 dias, podendo ocorrer em 14 dias nas doses de 70, 80 e 90 kg L⁻¹, e de 21 dias para as doses de 50 e 60 kg ha⁻¹.

No entanto, a desfolha artificial ou forçada pode ter efeito fisiológico diferente em cada espécie, conforme observado, em viveiro, para a macieira, pereira e damasqueiro e, entre cultivares da mesma espécie como em pessegueiro (LLOYD e FIRTH, 1990) e por isso deve ser testada em cada local e condição, conforme a espécie, produto e dose, e conforme o estágio do ciclo vegetativo da planta.

2.3 PROCESSO DA ABSCISÃO E EFEITO ECOFISIOLÓGICO EM MACIEIRAS

Durante a vida uma planta pode ter perdas de órgãos como as folhas, os frutos, as pétalas, os brotos, e as flores e até mesmo a casca, que por algum motivo predeterminado atingiram a fase de redução do desempenho fisiológico. Há dois processos distintos que contribuem diretamente para estas perdas. O primeiro refere-se a perdas através do destacamento de tecidos mortos ou doentes, tais como casca, folhas, ramos e raízes velhas. Nestes casos, grandes forças mecânicas, como o vento ou crescimento diferencial, resulta na ruptura do órgão em uma região do tecido inerentemente fraco. O segundo envolve o processo de Abscisão que também constitui na perda de folhas, frutos, flores e partes florais, mas ocorre em locais precisos em uma planta por causa da separação de células principalmente através da

ação de enzimas hidrolíticas (HORTON e OSBORNE, 1968; ADDICOTT, 1982; SEXTON e ROBERTS, 1982; OSBORNE, 1989). A abscisão é um ativo processo metabólico, que resulta no enfraquecimento de específicas células geneticamente definidas, que no processo de divisão podem produzir várias camadas de células chamada camada de abscisão, localizadas na zona de abscisão (ADDICOTT e LYNCH, 1955).

A abscisão é conceituada como a separação de células, tecidos ou órgãos do restante do corpo da planta. Fisiologicamente há a quebra das paredes celulares e perda da integridade estrutural do tecido, juntamente com a ação de forças externas (ADDICOTT, 1982).

A zona de abscisão é definida como a região na base do órgãos através dos quais, eventualmente, a abscisão ocorre (GAWADI e AVERY, 1950), no caso de folhas normalmente ocorre na base do pecíolo (WEAVER, 1996).

A abscisão inclui as funções de separação e proteção, onde no processo de separação das folhas há trocas de metabólitos das paredes celulares e as estruturas químicas das pectinas que formam a lamela média e parte da celulose que forma a parede primária (WEAVER, 1996). Ao contrário do processo mecânico de destacamento, a abscisão é precisamente controlada por mecanismos hormonais (SEXTON, 2001). Muitas das bases fisiológicas da abscisão têm sido descritas nos últimos anos, e o processo envolve uma série de eventos programados que culminam na morfologia de células alteradas e rearranjo de tecido (ADDICOTT, 1968; BALDINI, 1986).

O processo de abscisão pode ser afetado por fatores ambientais como o frio, o calor, o estresse hídrico, a presença de patógenos, feridas, e da nutrição das plantas (ADDICOTT, 1982; BALDINI, 1986; WEAVER, 1996). Geralmente a senescência do órgão distal precede a abscisão; quando os frutos estão prontos para serem colhidos, as folhas amarelecem. Quando o processo é induzido rapidamente por etileno a partir de fontes artificiais ou de tecidos doentes adjacentes, a

senescência pode ter mal começado antes da abscisão ocorrer (KENDALL, 1918).

Addicott e Lynch (1955), em sua revisão sobre a fisiologia da abscisão, separaram o processo em parte morfológica e fisiológica. Morfológicamente a zona de abscisão é geralmente localizada na base de algum órgão que será destacado, sendo constricta e contigua na região. Nesta, há células finas e alongadas e bem próximas sem presença de lignina ou suberina. Entretanto, estas células da zona de abscisão são as que darão início ao processo de senescência do órgão ou fruto. Segundo Addicott (1982) após a abscisão a camada de proteção é o local onde, após a separação do órgão, vai ocorrer a cicatrização decorrente de modificações anatômicas. Primeiramente há a formação da camada primária e depois a definitiva. Esta camada é formada por camadas de células a partir de divisões celulares antes e depois da separação sendo próximas ao local de ruptura. A camada é usualmente suberizadas e outras substâncias podem ser depositadas. A segunda camada de proteção pode desenvolver mais abaixo da camada primária, desenvolvendo-se como periderme e usualmente continua adjacente ao periderme.

A separação é precedida por uma série de divisões celulares, entretanto, no processo de abscisão foliar em algumas espécies, esta divisão não ocorre. Na aplicação exógena de etileno, também não há divisões celulares durante a abscisão foliar, a deiscência das anteras e em alguns frutos (GAWADI e AVERY, 1950). Deste modo a divisão celular não seria essencial para o processo de separação, mas estes mesmos autores, acreditam que possa estar relacionada com a formação das camadas celulares do processo de cicatrização. Addicott e Lynch (1955) relataram que o processo de separação pode resultar da dissolução de uma ou mais camadas de células ou parte das células da parede celular. Em todos os tipos a dissolução pode ser considerada a reação chave do processo fisiológico.

Fisiologicamente o processo é afetado ou inibido pelo estágio de senescência do tecido, desenvolvimento do embrião que precede a queda das pétalas, balanço de auxina, a relação entre carboidratos e nitrogênio, estresse hídrico, comprimento do fotoperíodo, e a aplicação de desfolhantes (ADDICOTT e LYNCH, 1955). Acredita-se que a parte hormonal do processo é impulsionada por etileno, de modo que a auxina parece contribuir significativamente (SEXTON e ROBERTS, 1982). Alterações nos níveis dos hormônios tem sido relatados no metabolismo das plantas que são tratadas com desfolhantes químicos. Estas alterações parecem ser importantes para as primeiras etapas da indução da abscisão. Neste caso os níveis de auxina caem rapidamente após a aplicação dos desfolhantes (SWETS e ADDICOTT, 1955).

A anatomia e fisiologia da abscisão têm sido o objetivo de uma extensa pesquisa em diversas espécies (ADDICOTT e LYNCH, 1955). Em 1979 Sexton analisou detalhadamente o padrão de abscisão de *Impatiens sultani* a ação primeira da separação detectável cerca de 13 horas após o tratamento e encontrou um pequeno grupo de células corticais abaixo da face adaxial na zona de abscisão. Neste local houve a quebra da lamela média na direção para baixo e abaxial lateralmente. O colênquima e a epiderme no decorrer do caminho em direção a face abaxial na zona de abscisão os tecidos vasculares foram os últimos a separam (SEXTON, 1982).

Alguns resultados de pesquisas obtidos por outros pesquisadores sobre a caracterização dos diferentes estágios durante o processo de abscisão foram compilados em Sexton (2001). Em sua publicação citou o estudo da estrutura do fruto da framboesa (*Rubus idaeus* L.) em relação à abscisão, que revelou dois modos de separação de células que podem ocorrer dentro da zona de abscisão de framboesa; além de observações sobre as alterações morfológicas do processo de abscisão de folhas de *Impatiens sultani*; e o efeito do etileno em flor de

tomateiro (*Lycopersicon esculentum*), a partir da queda brusca das pétalas e caracterização da zona de abscisão.

Em 2013, Estornell et al., publicaram uma revisão de estudos, em frutos, flores, pedicelos, pedúnculos em mutantes e publicaram um modelo aceito de abscisão que está definido em três momentos. No primeiro ocorre a diferenciação das células caracterizando a zona de abscisão; no segundo, o tecido está pronto para receber a ação de sinais, endógenos e exógenos para ativar o processo de separação, por meio de genes; e por fim, ocorre a diferenciação da camada de proteção do órgão que sofreu a abscisão.

A formação da camada primária de proteção e a de felogênio, depois da queda das folhas em pessegueiro foi estudada histologicamente. Constatou-se que esta camada estava localizada cerca de 700 µm da zona de abscisão composta por células lignificadas e foi formada em um intervalo de 6 até 18 dias conforme a temperatura em que as plantas estavam submetidas (BIGGS e NORTHOVER, 1985).

A abscisão de flores e frutas de pessegueiro foram descritas e quando induzidas por aplicações de etileno exógeno, e foi observado que as células da zona de abscisão respondem diretamente aos sinais que induzem a diferenciação celular de três zonas de abscisão localizadas na base do botão floral, entre o pedúnculo e o receptáculo floral e terceira na base do fruto (ZANCHIN et al., 1995),

Nas espécies frutíferas temperadas, como a macieira e a pereira nas condições brasileiras, a abscisão das folhas pode ocorrer precocemente pela infecção por fungos fitopatógenos (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Marssonina mali*, e *Entomosporium mespi*) (SHARMA et al., 2005; SANHUEZA et al., 2006). Por outro lado, o processo de abscisão natural, ocorre muito lentamente durante o outono, requerendo também inúmeras pulverizações com fungicidas até que todas as folhas tenham caído, para que as plantas fiquem protegidas durante a maior parte do tempo possível (SANHUEZA et al., 2006). A

ausência de informação sobre a duração da funcionalidade das folhas da macieira no Brasil justifica essa proteção.

Durante a senescência, ao mesmo tempo em que diminui o fluxo de auxinas no pecíolo, ocorre um aumento na produção de etileno na região de abscisão. A queda no nível de auxinas torna aparentemente as células da região de abscisão mais sensíveis à ação do etileno. Com isso a dissolução parcial ou total da parede celular e da lamela média, devido a atividade de enzimas como celulase e poligalacturonase que agem no metabolismo da parede celular, (BALDINI, 1986; ZANCHIN et al., 1993), e enfraquece a região de abscisão do ponto de vista mecânico. Basta neste momento um vento moderado para causar a quebra do feixe vascular e completar a separação da folha do restante da planta (SEXTON, 2001).

Na década de 70, os pesquisadores Larsen (1973) e Larsen e Lowell, (1977), publicaram em seus trabalhos diferentes produtos usados como desfolhantes químicos, sendo eles o bromodine, ethephon, ácido abscísico (ABA), Dupont Cok surfactante, usados para acelerar a abscisão das folhas no outono em viveiros de espécies frutíferas. Ryugo (1998), mencionou que entre as substâncias aceleradoras do processo de abscisão estão principalmente, o etileno, ácido abscísico e giberelinas (RYUGO, 1998).

A maioria dos desfolhantes aceleram a senescência e apresentam sintomas semelhantes, pois afetam a concentração de clorofila na folha e podem desenvolver antocianina, como ocorre em folhas de macieiras (TARTACHNYK E BLANKE, 2004). Outros podem ter efeito drástico envolvendo necrose da folhas comportando-se como dessecante (ADDICOTT, 1982), como quelato de cobre utilizado como desfolhante em mudas de 'Fuji' (DONG et al, 2004) e sulfato de cobre em mudas de macieiras 'Yellow Transparent' e 'Jonathan' (BASAK et al., 1973), e em viveiros de hortências (BI e SCAGEL, 2009).

Inúmeras substâncias são capazes de liberar o etileno, dentre elas, a mais utilizada e efetiva é o ácido 2-cloroetil-

fosfônico, mais conhecido como Ethrel, Etefon ou CEPA. Um grupamento – CH₂ – CH₂ no centro da molécula. com um centro removedor de elétrons de um lado e um doador de elétrons do outro, é capaz de produzir etileno. Acredita-se que na rota metabólica para a produção de etileno, a auxina estimule a conversão de S-adenosil-metionina (SAM) em 1 amino-ciclopropano-ácido carboxílico (ACC) precursor imediato do etileno. Alguns destes aparecem em quantidades crescentes à medida que as folhas envelhecem (RYUGO, 1988).

Aplicações exógenas de etileno aceleram a senescência foliar, enquanto que o tratamento com citocininas exógenas retarda este processo. Nas folhas, o etileno estimula a síntese e atividade de enzimas hidrolíticas que participam de alterações estruturais associadas à abscisão (queda). O uso de etefon vem sendo difundido em vários países na produção de hortícolas (BROWN, 1997).

Os inibidores da síntese de etileno são aminoetoxivinilglicina (AVG) e ácido aminooxiacético (AOA), sua principal função é atrasar a senescência do tecido. Todos esses estudos sugerem que a senescência é regulada pelo balanço entre etileno e citocinina. A aminoetoxivinilglicina (AVG) inibe a conversão de S-adenosilmetionina (SAM) em ácido 1- aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). catalisada pela enzima ACC sintase (ACS), na rota de síntese do etileno (CAPITANI et al., 2002). Devido a sua ação inibidora da síntese de etileno, a aplicação pré-colheita de AVG (ReTain[®]) reduz a queda de frutos e retarda a maturação em maçãs 'Gala' (STEFFENS et al., 2006), sendo estas respostas menos expressivas em maçãs 'Fuji'. que apresentam menor produção de etileno (AMARANTE et al., 2002). Além disto, maçãs 'Gala' de plantas tratadas com AVG (ReTain[®]) apresentam menores perdas de qualidade durante o armazenamento em atmosfera controlada (AC) (BRACKMANN e WACLAWOVSKY, 2001). Também em aplicação de pré-

colheita o AVG (ReTain[®]) reduziu a incidência e severidade de pingo de mel, aumentou a incidência de bitter-pit, e severidade da MFG (AMARANTE et al., 2010). Bogo et al. (2011) observaram que a pulverização de AVG (ReTain[®]), 4 semanas antes da colheita, sem pulverização de fungicida durante este período, houve aumento da área abaixo da curva de progresso de incidência e severidade da doença nas doses de 125 e 250 mg i.a. L⁻¹.

As plantas respondem ecofisiologicamente ao processo de desfolha a partir das modificações visíveis, como a coloração das folhas, assim como mudanças fisiológicas na planta (LIM et al., 2007). Considera-se que o termo desfolha abordado neste estudo refere-se à consequência do processo de senescência das folhas, onde ocorrem os efeitos ecofisiológicos naturalmente e ou resultantes da aplicação de produtos desfolhantes. O processo de abscisão foliar natural da macieira é o resultado do processo de senescência, ocorrendo conforme o avanço da idade do órgão, e nas fruteiras temperadas ocorre no outono. Durante este processo ocorre remobilização de nutrientes das folhas para os troncos onde são armazenados nitrogênio, minerais, açúcares que serão necessários na primavera (GUIBOILEAU et al., 2010).

Hortensteiner e Lee (2007) descreveram algumas formas de mensurar e diagnosticar a senescência das plantas através de algumas características quantitativas, sendo elas a intensidade do verde, a duração da fotossíntese em folhas verdes, a mobilização de nitrogênio e atividade da enzima Rubisco e proteínas totais, trocas gasosas, concentração de clorofila, marcadores bioquímicos e expressão de genes realacionados à senescência como *SAG12*.

Segundo Addicott e Lynch (1955) a abscisão é controlada por um balanço hormonal entre o etileno (principal responsável pelo início do processo) e a auxina (inibidor da ação do etileno), e também o ácido abscísico (SEXTON e ROBERTS, 1982). A abscisão envolve uma série de eventos programados,

que alteram a morfologia de células e rearranjam tecidos (SEXTON, 2001). No processo ocorre a expressão de genes que codificam enzimas hidrolíticas, que degradam a parede celular e a lamela média, na zona de abscisão onde ocorre a separação do órgão (ROBERTS et al., 2000). O preparo da planta para o processo de separação resulta em reações de lignificação da zona de abscisão onde haverá a fratura, e de cicatrização (suberização) (BLEECKER e PATTERSON, 1997).

O processo de abscisão pode ser afetado por fatores ambientais como frio, calor, estresse hídrico, presença de patógenos, injúrias e nutrição (ADDICOTT e LYNCH, 1955). A resposta a um período de condições desfavoráveis em um determinado órgão resulta no início do processo de senescência, mediado por ações hormonais havendo a ativação de células da zona de abscisão. O sinal hormonal na planta tem como base a síntese e ativação de rotas metabólicas e no transporte dentro e entre as células nos diferentes órgãos.

Os hormônios e seus precursores podem se mover a longas distâncias na planta através do sistema vascular, xilema e floema facilitando a comunicação entre os órgãos, e assim influenciando o padrão de resposta na atividade da zona de abscisão (GOMEZ-CADENAS et al., 1996).

Os reguladores de crescimento etefon e ABA têm sido amplamente aplicados exogenamente como desfolhantes em diferentes cultivos, visto que o etefon tem ação semelhante ao do etileno, o qual é um dos mais importantes reguladores da abscisão. Acredita-se que ABA e etileno devem controlar o processo de senescência em diferentes aspectos (FISCHER, 2007).

O etileno acelera a senescência e sua produção pela planta é aumentada em situações de estresse ambiental. Tratamentos utilizando etileno aumentam a abscisão de folhas, flores e frutos, enquanto que tratamentos que inibem a sua biossíntese atrasam a abscisão. A ativação da expressão gênica

de etileno, codifica as enzimas celulase e poligalacturonas e que degradam a celulose e pectina, dois compostos da parede celular (SEXTON e ROBERTS, 1982; BROWN, 1997).

Em viveiros de fruteiras, o ABA foi utilizado como desfolhante, juntamente com outros desfolhantes minerais como sulfato de magnésio (LARSEN e HIGGINS, 1998). Em viveiros de macieiras, a desfolha resultante de duas aplicações de ABA na dose de 1000 mg L^{-1} , em Fuji sobre M26, foi verificado a partir da entrada das plantas em endodormência antes daquelas não tratadas, além das partes perenes das plantas tratadas com ABA apresentarem maior quantidade de N translocado antes das plantas não tratadas (GUAK e FUCHIGAMI, 2001).

Em um estudo com citros, os autores observaram que em uma situação de estresse hídrico, ocorreu a biossíntese do gen 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, (CcNCED3), que expressa o ABA. Nesta situação houve aumento deste hormônio nas raízes, e sua presença promoveu a síntese e acúmulo do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). A partir do restabelecimento da água na planta, o ACC foi transportado via xilema até as folhas, onde foi metabolizado a etileno e promoveu a queda das folhas (GOMEZ-CADENAS et al., 1996; BROWN, 1997). De acordo com Craker e Abeles (1969), o efeito do ABA como desfolhante está relacionado com o aumento das enzimas celulases que aumentam a permeabilidade das membranas, promovendo o padrão de senescência das folhas. Este efeito do ABA foi verificado por Zhang e Zhang (2009), quando juntamente aplicado exogenamente com etileno (CEPA) em pós-colheita de uvas. Os autores observaram que resultou em um efeito indireto na abscisão das bagas, visto que houve aumento da síntese das enzimas celulase e poligalacturase. Estas enzimas atuam na degradação da parede celular das células presentes na zona de abscisão das bagas entre o pedúnculo e a polpa, aumentando assim a caída das bagas.

Entre as enzimas envolvidas no processo de abscisão, a fenilalanina amônia-liase (PAL) é a principal precursora da formação de lignina. Resultados demonstram um aumento na sua expressão ao redor dos elementos do xilema e tecidos próximos da zona de abscisão antes de ocorrer a separação do órgão (ROBERTS et al., 2000). Na literatura poucos são os trabalhos que referem a ação de enzimas na abscisão de folhas, normalmente este assunto é abordado junto com o processo de indução de resistência em patossistemas. Alguns autores reconhecem como Explosão Oxidativa Ativa (EOAs), que consiste em uma resposta de defesa da planta após o reconhecimento do patógeno, conduzindo a reação de hipersensibilidade (HR). Esta resposta é decorrente da geração de espécies ativas de oxigênio, como H_2O_2 , O_2^- e OH^- , que tem funções de defesa da planta (RESENDE et al., 2003).

Outras enzimas relacionadas são as lipoxigenases, peroxidases, beta-1,3-glucanases e as quitinases. Entre elas as lipoxigenases aceleram a formação de hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, o que originam compostos voláteis relacionados com o processo de crescimento, maturação, senescência, e respostas de defesa da planta (BAYSAL e DEMIRDOVEN, 2007). Estas enzimas são mencionadas envolvidas nos processos de lignificação, suberização (TAVARES et al., 2009), cicatrização, crescimento e desenvolvimento das plantas (CAVALCANTI et al., 2007).

As peroxidases (PODs) oxidam substrato orgânico por meio de oxidação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo reativas com oxigênio e acceptora de elétrons. O H_2O_2 é um oxidante relativamente estável e ausente de carga, o que pode facilitar a passagem através da camada bilípida da membrana celular. Esta capacidade de difundir-se rapidamente através da membrana celular favorece a rápida elicitação da resposta vegetal (APOSTOL et al., 1989). Este composto, H_2O_2 , é tóxico ao patógeno e está envolvido no fortalecimento da parede celular, já que este é necessário na biossíntese de lignina

(RESENDE et al., 2003), devido a formação de precursores de polímeros de lignina conforme a sua atividade (ALVAREZ et al., 1998).

Portanto, na biossíntese da lignina e da suberina há um complexo de reações de síntese relacionadas com um processo oxidativo proposto onde atua uma enzima específica, a PODs. De fato, alguns estudos têm demonstrado a importância das PODs, assim como da PAL, na suberização e na lignificação dos tecidos (LEWIS e DAVIN., 1999; TAVARES et al., 2009).

Em citrus, Kostenyuk et al. (2002) constataram que há um aumento da expressão do gene de PAL na abscisão de frutas em até 72 h, e em folhas de laranjeiras ‘Valência’ mais que 72 h, após a pulverização das plantas com etefon. E estes mesmos autores concluíram que a aplicação de um inibidor da PAL, diminuiu a expressão do gene, reduzindo as concentrações desta enzima, e conseqüentemente reduzindo a queda de frutos, o que permitiu o atraso na colheita. Tal fato sugere que é possível administrar produtos que reduzam a atividade enzimática da PAL e regulem o processo de abscisão.

Na Alemanha, um estudo sobre o atraso na colheita de macieiras foi realizado correlacionando a época de colheita com a taxa de fotossíntese, e a remobilização de nutrientes nas folhas durante o outono. Os resultados demonstraram que a colheita das frutas acelera a senescência, havendo remobilização de nutrientes devido à degradação dos componentes celulares e da clorofila, e reduzindo a taxa de fotossíntese (TARTACHNYK e BLANKE, 2004). Em contrapartida, o atraso na colheita fez com que o processo de degradação do fotossistema II e a translocação de nitrogênio das folhas ocorressem cerca de duas semanas mais tarde.

A mudança visual das folhas durante a fase de senescência está relacionada com a perda da clorofila e a retenção de carotenóides juntamente com a síntese de antocianina. Estas representam a base bioquímica da reciclagem de nutrientes dos tecidos senescentes (HORTENSTEINER e LEE, 2007).

Durante este momento há a redução da clorofila, da taxa de fotossíntese da condutância estomática, resultado de uma combinação de fatores ambientais, como as temperaturas mais baixas e redução do fotoperíodo (TARTACHNYK e BLANKE, 2004). Além do início de um programa de morte celular, a partir de uma cascata de reações que geram genes envolvidos no processo de senescência (LIM et al., 2007).

A funcionalidade das folhas aqui abordada refere-se à capacidade em realizar a fotossíntese (etapa fotoquímica e bioquímica), a qual pode ser medida por meio do teor de clorofila a e b e pigmentos carotenóides presente na folha, e através da taxa de fotossíntese (A) de assimilação de CO₂. Esta taxa também chamada de fotossíntese líquida refere-se às mudanças na concentração de CO₂ do ar que circula em fluxo fechado (TAIZ e ZEIGER, 2009). O principal ponto de controle de entrada de CO₂ e perda de água nas plantas são os estômatos. Eles são os principais responsáveis pela disponibilidade de CO₂ para a fotossíntese, e tem sua abertura e fechamento relacionadas com as condições do ambiente. Por exemplo, no caso de déficit hídrico menor será o grau de abertura dos estômatos, e menor será a taxa fotossintética das plantas.

Fischer (2007) mencionou durante estudo de remobilização de nutrientes, na fase de senescência das folhas, que a principal rota de transporte é através do floema. Entre os nutrientes mobilizados estão o nitrogênio, o fósforo e o enxofre, os quais são degradados por enzimas hidrolíticas específicas antes de serem transportados via floema. A remobilização de nitrogênio eficiente está associada à perda precoce da capacidade fotossintética que diminui durante este processo, embora a integridade mitocondrial e de respiração se mantenham ativas por mais tempo.

O uso do medidor de clorofila SPAD 502 denominado clorofilômetro, proporciona leituras instantâneas, do teor relativo de clorofila presente na folha, sendo um método não

destrutivo de estimar a clorofila (UDDLING et al., 2007). Os valores calculados pelo equipamento tem como base a quantidade de luz transmitida pela folha, em dois comprimentos de onda com diferentes absorbâncias da clorofila (MINOLTA, 1989). Guak e Fuchigami (2001), utilizaram valores SPAD para constatar maior presença de clorofila, caracterizada pela coloração verde mais intensa, em folhas terminais dos ramos de plantas que tiveram senescência natural, comparadas com aquelas tratadas com ABA, que adiantaram este processo.

Em estudo realizado por Uddling et al. (2007) foi observada relação não linear entre a concentração de clorofila presente nas folhas de três espécies de plantas e os valores SPAD. Os autores concluíram que houve um comportamento exponencial da concentração de clorofila em relação ao aumento do índice SPAD, o que deveria estar relacionado com a não uniformidade da distribuição da clorofila em toda a superfície da folha.

Amarante et al. (2008) em estudo com macieiras ‘Fuji’ e ‘Royal Gala’, concluíram que as leituras efetuadas pelo clorofilômetro correspondem ao teor de clorofila presente na folha da planta nas condições de Lages, SC, durante o mês de janeiro em pleno desenvolvimento vegetativo. Para a taxa fotossintética e condutância estomática o equipamento que detecta continuamente as variações da concentração de CO₂ do ar que flui através da câmara e a taxa de respiração das plantas denomina-se de IRGA (*‘infra red gas analyser’*) durante a fase gasosa.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DEFINIÇÃO DE UM MÉTODO PARA ESTUDO HISTOLÓGICO DA CAMADA DE ABSCISSÃO EM POMÁCEAS

O método histológico foi definido a partir do trabalho desenvolvido por Clements e Atkins (2001). Esse método consta na caracterização do processo de abscisão foliar em cotilédones de tremoço de plantas mutantes ou não, corados com azul de toluína e floroglycinol.

Foram utilizadas macieiras ‘Galaxy’ (com cinco anos de plantio) e ‘Fuji’ (com 12 anos de plantio) em Vacaria, Rio Grande do Sul. As coordenadas dos locais são 28°25’17,9”S e 50°53’39,6”W para a ‘Galaxy’, e 28°25’17,8”S e 50°53’38,8”W para a ‘Fuji’, ambas em altitude de 930 metros. Foram marcadas quatro plantas de porte homogêneo dispostas aleatoriamente em uma linha de plantio, para cada cultivar, e delas foram retirados os materiais analisados durante este estudo.

As coletas foram realizadas semanalmente, de 16 de fevereiro a 8 de maio para a ‘Galaxy’ e de 7 de março a 16 de maio de 2012 para a ‘Fuji’. No entanto, foram amostradas três datas nas quais foram observadas mudanças anatômicas: 22 de fevereiro, 7 de março e 8 de maio na ‘Galaxy’. Para ‘Fuji’, as datas foram, respectivamente: 7 de março, 8 e 16 de maio. A amostragem foi restrita a folhas de ramos do ano. De cada quadrante, da parte mediana da copa sem sintomas de doença, foram coletados quatro ramos do ano (com 10 a 20 cm de comprimento).

Os ramos do ano foram armazenados a 5°C até o início dos procedimentos, por cerca de 24 horas. De cada ramo, foram desprezadas as quatro folhas do ápice, pois estas têm maior concentração de auxina que as folhas distais, e por isso permanecem nas plantas por maior período, iniciando mais

tardamente a senescência (SEXTON e ROBERTS, 1982). Posteriormente, foram separadas duas amostras, dos nós seguintes, de aproximadamente 0,5 cm de comprimento, contendo um segmento do caule, uma gema axilar e a parte proximal do pecíolo (Figura 1).

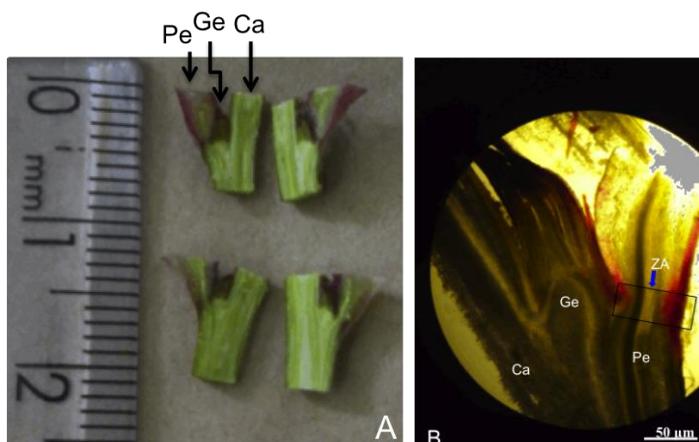


Figura 1. Material utilizado nas lâminas para observação da camada e zona de abscisão. A - Segmento do caule, contendo gema axilar, base do pecíolo, em corte fresco longitudinal. B - Visão ampliada do segmento do caule com gema e base do pecíolo, em corte fresco longitudinal. Microscópio Ótico. Legenda: Ca: caule. Ge: gema. Pe: pecíolo. ZA: zona de abscisão.

Cada amostra foi seccionada longitudinalmente e fixada em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por três horas (FEDER e O'BRIEN, 1968). Os segmentos foram lavados por três vezes na mesma solução tampão, desidratados em série etílica gradual e conservados em etanol 70°GL, podendo assim permanecer por até dois anos (RUZIN, 1999). Para análise histológica, foram preparadas lâminas temporárias e permanentes. Para as temporárias, secções longitudinais foram utilizadas em testes histoquímicos,

montadas em água e coradas com Sudan IV, para verificação da presença de suberina (COSTA, 1982); floroglucinol acidificado (COSTA, 1982) e azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964) para detecção de lignina. Para as lâminas permanentes, os segmentos foram desidratados em série etílica até etanol 96°GL, e mantidos em solução de pré-infiltração, por pelo menos 12 horas, e foram infiltradas por mais três horas em hidroxietilmetacrilato (conforme metodologia de *Jung'sHistoresin*[®] – marca Leica). Posteriormente, foram montados blocos com solução endurecedora, conforme instruções do fabricante (*Jung'sHistoresin*[®] – marca Leica[®]). Os blocos foram seccionados com 5 µm de espessura, em micrótomo de rotação Leica[®]- RM 2125 RT. As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água potável, em chapa aquecedora (40°C) e, quando secas, o material foi corado com azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964).

3.2 DESFOLHA DE MACIEIRAS COM DIFERENTES PRODUTOS E SEUS EFEITOS NA MORFOLOGIA DAS GEMAS E NA FENOLOGIA E FRUTIFICAÇÃO EFETIVA DAS MACIEIRAS

Os experimentos foram realizados em macieiras 'Fuji Standard' e 'Fuji Raku Raku' no início do outono do ciclo 2011/2012 e 2012/2013, na Mesorregião Nordeste do Rio Grande do Sul, no município de Vacaria, RS e em San Clemente, Região de Maule, Chile.

3.2.1 Estudo da Desfolha em Vacaria, RS

O experimento foi realizado em pomar comercial pertencente à Empresa Randon Agropastoril S.A. localizada na BR 116, KM 20 no município de Vacaria, RS. O clima é considerado Cfb de Köeppen, subtropical úmido de verões

amenos. A região é caracterizada pelos invernos rigorosos, com geadas e alternadas com neve. Foram utilizadas macieiras ‘Fuji Standard’ sobre o porta-enxerto EM7, com idade de 12 anos e espaçamento aproximadamente de 1,2 x 4 m, totalizando 2.083 plantas ha⁻¹. As coordenadas geográficas da área são 28°25’17’’S de latitude e 50°53’ 38’’W longitude e com altitude de 930 m.

Os tratamentos utilizados para a desfolha foram (dose do ingrediente ativo): etefon (Ethrel[®], 24%) na dose 1 g L⁻¹, cloreto de cálcio (cloreto de cálcio, 24%) na dose de 24 g L⁻¹; aminoethoxyvinylglycine (Retain[®], 15%), na dose 0,06 g L⁻¹; foi utilizado para manter a folha por mais tempo na planta e estes comparados com uma testemunha padrão do produtor (tratamentos e doses de fungicidas decididos pelo produtor que constam descritos no anexo A) e a testemunha sem nenhuma aplicação com fungicidas para controle de doenças de verão, entre elas as causadoras de manchas foliares.

Os produtos foram pulverizados no ciclo 2011/2012 na data de 20/04/2011 e 19/04/2012, ciclo 2012/2013, antes do início da queda natural das folhas. Para a aplicação dos produtos foi utilizado o atomizador costal motorizado, da marca Guarani, com capacidade de 20 L, até o ponto de escorrimento, estimando-se um volume de calda de 2.600 L ha⁻¹.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por três plantas, e unidade amostral os ramos da planta central. Em cada planta útil foram marcados quatro ramos, com 100 folhas, em cada quadrante da planta, na altura média, totalizando 400 folhas por parcela e 1.200 por tratamento.

Para avaliação da queda das folhas, foram marcados os ramos em que foi realizada a contagem das folhas. Para a marcação das folhas foi iniciada a contagem do número de folhas da parte distal do caule seguindo em direção a parte

proximal, e amarrado um fitilho após a 100ª folha. Dentre as 100 folhas amostradas estavam folhas de brindilas e esporões.

A avaliação da contagem do número de folhas presentes em cada ramo, ocorreu sete dias após a pulverização dos produtos e seguiu com intervalos de sete dias até a total desfolha do tratamento testemunha, sendo adaptado de Alves e May-de-Mio (2008). Para a avaliação do número de folhas presentes nos ramos em cada de avaliação, foram utilizados contadores manuais de uma tecla com quatro dígitos. O percentual de desfolha foi calculado pelo número de folhas presentes em cada ramo, em cada data de avaliação, em relação do número inicial de folhas: $\% \text{ de desfolha} = 100 - (\text{NFD} / \text{NFI} * 100)$, onde NFD = número de folhas na data de avaliação e NFI = número de folhas inicial.

Para a avaliação dos estágios fenológicos das plantas tratadas, em cada parcela foram marcadas com fita isolante colorida, 24 estruturas de frutificação, divididas entre brindilas e esporões, totalizando 96 estruturas por tratamento. As avaliações iniciaram quando as gemas estavam no estágio 1, de modo que os estágios fenológicos foram avaliados duas vezes por semana até a frutificação efetiva, conforme uma adaptação do descrito e ilustrado por Chapman e Catlin (1976) (anexo C e D).

No período de dormência foram coletadas gemas das plantas utilizadas como bordadura de cada parcela, de cada um dos tratamentos da desfolha, para caracterização quanto ao tipo de gema, florífera ou vegetativa expresso em percentual, o diâmetro transversal e o longitudinal, expressos em mm, e a massa média, expresso em gramas. Foram coletadas 20 gemas por parcela, distribuídas entre gemas de brindilas e de esporões.

Para avaliação do diâmetro transversal e longitudinal da gema fresca as medições foram realizadas com auxílio de paquímetro digital. A massa média das gemas frescas foi aferido com auxílio de balança de precisão com três dígitos. Para a verificação da fase de diferenciação das gemas, as gemas

foram conservadas em solução fixadora FAA₇₀ e avaliadas em microscópio estereoscópico de mesa, com aumento de até 40 vezes. As soluções eram compostas por 100 mL de formaldeído, 50 mL de ácido acético glacial e 850 mL de álcool etílico a 70 graus adaptada de Kraus e Arduim (1997).

O percentual de pegamento - *fruit set* dos frutos para cada cultivar foi avaliado, após a queda das pétalas, em cada gema utilizada no estudo do retorno da brotação. Para este cálculo foi realizada contagem do número de flores por gema e posteriormente foi feita a contagem das frutas remanescentes quando as frutas estavam com aproximadamente 4 mm de diâmetro no mês de novembro.

O número de frutos por planta, a massa média de frutos, e a produtividade estimada foi realizada na colheita de todas as frutas das plantas úteis de cada parcela, nas datas de 18/04/12 e 20/04/13, conforme o padrão definido pelo produtor.

Para o número de frutas por planta, foi contado o número total de frutas por planta. A massa média foi determinada através da divisão do peso total pelo número de frutas para cada planta, sendo expressa em gramas. O número de sementes por fruta foi contado, cortando-se ao meio 120 frutas por tratamento. A produtividade estimada foi calculada através da produção obtida por planta, multiplicada pelo número total de plantas por hectare, conforme a densidade de plantio e expresso em ton ha⁻¹.

Para análise estatística foi utilizado o programa Assistat (SILVA, 2006) e todos os dados foram submetidos à análise da variância. Os percentuais de desfolha, de pegamento das frutas e caracterização das gemas foram transformados em arc sen da raiz de x/100. Os dados do retorno da brotação foram transformados em logaritmo natural. O número de frutas, a massa média, o número de sementes e a produtividade estimadas foram transformadas em $(x + 1)^{1/2}$. As médias dos tratamentos de desfolha foram comparadas conforme Teste de Dunnett $p \leq 0,05$, entre os tratamentos no decorrer das datas de

avaliação, sendo este último em comparação com a testemunha. E as médias das outras avaliações comparadas pelo teste Dunnett a $p \leq 0,05$.

Todas as médias, do experimento da desfolha, comparadas por Dunnett $p \leq 0,05$, foram analisadas em relação a testemunha que não foi tratada, exceto na safra 2011/2012, na cultivar Fuji que foi comparada com a Testemunha padrão do produtor. Isto ocorreu porque a testemunha sem tratamento de fungicida foi totalmente desfolhada pela doença Mancha Foliar por *Marssonina* precocemente.

3.2.2 Estudos da Desfolha em San Clemente, Maule, Chile

O ensaio foi realizado no outono do ano de 2013, em macieiras cultivadas comercialmente em San Clemente, VII Região, Chile, com localização geográfica de 35°31'07''S e 71°26'50''W, com altitude 227 m para Fuji Raku Raku/M9, com data de plantio em 2010 e com sistema de irrigação por microaspersão. De acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger, o clima é Temperado mediterrâneo (Csb). As plantas foram tratadas com etefon na dose 1000 mg L⁻¹ (Ethephon[®], 50% de i.a) equivalente a 200 mg L⁻¹ de etileno e com ácido abscísico (ABA) na dose de 1500 mg L⁻¹, (Protone[®] 10 SG, 10% de i.a) e comparadas com a testemunha sem aplicação. A aplicação foi realizada 7 dias após a colheita das frutas, em 24 de abril de 2013, para 'Fuji Raku Raku'.

Para avaliação da desfolha temporal San Clemente, Maule, foram contabilizadas 200 folhas (100 de cada lado da planta), dispostas em ramos na altura mediana da planta, tendo sido utilizadas folhas de ramos do ano e de esporões. Cada tratamento foi composto por 6 repetições, e cada repetição por 3 plantas, sendo útil a central. Foram realizadas 4 avaliações, a primeira aos 12 dias após a aplicação (dap), seguindo por 15, 19 e 21 dap, quando a testemunha apresentou mais de 50% de desfolha e os demais tratamentos já não tinham mais folhas. Em

cada data foi avaliado o percentual de folhas caídas. O percentual de desfolha foi calculado pelo número de folhas presentes em cada ramo, em cada data de avaliação, em relação do número inicial de folhas: % de desfolha = $100 - (NFD / NFI * 100)$, onde NFD = número de folhas na data de avaliação e NFI = número de folhas inicial.

3.3 EFEITOS ECOFISIOLÓGICOS DA ABSCISÃO FOLIAR EM MACIEIRA

O ensaio foi realizado no ano de 2013, em macieiras Fuji Raku Raku cultivadas comercialmente em San Clemente, VII Região, Chile, com localização geográfica de 35°31'07''S e 71°26'50''W, com altitude 227 m para sobre porta enxerto M9, com data de plantio em 2010.

As plantas foram tratadas com etefon na dose 1000 mg L⁻¹, equivalente a 200 mg L⁻¹ de etileno (Etefon 500 GL, 50%) e com ácido abscísico (ABA) na dose de 1500 mg L⁻¹, (Protone 10 SG, 10%) e comparadas com a testemunha sem aplicação. As aplicações foram realizadas 7 dias após a colheita das frutas, em 24 de abril de 2013.

A metodologia para obtenção dos extratos de pecíolos de macieira e dosagem de proteína total foi adaptada de Yuri et al. (2000), de modo que as amostras de 50 folhas totalmente expandidas foram coletadas em seis períodos, sendo eles: antes da aplicação dos fitoreguladores considerado período 0 e 1, 2, 4 e 7 dias após o tratamento (dat). As folhas foram coletadas ao acaso de todos os quadrantes, em cada data de avaliação por repetição. Em laboratório, os pecíolos (onde encontra-se a zona de abscisão), 2,5 cm de comprimento, foram separados do limbo e imediatamente congelados com nitrogênio líquido, e armazenados a - 80 °C até o preparo dos extratos.

Os 50 pecíolos foram congelados e moídos em nitrogênio líquido em um moinho oscilante a 30.000 rpm durante 40 segundos. Para o preparo do extrato foram pesados

3 gramas de tecido fresco vegetal e acrescidos 10 mL de tampão acetato (NaCl em pH 5). A determinação de proteínas foi feita com o tampão acetato pH 5,0, 0,2M, com 0,1% de Triton, 1% de polietenilglicol (PEG) e 1% de polivinilpolipilorriona (p/v). Em seguida foi sonicado em Ultraturrax modelo T-25 por 5 minutos e homogeneizado em agitador magnético por 10 minutos. Posteriormente foi centrifugado a 13.400 rpm por 30 minutos, em uma centrífuga refrigerada IEC, modelo Centra-MP4R. O sobrenadante foi filtrado com bomba de vácuo e o volume de aproximadamente 7 ml foi armazenado em eppendoffs de 2 ml, a -20°C.

A determinação das proteínas foi realizada pelo método de Bradford (1976), utilizando uma alíquota de extrato de até 100 µl (12,5 µl do sobrenadante, 87,5 µL de tampão acetato pH 5,2 M), e 1000 µl de reativo de Bradford, sendo a albumina bovina sérica como padrão. A leitura de absorbância foi a 595 nm, diluindo quando necessário, utilizando espectrofotômetro Agilent 8453 Agilent G1103A. O valor encontrado foi expresso em miligramas de proteína por grama de tecido fresco.

Para a determinação da atividade da enzima peroxidase em pecíolos de macieira foram usados os extratos descritos conforme a metodologia do item 5.2.2. Adotou-se o método espectrofotométrico descrito por Yuri et al. (2000), através da produção de tetraguaicol, em um comprimento de onda de 470 nm a 5°C. Os resultados foram expressos em unidades de peroxidase. A mistura da reação foi de constituída de 2,0 mL de solução de reação composta por 1000 µL de guaiacol (preparado com 11,2 µL de guaiacol em tampão acetato pH 5, 2,0 M, com 10 µl de peróxido de hidrogênio aforado até 25 ml), 950 µL de tampão acetato pH 5,0, 2 M e 50 µL do extrato vegetal. Cada unidade de peroxidase correspondeu ao valor da absorbância a 470 nm por min de reação por µg proteína total.

Para avaliação desfolha temporal de macieira 'Fuji Raku Raku' no Chile da cada tratamento foi composto por 6 repetições, e cada repetição por 3 plantas, sendo útil a central.

Avaliou-se o percentual de caída de 200 folhas no decorrer do tempo (100 de cada lado da planta), dispostas em ramos na altura mediana da planta, tendo sido utilizadas folhas de ramos do ano e de esporões. Foram realizadas 4 avaliações, a primeira aos 12 dias após a aplicação (dat), seguido de 15, 19 e 21 dat, quando a testemunha apresentou mais de 50% de desfolha e os demais tratamentos já não tinham mais folhas. Em cada data foi avaliado o percentual percentual de desfolha. O percentual de desfolha foi calculado pelo número de folhas presentes em cada ramo, em cada data de avaliação, em relação do número inicial de folhas: % de desfolha = $100 - (NFD / NFI * 100)$, onde NFD = número de folhas na data de avaliação e NFI = número de folhas inicial.

A quantificação da clorofila presente nas folhas durante o processo de senescência foi verificada em folhas que estavam no processo de senescência caracterizada pelas cores de verde intensa, verde clara, até amarelo por completo, definidas por um índice SPAD (Figura 2). As folhas foram coletadas quando em uma mesma planta, de cada tratamento, pôde-se completar um espectro das cores das mais intensas até as totalmente amarelas que caem no solo. A análise desta variável foi descritiva e teve com objetivo verificar se há correlação entre a quantidade de clorofila com um índice SPAD indicando senescência das folhas.

Para a extração da clorofila se utilizou a metodologia descrita por Yuri et al. (2000), usando discos de folhas de 2 cm de diâmetro, ao qual foi adicionado 1,0 ml de acetona a 80%. Após 24 h, a solução junto ao disco foi reservada e acrescentou-se mais 1 ml de acetona (80%) por 24h ao disco foliar. Depois o extrato foi homogeneizado e a absorbância foi lida a 645 e 663 nm, com espectrofotômetro Spectroquant® Pharo 300 Merck®. As concentrações de clorofila foram calculadas como clorofila total, clorofila a e clorofila b, conforme as seguintes equações:

Clorofila total (mg L^{-1}) = $20,2 A 645 + 8,02 A 663$; Clorofila A (mg L^{-1}) = $12,7 A 663 + 2,69 A 645$ e Clorofila B (mg L^{-1}) = $20,9 A 645 + 4,68 A 663$.

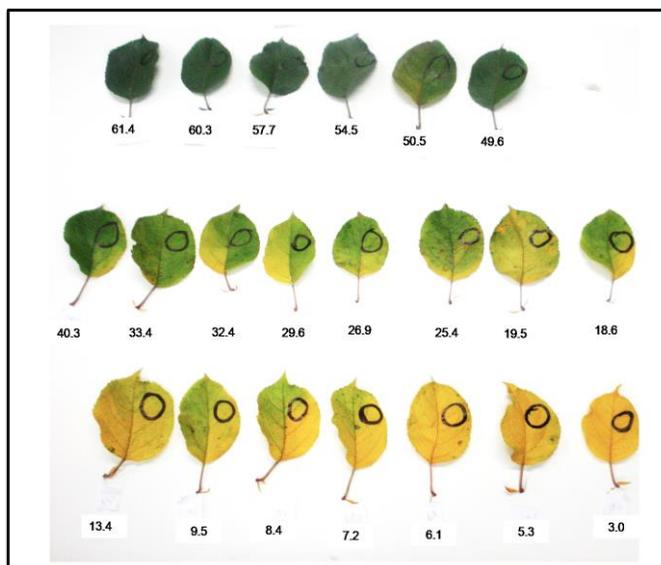


Figura 2. Indicação da leitura SPAD (círculo preto) realizada nas folhas de macieira ‘Fuji Raku Raku’, conforme a troca de coloração durante o processo de senescência acelerado pelo tratamento de etefon 1000 mg L^{-1} . Valores abaixo das folhas indicam o índice SPAD das folhas senescentes.

Para avaliação da taxa de fotossíntese (A) das folhas em senescência e medição do índice SPAD foram marcadas quatro folhas, duas de cada lado, na altura mediana, a partir da quarta até a sétima gema, na direção do ápice para tronco, do ramo do ano. Estas folhas foram avaliadas em oito datas, iniciando antes da aplicação (23/04/2013, 26/04/2013, 29/04/2013, 06/05/2013, 09/05/2013, 15/05/2013 e 23/05/2013, que corresponderam 0, 2, 5, 12, 15, 21 e 29 dias depois da aplicação). Para cada tratamento foram medidas 16 folhas, distribuídas em 4 repetições. Utilizou-se o aparelho

IRGA (LCPro ADC[®], BioScientific Ltd. Hoddesdon, Herts, Inglaterra) que mede valores expressado em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As medições foram feitas ao meio dia, com quantidades de radiação fotossinteticamente ativa (PAR photosynthetic active radiation) controlada de 1500 (luz saturada) micro moles por metro² por segundo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

O teor de clorofila de folhas de macieira durante o processo de senescência foi medido utilizando o equipamento Minolta[®] SPAD 502, Minolta company Ltda, Japan. Este equipamento expressa a concentração relativa de clorofila presente na folha por meio da luz transmitida através da folha em um comprimento de onda de 650 nm e 940 nm (MINOLTA, 1989). As leituras foram realizadas na parte direita da nervura central, não sobre as nervuras laterais, da parte distal ao pecíolo. A medição foi realizada com a folha fixada pelo pecíolo, com a parte abaxial para cima e adaxial para baixo (Figura 6). Em laboratório as folhas de cada tratamento com diferentes coloração devido o processo de senescência, coletadas para a atividade descrita no item 5.2.5 foram medidas com SPAD conforme a posição e descrição acima.

A análise mineralógica do conteúdo de nitrogênio das folhas de macieira tratadas com fitorreguladores e em processo natural de senescência foram coletadas para análise do conteúdo de nitrogênio durante os período de senescência quando foi avaliado o percentual de desfolha das macieiras.

Para esta análise foram realizadas coletas antes dos tratamentos, tendo sido consideradas como período inicial do processo de senescência. As datas de coleta foram: 23/04/2013, 29/04/2013, 06/05/2013, 13/06/2013 e 23/05/2013. Foram retiradas três amostras por tratamentos de modo que cada amostra foi composta por 30 folhas ao acaso de ramos do ano retiradas das repetições 1 e 2, 3 e 4 e 5 e 6, em um total de 90 folhas por tratamento. As folhas foram encaminhadas para o laboratório de análises de solo da Universidad de Talca, Chile,

para quantificação do teor de nitrogênio. Nestas folhas foi medido o índice SPAD, massa fresca no dia da coleta e peso seco após 5 dias em estufa com ar forçado.

Para a cinética e a presença e atividade da enzima peroxidase e proteínas totais foram utilizadas seis repetições e cada repetição era composta por três plantas. O delineamento experimental utilizado foi fatorial com 3 x 6, composto pelos fatores: tratamentos e tempo de coleta de material (percentual de desfolha).

Para a determinação da taxa de fotossíntese, o delineamento experimental utilizado foi de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições, sendo cada folha, em total de 4 por planta, uma unidade experimental.

Para a constatação da camada de abscisão foliar das macieiras, ramos do ano em processo de senescência natural foram coletados durante o período de queda das folhas das macieiras desfolhadas no Chile. A metodologia utilizada foi a mesma descrita no item 3.1. Durante as avaliações de desfolha das plantas foi realizada a quantificação de clorofila a partir do índice SPAD de ramos do ano de plantas em processo natural de senescência, que foram coletados para visualização da camada de abscisão.

Os ensaios de determinação de proteínas e da enzima peroxidase foram realizados em duplicata. Os valores médios das observações foram ajustados a equações de regressão com R^2 , para obter as tendências de resposta da enzima avaliada em função do tempo. Para isso foi utilizando o programa estatístico Assistat (SILVA, 2006).

Os percentuais de desfolha, foram transformados em arc sen da raiz de $x/100$. Para as variáveis que tiveram diferença estatística significativa, as médias foram comparadas conforme Teste de Tukey ($p < 0,05$), para os percentuais de cada tratamento no decorrer do tempo, e Dunnett $p < 0,05$, entre os tratamentos no decorrer do tempo, sendo este último em comparação à testemunha.

As médias das demais avaliações foram comparadas pelo teste Dunnett a $p < 0,05$. Os dados que não puderam ser submetidos a análise de variância, foram analisados através de gráficos de tendência.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO: DEFINIÇÃO DE UM MÉTODO PARA ESTUDO HISTOLÓGICO DA CAMADA DE ABCISÃO EM POMÁCEAS

A metodologia adotada permitiu a identificação da zona de abscisão em folhas de macieiras, e a análise da gênese histológica do processo. A zona de abscisão foliar localiza-se na porção proximal do pecíolo com o caule, um pouco abaixo da gema lateral, e é constituída de várias camadas de células (Figura 3A). Neste local as células apresentam uma conformação diferenciada, são mais alongadas e estreitas (Figura 3B), semelhante arranjo celular foi observado em flores, frutas, e folhas de pessegueiro (ZANCHIN et al., 1993; ZANCHIN et al., 1995).

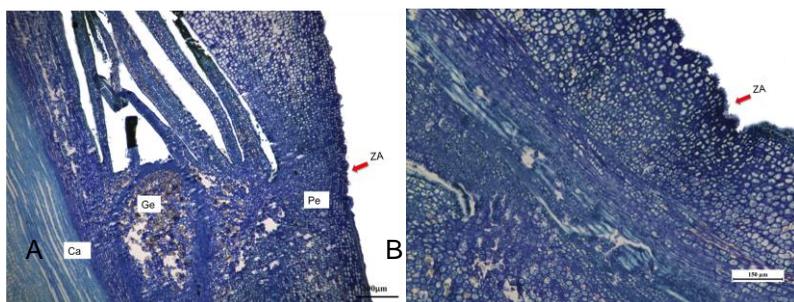


Figura 3. A - Vista geral da secção analisada para a constatação da zona de abscisão da folha. B - Vista próxima da ZA, seta indica células estreitas e alongadas. Legenda: Ca: caule. Ge: gema. Pe: pecíolo. ZA: zona de abscisão.

Os testes histológicos indicaram a presença de lignina nas paredes celulares, quando coradas com azul de toluidina e com floroglucinol acidificado. A presença de suberina na zona de abscisão foliar não foi constatada neste estudo. No entanto, não se descarta a possibilidade de sua presença na camada de proteção, pois poderia ter sido formada posteriormente ao processo de abscisão, conforme descrito por Biggs e Northover (1985) em pessegueiros. Estes autores observaram que as camadas de proteção (primária e secundária) formam-se após as camadas de separação, sendo dependentes da temperatura ambiente, podendo ocorrer em 6, 9 e 18 dias para a primária e em 12, 18 e 30 dias para a secundária (formação do tecido denominado de felogênio). A presença de lignina foi observada através da coloração esverdeada das células da zona de abscisão (Figura 4C e 5B e 5C), quando coradas com azul de toluidina, concordando com o observado por Clements e Atkins (2001), em cotilédones de *Lupinus angustifolius* tratados com etileno e em folhas de pessegueiro por Zanchin et al. (1993).

Nas cultivares analisadas, a zona de abscisão localizou-se na porção proximal do pecíolo com o caule, um pouco abaixo da gema apical, e é constituída de várias camadas de células. Neste local, as células apresentaram uma conformação diferenciada, são mais alongadas e estreitas, havendo um espessamento da parede celular. Os tecidos que constituem as escamas (folhas modificadas que protegem as gemas) bem como os tecidos periféricos adaxiais (face adaxial), epiderme e outros tecidos até o xilema, inclusive, mostraram reação positiva à lignina (cor verde, com azul de toluidina) (Figura 4C, 5B e 5C).

Durante as coletas na cultivar ‘Galaxy’, após a colheita no final de fevereiro e em março, junto a zona de abscisão, foram vistas células se dividindo, indicando uma elevada atividade meristemática (Figura 4A). Nessa mesma época, também foram observados grânulos de amido (Prancha não apresentada). Acredita-se que estes podem ser utilizados

durante a elevada atividade meristemática de divisão celular, já que são substâncias de reserva (SEXTON, 2001), caracterizando as primeiras etapas do processo de abscisão (GUIBOILEAU et al., 2010). Esses resultados indicam que o processo de abscisão teve início no início de fevereiro para as folhas dos ramos do ano nesta cultivar. Durante o período de março e abril, o processo de senescência continuou ocorrendo, de maneira que, em maio, pôde-se encontrar a zona de abscisão caracterizada nesta cultivar pela coloração esverdeada, devido à lignificação das células. Essas diferenciações anatômicas na zona de abscisão concordam com o relatado por Addicott e Lynch (1955), que citam a presença de células menores e distintas durante os primeiros estágios do processo de abscisão natural, assim como Zanchin et al. (1993) e Zanchin et al., (1995). Patterson (2001) também encontrou mesma configuração celular em um estudo da abscisão e deiscência em *Arabidopsis thaliana*.

Na ‘Fuji Standard’, foi possível verificar o mesmo comportamento e caracterização do processo de abscisão observado na ‘Galaxy’, porém após a colheita, em 20 de abril. Observa-se, na Figura 5A, que em março, não havia sinais de formação da zona de abscisão, porém, no início maio, já foi possível visualizar a formação parcial da zona de abscisão (Figura 5B).

Conforme Addicott (1982) e Lim et al. (2007), o processo de senescência das folhas inicia após a maturação dos frutos e, no caso da macieira, é acelerado pela redução do fotoperíodo e as baixas temperaturas que iniciam no outono. Desse modo, entre as cultivares estudadas, a ‘Fuji Standard’ por ter sido colhida em abril, teve sua abscisão foliar posterior a ‘Galaxy’ colhida em fevereiro. No entanto, as amostras da ‘Galaxy’ foram coletadas até maio, enquanto havia as últimas folhas, e da ‘Fuji Standard’ até metade de maio, encerrada principalmente pela ocorrência de geadas. A presença de folhas na ‘Galaxy’ evidencia que o processo de abscisão esta

relacionado com a idade da folha, visto que estas últimas remanescentes são aquelas das partes mais distais, sendo mais jovens (TARTACHNYK e BLANKE, 2004).

Na Figura 5B, observa-se na ‘Fuji Standard’ que a zona de abscisão está parcialmente formada e atinge o xilema, de modo que os tecidos que constituem o floema ainda se mantiveram não lignificados na zona de abscisão, permitindo a funcionalidade do tecido em transportar os carboidratos sintetizados na folha. Os tecidos abaxiais também não estavam lignificados, devido à ausência de células esverdeadas da reação com o azul de toluidina. Portanto, constata-se que paralelamente à lignificação dos tecidos protetores das gemas, ocorre o início da lignificação que segue da epiderme em direção ao xilema. Durante o processo da formação da zona de abscisão, observou-se que a lignificação não afetou os tecidos que mantêm a comunicação entre a gema e o caule. Estudos complementares do processo de formação da zona de abscisão em macieiras, natural e induzido, poderão definir até quando a folha apresenta-se funcional.

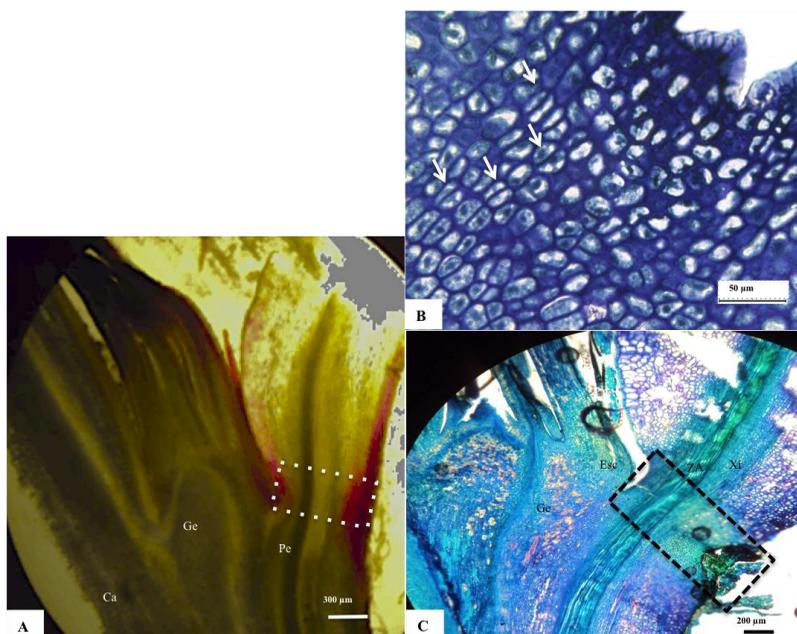


Figura 4. Secções de folha de macieira ‘Galaxy’ (A, B, C), analisadas para a constatação da zona de abscisão (ZA). A, - amostra in vivo e B e C, fixadas em glutaraldeído, contendo um segmento do pecíolo (Pe) e xilema (Xi), uma gema axilar (Ge) e um segmento do caule (Ca). A - destacado no retângulo branco sem evidência da ZA, em fevereiro de 2012. B - Vista detalhada da ZA foliar e as setas indicam células alongadas, com paredes delgadas e em processo de divisão, corada com azul de toluidina, encontradas em fevereiro e março de 2012. C - Destacada a ZA, caracterizada com a coloração esverdeada, assim como as escamas da gema (Esc), devido à reação com azul de toluidina, em 8/05/2012.

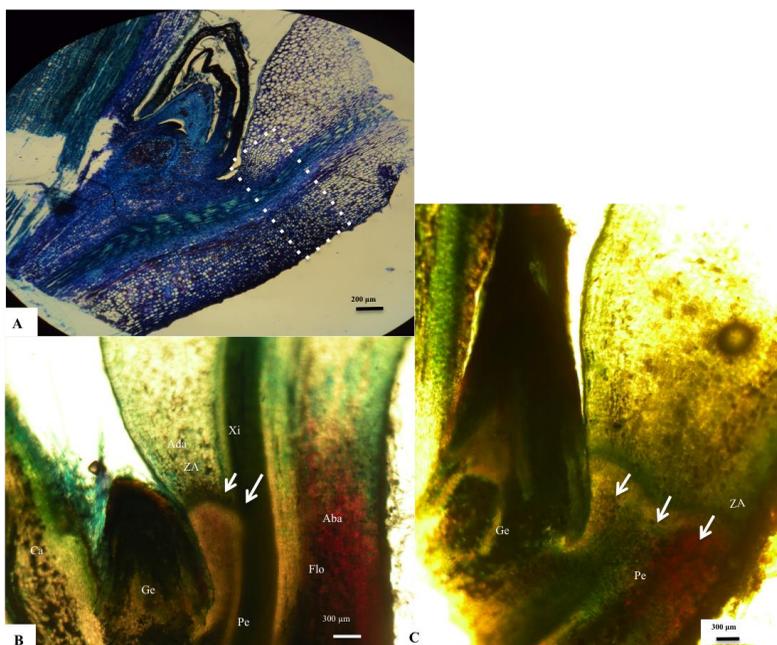


Figura 5. Secções de folha de macieira ‘Fuji’ (A, B, C), analisadas para a constatação da zona de abscisão (ZA). A amostra fixada em glutaraldeído, B e C - amostra in vivo, contendo um segmento do pecíolo (Pe) e xilema (Xi), uma gema axilar (Ge) e um segmento do caule (Ca). A - delimitada região ainda sem evidências da ZA, em 7/03/2012. B - Setas indicam a zona de abscisão parcial, sentido adaxial (Ada) para o abaxial (Aba), caracterizada pela presença de lignina nas paredes celulares, identificada pela reação positiva com azul de toluidina, em 8/05/2012. C - ZA total de coloração esverdeada, encontrada em 16/06/2012.

Durante o processo da formação da camada de abscisão observou-se que a lignificação não afeta os tecidos que mantém comunicação entre a gema e o caule nas duas cultivares.

Na Figura 6, embora seccionada em região mais periférica (lateral ao sistema vascular), constata-se que próximo à gema, a face adaxial (adjacente à gema) é a primeira a romper-se, mas os tecidos abaxiais já estão lignificados tanto

na região distal quanto na proximal. Sendo assim, o processo observado na ‘Galaxy’ e na ‘Fuji Standard’ ocorre da face adaxial em direção a abaxial, impedindo inicialmente a circulação de seiva do caule em direção à folha (xilema) e por último rompendo a comunicação do floema foliar com o caule. O sentido da formação da camada de abscisão nas macieras aqui estudadas, seguem o mesmo observado em folhas de pessegueiro (ZANCHIN et al., 1993).

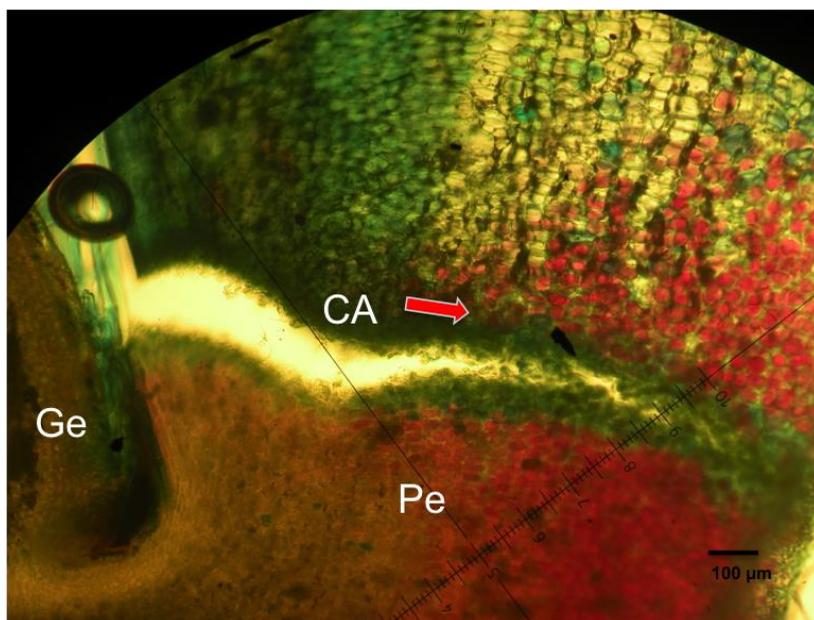


Figura 6. Vista ampliada do rompimento da camada de abscisão foliar em corte fresco cv. “Fuji Standard”, corada com azul de toluidina 2,5%. Seta indica o sentido da abscisão da face adaxial para a abaxial, quando todas as células da camada de abscisão estão lignificadas. Material coletado em 22 de maio de 2012. Ge: gema, Pe: pecíolo e CA: camada de abscisão.

Observou-se que, nas condições de Vacaria, RS, sem a influência de fatores externos que aceleram a senescência

(ROBERTS et al., 2002), para a ‘Galaxy’ e ‘Fuji Standard’, a abscisão natural da folha é demorada e, dessa forma, futuras pesquisas não requererão avaliações semanais, podendo ser de 14 a 21 dias. No entanto, para detecção do início do processo de abscisão, as coletas devem ser de 7 e 14 dias antes e depois da colheita e, em maio, devem ser a cada 7 dias, devido às baixas temperaturas, que podem resultar na ocorrência de geadas, acelerando o processo de abscisão. De outro modo quando o processo de abscisão é induzido, ele pode ocorrer em horas, requerendo observações do processo em horas e até em poucos dias (ZANCHIN et al., 1993; ZANCHIN et al., 1995; CLEMENTS e ATKINS, 2001; SEXTON, 2001; SHARMA et al., 2005; SANHUEZA et al., 2006).

Embora a literatura internacional contribua com informações sobre a abscisão há anos, informações sobre a abscisão foliar de espécies frutíferas de clima temperado são escassas. Os resultados obtidos nesta pesquisa são pioneiros em indicar como ocorre a abscisão foliar na cultura da macieira.

4.1.1 Conclusão

O método desenvolvido para a constatação da formação da camada de abscisão em pomáceas permitiu observar e caracterizar a zona de abscisão foliar em macieiras ‘Galaxy’ e ‘Fuji Standard’ desde seu início até o fim.

A zona de abscisão ocorre na parte proximal do pecíolo, apresentando células achatadas e em processo de lignificação.

A formação da camada de abscisão dá-se no sentido da face adaxial para a face abaxial, da epiderme em direção aos tecidos vasculares.

Nas condições deste estudo, para a observação do processo natural de abscisão, não houve necessidade de coletas semanais durante o processo de senescência das folhas.

4.2 RESULTADOS: DESFOLHA DE MACIEIRAS COM DIFERENTES PRODUTOS E SEUS EFEITOS NA MORFOLOGIA DAS GEMAS E NA FENOLOGIA E FRUTIFICAÇÃO EFETIVA DAS MACIEIRAS

4.2.1 Avaliação da queda de folhas em Vacaria

Nos outonos de 2011 e 2012 as plantas de ‘Fuji Standard’ tratadas com etefon perderam suas folhas mais rapidamente do que as da testemunha, caracterizando um efeito rápido a partir dos 7 dias após a pulverização (dap). Os tratamentos com AVG, cloreto de cálcio e padrão do produtor, no outono de 2011, até os 28 dap foram iguais à testemunha (Tabela 1).

No primeiro ano observou-se uma desfolha menor do que no segundo ano das avaliações, mesmo tendo havido a presença mais acentuada da Mancha da Marssonina que desfolhou totalmente as plantas da testemunha sem tratamento, que não foram tratadas com fungicidas. No entanto, quando se observa o comportamento das plantas sem sintomas de doença, ou seja as do tratamento padrão do produtor, com a testemunha sem sintoma da doença no segundo, devido às condições desfavoráveis ao patógeno, não houve diferença no percentual de desfolha. Este comportamento justifica no primeiro ano, ter realizado como padrão de comparação do percentual de desfolha as plantas do padrão do produtor.

O cloreto de cálcio, em função da alta dose usada, provocou um efeito dessecante desfolhante, ou seja, as folhas foram dessecadas e em seguida caíram por este motivo. Na primeira safra, as plantas tratadas com cloreto de cálcio, tiveram a queda das folhas semelhante ao tratamento do etefon a partir dos 38 dap até aos 49 dap quando comparado com a testemunha. Entretanto, na segunda safra, o efeito foi drástico e as folhas dessecadas permaneceram nas plantas até o fim das

avaliações, sendo constatada menor desfolha em comparação a testemunha, com cerca de 56% (Tabela 1). Nas avaliações, as folhas presentes nas plantas tratadas com cloreto de cálcio foram contadas, porém não eram mais funcionais estando completamente dessecadas (Figura 7).



Figura 7. Efeito dessecante desfolhante do cloreto de cálcio em macieiras Fuji, safra 2011/2012. A – Sintoma da planta após 7 dias após a pulverização (dap); B – Folhas dessecadas presentes na planta após 40 dap; C – Detalhe no círculo vermelho as folhas secas do ciclo anterior ao lado de folhas novas.

As plantas tratadas com AVG, após a parada dos tratamentos fungicidas, não apresentaram desfolha significativa, tendo sido constatados percentuais semelhantes a testemunha nos dois anos avaliados (Tabela 1). Talvez seu efeito seja evidenciado quando há a presença do patógeno causando um processo de infecção, o qual serve como elicitador do mecanismo de defesa da planta gerando etileno. Assim, como o AVG é um inibidor da síntese de etileno, e sem a presença deste hormônio pode não haver evidências da ação deste regulador de crescimento.

Na avaliação do efeito de cada tratamento no decorrer dos dias, no primeiro ano observou-se que no tratamento de etefon e cloreto de cálcio a desfolha deixou de ser significativa a partir dos 42 dap, com percentuais de 85% e 78%, respectivamente. O tratamento com AVG e o padrão do produtor atingiram os mesmos percentuais aos 49 dap (69%).

No entanto, para o segundo ano, todos os tratamentos atingiram desfolha máxima antes do que o ano anterior, e as avaliações seguiram somente até 42 dap (Tabela 1 continuação; Figura 8). O etefon a partir dos 21 dap, com aproximadamente 88% de desfolha, não teve mais efeito desfolhante (Figura 9). A testemunha, o AVG e o padrão do produtor somente aos 42 dias cessaram seu efeito desfolhante, com 96, 92 e 88%, respectivamente (Figura 9). Para o cloreto de cálcio o efeito desfolhante foi baixo, de 30% até os 14 dap, mas as folhas não estavam mais funcionais, pois ficaram queimadas e secas (Figura 7).

Tabela 1. Desfolha temporal (%) de macieiras 'Fuji Standard' em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013 Vacaria, RS. (Continua)

Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L ⁻¹) do i.a	Desfolha (%) Outono 2011 - safra 2011/2012						
		Dias após a pulverização (20/04/2011)						
		7	14	21	28	35	42	49
Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	1,2 ^{NS}	4,8 ^{NS}	8,7 ^{NS}	15,9 ^{NS}	24,7 ^{NS}	46,5 ^{NS}	69,0 ^{NS}
Cloreto de cálcio, 24%	24	2,9 ^{NS}	8,7 ^{NS}	15,9 ^{NS}	23,0 ^{NS}	65,2 +	77,8 +	88,8 +
Etefon, 24%	1	16,6 +	25,6 +	44,5 +	62,3 +	69,0 +	84,8 +	88,8 +
Padrão produtor	x ¹	2,9	7,6	12,4	19,7	28,2	48,5	69,0
Testemunha ²	0	-	-	-	-	-	-	-
CV (%)		41,1	36,8	20,5	17,2	13,4	5,6	9,4

Tabela 1. Desfolha temporal (%) de macieiras 'Fuji Standard' em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013 Vacaria, RS. (Conclusão).

Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L ⁻¹) do i.a	Desfolha (%) Outono – 2012 safra 2012/2013 ¹					
		Dias após a pulverização (19/04/2012)					
		7	14	21	28	35	42 ³
Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	13,8 ^{NS}	20,5 ^{NS}	32,82 ^{NS}	51,46 ^{NS}	66,16 ^{NS}	91,78 ^{NS}
Cloreto de cálcio, 24%	24	7,6 ^{NS}	30,0 ^{NS}	37,59 ^{NS}	44,47 ^{NS}	48,46 -	56,44 -
Etefon, 24%	1	33,8 +	87,5 +	87,54 +	88,83 +	90,65 ^{NS}	96,40 ^{NS}
Padrão produtor	- ¹	12,4 ^{NS}	15,2 ^{NS}	22,98 ^{NS}	37,59 -	47,46 -	88,19 ^{NS}
Testemunha	0	14,5	27,3	39,54	68,04	76,10	96,02
CV (%)		25,3	20,0	19,7	14,3	11,7	7,2

¹Os tratamentos e doses foram decididos pelo produtor e encontram-se no anexo A: Médias de quatro repetições.

² Plantas desfolharam precocemente devido a incidência de *Marssonina coronaria*. NS: não significativo pelo Teste de Dunnett, $p \leq 0,05$ em comparação a testemunha, +: significativo superior a testemunha. pelo Teste de Dunnett. $p \leq 0,05$. em comparação a testemunha; -: significativo inferior a testemunha. pelo Teste de Dunnett. $p \leq 0,05$.

³ Dados obtidos após a incidência de geada.

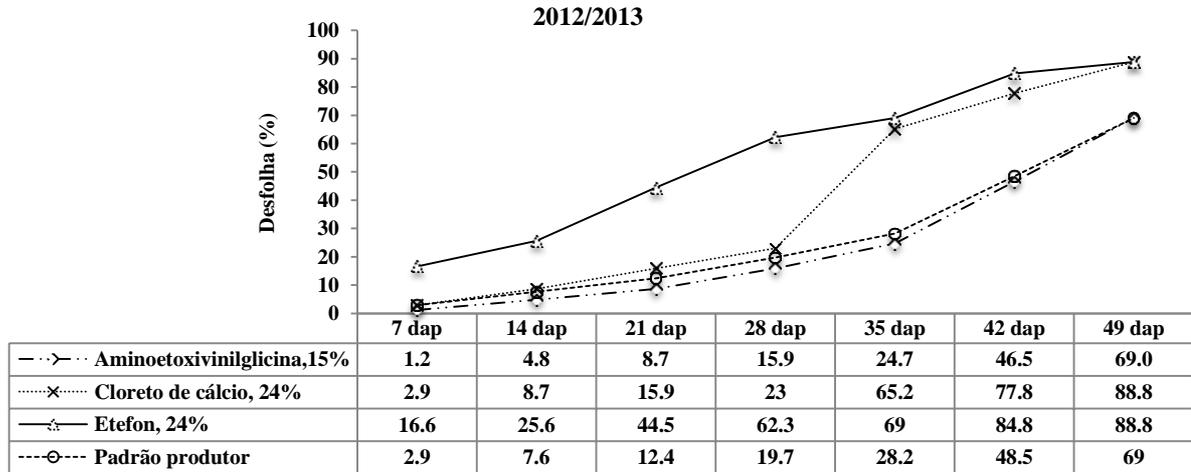
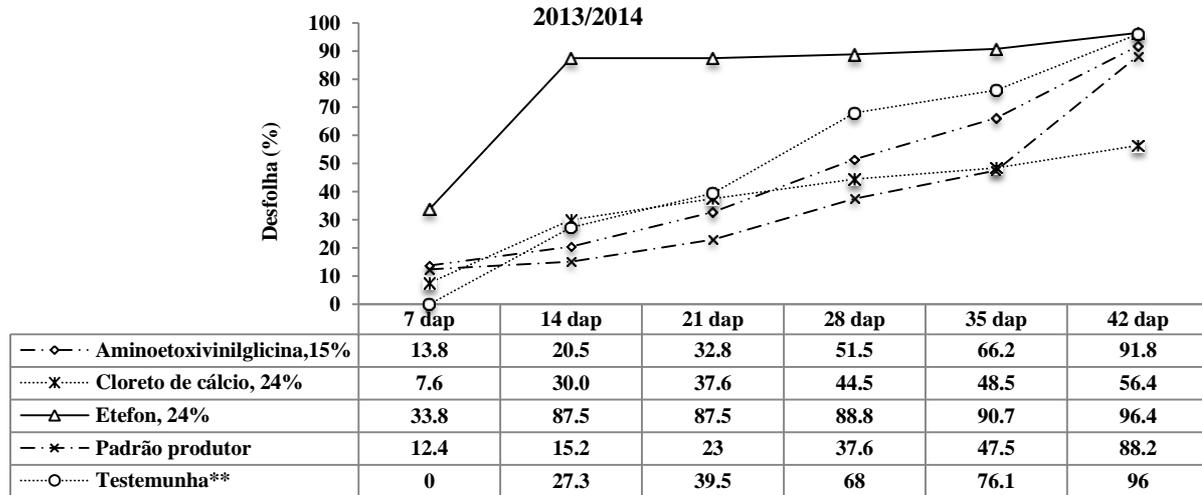


Figura 8. Percentual de desfolha temporal de macieiras ‘Fuji Standard’ em cada tratamento na safra 2011/2012, Vacaria, RS. Desfolha realizada em 20/04/2011



* Os tratamentos e doses foram decididos pelo produtor e encontram-se no anexo A.

** As plantas desfolharam precocemente devido a incidência de *Marssonina coronaria*.

Figura 9. Percentual de desfolha temporal de macieiras ‘Fuji Standard’ em cada tratamento na safra 2012/2013, Vacaria, RS. Desfolha realizada em 19/04/2012.

4.2.2 Avaliação da queda de folhas em San Clemente, Maule

Os dados coletados da desfolha temporal em Vacaria em dois anos e em Maule no Chile, em um ano, tiveram percentuais de desfolha distintos (Tabela 2). Percebeu-se que no Chile as plantas desfolharam mais rapidamente com o ABA, incluindo aquelas folhas mais jovens que se encontram nos ápices dos ramos do ano (Tabela 3). Etefon no Chile também foi eficiente, no entanto foi um pouco mais lento que ABA na desfolha e permitiu a dominância apical dos ramos mantendo as folhas jovens ainda nas plantas (Figura 10). Porém, de um mesmo modo os dois reguladores de crescimento atuaram como desfolhantes, acelerando a queda das folhas em comparação com a testemunha

A região de Maule tem clima temperado e a desfolha ocorre em menor número de dias. Assim, o período de desfolha no Chile foi mais curto com avaliações até 29 dap, quando houve mais de 50% de desfolha na testemunha. Já no Brasil no primeiro ano as avaliações seguiram mais de 42 dap e no segundo ano até 28 dap para desfolhar mais de 50% na testemunha.

Comparando os resultados da desfolha causada por etefon na mesma dose entre os dois países, somente quando as plantas sofreram com a falta de chuvas no verão e outono de 2012, a queda das folhas foi semelhante ao que ocorreu no Chile. Neste segundo ano o tratamento de etefon realizado no Brasil foi tão eficiente quanto o ABA e melhor do que o etefon no Chile.

Tabela 2. Desfolha temporal (%) de macieiras 'Fuji Raku Raku' em função dos tratamentos empregados, comparados com a testemunha, no outono, San Clemente, Maule, Chile.

Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L ⁻¹) do i.a	Desfolha (%) Outono 2013 - safra 2012/2013				
		Dias após a pulverização (24/04/2013)				
		12	15	19	21	29
Etefon, 50%	1	9,9 +	33,8 +	67,1 +	75,2 +	84,1 +
ABA, 10%	1,5	9,3 +	57,4 +	90,1 +	92,8 +	94,3 +
Testemunha		4,8	8,7	26,4	40,5	59,4
CV (%)		20,3	18,2	11,5	13,1	10,1

ABA: ácido abscísico. ¹Médias de seis repetições, cada uma composta por 200 folhas, sendo cada repetição uma planta útil. NS: não significativo pelo Teste de Dunnett, $p \leq 0,05$ em comparação a testemunha, +: significativo superior a testemunha pelo Teste de Dunnett $p \leq 0,05$ em comparação à testemunha.

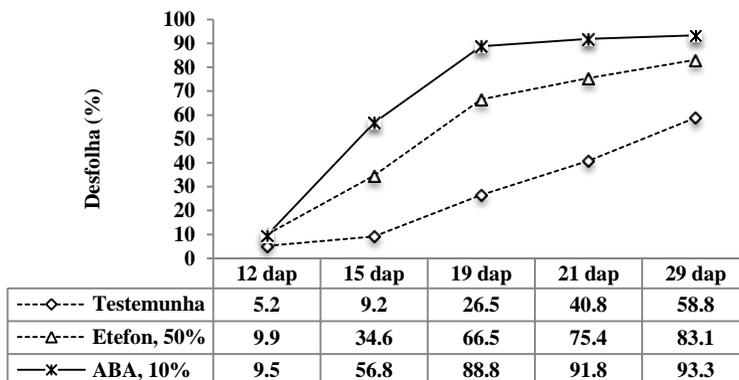


Figura 10. Percentual de desfolha temporal de macieiras ‘Fuji Raku Raku’ em cada tratamento no outono, San Clemente, Maule, Chile. ABA: ácido abscísico. Médias de seis repetições.

A aplicação dos desfolhantes na segunda dezena de abril, durante os dois anos de estudo no Brasil, não resultou em gemas de esporão e brindilas da ‘Fuji Standard’ de menor tamanho e peso. Como resultado não foram verificadas alterações no diâmetro, comprimento, massa fresca e percentual de gemas frutíferas, no primeiro ano de estudo, em todos os tratamentos quando comparadas com a testemunha. Entretanto, no segundo ano, as gemas dos esporões e brindilas tiveram menor diâmetro e comprimento (Tabela 3).

Tabela 3. Caracterização e diferenciação das gemas de esporão e de brindila de 'Fuji Standard' em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Continua).

Junho de 2011 – safra 2011/2012									
Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L ⁻¹) do i.a	Esporão			Brindila			Gemas floríferas (%)	
		Diâ. (mm)	Comp (mm)	Massa fresca (g)	Diâ. (mm)	Comp (mm)	Massa fresca (g)	Esp.	Brindilas
Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	4,7 NS	8,8 NS	0,06 NS	4,7 NS	9,0 NS	0,08 NS	56,4 ^{NS}	69,9 NS
Cloreto de cálcio, 24%	24	4,5 NS	8,3 NS	0,07 NS	4,6 NS	8,3 NS	0,07 NS	71,7 ^{NS}	63,3 NS
Etefon, 24%	1	4,4 NS	7,7 NS	0,07 NS	4,5 NS	7,9 NS	0,08 NS	63,3 ^{NS}	75,2 NS
Padrão do produtor	*	4,5 NS	8,3 NS	0,07 NS	4,6 NS	8,4 NS	0,07 NS	63,9 ^{NS}	69,3 NS
Testemunha	0	4,4	8,6	0,07	4,6	9,2	0,08	52,5	58,4
CV (%)		6,2	8,0	14,0	7,3	8,8	14,0	33,9	18,4

Tabela 3. Caracterização e diferenciação das gemas de esporão e de brindila de 'Fuji Standard' em função dos tratamentos empregados nas safras 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Conclusão).

Junho de 2012 – safra 2012/2013									
Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L ⁻¹) do i.a	Esporão			Brindila			Gemas floríferas (%)	
		Diâ. (mm)	Comp. (mm)	Massa fresca (g)	Diâ. (mm)	Comp. (mm)	Massa fresca (g)	Esp.	Brindilas
Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	3,8 NS	6,7 NS	0,06 ^{NS}	3,9 NS	6,6 NS	0,07 ^{NS}	56,4 NS	54,5 NS
Cloreto de cálcio, 24%	24	3,5 NS	6,7 ^{NS}	0,07 ^{NS}	3,7 NS	7,8 NS	0,09 ^{NS}	53,5 NS	46,5 NS
Etefon, 24%	1	3,6 NS	7,1 NS	0,07 ^{NS}	4,0 NS	7,2 NS	0,09 ^{NS}	55,4 NS	66,2 NS
Padrão do produtor	*	3,7 NS	7,7 NS	0,08 ^{NS}	3,7 NS	7,6 NS	0,08 ^{NS}	72,6 NS	63,3 NS
Testemunha	0	3,7	7,6	0,07	4,08	7,78	0,08	51,5	55,4
CV (%)		8,0	11,1	28,5	7,6	18,3	25,5	32,1	31,4

* Os tratamentos e doses foram decididos pelo produtor. e encontram-se no anexo A. NS: não significativo pelo Teste de Dunnett, p<0,05, em comparação à testemunha; pelo Teste de Dunnett, p< 0,05, em comparação a testemunha. Diâ.: diâmetro, Comp.: comprimento, Esp.: esporão.

Durante a avaliação dos estágios fenológicos observou-se que, entre as plantas submetidas a desfolha, os períodos compreendidos entre cada estágio foram semelhantes aos da testemunha, exceto no de ponta verde do primeiro ano. Neste estágio as macieiras, desfolhadas pela doença Mancha Foliar por Marssonina, atrasaram em dois dias sua brotação em comparação com as plantas dos tratamentos desfolhadas após 20 de abril de 2011 (Tabela 4).

Após cerca de 40 dias da queda das pétalas os percentuais de frutas em desenvolvimento foram semelhantes ao da testemunha, exceto para as plantas tratadas com etefon, que apresentaram baixo pegamento das frutas, 3,2% em comparação com a testemunha com quase 39%, o que representou uma redução de mais de 90% (Tabela 4). Como consequência do menor número de frutas, observou-se baixa produtividade, quase 10 ton ha⁻¹, e poucas frutas por planta. Fato que deve ser considerado é que no primeiro ano, por se tratar de um pomar comercial, foi realizado raleio químico equivocadamente antes da avaliação do percentual de pegamento das frutas. No entanto, no segundo ano de avaliação não houve o raleio o que resultou em um maior número de frutas neste tratamento. Embora no segundo ano também tenha havido a redução de frutas fixadas nas plantas desfolhadas com etefon, porém este percentual foi cerca de 35% em comparação com a testemunha, mesmo assim foi maior do que a redução ocorrida no primeiro ano. Mas, de um modo geral no segundo ano, houve redução no pegamento das frutas em todos os tratamentos de maneira que na testemunha o percentual foi de quase 50% a menos.

A produtividade estimada também foi menor, durante os dois anos avaliados, nas plantas tratadas por AVG, com redução de mais de 40% em comparação com o estimado na testemunha. Somente no segundo ano observou-se redução na produtividade estimada das plantas tratadas com cloreto de

cálcio como desfolhante, em função do menor número de frutas colhidas. O tratamento com etefon seguiu resultando em baixa produtividade, embora maior do que a verificada no primeiro ano.

Na massa fresca das frutas não foi verificada alterações quando comparadas com a testemunha nos dois anos (Tabela 5).

Tabela 4. Período em dias, compreendido entre cada estágio fenológico do retorno da brotação, e pegamento dos frutos em macieiras ‘Fuji Standard’ safra 2011/2012 e safra 2012/2013, Vacaria, RS. (Continua).

Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L ⁻¹) do i.a	Primavera 2011, Safra 2011/2012 – Estágios fenológicos a partir de 15/09/2011 (dias)									Pegamento das frutas (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
		Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	0	2 -	4 ^{NS}	10 ^{NS}	14 ^{NS}	16 ^{NS}	20 ^{NS}	
Cloreto de cálcio, 24%	24	0	2 -	4 ^{NS}	7 ^{NS}	11 ^{NS}	14 ^{NS}	18 ^{NS}	21 ^{NS}	26 ^{NS}	41,5 ^{NS}
Etefon, 24%	1	0	2 -	5 ^{NS}	9 ^{NS}	15 ^{NS}	17 ^{NS}	20 ^{NS}	21 ^{NS}	27 ^{NS}	3,2 -
Padrão do produtor	*	0	2 -	4 ^{NS}	7 ^{NS}	11 ^{NS}	14 ^{NS}	19 ^{NS}	22 ^{NS}	26 ^{NS}	31,0 ^{NS}
Testemunha	0	0	4	8	11	15	18	22	24	27	38,6
CV (%)			44,1	25,6	13,8	8,3	4,4	3,7	3,7	1,4	37,5

Tabela 4. Período em dias, compreendido entre cada estágio fenológico do retorno da brotação, e pegamento dos frutos em macieiras 'Fuji Standard' safra 2011/2012 e safra 2012/2013, Vacaria, RS. (Conclusão).

Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L ⁻¹) do i.a	Primavera 2012, Safra 2012/2013 – Estágios fenológicos a partir de 11/09/2012 (dias)									Pegamento das frutas (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
		Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	0	2 ^{NS}	9 ^{NS}	9 ^{NS}	12 ^{NS}	16 ^{NS}	20 ^{NS}	
Cloreto de cálcio, 24%	24	0	2 ^{NS}	7 ^{NS}	10 ^{NS}	13 ^{NS}	17 ^{NS}	20 ^{NS}	24 ^{NS}	28 ^{NS}	14,7 ^{NS}
Etefon, 24%	1	0	1 ^{NS}	6 ^{NS}	8 ^{NS}	11 ^{NS}	15 ^{NS}	19 ^{NS}	23 ^{NS}	28 ^{NS}	9,9 -
Padrão do produtor	*	0	2 ^{NS}	7 ^{NS}	8 ^{NS}	13 ^{NS}	16 ^{NS}	19 ^{NS}	22 ^{NS}	25 ^{NS}	16,7 ^{NS}
Testemunha	0	0	1	8	9	13	16	19	22	27	15,2
CV (%)			33,8	9,6	18,3	7,1	6,5	4,8	3,3	2,1	11,4

* Os tratamentos e doses foram decididos pelo produtor. e encontram-se no anexo A.; NS: não significativo pelo Teste de Dunnett, p ≤ 0,05 em comparação a testemunha; -: significativo inferior a testemunha, pelo Teste de Dunnett, p ≤ 0,05 em comparação à testemunha.

Tabela 5. Produtividade estimada, massa média das frutas de ‘Fuji Standard’, safra 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Continua).

Safra 2011/2012				
Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L⁻¹) do i.a	Produtividade estimada (ton ha⁻¹)	Frutos planta⁻¹ (n°)	Massa média (g)
Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	36,1 -	140 -	124 NS
Cloreto de cálcio, 24%	23	57,3 NS	222 NS	124 NS
Etefon, 24%	1	9,9 -	33 -	145 NS
Padrão do produtor	*	49,7 NS	232 NS	103 NS
Testemunha	0	63,0	244	124
CV (%)		27,41	26,79	0,79

Tabela 5. Produtividade estimada, massa média das frutas de ‘Fuji Standard’, safra 2011/2012 e 2012/2013, Vacaria, RS. (Conclusão).

Safra 2012/2013				
Tratamentos (concentração do i.a)	dose (g L⁻¹) do i.a	Produtividade estimada (ton ha⁻¹)	Frutos planta⁻¹ (n°)	Massa média (g)
Aminoetoxivinilglicina, 15%	0,06	57,4 -	212 -	130 NS
Cloreto de cálcio, 24%	23	31,1 -	124 -	120 NS
Etefon, 24%	1	54,8 -	221 -	119 NS
Padrão do produtor	*	83,8 NS	341 NS	118 NS
Testemunha	0	78,3	287	131
CV (%)		14,2	27,49	0,89

* Os tratamentos e doses foram decididos pelo produtor e encontram-se no anexo A.1. Média de até 120 frutas por tratamento. NS: não significativo pelo Teste de Dunnett, $p \leq 0,05$, em comparação a testemunha.; -: significativo inferior a testemunha, pelo Teste de Dunnett, $p < 0,05$, em comparação à testemunha

4.3 DISCUSSÃO: DESFOLHA DE MACIEIRAS COM DIFERENTES PRODUTOS E SEUS EFEITOS NA MORFOLOGIA DAS GEMAS E NA FENOLOGIA E FRUTIFICAÇÃO EFETIVA DAS MACIEIRAS

O efeito do etefon como desfolhante constatado neste estudo em ‘Fuji Standard’ e ‘Fuji Raku Raku’ é semelhante ao obtido da sua aplicação em diferentes frutíferas relatadas por Geardts et al. (1977); George e Nissen (1986); Fracaro e Boliani (2001); Kostenyuk et al. (2002), Fracaro et al. (2004); Fischer (2007) e Ouma (2007).

Durante condições normais de precipitação, e outonos com temperaturas altas, característico do clima subtropical conforme classificação de Koopen, a desfolha natural e induzida das macieiras Fuji Standard foi mais demorada, alcançando os maiores percentuais somente aos 49 dap, do que no ano seguinte. Assim, no segundo ano acredita-se que os maiores percentuais de desfolha podem estar relacionadas também com o longo período de estiagem que foi desde a primavera, todo o verão e parte do outono (anexo B – Dados de precipitação, temperatura e umidade) (Tabela 1). Para Addicott e Lynch (1955) situações extremas de temperatura e de falta ou excesso de água influenciam acelerando o processo de abscisão foliar. No caso de situações de estresse hídrico a condutância estomática é reduzida, devido seus estômatos ficarem mais tempo fechados, ocorrendo acúmulo de ácido abscísico (TAIZ e ZEIGER, 2009) e resultando na menor produção de carboidratos, adiantando o processo de senescência (LIM et al., 2007; TARTACHNYK e BLANKE, 2004). Segundo Jackson (1952), o ácido abscísico em situações de déficit hídrico aumenta a desfolha, por estar envolvido em processos de senescência participando da síntese e incremento do etileno (CRAKER e ABELES, 1969; GOMEZ-CADENA et al, 1996; BROWN, 1997). Além disso, o aumento da atividade da enzima IAA oxidase resulta no decréscimo do nível da auxina

quando a abscisão é acelerada (SWETS e ADDICOTT, 1955), isto porque, conforme Addicott e Lynch (1955) no processo de abscisão o gradiente de auxina e etileno são inversamente proporcionais.

Portanto, um possível acúmulo de ABA decorrente do deficit hídrico pode ter sido o motivo da desfolha mais acentuada, em todos os tratamentos no segundo ano, concordando com os resultados encontrados por Gomez-Cadenas et al. (1996). Outra justificativa dos maiores percentuais de desfolha é pelo fato do ABA ser considerado um precursor na síntese do etileno, principal hormônio envolvido no processo de senescência que resulta na queda das folhas (CRAKER e ABELES, 1969; GOMEZ-CADENAS et al, 1996; BROWN, 1997; CHEN e WANG, 2002). A eficiência do ABA como desfolhante, encontrada na Tabela 2, concorda com sua função de precursor do etileno, acelerando o processo de senescência (GOMEZ-CADENA et al, 1996; CHEN e WANG, 2002).

A possível redução na produção de carboidratos durante o o final da primavera, verão e outono devido à estiagem prolongada (FIORAVANÇO et al., 2012), ocorreu em períodos de muita demanda por carboidratos. O período de estiagem em 2011/2012, compreendeu a época do crescimento vegetativo e de frutas, indução e diferenciação de gemas da macieira (BALDINI, 1986). Este pode ter sido o principal motivo da redução do peso e nas medidas das gemas em comparação com aquelas avaliadas no primeiro ano (Tabela 3). O que também pode justificar a menor pegamento das frutas no segundo ano, embora sem diferenças entre os tratamentos.

O efeito do cloreto de cálcio como desfolhante, constatado nas macieiras, concorda com Jensen et al. (1984). Estes autores relataram que seu efeito inviabiliza o limbo foliar devido a elevada concentração de sais. Com isso provoca a perda de água, e junto com a elevada radiação solar, ocorre a queima da folha, que posteriormente, a folha dessecada, acaba

caindo. O mesmo efeito dessecante do cloreto de cálcio, também foi verificado quando aplicado sulfato de zinco e cloreto de sódio (GEARDTS et al. 1977), quelato de cobre (DONG et al., 2004), (BI e SAGEL et al., 2009). No entanto, Geardts et al. (1977) mencionam que cloreto de sódio causou danos nas gemas floríferas de pessegueiros, ameixeiras e nectarineiras, este resultado pode ter ocorrido também na macieiras ‘Fuji Stardart’ desfolhadas com 23 g L^{-1} , o que justifica a baixa produtividade e principalmente, no segundo ano, quando as folhas permaneceram queimadas nas plantas, podendo ter necrosado a maioria das gemas (Figura 7).

Os resultados da desfolha com etefon relatados neste estudo com ‘Fuji Standard’ foram parcialmente semelhantes aos encontrados por Basak et al. (1973) e Fracaro e Boliani (2001) em videiras. Estes autores encontraram percentuais de desfolha de 80 a 90% aos 14 dias após a pulverização, para as doses crescentes de etefon. No entanto, na ‘Fuji Standard’ percentuais semelhantes foram constatados aos 49 dap no primeiro ano e aos 7 dap no segundo (Tabela 1) com a dose 3 e 4 vezes menor de etefon usada por Fracaro e Boliani (2001). Já para ‘Fuji Raku Raku’, somente aos 29 dap os percentuais de desfolha foram acima de 80% (Tabela 2). Este resultado de desfolha do segundo ano da ‘Fuji Standard’, pode evidenciar plantas mais sensíveis ao efeito desfolhante, possivelmente também pela condição de estresse hídrico (FIORAVANÇO et al., 2012). Basak et al. (1973) conseguiram resultados parecidos quando utilizaram a dose de 1000 mg L^{-1} juntamente com sulfato de cobre (0,75) (Basak et al., 1973).

A ausência de algum efeito no atraso ou adiantamento no período compreendido entre os estágios fenológicos em todos os tratamentos, somente pôde ser verificado na testemunha desfolhada antes de 20 de abril (Tabela 1). Neste caso, resultados semelhantes de desfolha antecipada com alteração no tempo de dormência e atraso na brotação foram

encontrados por Couvillon e Lloyd (1978) e Lloyd e Firth (1990) em pessegueiros.

No caso do primeiro ano, a aplicação do raleante talvez possa ter sido em uma dose muito alta, principalmente para as plantas tratadas com etefon, o que resultou em um pegamento de 3% em comparação com quase 39% na testemunha. Já no segundo ano o menor pegamento das frutas no tratamento de etefon, cerca de 10%, pode estar relacionada com a rápida desfolha de quase 89% aos 14 dap (Tabela 4). A rápida perda das folhas pode ter impedido maior produção de carboidratos (OUMA, 2007), assim como a remobilização dos nutrientes da folha para órgãos de armazenamento. Entre os nutrientes, o nitrogênio é um dos principais, muito importante para a brotação das gemas (BI e SEAGEL, 2009), podendo refletir no baixo pegamento das frutas (FISCHER, 2007). De acordo com Ouma (2007) a desfolha durante a florada reduziu a produção de carboidratos na planta, o que resultou na abscisão de frutas. De qualquer forma, independentemente da época, as folhas têm como principal função a produção de carboidratos seja para o crescimento, manutenção ou remobilização de reservas (LIM et al., 2007), assim sua perda deve ocorrer no momento em que o máximo de nutrientes e organelas degradadas já tenham sido translocadas para locais de armazenamento (TARTACHNYK e BLANKE, 2004).

Este efeito evidencia que no uso de reguladores de crescimento se deve considerar a finalidade, o estágio fenológico e condição da planta, assim como a espécie e variedade, porque o resultado pode ser diferente do esperado (GREENE, 1999), conforme visto nos tratamentos de etefon nos dois anos no Brasil com ‘Fuji Standard’ e no Chile com ‘Fuji Raku Raku’ (Tabelas 1 e 2).

Os resultados de diminuição na produtividade com uso de etefon como desfolhante encontrados neste estudo não foram semelhantes aos de Geardts et al. (1977) (Tabela 5). Eles pesquisam a desfolha em viveiros de frutíferas e relataram que

as plantas tratadas não tiveram redução na produção. Porém, quando etefon foi aplicado durante a florada em macieiras na Alemanha, mesmo em concentrações menores (5 e 10 mg L⁻¹) foi observada desfolha parcial das folhas do esporões, e houve redução de cerca de 71% no pegamento das frutas. Na produção em quilos por planta a redução foi maior na menor dose de etefon aplicada, de 58% e 31% na maior (OUMA, 2007).

No segundo ano de avaliação da produtividade, a redução na colheita das plantas tratadas com cloreto de cálcio pode estar relacionada com danos provocados nas gemas devido ao modo de ação deste produto. Conforme Geardts (1977) o uso de cloreto de sódio como dessecante e desfolhante, causou danos nas gemas, reduzindo a produção (Tabela 5). O efeito da alta dose do cloreto de cálcio utilizada sobre as plantas estressadas pelas condições de baixa precipitação, pode ter potencializado o efeito dessecante.

Nenhum efeito na diminuição no peso das frutas foi constatado entre os tratamentos desfolhantes e AVG. No entanto, em caqui 'Fuyu', o incremento da desfolha resultou em frutas menores, de menor peso, e menos doces (CHOI et al., 2003)

Com isso pode-se concluir que a desfolha realizada aos 20 dias de abril, cerca de 7 dias após a colheita das frutas não pode ser considerada antecipada, visto a ausência de efeitos indesejáveis, a não ser pelo efeito do próprio produto que talvez não tenha sido o adequado para as condições brasileiras, ou a dose utilizada.

O uso de fontes de nitrogênio, como a ureia, aplicados com os desfolhantes (DONG et al., 2004; OUMA, 2007; BI e SCAGEL, 2009), melhoraram o retorno da brotação das plantas, devido à maior disponibilidade do nitrogênio armazenado antes da queda das folhas (FISCHER, 2007). Assim é importante que o desfolhante permita a remobilização de nutrientes da folhas antes da sua queda. Tal fato gera uma

hipótese de que a associação de alguma fonte de nitrogênio com etefon poderia colaborar com a melhor eficiência do etefon como desfolhante para a macieira nas condições brasileiras. Com isso poderia se verificar se ocorre maior pegamento das frutas e produção.

Nas macieiras da testemunha ‘Fuji Standard’ desfolhadas antecipadamente pela incidência de Marssonina, não foi constatado nenhum efeito na produtividade, que por sua vez não diferiu do padrão do produtor, desfolhada posteriormente. Essa informação não confirma o efeito prejudicial da doença sugerido pela literatura (KRETZSCHMAR et al., 2005; SHARMA et al., 2005). Neste sentido maiores estudos devem ser conduzidos sobre isto.

Estudos sobre desfolha antecipada em espécies de clima temperado, em idade produtiva e que avaliam os efeitos fisiológicos são poucos. Isto evidencia a importância na continuidade de pesquisas desta natureza, visto que na cultura da macieira, no Brasil, o uso da desfolha pode ser uma importante ferramenta no manejo fitossanitário na cultura.

4.3.1 Conclusões

Etefon 1 g L^{-1} e o cloreto de cálcio 23 g L^{-1} pulverizados em ‘Fuji Standard’ e ABA $1,5 \text{ g L}^{-1}$ e etefon 1 g L^{-1} em ‘Fuji Raku Raku’ aceleram a queda das folhas no outono.

A pulverização dos produtos desfolhantes testados 7 dias pós a colheita em meados abril, não causou efeito na diferenciação das gemas e nos estágios fenológicos das plantas de ‘Fuji Standard’ enxertada em maruba com filtro M9.

Na situação de estiagem, o progresso da desfolha com etefon 1 g L^{-1} em Vacaria foi igual ao tratamento com ABA $1,5 \text{ g L}^{-1}$ no Chile.

Etefon 1 g L^{-1} , AVG $0,06 \text{ g L}^{-1}$ e cloreto de cálcio 23 g L^{-1} podem afetar a o pegamento das frutas e a produtividade da macieira 'Fuji Standard'.

O desfolhante mais eficaz foram etefon 1 g L^{-1} e ácido abscísico $1,5 \text{ g L}^{-1}$.

A desfolha antecipada na testemunha no primeiro ano atrasou a brotação em dois dias, mas não diminuiu o pegamento das frutas e nem a produtividade.

Não se recomenda um manejo de desfolha aos sete dias depois da colheita.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO: EFEITOS ECOFISIOLÓGICOS DA ABSCISÃO FOLIAR EM MACIEIRA

As proteínas totais encontradas em pecíolos de ‘Fuji Raku Raku’ foram avaliadas, no decorrer do tempo, conforme o padrão natural de senescência (testemunha) das folhas e após a aplicação dos fitoreguladores, etefon e ABA até 7 dias após a pulverização (Figura 10). Após a aplicação dos tratamentos, desde 1 dia após o tratamento, o teor de proteínas totais não foi significativo entre os tratamentos em cada data, com exceção do sétimo dia após a aplicação, em que na testemunha o teor foi significativamente superior do que ABA e etefon (Tabela 6).

Observa-se na Tabela 6, que até o quarto dia os valores foram crescentes em todos os tratamentos, chegando a quase o dobro no tratamento de etefon, quando comparado com os valores iniciais (0 dap). No entanto, no sétimo dia após a pulverização (dap), houve redução no teor de proteínas tornando a ser em maiores as quantidade até o 7 dap, sendo mais expressivo o aumento nos tratamentos de etefon .

Tabela 6. Proteínas totais encontradas em pecíolos de folhas de macieiras ‘Fuji Raku Raku’, tratadas com fitoreguladores no outono antes da desfolha. San Clemente, Chile, 2013.

Tratamento	Dose (mg L ⁻¹)	µg de proteína g de matéria fresca ⁻¹				
		0	1 dap	2 dap	4 dap	7 dap
Testemunha	-	1,2 ns	1,7 ns	1,9 ns	2,4 ns	2,1 a
Etefon	1000	1,4	2,1	2,5	2,7	1,5 ab
ABA	1500	1,4	1,6	2,4	2,2	1,3 b
CV (%)		15,4	11,1	12,4	10,5	10,7

Dap : dia após a pulverização. Letras maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, p<0,05.

Uma curva quadrática foi ajustada para a quantidade das proteínas totais, até o sétimo dia de coleta para a testemunha (Figuras 11A). Nos tratamentos com os fitoreguladores, etefon e ABA, foi constatado um pico de máxima síntese no sétimo dia após a aplicação (Figuras 11B e 11C). Na testemunha a curva ajustada não foi tão acentuada como nos outros tratamentos, o que pode indicar um padrão constante da síntese de proteínas (Figura 11A). No quarto dia após a aplicação se verifica o ponto de inflexão nos dois tratamentos, evidenciando um decréscimo nas quantidades de proteínas, sendo a data de 7 dap a com menor quantidade. Os valores encontrados aos 7 dap de proteínas totais nos tratamentos de etefon e ABA são semelhantes aos encontrado no 0 dap (Figuras 11), podendo ser o final e ou início de um novo ciclo de senescência das folhas presentes nas plantas, visto que o processo de desfolha iniciou aos 12 dap (Figura 12A), possivelmente com as folhas que tiveram maior atividade de enzimas hidrolíticas envolvidas na abscisão.

O aumento no teor de proteínas pode estar relacionado com a atividade da síntese de enzimas hidrolíticas, celulasas e poligacturonases (PANDITA e JINDAL, 1991; ZANCHIN et al., 1993; ALMEIDA et al., 2012), que atuam na degradação da parede celular e da lamela média das células da zona de abscisão (SEXTON e ROBERTS, 1982). Assim, como o constatado por GUAK e FUCHIGAMI (2001) em mudas de macieiras Fuji no outono, em que houve primeiramente o aumento na concentração de proteínas em plantas tratadas com ABA e posteriormente naquelas sem tratamento. Estes mesmos autores relataram que durante o período que antecedeu a queda das folhas houve mobilização de nitrogênio da folha para partes perenes da planta, o que pode ter aumentado a concentração também de proteínas.

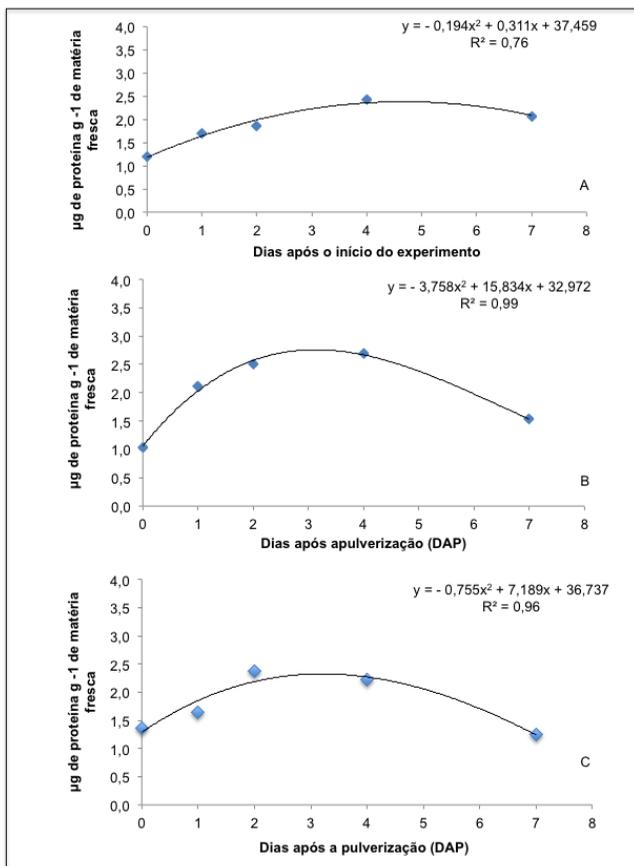


Figura 11. Teor de proteína total presente no pecíolo de macieira ‘Fuji Raku Raku’, 0, 1, 2, 4 e 7 dias para as plantas em senescência natural (A) e durante o mesmo período após aplicação dos fitorreguladores, etefon 1000 mg L⁻¹ (B) e ácido abscísico (ABA) 1500 mg L⁻¹ (C). O dia 0 corresponde a 24 de abril de 2013. San Clemente, Região de Maule, Chile.

A atividade da enzima peroxidase foi distinta entre as datas amostradas em cada tratamento. No primeiro e quarto dia após a aplicação dos tratamentos, os valores da atividade da enzima nos pecíolos tratados com etefon e ABA foram menores do que os da testemunha. No segundo dia somente

ABA foi significativamente inferior que o etefon e a testemunha. No entanto, no sétimo dia não houve diferença entre nenhum tratamento. No entanto entre ABA e etefon foi observado maior atividade da peroxidase nos pecíolos das folhas tratadas com ABA (Tabela 7).

Tabela 7. Atividade da enzima peroxidase em pecíolos de ‘Fuji Raku Raku’ após tratamentos com os fitoreguladores etefon e ácido abscísico (ABA), em comparação com o padrão de senescência natural, sem tratamento. em San Clemente, Região de Maule, Chile, em abril e maio de 2013.

Tratamentos	Dose (mg L ⁻¹)	Absorbância minuto ⁻¹ µg de proteína				
		1 dap	2 dap	4 dap	7 dap	12 dap
Testemunha	-	0,13 a	0,19 a	0,19 a	0,14 a	0,17 ab
Etefon	1000	0,11 b	0,14 a	0,11 b	0,11 b	0,08 b
ABA	1500	0,11 b	0,11 b	0,10 b	0,15 a	0,19 a
CV (%)		2,5	2,5	2,3	3,5	3,8

Dap: dias após a pulverização. Letras maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, $p < 0,05$. Dap 1 corresponde a 25 de abril de 2013.

Não foi possível ajustar curva da atividade da enzima peroxidase nas folhas das plantas com padrão natural de senescência (testemunha). Porém, curvas quadráticas representaram a atividade da enzima nas folhas submetidas aos tratamentos de etefon e ABA. No tratamento de etefon o ponto de inflexão representou a maior atividade da enzima peroxidase, e foi aproximadamente no segundo dia após o tratamento. Já para ABA o ponto de inflexão constatado foi o da menor atividade da enzima aos oito dias após a aplicação (Figura 12). Pode ser que este padrão de atividade encontrado da enzima peroxidase no tratamento com ABA, seja após seu pico de atividade ter ocorrido. Assim, quando houve a primeira coleta 24 horas depois da aplicação somente se registrou o declínio em sua atividade que volta a aumentar depois do oitavo dia. Semelhante atividade da enzima peroxidase, com picos de atividade foi registrado por e MACAGNAN et al.

(2008) e ALMEIDA et al. (2012), em pesquisas de indução de resistência a doenças em cacaueteiro e soja. Pandita e Jindal (1991) também verificaram aumento da enzima peroxidase, com pico de máxima atividade aos sete dias após o tratamento com etileno para abscisão de frutos em macieira. Considerando que ABA pode ser um precursor na rota de biossíntese de etileno (GOMEZ-CADENAS et al., 1996; TRIVELLINI et al., 2011), a aplicação exógena pode ter acelerado a produção deste hormônio, principal responsável pelo processo de abscisão (SEXTON e ROBERTS, 1982), o que justifica sempre os valores mais extremos e acelerados no tratamento de ABA.

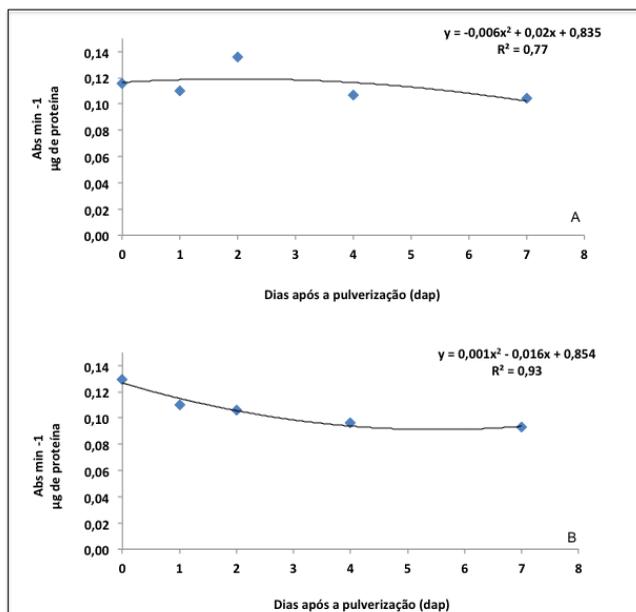


Figura 12. Atividade da enzima peroxidase em pecíolos de ‘Fuji Raku Raku’, tratadas com etefon 1000 mg L^{-1} (A) e ácido abscísico (ABA) 1500 mg L^{-1} (B), medida em unidade de enzima definido por absorbância por minuto de μg de proteína total, 0, 1, 2, 4 e 7 dias após a pulverização. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013. San Clemente, Região de Maule, Chile.

De acordo com os resultados obtidos acredita-se que a atividade da enzima peroxidase e das proteínas totais possam ter resultado na queda das primeiras folhas aos 12 dap com percentuais de 10% nos tratamentos de ABA e etefon (Tabela 8). O que concorda com resultados de outras pesquisas, que relataram uma sequência de alterações no padrão celular, codificação de genes envolvidos na parte bioquímica, alterações estruturais a nível celular e a etapa final onde ocorre a separação da folha, (ADDICOTT e LYNCH, 1955; ADDICOTT, 1968; SEXTON, 2001; LIM et al., 2002; GUIBOILEAU et al., 2010; ESTORNELL et al., 2013).

Acredita-se que após o sétimo da aplicação há um novo aumento da atividade das proteínas totais e da enzima peroxidase, visto que a desfolha ocorre em uma sequência de dias, em função das diferentes 'idades' entre folhas, constatada pelo decréscimo de clorofila devido ação enzimática (TARTACHNYK e BLANKE, 2004).

Durante esta pesquisa em folhas de um mesmo ramo do ano destas macieiras 'Fuji Raku Raku', submetidas aos tratamentos de etefon e ABA, foi constatado diferenças na quantidade de clorofila entre as folhas mediante índice SPAD (dados não apresentados) (Figura 13). As primeiras quatro folhas (sentido da parte distal para a base do ramo) tiveram índice SPAD superior a 50, o que indica mais clorofila e atividade fotossintetizante. Aquelas da quinta a sétima posição compuseram um índice intermediário. E as da oitava a décima posição tiveram os menores índices SPAD, havendo troca de coloração devido o avanço no estágio de senescência. Portanto, o processo de senescência ocorre a partir das folhas mais próximas da base do ramo seguindo em direção a parte distal (BIGGS e NORTHOVER, 1985) (Figura 13). Este padrão de senescência concorda com TARTACHNYK e BLANKE (2004), os quais relatam que as folhas mais jovens são caracterizadas pelo verde mais intenso, devido a maior quantidade de clorofila. Esta coloração também pode estar

relacionada com as maiores quantidades de auxina, devido um gradiente entre auxina e etileno. Ou seja a senescência é atrasada quando há maior presença de auxina e portanto menor de etileno (ADDICOOT e LYNCH, 1955; ROBERTS e SEXTON, 1982).

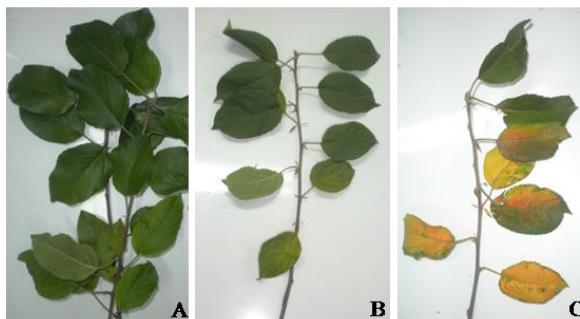


Figura 13. Ramos do ano de macieira ‘Fuji Raku Raku’ com folhas mais senescentes nas suas bases. A - com folhas em processo natural da senescência; B – tratadas com etefon 1 g L^{-1} ; C- tratadas com ABA $1,5 \text{ g L}^{-1}$ em estágio avançado de senescência. San Clemente, Maule, Chile, em 6 de maio de 2013.

Outras enzimas são reportadas como atuantes no processo de abscisão foliar como as lipoxigenases, beta 1,3-glucanases e quitinases (BAYSAL e DEMIRDOVEN, 2007), no entanto, por não terem sido aqui pesquisadas, podem estar presentes nos pecíolos de macieira.

A temperatura média diária caiu de 13° a 5°C durante a duração do ensaio. A radiação média durante os dias oscilou, tendo sido muito variável, em função da alternância entre dias nublados e sem nuvens. Entre os dias 13 e 17 de maio (19 e 23 dias após a aplicação dos produtos), ingressou uma massa polar que trouxe dias sem nuvens e temperaturas mínimas menores que zero (Figura 14). A partir destes dias mais frios houve aumento no percentual de desfolha, indicando o efeito da temperatura e geadas sobre o processo abscisão. Este resultados

estão de acordo com Lim et al. (2007), o qual cita a temperatura, seja elevada ou baixa, com a ocorrência de geadas, como um dos principais fatores que interferem no processo de abscisão foliar. Isto além do efeito do fotoperíodo, que vai diminuindo a medida que se aproxima do inverno, em acelerar a abscisão foliar (SPENCER e TITUS, 1972). Como resultado destes efeitos abióticos são desencadeadas respostas a este estresse, ativando a produção de compostos oxidativos como O_2^- , com objetivo de se adaptar a esta situação. Estes compostos podem ter um efeito devastador no metabolismo, provocando o rompimento na atividade celular, a partir da ação das enzimas hidrolíticas (LIM et al., 2007). RESENDE et al. (2003), relaciona estes compostos oxidativos, sendo aqueles ativados na Explosão Oxidativa Ativa (EOAs) que atuam nos processo de defesa da planta, e que estão envolvidos no processo de fortalecimento da parede celular e na biossíntese de lignina.

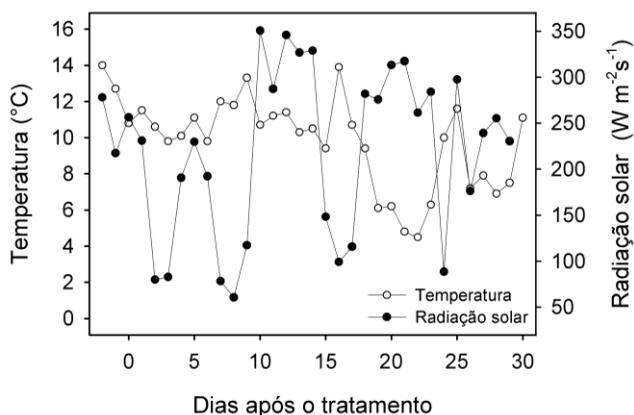


Figura 14. Condições meteorológicas durante o ensaio. Temperatura média e radiação solar diariamente. A radiação solar foi medida desde 9:00 até 18:45h. San Clemente, Região Maule, Chile, abril e 2013. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013.

A desfolha das macieiras em todos os tratamentos ocorreu entre o décimo e décimo quinto dia após a aplicação. O padrão de desfolha foi semelhante entre os tratamentos e a testemunha, no entanto, os fitoreguladores aceleraram a queda das folhas em comparação com a testemunha. Aos 15 dias (9 de maio) e nas demais datas em que houve avaliação, as plantas tratadas com ABA apresentaram desfolha superior aquelas com etefon e a testemunha, sendo elas 60%, quase 40% e cerca de 10%, respectivamente. Aos 19 dias após o tratamento (13 de maio) as plantas de ABA já haviam estabilizados sua desfolha com cerca de 90%. As plantas tratadas com etefon alcançaram estes percentuais aos 29 dias (23 de maio), e a testemunha com processo de senescência natural nesta mesma data alcançou pouco mais de 50% de desfolha (Figura 15A). Portanto, no tratamento com ABA após 15 dias da aplicação já havia iniciado o processo de endormência, uma vez que seja considerada a desfolha de 50% das folhas. As plantas tratadas com etefon alcançaram este mesmo estágio aos 19 dias da aplicação. Aos 21 dias da aplicação não houve diferença estatística nos percentuais de desfolha entre ABA e etefon, porém foram distintos da testemunha (Tabela 8). Para marcar o início do estágio fenológico se considera 50% de folhas caídas, o uso de ABA, aplicado uma semana depois da colheita, adiantou a queda de folhas em 9 dias quando comparada com a queda das folhas naturalmente da 'Fuji Raku Raku' (18 de maio). De outro modo etefon, aplicado no mesmo momento adiantou em 7 dias, no entanto, nesta dose de etefon usada as folhas mais jovens do ápice não caíram.

A taxa de fotossíntese das folhas foi diminuindo desde cerca de $4 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a valores de 1 no período das avaliações (um mês). A queda da taxa de fotossíntese foi mais pronunciada depois de 15 dias após o tratamento, com valores muito baixos ($1,5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em 9 de maio. Esta baixa atividade da fotossíntese coincide com o período de geadas registrado entre 13 e 17 de maio e com o 50% de queda de

folhas em 18 de maio (Figura 15B). A aplicação de etefon induziu a queda de folhas prematura da taxa de fotossíntese com relação a desfolha natural (testemunha), mas com semelhante tendência. Por outro lado, ABA teve um efeito imediato, provocando a queda a taxa de fotossíntese da folha no segundo dia de aplicação (Figura 15B).

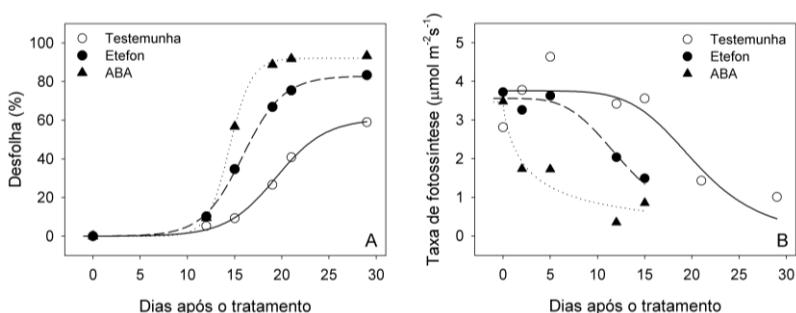


Figura 15. Relação entre percentagem de desfolha e taxa fotossintética A – e Taxa de fotossintética com índice SPAD (B) das folhas de plantas tratadas etefon, na dose de 1000 mg L^{-1} e ácido abscísico (ABA), na dose de 1500 mg L^{-1} em ‘Fuji Raku Raku’, em abril de 2013, San Clemente, Maule, Chile. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013.

Tabela 8. Valores de percentual de desfolha de ‘Fuji Raku Raku’ após os tratamentos com etefon e Ácido abscísico (ABA), analisados em cada data de avaliação.

Tratamentos	Dose (mg L ⁻¹)	Desfolha das plantas (%)				
		12 dap (6/05)	15 dap (9/05)	19 dap (13/05)	21 dap (15/05)	29 dap (23/05)
Testemunha	-	5,2 ns	9,17 c	26,5 c	40,8 b	58,8 b
Etefon	1000	9,9	34,6 b	66,5 b	75,4 a	83,1 a
ABA	1500	9,5	56,8 a	88,8 a	91,8 a	93,3 a
CV (%)		36,8	30,2	12,7	15,5	11,0

Dap: dias após a pulverização. Letras nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, $p < 0,05$.

Ao correlacionar o percentual de desfolha com a taxa de fotossíntese foi observado que na testemunha (padrão natural) e nos tratamentos com fitoreguladores à medida que aumentou a queda das folhas a taxa foi menor (Figura 16A). Quando o percentual de desfolha foi menor que 20%, em todos os tratamentos foram registradas taxas de fotossíntese de quase 5 mol m⁻²s⁻¹. No entanto, quando o percentual foi cerca de 30% a taxa foi de até 2 mol m⁻²s⁻¹ para a testemunha, ao mesmo tempo que etefon e ABA já tinham taxas com a metade do valor. Nos tratamentos quando a desfolha foi de 60% a taxa de fotossíntese foi semelhante a da testemunha quando esta foi de 80%. Percebe-se com isto que as folhas da testemunha sempre apresentaram taxas de fotossíntese maiores que aquelas das plantas tratadas, o que pode estar relacionado com a atividade fotossintética até o último momento antes da queda da folha. As folhas tratadas com etefon apresentaram taxa fotossintética semelhante a aquelas do tratamento com ABA, o que pode indicar o mesmo modo de ação em acelerar o processo de senescência natural. Logo é possível que a desfolha aconteça quando a taxa de fotossíntese for inferior a 2 mol m⁻²s⁻¹ (Figura 16A). Esta relação indica que a perda da funcionalidade fotossintética resulta na desfolha. Estes resultados concordam

com Lim et al. (2007) e Tartachnyk e Blanke, (2004), sobre o processo de senescência natural das folhas em que ocorre a redução da taxa de fotossíntese dando início a um programa de morte celular, a partir de uma cascata de reações que geram genes envolvidos no processo de senescência.

Quando foi comparada a taxa de fotossíntese com o índice SPAD, foi observado um comportamento semelhante entre os tratamentos, em que os valores mais altos do SPAD resultaram em maiores taxas de fotossíntese (Figura 16B). Na testemunha os maiores índices SPAD e taxa de fotossíntese puderam ser verificados a partir das folhas mais verdes e ativas do que aquelas tratadas (Figura 16). Nos dois tratamentos, conforme as Figuras 16A e 16B, percebe-se que a perda da funcionalidade pôde ser verificada mediante os baixos valores de SPAD e da taxa de fotossíntese que resultou na queda das folhas. Este mesmo comportamento foi encontrado por Uddling et al. (2007) em folhas de algodoeiro quando relacionou o índice SPAD com a concentração de clorofila e indicando a funcionalidade da folha. Portanto, quando há baixa taxa de fotossíntese ocorre a perda da funcionalidade de produção de carboidratos devido a degradação das organelas e cloroplastos foliares, caracterizada pela troca de coloração de verde para amarelada (LIM et al., 2007; HORTENSTEINER e LEE, 2007).

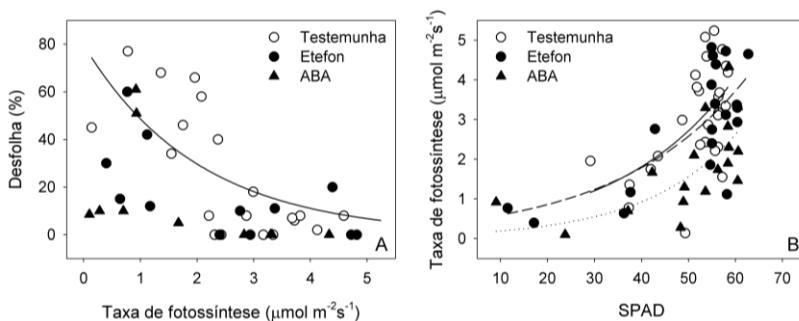


Figura 16. Correlação entre o percental de desfolha e a taxa de fotossíntese das folhas após aplicação dos tratamentos (A); Correlação entre a taxa de fotossíntese e índice SPAD em folhas de macieira ‘Fuji Raku Raku’ a após aplicação dos tratamentos, de etefon, na dose de 1000 mg L^{-1} , e ácido abscísico (ABA), na dose de 1500 mg L^{-1} em ‘Fuji’, em abril de 2013, San Clemente, Maule, Chile. Curvas sigmóides foram ajustadas para a testemunha (controle), etefon e ABA. O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013.

Nos tratamentos de etefon e ABA o conteúdo de nitrogênio diminuiu linearmente com o passar dos dias (Figura 17A), e com o aumento do percental de desfolha (Figura 17B) em todos os tratamentos. À medida que as folhas apresentaram menor índice do valor SPAD (foram ficando amareladas) e a quantidade de nitrogênio também diminuiu principalmente nos tratamentos de etefon e ABA. Na testemunha as folhas se mantiveram verdes por mais tempo, e os valores de nitrogênio e índice SPAD se mantiveram mais altos (não baixaram de 50). Isto indica que de maneira natural as folhas tendem a se manter ativas por um maior tempo, e por isso apresentam coloração mais esverdeadas e com teores de nitrogênio mais elevados (Figura 17C). Estes resultados concordam com TARTACHNYK e BLANKE (2004), que constataram que folhas de macieira no outono com maior conteúdo de nitrogênio são mais verdes porque tem maior teor de nitrogênio, quando apresentam atraso na senescência.

Os valores de SPAD 40 indicaram valores mínimos de

nitrogênio nos tratamentos em que as folhas amareleceram e caíram primeiramente do que a testemunha (Figura 17C). Este comportamento de menor quantidade de nitrogênio com valores mais baixos de SPAD, também concorda com FISCHER (2007), sobre a medida em que ocorre a degradação da clorofila das folhas, há mudança da coloração e o nitrogênio presente vai sendo translocado.

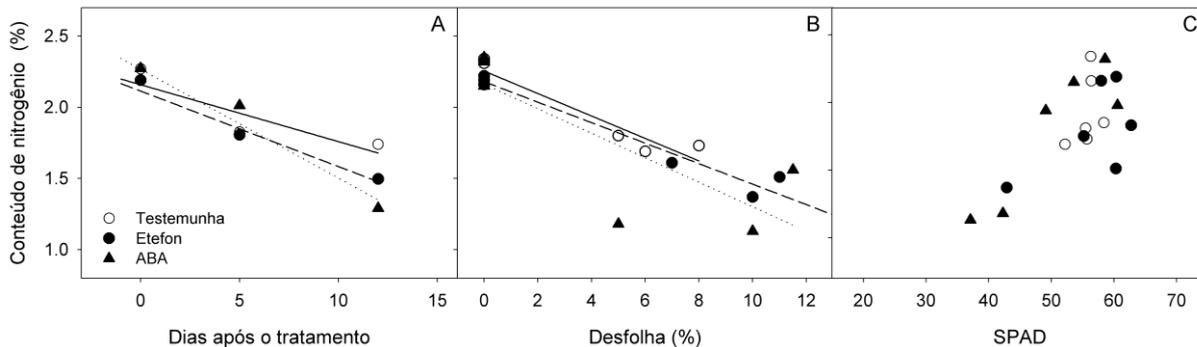


Figura 17. Conteúdo de nitrogênio nas folhas nos primeiros 12 dias após os tratamento (A), conforme o percentual de desfolha (B) e índice SPAD, das plantas tratadas com etefon, na dose de 1000 mg L^{-1} , e ácido abscísico (ABA), na dose de 1500 mg L^{-1} . Curvas lineares foram ajustadas para cada tratamento (A e B). O dia zero corresponde a 24 de abril de 2013.

A zona e camada de abscisão em macieiras 'Fuji Raku Raku' Fuji foram observadas e, correlacionado sua formação com o aspecto externo da folha, mediante um índice SPAD. Constatou-se que a medida que a folha vai avançando no processo de senescência, o índice SPAD vai diminuindo, e a camada de abscisão vai sendo formada (Figura 18). De acordo com Biggs e Northover (1985), durante o processo de abscisão na zona de abscisão há formação de duas camadas, a de abscisão caracterizada pela presença de lignina, e a de cicatrização constituída principalmente por suberina. Nas Figuras 18B e 18D, as células da camada de abscisão coradas com o corante azul de toluidina 2,5%, reagiram e resultaram em uma coloração esverdeada devido a reação com a lignina (RUZIN, 1999). Como o processo de senescência pode ser mensurado através da quantidade de clorofila na folha, observou-se que a degradação da clorofila, caracterizada principalmente pela mudança da cor verde para amarela, (LIM et al., 2007), indica que a folha está perdendo sua funcionalidade e há a formação da camada de abscisão. Assim, quanto menor foi o índice SPAD, devido a folha estar mais amarelada, (Figura 18A e 18C), mais pronta estava a camada de abscisão (Figura 18D).

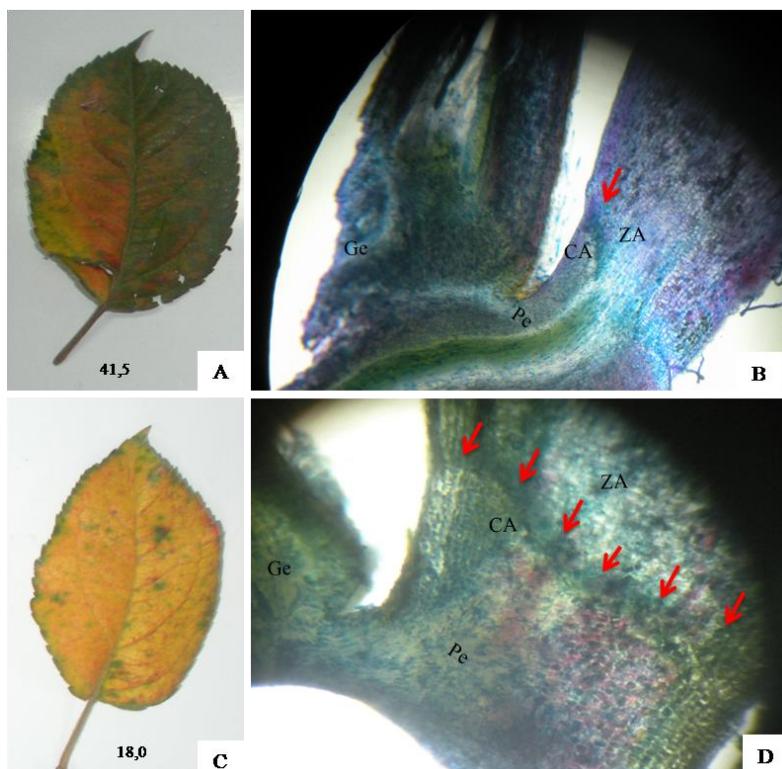


Figura 18. Folhas de macieira ‘Fuji Raku Raku’ em processo de senescência, aspecto externo (A e C) e corte fresco da base do pecíolo corados com azul de toluidina 2,5% (B e D). A – Folha em processo de degradação da clorofila com índice SPAD acima de 40; B – Secção longitudinal da base do pecíolo, contendo a gema (Ge) e início da formação da camada de abscisão (CA), indicada com seta vermelha, na zona de abscisão (ZA); C – Folha com pouca presença de clorofila em função do avançado estágio de senescência indicado pelo índice SPAD menor que 20; D – Setas vermelhas indicam a camada de abscisão totalmente formada, evidenciada pela coloração esverdeada devido a reação da lignina com azul de toluidina. San Clemente, Maule, Chile, em 6 de maio de 2013.

Os resultados do estudo da desfolha em macieiras, ‘Fuji Raku Raku’, que correlacionaram a funcionalidade da folha através do índice SPAD e a formação da camada de abscisão, ressaltam a importância de se estabelecer esta correlação nas condições brasileiras e com frutíferas de clima temperado aqui cultivadas. A determinação da perda da funcionalidade da folha através de um índice SPAD, permitirá adotar medidas de manejo através do monitoramento foliar, pautadas em informações cientificamente constatadas.

4.4.1 Conclusão

Nas condições de clima temperado na região de Maule, Chile:

1. ABA 1500 mg L⁻¹ e etefon 1000 mg L⁻¹, quando pulverizados em ‘Fuji Raku Raku’, aceleram a senescência, promovendo a desfolha antecipada.
2. O teor de clorofila e a taxa fotossintética das folhas diminuem, durante a senescência das folhas que tornam-se amareladas antes da abscisão.
3. Valores do índice SPAD abaixo de 40 indicam que a folha está em processo de senescência.
4. Etefon 1000 mg L⁻¹ e ABA 1500 mg L⁻¹ permitiram a translocação de nitrogênio, mesmo antecipando em 10 e 15 dias a desfolha, respectivamente.
5. A aplicação de etefon 1000 mg L⁻¹ e ABA 1500 mg L⁻¹ não alterou o retorno da brotação e os estágios fenológicos da macieira.
6. A formação da camada de abscisão foliar está relacionada com a coloração da folha de ‘Fuji Raku Raku’, mediante um índice SPAD.

5 REFERÊNCIAS

ADDICOTT, F.T. Environmental factors in the physiology of abscission. **Plant Physiology**, Rockville, v.43, n.9, p.1471-1479, 1968.

ADDICOTT, F.T. **Abscission**. California: University of California Press, 1982. 369p

ADDICOTT, F.T.; LYNCH, R.S. Physiology of abscission. **Annual Review Plant Physiology**, California, v.6, p. 211-238. 1955.

ALBREGTS, E.E; HOWARD, C.M.; CHANDLER, C.K. Defoliation of Strawberry Transplants for Fruit Production in Florida. **HortScience**, Alexandria, v.27, n. 8, p.889-891, 1992.

ALMEIDA, H.O. et al. Enzimas marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n. 2, p.163-172, 2012.

ALVAREZ, M. E. et al. Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. **Cell**, Cambridge, v.92, p. 1-20, 1998.

ALVES, G.; MAY-DE-MIO, L. Efeito da desfolha causada pela ferrugem na floração e produtividade do pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.4, p. 907-912, 2008.

AMARANTE, C.V.T. do. et al. Effect of aminoethoxyvinylglycine (AVG) on preharvest fruit drop and maturity of apples. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 661-664, 2002.

AMARANTE, C.V.T. do. et al. Quantificação de clorofilas em folhas de macieiras 'Royal Gala' e 'Fuji' com métodos ópticos não-destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, vol. 30, n.3, p. 590-595, 2008.

AMARANTE, C.V.T do.; STEFFENS, C.A.; BLUM L.E.B. Coloração do fruto, distúrbios fisiológicos e doenças em maçãs 'Gala' e 'Fuji' pulverizadas com aminoetoxivinilglicina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2010.

APOSTOL, I.; HEINSTEIN, P. F.; LOW, P. S. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells. **Plant Physiology**, Rockville, v.90, p.109-116, 1989.

BALDINI, E. **Arboricoltura generale**. 4.ed. Bolonha: CLUEB, 1986. 402p

BASAK, A.; JANKIEWICZ, L.S.; CZYNCZYK, A. The use of cepa, sadh and mineral salts to defoliate apple trees in nurseries. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 34, p. 135-138, 1973.

BAYSAL, T.; DEMIRDOVEN, A. Lipoxygenase en fruit and vegetables: a review. **Enzime and Microbial Technology**, Atlanta, v. 40, p. 491-496, 2007.

BI, G.; SCAGEL, C. Effects of fall applications of chemical defoliant, urea, and gibberellic acid on defoliation in the fall and performance of *Hidrangeas* during forcing. **HortScience**, Alexandria, v. 44, n. 6, p. 1604-1607, 2009.

BIGGS, A.R.; NORTHOVER, J. Formation of the primary protective layer and phyellogen after leaf abscission in peach.

Canadian Journal Botany, Ottawa, v. 63, p. 1547-1550, 1985.

BLEECKER, A.B.; PATTERSON, S.E. Last exit: Senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Rockville, v.9, p. 1169-1179. 1997.

BOGO, A. et al. Ethylene inhibitor aminoethoxyvinylglycine on glomerella leaf spot in Apple cultivar 'Royal Gala'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41. n. 06, 2011. Online. Disponível em: <<http://submission.scielo.br/index.php/cr/article/view/45804>>. Acessado: 03 jun. 2011.

BONETI, J.I. da S., RIBEIRO, L.G., KATSURAYAMA, Y. **Manual de identificação de doenças e pragas da macieira**. Florianópolis: Epagri, 1999.149p.

BONETI, J. I. da S; KATSURAYAMA, Y.; BLEICHER, J. Doenças da macieira. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA - EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 3.ed. 2006. p. 527- 609. cap.16

BRACKMANN, A.; WACLAWOVSKY, A.J. Responses of 'Gala' apples to preharvest treatment with AVG and low-ethylene CA storage. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.1, n.553, p.155-157, 2001.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Bethesda, v. 72, p. 248-254, 1976.

BROWN, K.M. Ethylene and abscission. **Physiologia Plantarum**, Malden, v.1 00, n. 3, p. 567-576, 1997.

CAPITANI, G. et al. Apple 1-aminocyclopropane-1-carboxylatesynthase in complex with the inhibitor L-aminoethoxyvinylglycine: evidence for a ketimine intermediate. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 277, n. 51, p. 49735-49742, 2002. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/277/51/49735.full.pdf+html>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

CAVALCANTI, F. et al. An aqueous suspension of *Crinipellis perniciosa* mycelium activates tomato defense responses against *Xanthomonas versicatoria*. **Crop Protection**, Atlanta, v. 26, p. 729-738, 2007.

CHAPMAN, P.J.; CATLIN, G.A. Growth Stages in Fruit Trees - From Dormant to Fruit Set. **New York's Food and Life Sciences Bulletin**, Nevo York, v. 58, 1976, 11p. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s00468-001-0138-2>>. Acesso em: 07 jun. 2011.

CHEN, S.; WANG, S. Xylem abscisic acid accelerates leaf abscission by modulating polyamine and ethylene synthesis in water-stressed intact poplar. **Trees**, Hong Kong, v. 12, p. 16-22, 2002.

CHOI, S.T. et al. Effect of diferente degrees of defoliation on fruit growth and reserve accumulation in young 'Fuyu' trees. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 601, p. 99-104, 2003.

CLEMENTS, J.; ATKINS, C. Characterization of a non-abscission mutant in *Lupinus angustifolius*. I. Genetic and structural aspects. **American Journal of Botany**, St. Louis, v 88, n. 1, p. 31-42. 2001.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste 1 Gulbenkian, 1982. 1032p

COUVILLON, G.A.; LLOYD, D.A. Summer defoliation effects on spring bud development. **HortScience**, Alexandria, v.13, p. 53-54, 1978.

CRAKER, L.E.; ABELES, F.B. Abcission: role of abscisic acid. **Plant Physiology**, Rockville, v.44, p. 1144-1149, 1969.

DICKSON, R.E. Assimilate distribution and storage. In: _____ **Physiology of trees**. New York: Raghavendra AS, 1991. cap 2

DONG, S.; CHENG, L.; FUCHIGAMI, L.H. Effects of urea and defoliant-cuedta in a single or a mixed application in the autumn on n reserves and regrowth performance of young 'Fuji'/m26 apple trees. **Acta Horticulture**, Leuven, v. 636, p. 29-34. 2004.

EPAGRI - EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. **A cultura da macieira**. 2.ed. Florianópolis: EPAGRI, 2002. 743p.

ESTORNELL, L.H. et al. Elucidating mechanisms underlying organ abscission. **Plant Science**, Atlanta, v. 199–200, p. 48–60, 2013.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/FAO. FAOSTAT: **Agricultural production/apple**. 2010. Disponível em: <http://www.fao.org.br>. Acesso em: 20 set. 2012.

FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principals and new methods. **American Journal of Botany**, St. Louis, v.55, n.1, .p.123-142, 1968. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/2440500>. Acesso em: 02 set. 2013.

FIORAVANÇO, J. C. et al. Cultura da macieira no Rio Grande do Sul: análise situacional e descrição varietal. Embrapa Uva e Vinho In: **Documentos/Embrapa Uva e Vinho 71**, Bento Gonçalves, EMBRAPA. v. 2, p. 10-60, 2010.

FIORAVANÇO, J. C.; CZERMAINSKI, A.B. C.; ALVES, S.A.M. Condições meteorológicas e sua influência na safra de maçã de 2011/12 em Vacaria, RS. Bento Gonçalves. Embrapa Uva e Vinho. 2012. 8p (Embrapa Uva e vinho. **Comunicado Técnico**, 123).

FISCHER, A.M. Nutrient remobilization durante leaf senescence. In: GAN, S. **Senescence Process in Plants**. Cornell: Sushing Gan: Blackwell Publishing Ltd, 2007, p.87-102. Cap 3

FRACARO, A.A.; BOLIANI, A.C. Efeito do ethephon em videira ‘Rubi’ (*Vitis vinifera* L.), cultivada na região noroeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 510-512, 2001.

FRACARO, A.A. PEREIRA, F.M.; NACHTIGAL, J.C. Uso do ethephon antes da poda de produção em videira ‘Niagara rosada’ (*Vitis labrusca* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p. 97-100, 2004.

GAWADI, A.G.; AVERY. G.S. Jr. Leaf abscission and the so-called “abscission layer”. **American Journal Botany**, St. Louis, v.37, p. 172-180, 1950.

GEARDTS, M.H. et al. Chemical defoliation on fruit trees. **California Agriculture**, California, v.4, n.1, p.19, 1977.

GREENE, D. W. Tree growth management and fruit quality of apple - Trees treated with prohexadione-calcium (BAS 125). **Hortscience**, Alexandria, v. 34, n. 7, p. 1209-1212, 1999.

GEORGE, A.P.; NISSEN, R.J. Effect of pruning and defoliation on precocity of bearing of custard apple (*Annona atemoya* Hort.) var. african pride. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 175, p. 237 -241, 1986.

GLOZER, K.; GRANT, J.A. Effects of fall of urea and zinc sulfate to 'Bing' sweet cherry spring budbreak. **HortScience**, Alexandria, v.41, n.4, p. 1030-1031, 2006.

GOMEZ-CADENAS, A. et al. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of *Cleopatra mandarin* requires previous abscisic acid accumulation in roots, **Plant Physiology**, Rockville, v.122, p. 401-408, 1996.

Disponível em:

<<http://www.plantphysiol.org/content/112/1/401.full.pdf+html>>. Acesso em: 21 out. 2013.

GUAK, S.; FUCHIGAMI, L.H. Effects of applied ABA on growth cessation, bud dormancy, cold acclimation, leaf senescence and N mobilization in apple nursery plants. **The Journal of Horticultural Science e Biotechnology**, Dundee, v.76, n.4, p. 459-464, 2001.

GUIBOILEAU, A. et al. Senescence and death of plant organs: nutrient recycling and developmental regulation. **Comptes Rendus Biologies**. Paris, v. 333, p. 382-391, 2010. -

Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20371113>>. Acesso em: 10 out. 2013.

HORTENSTEINER, S.; LEE, D.W. Chlorophyll catabolism and leaf coloration. In: GAM, S. **Senescence Process in Plants**. Cornell: Sushing Gan Blackwell Publising Ltd, 2007, p. 12-38. cap 7

HORTON, R.; OSBORNE, D.J. Senescence, abscission and cellulase activity in *Phaseolus vulgaris*. **Nature**, London, v. 214, p. 1086-1088, 1968.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Banco de Dados Agregados – SIDRA**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 jun. 2011.

ICEPA – Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina. Maçã – **Panorama Mundial**. 2009. Disponível em: <<http://cepa.epagri.sc.gov.br/>>. Acesso: 12 jun. 2011.

IGLESIAS, I. et al. Innovación varietal en manzano. **Revista de Fruticultura**, Barcelona, n. 1, p. 13-30, 2009.

JENSEN, F.L.; CHRISTENSEN, L.P.; BETTIGA, L. Desiccants for grapevines. **California agriculture**, California, Sept, p.9. 1984.

JONES D.L.; NICHOLS D.G.; THOMPSON W.K. Further studies on chemical defoliation of deciduous nursery plants. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, Collingwood, v.14, p. 412–417. 1974.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 11. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 1993. 745p

KENDALL, J. Abscission of flowers and fruits in the Solanaceae, with special refrence to *Nicotiana*. **California**

University Publication Botany, California, v.5, p. 347-428, 1918.

KOSTENYUK, I.A.; ZON, J.; BURNS, J.K. Phenylalanine ammonialyase gene expression. During abscission in *citrus*. **Physiologia Plantarum**, Malden, v.116, n. 1, p. 106-112. 2002.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR. 1997. 25p.

KRETZSCHMAR. A.A. MARODIN. G.A.B.; DUARTE. V.D.; Ocorrência e intensidade de *Marssonina mali* em macieira cv. Eva nas condições da depressão central do Rio Grande do Sul. **Revista Ciências Agroveterinárias**, Lages. v. 4, n. 2, p. 145-147, 2005.

KREUZ, L. et al. Estratégias competitivas para agronegócios: análise e resultados para o caso da maçã brasileira. **Revista Eletrônica Administradores sem Fronteiras**, Franca, n. 02, p. 1-16, 2005.

KREUZ, L.; SOUZA, A.; PETRI, J.L. Impacto da intensificação da densidade de plantio na rentabilidade em duas cultivares de macieira em Fraiburgo-SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 240-243, 2006.

LARSEN, F.E. Promotion of leaf abscission in fruit nursey stock. **Acta Horticulture**, Alexandria, v.34, p. 139-133, 1973.

LARSEN, F.E.; LOWELL, G.D. Tree fruit nursey stock the defoliation with harvest aid chemical and surfactant mixtures. **HortScience**, Alexandria, v.12, p. 580-582, 1977.

LARSEN, F.E.; FRITTS, JR, R.; MENENDEZ, R. Defoliation

of tree fruit nurse stock with CGA-15281. **Scientia Horticultural**, Amsterdam, v. 24, p. 265-269, 1984.

LARSEN, F.E.; HIGGINS, S.S. Abscisic acid as a potential deciduous fruit tree nurse stock defoliant. **Hort Technology**, Alexandria, v. 8, p. 47-51, 1998.

LEWIS, N.G.; DAVIN, L. B. Lignans: biosynthesis and function. **Comprehensive Natural Products Chemistry**, Hong Kong, v.1, p. 639-712, 1999.

LIM, P.O.; KIM, H.J.; NAM, H.G. Leaf senescence. **Annual Review Plant Biology**, Palo Alto, v.58, p. 115-136, 2007.

LIMA, T.S. et al. Influência da desfolha antecipada na intensidade de abortamento floral em pereira ‘Shinseiki’. **Anais... XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, Bento Gonçalves, p. 3749-3752, 2012.

LLOYD, J.; FIRTH, D. Effect of defoliation tipo on depth of dormancy and bloom time for low-chill peaches. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 12, p. 1575-1578, 1990.

MACAGNAN, D. et al. G.S.; POMELLA, A.W.V. Atividade de enzimas associadas ao estado de indução em mudas de cacauero expostas a dois actinomicetos residentes de filoplano. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 34, n. 1, p. 34-37, 2008.

MEYER, G.A. et al. Desfolha da macieira ‘Royal Gala’ com cloreto de calcio. **Anais... XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, Bento Gonçalves, p. 3295-3298, 2012.

MINOLTA CAMERA Co., Ltda. **Manual for chlorophyll meter SPAD 502**. Osaka, Minolta, Radiometric Instruments divisions. 1989. 22p.

NZIMA, M.D.S. MARTIN, G. C.; NISHIJIMA, C. Effect of fall defoliation and spring shading on shoot carbohydrate and growth parameters among individual branches of alternate bearing 'Kerman' pistachio trees. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 124, n. 1, p. 52-60, 1999.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O.

Protoplasma, Nova York, v.59, p. 21368-21373, 1964.

Disponível em: <[http://link.springer.com/ 22](http://link.springer.com/22)

article/10.1007%2FBF01248568>. Acesso em: 02 set. 2013.

OSBORNE, D.J. Abscission. **Critical Reviews in Plant Science**, Apopka, v.8, p.103-129,1989.

OUMA,G. Chemical and defoliation effects on fruit set of apple (*Malus domestica*). **Asian Journal of Plant Sciences**, Faisalabad, v. 6, n. 7, p. 1155-1157, 2007.

PANDITA, V. K.; JINDAL , K. K. Enzymatic and Anatomical Changes in Abscission Zone Cells of Apple Fruits Induced by Ethephon. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 33, n. 1, p. 20-25, 1991.

PATTERSON, S. Cutting, loose. Abscission and dehiscence in 25 Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 126, n. 2, p. 494-500, 2001. Disponível em:

<[www.plantphysiology.org/content/126/2/494.full. 27 pdf+html](http://www.plantphysiology.org/content/126/2/494.full.27.pdf+html)>. Acesso em: 27 jun. 2013.

RESENDE, M.L; SALGADO, S.M.L; CHAVES, Z.M.

Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas e patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n11, p. 123-130, 2003.

ROBERTS, J.A. et al. Cell separation processes in plants – models, mechanisms and manipulation. **Annual Botany**, Oxford, v. 86. p. 223-235, 2000.

ROBERTS, J.A.; ELLIOTT, K.A.; GONZALEZ-CARRANZA, Z.H. Abscission, deiscence, and other cell separation processes. **Annual Review Plant Biology**, Palo Alto, v.53. p. 131-58, 2002.

RUZIN, S.E. **Plant microtechnique and microscopy**. NewYork: 41, Oxford University, 1999. 322p.

RYUGO, K. **Fruticultura ciência y arte**. México: AGT, 1988. 460p.

SANHUEZA, R.M.V. Características e controle de *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*), agente causal da mancha das folhas e frutos da macieira. Bento Gonçalves. Embrapa Uva e Vinho.1999. 16p (Embrapa Uva e Vinho. **Circular técnica**, 25).

SANHUEZA, R.M.V. et al. Características e Controle das Doenças de Verão na Produção Integrada de Maçã. In: **Manejo da Macieira no Sistema de Produção Integrada de Frutas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. p.51-60. cap 2

SANHUEZA, R.M.V.; BONETI, J.I.; ALVES, S.A.M. Características e controle de *Nectria galligena* nos países que a doença é endêmica. In: **Informe fitossanitário CIDASC e EPAGRI**, Florianópolis, 2012. n. 1, 10p.

SEXTON, R.; ROBERTS, J. Cell biology of abscission. **Annual Review Plant Physiology**, California, v.33, p.133-162, 1982.

SEXTON, R. Abscisson. Cap 10. p. 205 -228. In: **Handbook of Plant and Crop Physiology**. 2. ed. Arizona: Mohammad Pessaraki. 2001. 970p.

SILVA, F.A.S. Assistência Estatística – **ASSISTAT** – versão 7.3 Beta (2006). Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN-UFCC – Campus I – Campina Grande – PB. Disponível em: <<http://assistat.sites.uol.com.br>>. Acesso em: 15 jun. 2012.

SILVA, L.J.; LILAGRES, C.C.; SILVA, D.J.H.; NICK, C.; CASTRO, J.P.A. Basal defoliation and their influence in agronomic and phytopathological traits in tomato plants. **Horticultura Brasileira**, Brasília. v. 29, p. 377-381, 2011.

SHARMA, J.N.; SHARMA, P.K; SHARMA, A. Studies on epidemiology and management of Marssonina blotch, the cause of premature leaf fall in apple. In: **Integrated plant diseasemanagement. Challenging problems in horticultural and forest pathology**, Solan, [s.n.] 2005. p. 1-7. cap. 1 Disponível em: <http://www.elsevier.com/locate/postharvbio>>. Acesso em: 15 maio 2011.

SPENCER, P.W.; TITUS, J.S. Biochemical and enzymatic changes in apple leaf tissue during autumnal senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 49, p. 746-750, 1972.

STEFFENS, C. A. et al. Maturação da maçã ‘Gala’ com a aplicação pré-colheita de aminoetoxivinilglicina e ethephon. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria. v. 36, n. 2, p. 434-440, 2006.

SWETS, W.A.; ADDICOTT, F.T. Experiments on the physiology of defoliation. **American Society Horticulture**, Alexandria, v.65, p.291-295, 1955.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820p

TARTACHNYK, I.I.; BLANKE, M.M. Effect of delayed fruit harvest on photosynthesis, transpiration and nutrient remobilization of apple leaves. **New Phytologist**, Lancaster, v. 164, n. 3, p. 441–450, 2004. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1469-8137.2004.01197.x/asset/j.1469-8137.2004.01197.x.pdf?v=1&t=hqbbmmui&s=0d376d4682233ca6b039f6f6e5d3f1887e588f05>>. Acesso em: 14 set. 2013.

TAVARES, G.M. et al. Indução de resistência do mamoeiro à podridão radicular por indutores bióticos e abióticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 44, n. 11, p. 1416-1423, 2009.

TESSMER, M. A. Características anatômicas e físico-químicas de frutos de macieira (*Malus domestica* Borkh) e sua relação com a lenticelose. 2009, p. 21. **Dissertação (Mestrado)**. Piracicaba. 2009.

TREVISAN, R. et al. Teores de açúcares em plantas de pereira (*Pyrus serotina* rehder) nak., cv. Nijisseiki submetidas à desfolha total e poda de gema no final do ciclo de crescimento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 2, p. 117-119, 2003.

TRIVELLINI, A. et al. Effects of abscisic acid on ethylene biosynthesis and perception in *Hibiscus rosa-sinensis* L. flower development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 15, p. 5437-5452, 2011.

TUSTIN, D.S.; STANLEY, C.J.; ADAMS, H.M. Physiological and Phenological responses of Apple tree to artificial reduction

of the growth period from harvest to leaf fall. **Acta Horticulture**, Alexandria, 451. p.383- 392. 1997.

UDDLING, J. et al. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter reading. **Photosynth Research**, Lobbook, v. 91, p. 37-46, 2007. Disponível em:
<<http://link.springer.com/article/10.1007/s11120-006-9077-5#page-1>> Acesso em: 24 maio 2013.

WEAVER, R.J. **Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura**. México: Trillas, 1996. 622p.

YURI, J.A. et al. Golpe de sol en manzanas II. Factores inductores y respuestas bioquímicas. **Agro-ciencia**, Chillán, v. 16, n. 1, v. 23-32, 2000.

ZANCHIN, A. et al. Abscission in leaf and fruits explant of *Prunus persica* (L) Batsch. **New Physiology**, Lancaster, v. 123, n. 3, p. 555-565, 1993. Disponível em:
<<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03768.x/asset/j.1469-8137.1993.tb03768.x.pdf?v=1&t=hu59r8va&s=4be9e329ec362eea9c760df69da0fd95901c84f>>. Acesso em: 17 out. 2013.

ZANCHIN, A. et al. Characterization of abscission zones in the flower and fruits of peach (*Prunus persica* (L) Batsch). **New Physiology**, Lancaster, v. 129, p. 345-354, 1995.

ZHANG, Y.; ZHANG R. Effects of ABA Content on the development of abscission zone and berry falling after harvesting of grapes. **Agricultural Sciences in China**, Beijing v. 8, n. 1, p. 59-67, 2009.

6 ANEXOS

**ANEXO A – TRATAMENTOS FITOSSANITÁRIOS
REALIZADOS NA ‘FUJI STANDARD’, NAS SAFRAS 2011/2012
E 2012/2013. VACARIA, RS.**

Produto comercial	Ingrediente ativo, %	Grupo químico	Dose g ou ml 100 L ⁻¹	Intervalo de aplicação
1. Antracol 700 WP	Propinebe, 70%	Ditiocarbamato	300	10d
2. Nativo	Trifloxistrobina, 10% + Tebuconazol, 20%	Estrobilurina e Triazol	60	10d
3. Antracol + Nativo,	Propinebe, 70% + Trifloxistrobina, 10% + Tebuconazol, 20%	Ditiocarbamato + Estrobilurina e Triazol	300 + 60	10d
4. Antracol + Systhane CE,	Propinebe, 70% + Miclobutanil, 27,7%	Ditiocarbamato + Triazol	300 + 18	10d
5. Delan	Dithanona, 75%	Quinona	75	10d

ANEXO B – DADOS CLIMATOLÓGICOS DE TEMPERATURA MÁXIMA, MÍNIMA E MÉDIA, OCORRÊNCIA DE GEADA E N° DE DIAS COM CHUVA DURANTE OS EXPERIMENTOS.

Ano 2011

Mês/Ano	Chuva (Mm)	T Max (°C)	T Min (°C)	T Média (°C)	Dias Com Geada	N° Dias Com Chuva
jan/11	255,70	26,86	16,13	21,49	0	15
fev/11	208,60	25,23	16,37	20,80	0	16
mar/11	183,00	23,52	12,94	18,23	0	12
abr/11	148,00	21,70	11,45	16,58	0	12
mai/11	107,10	17,33	8,03	12,68	1	12
jun/11	212,20	14,77	5,06	9,91	4/1 dia neve	15
Média	185,77	21,57	11,66	16,61	0,20	14

Base de Dados Meteorológicos da Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura Temperada

Ano 2012

Mês/Ano	Chuva (Mm)	T Max (°C)	T Min (°C)	T Média (°C)	Dias Com Geadas	Nº Dias Com Chuva
jan/12	129,80	25,67	14,19	19,93	0	12
fev/12	150,10	27,79	16,39	22,09	0	12
mar/12	28,30	25,52	12,93	19,22	0	7
abr/12	25,40	22,25	11,42	16,84	0	11
mai/12	150,40	20,11	7,97	14,04	4	2
jun/12	5,01	17,48	6,33	11,91	6	10
Média	81,50	23,14	11,54	17,34	1,67	9

Base de Dados Meteorológicos da Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura Temperada

**ANEXO C - ESCALA DE CHAPMAN E CATLIN 1976,
UTILIZADA PARA O ACOMPANHAMENTO DO RETORNO
DA BROTAÇÃO.**



Figura 19. Estágios fenológicos conforme Chapman e Catlin (1976). Estágio 1- gema dormente; 2 - ponta prata; 3 - ponta verde; 4 - botão floral com folha em expansão aproximadamente 1 cm; 5 - todos os botões florais expostos com folha expandida; 6 - todos os botões vermelhos; 7 - plena florada; 8 - pétalas caídas; 9 - crescimento dos frutos

ANEXO D – ADAPTAÇÃO DA ESCALA FENOLÓGICA PARA AVALIAÇÃO NO CAMPO.

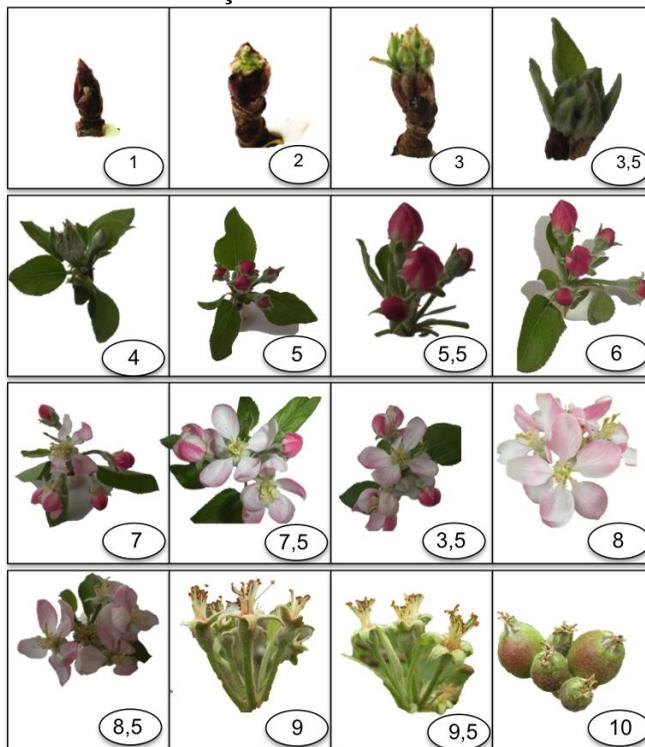


Figura 20. Adaptação da escala fenológica. Estágio 1 – gema dormente; 2 – ponta verde; 3 – botões florais amostra; 3,5 – botões florais com folhas em expansão; 4 – botões florais com folhas expandidas; 5 – botões vermelhos; 6 – botões florais ; 7 – uma flor aberta; 7,5 – mais de uma flor aberta; 8 – plena floradas; 8,5, pelo menos uma flor com queda das pétalas; 9 – todas flores sem pétalas; 9,5 – início do crescimento da fruta da primeira flor; 10 – frutas com mais de 3 mm de diâmetro, avaliação do *fruit set*.