

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

SABRINA BALDISSERA

**FITORREGULADORES PARA AUMENTO DO TAMANHO DE FRUTOS EM
MACIEIRA ‘MAXI GALA’**

LAGES
2023

SABRINA BALDISSERA

**FITORREGULADORES PARA AUMENTO DO TAMANHO DE FRUTOS EM
MACIEIRA 'MAXI GALA'**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Produção Vegetal pelo Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal – PPGPV, da Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc.
Orientador: Prof. Dr. Leo Rufato

**LAGES
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca Setorial do
CAV/UEDESC, com os dados fornecidos pela autora

Baldissera, Sabrina

Fitorreguladores para aumento do tamanho de frutos em
macieira 'Maxi Gala' / Sabrina Baldissera. -- 2023.
92 p.

Orientador: Leo Rufato

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages,
2023.

1. *Malus domestica* (Borkh.). 2. Divisão Celular. 3. Calibre
de fruto. 4. Ácido Naftaleno Acético. 5. 6-Benziladenina. I.
Rufato, Leo. II. Universidade do Estado de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal. III. Título.

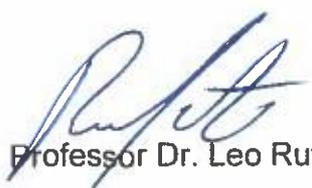
SABRINA BALDISSERA

**FITORREGULADORES PARA AUMENTO DO TAMANHO DE FRUTOS EM
MACIEIRA 'MAXI GALA'**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Produção Vegetal pelo Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal – PPGPV, da Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc.

Orientador: Prof. Dr. Leo Rufato

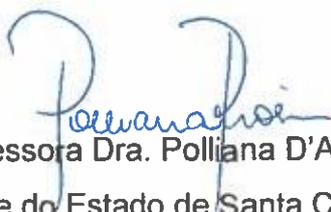
BANCA EXAMINADORA



Professor Dr. Leo Rufato

Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Lages/SC

Membros:



Professora Dra. Polliana D'Angelo Rios

Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Lages/SC



Dra. Poliana Francescatto

Valent BioSciences, Grants Pass/Oregon

Lages, 24 de fevereiro de 2023.

Ofereço a Deus, autor primeiro de toda história.

Dedico aos meus pais, Luiz e Neusa, pelos ensinamentos, amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo que tenho, pela vida, pela força, por sua presença constante e por todas as oportunidades concedidas. Vossa luz iluminou esta caminhada. Minha eterna gratidão, pois sei que sem Ele nada teria conseguido.

Agradeço a minha família, meu irmão Luiz Henrique e minha cunhada Taise e, em especial, aos meus pais Luiz e Neusa, por todo o auxílio, carinho, amor, apoio, compreensão, por todos os ensinamentos e por serem o meu maior exemplo. São para mim um motivo para sempre seguir em frente com alegria.

Um grande agradecimento ao meu orientador, professor Leo Rufato por aceitar minha orientação, por todas as oportunidades, pelos desafios, por sua paciência, ensinamentos e pelo conhecimento transmitido.

Agradeço a Universidade do Estado de Santa Catarina, pelo ensino gratuito e de qualidade. Além disso, agradeço ao professor Leandro Hahn, e ao meu orientador do período da graduação, José Luiz Petri, pelo incentivo de ambos para minha entrada na pós-graduação.

A professoras Polliana D'Angelo Rios e Helena Cristina Vieira do Departamento de Engenharia Florestal da Udesc (Cav) pelo auxílio e por disponibilizarem o laboratório de Microtécnica e, com isso, viabilizar a realização das análises histológicas. Ao professor Cristiano André Steffens por disponibilizar estrutura para a armazenagem dos frutos. Um agradecimento muito especial a professora Daiana Petry Rufato por auxiliar na fase das análises estatísticas dos dados, bem como por todo suporte e atenção.

Agradeço aos membros da banca, titulares e suplentes: professora Polliana D'Angelo Rios, Poliana Francescato, Bruno Dalazen Machado e Francine Regianini Nerbass por aceitarem o convite.

Gratidão também a todos os colaboradores do Centro de Ciências Agroveterinárias, pois é com o trabalho de cada um que a Universidade se faz. Aos professores da pós-graduação por todo o conhecimento transmitido e pela contribuição de cada um para a minha formação. Agradeço também a todos os professores que ao longo de minha vida, desde a infância, fizeram parte da minha formação. A todos os bolsistas e colegas do grupo da Fruticultura, pela contribuição de cada um na realização deste trabalho.

A empresa Rasip Agro Pastoral S/A por fornecer a área para a realização do experimento bem como pelo suporte para o andamento dos mesmos. Também agradeço aos colaboradores da empresa, que inúmeras vezes contribuíram direta ou indiretamente na condução do experimento.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa DS e ao Programa de Bolsas Universitárias do Estado de Santa Catarina (Uniedu) pela concessão de bolsa de estudos Fumdes.

A todos os colegas, companheiros e pessoas que, junto a mim, acreditaram e me incentivaram nesta caminhada, em especial aos colegas do grupo das Pomáceas, pelo companheirismo e ajuda.

A todos os mencionados e aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização do mestrado e desta dissertação:

Meu cordial Muito Obrigada!

Bendito aquele que confia no Senhor, o Senhor mesmo será sua segurança.

Ele será como árvore plantada à beira d'água, que deita raízes rumo ao rio, nem vê chegar o tempo do calor. Suas folhas estão sempre verdejantes, nem se preocupa com um ano de seca, e nunca deixa de produzir o seu fruto.

Jeremias 17: 7,8.

RESUMO

Na cultura da macieira o calibre do fruto é um atributo de interesse comercial, pois contribui para o incremento na produtividade e rentabilidade da atividade. No entanto, as condições climáticas da região Sul do país, onde a produção está concentrada, frequentemente apresentam baixo acúmulo de frio e irregularidades na temperatura, o que contribui para a que os frutos de cultivares do grupo Gala possuam menor tamanho. Reguladores de crescimento com ação análoga a citocinina e auxina são associados ao aumento do tamanho de frutos, pois influenciam a estrutura celular. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes protocolos de aplicação de reguladores de crescimento sobre a divisão e dimensão celular, e tamanho e qualidade de frutos de macieira 'Maxi Gala'. Para tal, o experimento foi implantado em Vacaria – RS, Brasil, com nove tratamentos no ciclo 2021/22 e doze tratamentos no ciclo 2022/23. Como reguladores de crescimento foram utilizados a 6-benziladenina (6-BA) como fonte de citocinina; o ácido naftaleno acético (ANA) como fonte de auxina; e o precursor de auxina, aminoácido triptofano. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro blocos. As aplicações foram realizadas em diferentes estádios fenológicos de acordo com cada protocolo, envolvendo as fases de gema dormente, plena floração, queda de pétalas, frutos com 8-10 mm e 25-27 mm. Posteriormente, aos 50 dias após a plena floração (DAFP) foram coletados frutos para quantificação do número de células, dimensão celular média (μm^2) e espaço intercelular (μm^2). Foram avaliadas as variáveis de produtividade (t. ha^{-1}), densidade de frutos na colheita, perda de firmeza após 30 dias de armazenamento refrigerado, percentual de frutos grandes e variáveis de qualidade físico-químicas. Verificou-se que 6-BA teve maior efeito na dimensão das células de que no número destas. Em ambos os ciclos, a resposta frente a fonte de auxina foi distinta, com maior número de células para o aminoácido triptofano e maior dimensão de células para ANA, quando esta foi aplicada até queda de pétalas. No que tange ao incremento em número e dimensão de células, estes foram alcançados ao se adicionar uma aplicação de ANA em frutos com 8-10 mm. No ciclo 2021/22, independentemente do uso isolado de 6-BA ou em conjunto com auxina, houve incremento na dimensão da célula em comparação a testemunha. Enquanto que no ciclo 2022/23 a resposta foi variável, com a testemunha possuindo valores semelhantes ou maiores que as plantas tratadas. Nos tratamentos 5, 8, 9 e 12 o

espaço intercelular foi reduzido, sendo constatado relação positiva entre a redução do espaço intercelular e a manutenção da firmeza. No ciclo 2021/22 o protocolo com 6-BA e ANA com aplicação até queda de pétalas foi o mais efetivo no aumento do tamanho de frutos. Assim, os fitorreguladores afetaram a estrutura celular, principalmente a dimensão das células, contribuindo com a redução do espaço intercelular. Aplicações combinadas de 6-BA e 6 ppm de ANA são as melhores para incrementar a área de superfície celular, sendo que a divisão celular pode ser potencializada com uma aplicação adicional de ANA em frutos com 8-10 mm.

Palavras-chave: *Malus domestica* (Borkh.); Divisão Celular; Calibre de fruto; Ácido Naftaleno Acético; 6-Benziladenina.

ABSTRACT

In the apple tree culture, the caliber of the fruit is an attribute of commercial interest, as it contributes to the increase in productivity and profitability of the activity. However, the climatic conditions of the southern region of the country, where production is concentrated, often present low accumulation of cold and irregularities in temperature, which contributes to the fact that the fruits of cultivars of the Gala group are smaller in size. Growth regulators with similar action to cytokinin and auxin are associated with increased fruit size, as they influence cell structure. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of different protocols of application of growth regulators on cell division and size, and size and quality of 'Maxi Gal' apple fruits. To this end, the experiment was implemented in Vacaria - RS, Brazil, with nine treatments in the 2021/22 cycle and twelve treatments in the 2022/23 cycle. As plant growth regulators, 6-benzyladenine (6-BA) was used as a source of cytokinin; naphthalene acetic acid (ANA) as a source of auxin; and the precursor to auxin, the amino acid tryptophan. The experimental design was randomized blocks with four blocks. The applications were carried out at different phenological stages according to each protocol, involving the phases of dormant bud, full bloom, petal fall, fruits with 8-10 mm and 25-27 mm. Subsequently, 50 days after full bloom (DAPF), fruits were collected to quantify the number of cells, average cell size (μm^2) and intercellular space (μm^2). The yield variables (t. ha^{-1}), fruit density at harvest, loss of firmness after 30 days of refrigerated storage, percentage of large fruits and physical-chemical quality variables were evaluated. It was found that 6-BA had a greater effect on cell size than cell number. In both cycles, the response to the auxin source was distinct, with a greater number of cells for the amino acid tryptophan and a larger cell size for ANA, when this was applied until petal fall. As regards the increase in number and size of cells, these were achieved by adding an application of NAA in fruits with 8-10 mm. In the 2021/22 cycle, regardless of the use of 6-BA alone or in conjunction with auxin, there was an increase in cell size compared to the control. While in the 2022/23 cycle the response was variable, with the control having similar or greater values than the treated plants. In treatments 5, 8, 9 and 12, the intercellular space was reduced, with a positive relationship between the reduction of the intercellular space and the maintenance of firmness. In the 2021/22 cycle, the protocol with 6-BA and ANA with application until petal fall was the most effective in increasing fruit size. Thus, the phytohormones affected the cellular

structure, mainly the size of the cells, contributing to the reduction of the intercellular space. Combined applications of 6-BA and 6 ppm NAA are best for increasing cell surface area, and cell division can be enhanced with an additional application of NAA on 8-10 mm fruits.

Keywords: *Malus domestica* (Borkh.); Cell Division; Fruit caliper; Naphthalene Acetic Acid; 6-Benzyladenine

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Padrão de crescimento de frutos de maçã, caracterizado como uma curva sigmóide simples	31
Figura 2 – Estádios fenológicos da macieira, segundo Fleckinger (1953), com modificações.....	40
Figura 3 – Detalhe da estrutura produtiva (esporão) e do fruto coletado para microscopia, Vacaria – RS, 2022.....	45
Figura 4 – Detalhe do corte transversal do fruto (4a) indicando a limite externo do carpelo (a), a região da epiderme (b) e a porção do córtex (c).....	46
Figura 5 – Detalhe dos frutos mensurados (a), da avaliação de altura (b) e diâmetro (c)	49
Figura 6 – Análise de componentes principais para o comportamento celular de frutos de maçã tratados com fitorreguladores para aumento de tamanho de frutos.....	54
Figura 7 – Imagens de microscopia óptica do córtex de frutos de maçã ‘Maxi Gala’ aos 50 DAPF, ciclo 2021/22. (A barra corresponde a 200 µm)	55
Figura 8 – Comparativo entre os tratamentos com maior (a-b) e menor espaço intercelular (e-h) aos 50 DAPF, ciclo 2021/22. As setas apontam para espaços entre as células. A barra indica 50 µm	56
Figura 9 – Análise de componentes principais para o desempenho produtivo de macieiras ‘Maxi Gala’ tratadas com protocolos para incremento de tamanho de fruto, ciclo 2021/22.....	57
Figura 10 – Análise de componentes principais para o comportamento de perda de firmeza de polpa em relação ao espaço intercelular, ciclo 2021/22.....	59
Figura 11 – Comportamento celular de frutos tratados com fitorreguladores para aumento de tamanho de frutos, ciclo 2022/23, Vacaria - RS.....	61
Figura 12 – Imagens de microscopia óptica do córtex de frutos de maçã ‘Maxi Gala’ aos 50 DAPF, ciclo 2022/23. As setas em vermelho comparam menores espaços intercelulares em T1 (a) e espaços intercelulares maiores em T10 (b). (A barra corresponde a 200 µm)	63
Figura 13 – Regressão linear para o comportamento de crescimento de frutos de macieiras ‘Maxi Gala’ ao longo da estação de crescimento, com o eixo x	

representado pelo número de dias após a plena floração (DAPF) e o eixo
y pelo diâmetro médio de frutos (mm)65

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – <i>Ranking</i> dos principais produtores mundiais de maçã após a China.....	26
Gráfico 2 – Percentual de distribuição dos frutos entre grandes (158g a 279g), médios (127g a157g) e pequenos (50g a 126g)	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Protocolos com fitorreguladores para incremento no tamanho de frutos de macieiras ‘Maxi Gala’. Vacaria, 2023.....	41
Tabela 2 – Dados climatológicos mensais registrados no Município de Vacaria – RS no ano de 2021	42
Tabela 3 – Dados climatológicos mensais registrados no Município de Vacaria – RS no ano de 2022.....	43
Tabela 4 – Dados climatológicos registrados entre os meses de janeiro e fevereiro de 2023 no Município de Vacaria – RS	43
Tabela 5 – Condições climatológicas observadas nas datas de aplicação dos fitorreguladores nos ciclos 2021/22 e 2022/23	44
Tabela 6 – Percentual de retorno de florada no ciclo subsequente à aplicação de fitorreguladores para aumento do tamanho de frutos, Vacaria – RS.	60
Tabela 7 – Relação diâmetro/altura médios para frutos mensurados aos 36 DAPF, 78 DAPF e 105 DAPF.....	64
Tabela 8 – Diâmetro médio de frutos de ‘Maxi Gala’ aos 105 DAPF. Vacaria – RS, 2023.....	64
Tabela 9 – Número médio de frutos em pré-colheita em plantas de macieira ‘Maxi Gala’ sob diferentes protocolos para aumento do tamanho de frutos. Vacaria- RS, 2023	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANA	Ácido naftaleno acético
ANOVA	Análise da variância
A+10	Aplicação 10 dias após a quebra de dormência
CDKs	<i>Ciclin-dependent kinases</i>
CPPU	Clorfenuron
CP1	Primeira componente principal
CP2	Segunda componente principal
DAPF	Dias após a Plena Floração
DAA	Dias após armazenagem
FAA	Formol Ácido Acético Glacial e Álcool
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
F2	Plena Floração
há	Hectare
H	Queda de pétalas
HF	Horas de frio
IAA	Ácido indol-3-acético
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kg ha ⁻¹	Quilogramas por hectare
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mmHg	Milímetros de mercúrio (unidade para pressão)
N°	Número
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
Prec.	Precipitação
TDZ	Thidiazuron
Tmin	Temperatura mínima
Tmed	Temperatura média
Tmax	Temperatura máxima
Vv	Velocidade do vento
6-BA	6-Benziladenina

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

%	Porcentagem
°Brix	Graus Brix
°C	Graus Celsius
cm ³	Centímetro cúbico
G	Gramas
Kg	Quilogramas
Lb	Libras
mm	Milímetros
ml	Mililitro
m/s	Metros por segundo
N	Newtons
Ppm	Partes por milhão
t.	Toneladas
µm	Micrômetro
µm ²	Micrômetros quadrados

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	24
1.1	OBJETIVOS	25
1.1.1	Objetivo geral.....	25
1.1.2	Objetivos específicos.....	25
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1	A CULTURA DA MACIEIRA.....	26
2.2	DESENVOLVIMENTO DE FRUTOS	28
2.3	HORMÔNIOS VEGETAIS	33
2.4	DIVISÃO CELULAR	34
2.5	REGULADORES DE CRESCIMENTO VEGETAL	35
2.5.1	6-Benziladenina	37
2.5.2	Ácido naftaleno acético e Triptofano.....	38
3	METODOLOGIA GERAL	39
3.1	ÁREA EXPERIMENTAL	39
3.2	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	40
3.3	DADOS CLIMATOLÓGICOS.....	42
3.3.1	Condições ambientais nas datas de aplicação.....	43
3.4	ANÁLISES HISTOLÓGICAS	45
3.5	CRESCIMENTO DE FRUTOS	49
3.6	PARÂMETROS PRODUTIVOS E DE QUALIDADE DE FRUTOS	50
3.7	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	52
3.8	ANÁLISE DOS DADOS.....	52
4	RESULTADOS.....	53
4.1	CICLO 2021/22.....	53
4.2	CICLO 2022/23.....	61
5	DISCUSSÃO	67
5.1	ANÁLISE CELULAR E DESEMPENHO PRODUTIVO	67
5.2	QUALIDADE DE FRUTOS DO CICLO 2021/22.....	69
	CONCLUSÕES	72
	REFERÊNCIAS.....	73
	APÊNDICES	80

1 INTRODUÇÃO

Na pomicultura é essencial conciliar altas produções com qualidade de frutos. O calibre está entre os parâmetros com maior influência nestes aspectos, participando tanto da experiência do consumidor, como na melhoria do rendimento econômico aos produtores (BU et al., 2020).

A produção de frutos de maior tamanho é dependente de inúmeros aspectos, como as condições edafoclimáticas do local de cultivo e o manejo cultural adotado. Ademais, um fator relevante diz respeito às características genéticas da planta, que pode apresentar padrão de frutos de menor tamanho, como é o caso das cultivares do grupo Gala. Estas correspondem por cerca de 60% do volume de maçãs produzidas no Brasil e possuem, intrinsecamente, um padrão de frutos pequenos e médios (DENARDI et al., 2013; KRETZSCHMAR; RUFATO, 2020).

No que tange a fisiologia do desenvolvimento do fruto, a formação de novas células está entre os processos chave para o crescimento dos mesmos. Neste sentido, a divisão celular, processo limitado as primeiras semanas após a plena floração, está entre os dois principais eventos que determinam a capacidade de crescimento dos frutos ao longo do ciclo produtivo. O segundo fator determinante para o tamanho do fruto é a expansão celular, principal responsável pelo crescimento após o período da divisão (MUSACCHI; SERRA, 2018; DIN et al., 2019; KARIM et al., 2022).

O emprego de fitorreguladores pode compor uma ferramenta adicional no manejo do crescimento dos frutos, especialmente aqueles compostos ou com ação de citocinina, hormônio com atividade já conhecida na divisão das células. No entanto, vários autores salientam o papel de um segundo fitormônio, a auxina, na divisão celular (KUDO; KIBA; SAKAKIBARA, 2010; DASH; MALLADI, 2012; SCHALLER; BISHOP; KIEBER, 2015; BU et al., 2020).

Tecidos como os de frutos em crescimento e sementes estão entre os que apresentam maior presença de auxina (BHATLA, 2018). Neste sentido, sugere-se que citocininas são substâncias que induzem a citocinese na presença de auxina. Atualmente estudos sugerem a atuação conjunta das mesmas em muitos processos do desenvolvimento vegetal (DEVOGHALAERE et al., 2012; SCHALLER; BISHOP; KIEBER, 2015). Além disso, a citocinina, em conjunto com a auxina, regulam a

expressão de diversas proteínas envolvidas nos diferentes estádios do ciclo celular (HARTIG; BECK, 2006; DEVOGHALAERE et al., 2012).

Todavia, alguns aspectos não são totalmente elucidados, como é o caso dos estádios fenológicos para aplicação dos fitorreguladores, os efeitos do uso isolado de citocinina ou em conjunto com a auxina, bem como o impacto de protocolos com estas substâncias em parâmetros de qualidade.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes protocolos de aplicação de reguladores de crescimento sobre a divisão e dimensão celular, e tamanho e qualidade de frutos de macieira 'Maxi Gala'.

1.1.2 Objetivos específicos

- Aumentar o tamanho dos frutos sem comprometer a qualidade dos mesmos no que diz respeito aos atributos físico-químicos, como firmeza de polpa, sólidos solúveis, coloração da epiderme bem como a relação entre diâmetro e altura.
- Avaliar o efeito de duas doses de auxina sobre a estrutura celular e crescimento dos frutos;
- Analisar o comportamento celular e o calibre dos frutos mediante aplicações com frutos aos 8-10 mm e 25-27 mm de diâmetro;
- Identificar o (s) protocolo (s) de aplicação de 6-BA que melhor estabeleçam a relação entre os atributos analisados em função da dose e estágio de aplicação;
- Espera-se que as aplicações de 6-Benziladenina possam elevar a divisão celular na fase inicial de crescimento dos frutos e permitir a colheita de frutos de maior calibre.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

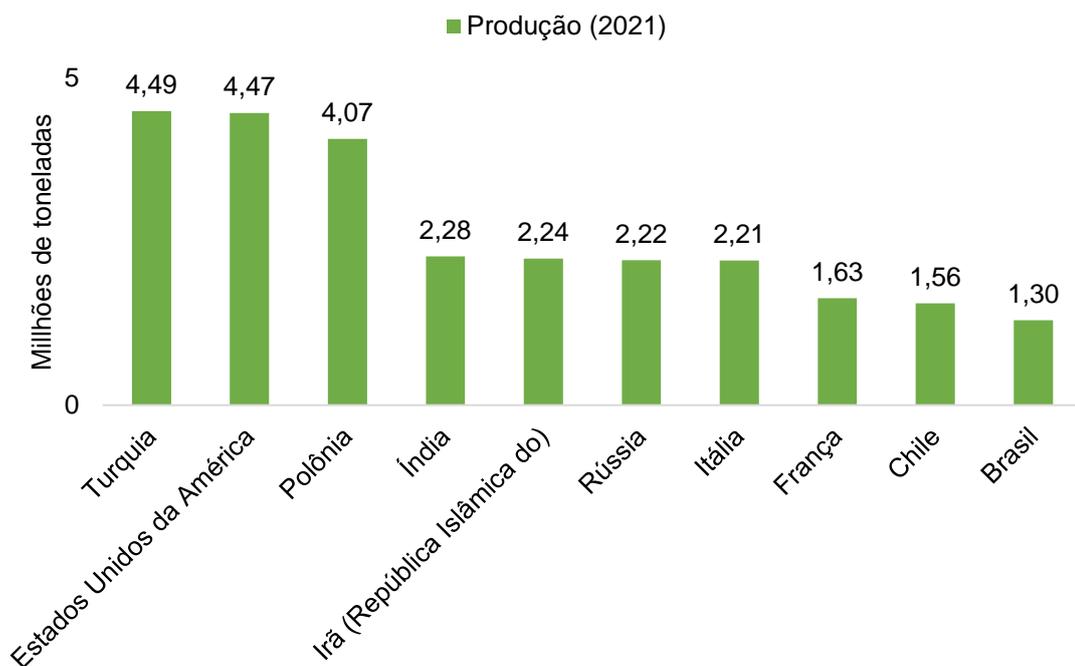
2.1 A CULTURA DA MACIEIRA

A macieira (*Malus domestica* Borkh.) é uma planta frutífera pertencente à família Rosaceae com importância econômica em diversos países, sendo cultivada em diferentes condições edafoclimáticas (ARGENTA et al., 2022). O consumo da fruta tem sido associado a inúmeros benefícios à saúde, dado ao seu alto valor nutricional e diversidade de componentes bioativos (MARCOTTE et al., 2022).

Além disso, a maçã foi considerada a terceira fruta com maior produção mundial, representando cerca de 10% do volume de frutas produzidas no mundo. A produção mundial em 2021 alcançou aproximadamente 82,6 milhões de toneladas (FAO, 2021). A nível mundial, em 2020, o valor bruto de produção foi estimado em US\$ 76.986.270 milhões (FAOSTAT, 2022).

No que diz respeito aos principais produtores, a China desponta na primeira colocação com cerca de 45,9 milhões de toneladas, seguida da Turquia e dos Estados Unidos. O Brasil, por sua vez, ocupa a décima primeira colocação (Gráfico 1), com cerca de 1,30 milhão de toneladas (FAOSTAT, 2021).

Gráfico 1 – *Ranking* dos principais produtores mundiais de maçã após a China



Fonte: Adaptado de FAO (2021).

A nível nacional, na safra 2021/2022 (HORTIFRUTI/CEPEA, 2022), foram produzidas aproximadamente 927 mil de toneladas de frutos. Na safra 2019/2020 a área cultivada no Brasil foi de cerca de 32,433 hectares, sendo 15.188 hectares somente no Estado de Santa Catarina. O estado foi o segundo maior produtor com 585.790,00 toneladas, sendo superado apenas pelo Rio Grande do Sul, que deteve maior volume de produção (IBGE, 2021).

Em nível de estado, os Municípios de São Joaquim e Fraiburgo possuem maior representatividade em termos de produção e área plantada. Segundo dados do Hortifruti/Cepea (2020), a área plantada em 2020 em São Joaquim e Fraiburgo foi de 12.000 e 3.525 hectares, respectivamente.

No Brasil, a produção da fruta está centrada em duas cultivares, Gala e Fuji, e em suas mutações. As do grupo Gala representam cerca de 60%, as do grupo Fuji 35% e os demais 5% são oriundos de outras cultivares (TODA FRUTA, 2022). As cultivares do grupo Gala mais plantados compreendem a 'Galaxy', 'Maxi Gala', 'Brookfield®', 'Royal Gala' e 'Imperial Gala'. Para a Fuji predomina o cultivo de 'Fuji Suprema', 'Fuji Mishima', 'Fuji Brak' e 'Fuji Standard' (KVISTSCHAL; DENARDI, HAWERROTH, 2015).

A 'Maxi Gala' se originou de uma mutação espontânea da cultivar Imperial Gala cuja ocorrência foi registrada no município de Vacaria, Rio Grande do Sul, em 1998 (DENARDI et al., 2013). A cultivar Maxi Gala apresenta vigor médio e floração abundante. Quanto ao fruto, possui características de tamanho médio, formato oblongo-cônico e alta uniformidade. A epiderme é de cor vermelha intensa com estrias pronunciadas sobre fundo amarelo e cor de polpa que varia entre o tom branco e creme. A cultivar apresenta excelente qualidade, maturação mais precoce e uniforme, permitindo a colheita em um menor número de passadas (FIORAVANÇO et al., 2010).

Frutos com alto padrão de qualidade são requeridos para atender as demandas do mercado de consumo *in natura* de maçã, seja nacional ou internacional. De modo geral, inicialmente o consumidor avalia os frutos pela sua aparência, considerando atributos associados a cor, tamanho e a presença de defeitos e, após a compra, por características como textura, acidez, doçura, aroma e sabor (MUSACCHI; SERRA, 2018).

Vários critérios determinam o sucesso na fase de comercialização de frutos, como cultivares que atendam a demanda em termos de qualidade organoléptica, de volume produzido, seguridade bem como tamanho de fruto (MILOŠEVIĆ;

MILOŠEVIĆ; MLADENOVIĆ, 2022). Este último possui grande relação com as características inerentes a cada mercado consumidor, visto que a exigência de maiores ou menores calibres varia entre países e até mesmo entre regiões (LÖTZE; BERGH, 2004; BRDE, 2005). Em 2020, os principais destinos da maçã brasileira foram Rússia, Bangladesh e Índia (TODA FRUTA, 2022).

No Brasil, a classificação da maçã é regida pela Instrução Normativa N° 5, de 9 de fevereiro de 2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2006), que define a separação dos frutos por calibre e categorias. O calibre diz respeito ao tamanho dos frutos e as categorias estabelecem a tolerância de cor vermelha e de defeitos permitidos fixando quatro categorias, sendo a Extra e as Categorias 1, 2 e 3.

Deste modo, o sistema de classificação da fruta no Brasil torna os atributos de tamanho do fruto e sua aparência como os de maior importância. Assim, frutos com alto cobrimento da epiderme pela cor vermelha, baixa presença de defeitos e adequado calibre são extremamente relevantes para a formação do preço pago ao produtor, impactando substancialmente o rendimento econômico da atividade (MAPA, 2006).

2.2 DESENVOLVIMENTO DE FRUTOS

A cultivar Gala e seus clones formam as chamadas maçãs do grupo Gala e apresentam naturalmente menor calibre de fruto. Nas condições da pomicultura brasileira, onde as cultivares do grupo Gala respondem por mais de 50% da produção, se observa que as mesmas possuem menor potencial de calibre quando comparada a outras cultivares, como as do grupo Fuji (FAORO, 2021).

Dentre as características citadas por Sozo (2019) para uma nova estirpe de 'Gala' a ser indicada para plantio no Brasil está a aparência atrativa em tamanho, com produção de frutos que se enquadrem nas categorias entre 95 e 135. Sendo assim, diante do cenário atual, se torna de interesse comercial o desenvolvimento de estratégias para produzir frutos de 'Gala' de maior tamanho. A produção de frutos de alta qualidade e maior calibre é dependente de uma série de fatores, como o potencial genético da cultivar, das condições edafoclimáticas e das práticas culturais empregadas, destacando-se a época e intensidade de raleio (ZADRAVEC et al., 2014).

O crescimento e desenvolvimento do fruto representam a continuidade dos processos iniciados no ciclo anterior, como a indução e diferenciação floral. Em vista disso, o tamanho final do fruto é uma característica influenciada por diversos fatores, os quais de forma isolada e/ou por interação determinam seu potencial de crescimento, afetando, por conseguinte, seu desenvolvimento (MALLADI, 2020; JIN; MALLADI, 2022).

Neste sentido, o fator tamanho se torna altamente complexo, pois intrinsecamente, a produção de células e o crescimento dos frutos são controlados por inúmeros componentes reguladores. Ademais, são inúmeras as condições extrínsecas a planta que afetam o crescimento. Entre estas se pode destacar os fatores ambientais e culturais como radiação solar, temperatura, precipitação, nutrição mineral, poda, carga frutal e época de raleio (CHO; YOON; NA, 2017).

A temperatura está entre os fatores ambientais mais relevantes, pois impacta processos fisiológicos e bioquímicos de forma direta (FLAISHMAN et al., 2015). Já se constatou que o crescimento de frutos de maçã pode ser reduzido em condições de baixa temperatura, especialmente até os 40 DAPF (STANLEY et al., 2000). Outros autores também inferem ser o estágio inicial de desenvolvimento do fruto o mais sensível a baixas temperaturas (BERGH, 1990; WARRINGTON, 1999). Assim, os fatores ambientais afetam outras questões relevantes como a qualidade das gemas floríferas, o acúmulo de frio hibernar, a taxa fotossintética, crescimento vegetativo, desenvolvimento reprodutivo e disponibilidade hídrica do solo (CHO; YOON; AN, 2017; ALI et al., 2021).

As características genéticas, possuem forte influência na regulação do tamanho do fruto, sendo o calibre uma característica própria de cada cultivar. Neste sentido, mesmo que cultivadas nas mesmas condições, cultivares que se distinguem entre frutos pequenos e grandes tendem a manter esta característica (HIRST et al., 2017; KARIM et al., 2022).

Ao compararem as cultivares Royal Gala (frutos pequenos) e Golden Delicious smoothie (frutos grandes), Read et al. (2020) observaram que a expressão de genes (MdANT1 e MdANT2) que influenciam a divisão celular na fase inicial do desenvolvimento do fruto (7-15 dias após a antese) foi distinta entre as cultivares. Na 'Golden Delicious' smoothie a expressão dos genes foi mais elevada e por maior período quando comparada a cultivar de frutos pequenos. Além disso, foi verificado que, embora mais lento, houve maior constância no aumento do número de células

da cultivar de frutos grandes, enquanto em 'Royal Gala' esse incremento foi mais rápido.

O raleio de frutos, por sua vez, favorece o incremento do calibre, sobretudo pelo aumento na relação folha/fruto. Por conseguinte, se eleva a disponibilidade de carboidratos, processo que está associado positivamente com a divisão celular (Read et al., 2020) visto que o período de divisão celular está entre as fases mais sensíveis a restrição de carboidratos (JING; MALLADI, 2022).

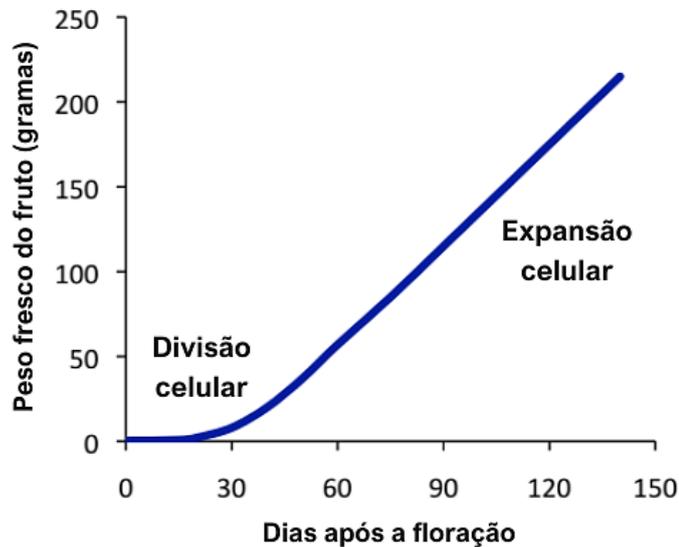
Dash e Malladi (2012) observaram que a expressão de genes ligados a produção celular em maçãs aumentou cerca de cinco vezes em resposta ao maior aporte de carboidratos. Da mesma forma, Read et al. (2020) constataram que a expressão do gene MdANT se relacionou positivamente com a elevação na disponibilidade de carboidratos, resultando em incremento de 16% no diâmetro do fruto. Além disso, manejo nutricional do pomar, porta-enxerto, idade da planta, tipo de ramo produtivo, número de sementes formados e posição da flor na inflorescência também exercem efeitos neste atributo (ZADRAVEC et al., 2014).

A macieira, juntamente com a cultura da pereira, integra o grupo das chamadas Pomáceas, as quais apresentam frutos do tipo pomo. Este grupo se caracteriza pela produção de pseudofrutos, onde o tecido carnoso comestível é oriundo do desenvolvimento do receptáculo floral. Essa condição difere de outros frutos da família Rosaceae, como as drupas, onde o fruto é formado pelo crescimento dos tecidos do ovário (FARINATI et al., 2017).

Frutos do tipo pomo apresentam curva de crescimento denominada sigmóide simples (Figura 1), a qual pode ser dividida em três fases. Inicialmente há um aumento exponencial no número de células devido à alta taxa de divisão celular, seguida da fase onde a divisão praticamente cessa e a expansão e alongação das células formadas sustentam o crescimento do fruto. A terceira e última fase compreende os processos associados a maturação (LAKSO; GOFFINET, 2013).

Desta forma, se pode considerar que o crescimento dos frutos de maçã é alcançado através da combinação dos processos de divisão celular, expansão celular assim como aumento do espaço entre as células. Embora o mecanismo pelo qual o fruto aumente suas dimensões possa variar ao longo do desenvolvimento do fruto, o crescimento ocorre por todo o ciclo, sofrendo apenas uma redução quando a maturidade é atingida (McATEE et al., 2009).

Figura 1 – Padrão de crescimento de frutos de maçã, caracterizado como uma curva sigmóide simples



Fonte: Adaptado de Lakso e Goffinet (2013).

Com a superação da dormência e início da brotação, os tecidos do ovário e do tubo floral apresentam um rápido crescimento, processo resultante da elevada taxa de divisão celular. Posteriormente, ocorre a interrupção temporária na produção de novas células, possivelmente em decorrência da restrição de energia proveniente das reservas e/ou ainda, do meio regulatório próprio da planta. Esta aguarda os estímulos provenientes da polinização e da fertilização para dar início ao desenvolvimento do fruto (MALLADI; JOHNSON, 2011; GALIMBA et al., 2019).

Jin e Malladi (2022) apresentam o comportamento de cada processo ao longo do ciclo de crescimento do fruto. Inicialmente, após a superação da dormência e a brotação, é observado a intensa formação de novas células até cerca de 7 dias antes da floração. No período de plena floração esse crescimento e produção de células é interrompido. Malladi e Johnson (2011) sugerem que os recursos limitados nesse período podem explicar esta interrupção, visto que um grande percentual das reservas já foi consumido com a brotação.

A partir da fertilização da flor, a divisão celular exponencial é a principal responsável pelo crescimento do fruto. Após cerca de quatro semanas, esse crescimento é sustentado pela expansão celular de forma linear, onde ocorre acréscimo na dimensão das células já formadas na divisão (LAKSO; GOFFINET, 2013; KARIN et al., 2022). Na região do córtex, o número de células aumenta de 8 a

10 vezes entre 21 a 28 DAPF, ao passo que o volume celular é maximizado em 20 vezes (JIN e MALLADI, 2022).

A alta taxa de divisão celular beneficia o tamanho final do fruto, haja vista que a formação de frutos de maior calibre possui grande relação com a quantidade e dimensão de células do mesmo (MUSACCHI; SERRA, 2018). Karin et al., (2022) apontam que com a expansão celular novas paredes celulares são sintetizadas, o que acarreta o aumento da dimensão celular e, por conseguinte, incremento no volume e no crescimento da planta ou de seus órgãos.

Cada uma das fases do desenvolvimento do fruto sofre regulação de hormônios vegetais que atuam em vias de sinalização, estabelecendo a sincronização entre os tecidos que formam o fruto. Sendo assim, o processo envolve mudanças complexas a nível molecular, bioquímico e estrutural (McATEE et al., 2013).

No entanto, é sabido que a atuação dos hormônios vegetais ocorre em muitos processos que antecedem o crescimento do fruto propriamente dito, a citar o processo de fertilização do óvulo após a polinização (McATEE et al., 2013). A retomada do crescimento após a fertilização estaria justamente associada aos hormônios produzidos na semente (DEVOGHALAERE et al., 2012).

Conforme destacado por Mariotti et al. (2011) a frutificação e o desenvolvimento do fruto decorrem da ativação e interação entre vários hormônios vegetais, destacando-se o balanço hormonal estabelecido entre auxina, giberelina e citocinina formado especialmente no ovário e nos tecidos circundantes. Desta forma, a semente formaria uma rede de comunicação com o tecido da fruta em crescimento, sinalizando e controlando processos de divisão e expansão celular. Posteriormente, nos processos de maturação e senescência este balanço se estabelece juntamente com outros hormônios vegetais (OZGA; VAN HUIZEN; REINECKE, 2002).

A rede de sinalização formada entre sementes e tecido circundante também deve ser transmitida para os demais órgãos da planta com vistas a sustentar a demanda por fotoassimilados e nutrientes requeridos pelos frutos. Dessa forma, se reforça a dependência das condições do ambiente e das práticas culturais realizadas para o adequado desenvolvimento do fruto (McATEE et al., 2013).

Neste sentido, o desenvolvimento das sementes é fundamental para o crescimento dos frutos, pois estas possibilitam a síntese adequada de hormônios bem como regulam o fluxo de carboidratos e nutrientes para os frutos. Dada a importância das sementes, seu número e distribuição nos carpelos afeta grandemente o tamanho

e a forma dos frutos. Assim, se observa a formação de frutos deformados ou assimétricos frente condições de polinização deficiente, onde geralmente nem todos os carpelos apresentam sementes (ECCHER et al., 2014).

2.3 HORMÔNIOS VEGETAIS

Os hormônios vegetais atuam amplamente nos mais diversos processos fisiológicos de uma planta, como na germinação, alongamento do caule, floração, frutificação, senescência, abscisão foliar e dormência. Hormônios vegetais são conceituados como moléculas que em baixas concentrações são capazes de atuar como mensageiros entre as células, gerando respostas não somente no local em que são sintetizados, mas em todo o vegetal. Em relação ao controle na produção de tais substâncias, destaca-se as condições ambientais, em especial temperatura e fotoperíodo, bem como as práticas culturais realizadas (PETRI et al, 2016; MARINI; SHERIF; SMITH, 2020).

A ação dos hormônios envolve a transdução de sinal, onde ocorre a conversão de sinais intra e extracelulares em células-alvo, gerando respostas. Esta sinalização pode ser classificada de acordo com as distâncias de transdução, sendo: (a) sinalização de longa distância quando as células-sinal e as células-alvo se encontram distantes; (b) sinalização parácrina onde as células-sinal e as células-alvo são células próximas; e (c) sinalização autócrina em que as células-sinal e as células-alvo são as mesmas células (WANG; IRVING, 2011). De modo geral, a ligação de uma molécula sinalizadora com seu receptor induz a produção de um segundo mensageiro ou mediador de sinalização intracelular, o qual desencadeia as respostas celulares. Estes são principalmente diversas classes de proteínas, como enzimas quinases, fosfatases, entre outras (WANG; IRVING, 2011).

Atualmente já foram identificadas várias moléculas com ação hormonal, como a auxina, giberelina, citocinina, ácido abscísico, etileno, brassinosteróides, ácido jasmônico, ácido salicílico e estrigolactonas. Em relação ao desenvolvimento de frutos, citocininas, auxinas e giberelinas possuem maior atuação nos processos de divisão, expansão e alongação celular (JIANG; TADAO, 2018).

A citocinina é um fitormônio envolvido em uma série de processos do crescimento e desenvolvimento vegetal, como a senescência foliar, a dominância

apical, a formação e atividade de meristemas apicais, o desenvolvimento de gametas assim como na divisão celular (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Embora a citocinina seja o fitormônio mais conhecido na regulação da divisão celular, o papel da auxina neste processo também vem sendo estudado (KUDO; KIBA; SAKAKIBARA, 2010; DASH; MALLADI, 2012; SCHALLER; BISHOP; KIEBER, 2015; BU et al., 2020). A contribuição da auxina no crescimento de frutos foi investigada por Bu et al. (2020) ao analisarem a expressão gênica de maçãs 'Longfeng' e sua mutação denominada 'Grand Longfeng', a qual possuía tamanho superior. Foi identificado maior expressão de genes associados a via de sinalização de auxina na maçã mutante, bem como maiores níveis endógenos de auxina. Além disso, foi observado que a dimensão das células da mutante era superior a 'Longfeng'.

A concentração de auxina nas plantas é dependente de condições como o tipo de tecido e sua idade. Contudo, tecidos como os de frutos em crescimento e sementes estão entre os que apresentam maior presença do hormônio (BHATLA, 2018). Neste sentido, se sugere que citocininas são substâncias que induzem a citocinese na presença de auxina. Atualmente estudos sugerem a atuação conjunta das mesmas em muitos processos do desenvolvimento vegetal (DEVOGHALAERE et al., 2012; SCHALLER; BISHOP; KIEBER, 2015).

2.4 DIVISÃO CELULAR

Quatro fases compõe o ciclo celular em células vegetais, sendo elas G1, S, G2 e M. O progresso de cada fase é regulado sobretudo pelas proteínas ciclinas e quinases dependentes de ciclina (CDKs). Neste meio regulatório as duas proteínas teriam ação conjunta, pois a transição de cada fase depende de complexos formados entre diferentes ciclinas e CDKs, os quais atuam em fases específicas do ciclo celular (TAIZ; ZEIGER, 2004). Sugere-se que o papel da auxina e da citocinina estaria relacionado ao controle das proteínas reguladoras ciclinas e CDKs. Propõe-se que a auxina atue sobretudo na regulação da expressão de genes que codificam para as estas proteínas (KALRA; BHATLA, 2018).

No entanto, após sua síntese, as CDKs são enzimaticamente inativas devido a presença de um grupo fosfato inibitório em sua estrutura. A ação da citocinina estaria envolvida no aumento da atividade da enzima fosfatase, a qual atua na desfosforilação das CDKs, permitindo sua ligação com as ciclinas. Com isso seria formado um

complexo com atividade enzimática entre as proteínas, as quais atuam na fosforilação de uma série de outras proteínas envolvidas no ciclo celular (KALRA; BHATLA, 2018).

No processo de divisão celular das plantas uma proteína quinase, a CDKA, é expressa com maior intensidade, sendo mencionada como a principal proteína no controle e condução das células ao longo de cada fase. Sugere-se que a citocinina em conjunto com a auxina regulem a expressão desta proteína bem como a indução de promotores da divisão e degradação de inibidores, participando da expressão de várias ciclinas associadas aos diferentes estádios do ciclo celular (HARTIG; BECK, 2006). Hartig e Beck (2006) salientam já ter sido demonstrado a ação da auxina na ativação de complexos promotores do ciclo celular. Neste caso, a elevação na taxa de degradação de proteínas inibitórias promoveria o ciclo celular.

Após a divisão das células ocorre os processos de expansão e alongamento celular. Para tanto, são necessários o afrouxamento da parede celular e o aumento na pressão de turgor da célula para que a mesma aumente sua dimensão, sendo atribuído sobretudo a ação da giberelina e da auxina nestes eventos (CSUKASI et al., 2011).

2.5 REGULADORES DE CRESCIMENTO VEGETAL

Visando otimizar a produção e aumentar a qualidade dos frutos, na fruticultura são empregadas substâncias sintéticas com ação hormonal, capazes de desencadear respostas de interesse de acordo com seu posicionamento, promovendo, inibindo ou modificando processos fisiológicos, sendo denominadas de reguladores de crescimento (PETRI et al., 2016). Shamsi et al. (2018) se referem a estes compostos como substâncias que podem ser usadas para regular o crescimento de uma planta inteira ou de uma parte específica, independentemente da fonte de produção.

Os reguladores de crescimento, também denominados de fitoreguladores, interferem em uma gama de processos do desenvolvimento vegetal, desde aspectos relacionados a germinação, crescimento vegetativo, floração e frutificação, amadurecimento e abscisão de órgãos vegetais. Igualmente, a atuação dos mesmos também acarreta impactos no comportamento da divisão e expansão celular (RADEMACHER et al., 2015). Com os avanços no conhecimento da ação dos hormônios na fisiologia dos vegetais e de tecnologias para o desenvolvimento de

novos fitorreguladores, se pode regular diferentes processos das plantas (BONS; KAUR, 2020).

Os reguladores de crescimento de plantas são amplamente empregados na produção de maçãs em várias práticas ao longo do ciclo produtivo. Para o incremento da qualidade dos frutos se destaca as substâncias capazes de melhorar a forma e sobretudo o tamanho dos mesmos (PETRI et al., 2016).

A adoção de substâncias promotoras da divisão celular na fase inicial do desenvolvimento dos frutos pode aumentar a densidade celular, assim como alterar a dimensão das células. Letham (1969) observou redução na dimensão celular com o aumento de células, o que possivelmente decorra do aumento da competição por nutrientes e fatores de crescimento, acarretando um suprimento limitado destes recursos para processos de alongação e expansão celular (LETHAM, 1969).

Estas características anatômicas podem afetar a qualidade e capacidade de armazenamento dos frutos (LETHAM, 1969). De modo geral, se admite que frutos com menor espaço intercelular, geralmente resultantes da alta densidade celular e de células de menor tamanho, possuem maior capacidade de manter a qualidade durante o armazenamento. Por outro lado, se combinadas as condições de células de maior dimensão e com maior espaço intercelular, os frutos se tornam mais propensos a perdas de firmeza de forma mais intensa (WISMER; PROCTOR; ELFVING, 1995).

A dimensão das células é um componente estrutural relevante no que concerne a propriedades como tamanho e textura de frutos. A textura é uma característica complexa, resultante da interação de inúmeros fatores associados a anatomia celular, sendo que células de maior dimensão têm sido associadas a frutos de maior suculência (McATEE et al., 2009).

Há uma variação natural na dimensão das células que compõe o fruto. A epiderme é composta por poucas camadas de células de formato retangular ou triangular de pequenas dimensões. A subepiderme possui células compactas com dimensões variando de pequenas à médias e configura a porção de transição entre a epiderme e o córtex. As células do córtex, por sua vez, pertencem sobretudo ao tecido do tipo parênquima e possuem maior variação em suas dimensões, sendo principalmente de tamanho médio a grande. O tecido vascular percorre o córtex e possui células pequenas e de parede celular espessa, sendo envolto por uma zona de células de transição com o córtex (ALLAN-WOJTAS et al., 2003).

2.5.1 6-Benziladenina

Entre a diversidade de fitorreguladores existentes há aqueles compostos por citocininas sintéticas ou por substâncias que desencadeiam respostas análogas ao fitormônio, como a Benziladenina (6-BA), Clorfenuron (CPPU) e o Thidiazuron (TDZ) (PETRI et al., 2016).

As citocininas sintéticas podem ser separadas em dois grupos, sendo aquelas pertencentes às Fenilureias (*Phenylureas*) e as pertencentes às N6-adeninas substituídas (N6-substituted adenines). A 6-Benziladenina se enquadra no segundo grupo e é citada como um composto sintético com alta atividade de citocinina (BUBÁN, 2000).

A 6-Benziladenina tem apresentado benefícios para a cultura da macieira, como auxiliar a formação do dossel das plantas e promover o raleio químico de frutos, melhorando o calibre dos mesmos e beneficiando o retorno de floração do ciclo seguinte. Para a promoção de raleio, seu produto comercial (MaxCel®) costuma ser usado em pós-floração, com aplicações sobretudo em frutos de 5 a 10mm e em doses que variam de 2 a 4 L ha⁻¹ em função de fatores como cultivar e carga frutal (PETRI et al., 2016). Petri et al. (2016) destacam que a Benziladenina possui efeito sobre a indução da divisão celular e que sua aplicação é associada ao aumento no tamanho de frutos. Além disso, a substância possui baixo risco ao meio ambiente, característica cada vez mais requerida para uma agricultura mais sustentável (BUBÁN, 2000).

Vários autores sugerem um aumento adicional no tamanho de frutos de maçã mediante a aplicação da citocinina sintética, independente do efeito raleante do regulador (WISMER; PROCTOR; ELFVING, 1995; STERN et al., 2003; STERN et al., 2007; PETRI et al., 2016; PETRI et al., 2017), sendo observado efeito semelhante em peras (STERN; FLAISHMAN, 2003). Foi observado aumento no calibre de frutos de maçãs 'Empire' raleadas quimicamente com 6-benziladenina. Avaliações histológicas revelaram que este incremento decorreu do aumento do número de células no córtex do fruto (WISMER; PROCTOR; ELFVING, 1995).

O fato da realização do raleio químico coincidir com o período em que o processo de divisão celular no fruto ainda é ativo pode explicar o comportamento observado nos trabalhos com uso da 6-benziladenina como raleante. A alta atividade de citocinina do composto estimularia a divisão e, por conseguinte, o aumento no

número de camadas de células no córtex do fruto, propiciando frutos de maior calibre no momento da colheita (STERN et al., 2003).

2.5.2 Ácido naftaleno acético e Triptofano

O ácido naftaleno acético (ANA) é uma auxina sintética associada ao aumento da divisão celular e da dimensão de células bem como ao incremento na taxa de crescimento de frutos (SINGH; MIRZA; SINGH, 2017). Resultados obtidos com aplicação de ANA para raleio químico de maçãs 'Empire' demonstraram que a substância foi capaz de melhorar o calibre de frutos. Contudo, por processo contrário ao da 6-benziladenina, isto é, ANA promove ganhos em calibre pelo aumento da dimensão das células (WISMER; PROCTOR; ELFVING, 1995). O ANA geralmente é empregado em raleios mais precoces, ditos como raleios de floração. As doses costumam variar de 10 a 15 mg L⁻¹ e a época de aplicação varia de 5 a 10 DAPF (PETRI et al., 2016)

O triptofano, aminoácido precursor de auxina, possui os cloroplastos como a principal local de sua biossíntese. A sua conversão em ácido indol-3- acético (AIA), principal forma de ocorrência natural da auxina nas plantas, pode ocorrer no citosol assim como nos cloroplastos. Contudo, além da biossíntese de AIA por vias dependentes de triptofano, há também a formação por vias independentes do mesmo. Neste caso, o IAA é sintetizado a partir de indol ou indol-3-glicerol fosfato (BHATLA, 2018).

Os aminoácidos possuem inúmeras funções biológicas importantes nas células vegetais, como a desintoxicação, otimização da absorção de nutrientes, translocação e metabolismo, biossíntese de vitaminas, bioestimulação do crescimento e aumento da tolerância a estresses ambientais (MOSA; ALI; ABDELSALEM, 2021).

3 METODOLOGIA GERAL

3.1 ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido nos ciclos produtivos de 2021/22 e 2022/23 no Município de Vacaria – RS, em pomar comercial pertencente à empresa Rasip Agro Pastoral S/A. As coordenadas geográficas da área experimental são de 28°26'41.1" S e 50°51'13.2" W, com altitude de 920 metros (GOOGLE EARTH, 2023).

O solo predominante da região é classificado como Latossolo Bruno distrófico típico, caracterizado como profundo, bem drenado, com altos teores de argila e matéria orgânica, sendo a mineralogia predominante de caulinita, óxidos de ferro e alumínio (EMBRAPA, 2006).

As plantas da cultivar Maxi Gala foram implantadas em 2009 sobre o porta-enxerto M9 e conduzidas no sistema *Tall Spindle*, sendo a densidade de plantio de 3.571 plantas por hectare. O pomar possuía tela de proteção antigranizo de coloração branca e preta. Como polinizadora o pomar possuía a cultivar Fuji Mishima na proporção de plantio de 20%. Não foram utilizadas as mesmas plantas para ambos os ciclos de avaliação, porém, no segundo ciclo foram avaliadas plantas pertencentes a mesma quadra e com as mesmas características de porta-enxerto, cultivar e época de plantio. Essa mudança foi realizada objetivando plantas com uma carga frutal maior, onde fosse possível realizar a prática do raleio.

O manejo fitossanitário e de adubação seguiu o padrão comercial adotado pela empresa em toda a área experimental. Em relação a prática de raleio, destaca-se que a empresa onde o estudo foi conduzido não realizou raleio em plantas de cultivares Gala. Nas plantas do experimento, independente do ciclo de produção, a prática também não foi realizada, não tendo sido empregadas substâncias raleantes e nem procedido raleio manual.

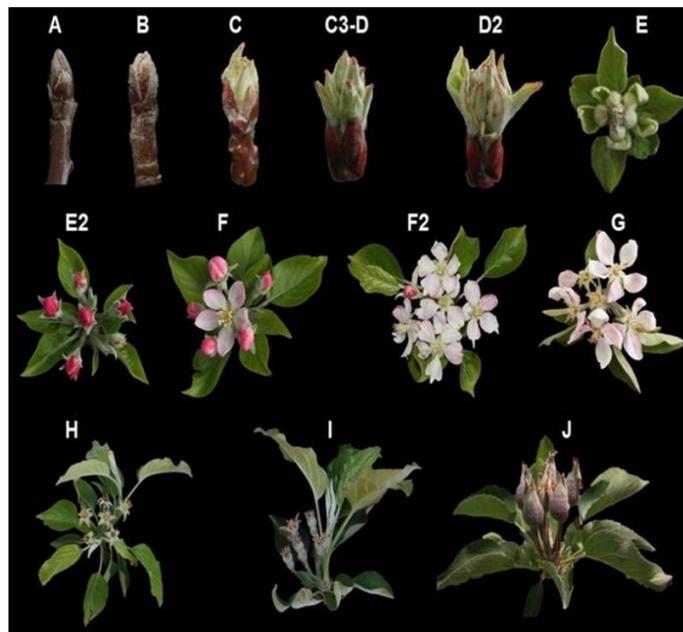
Esta medida foi adotada devido a carga frutal das plantas não ser alta, em média 106 frutos por planta. Com a mudança das plantas no segundo ano houve um incremento no número médio de frutos por planta, isto é, 125 frutos por planta. Porém, valor que também dispensou o raleio de frutos.

3.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

No ciclo 2021/22 foram empregados os tratamentos compreendidos entre T1 a T9, sendo adicionados no ciclo 2022/23 os tratamentos T10 a T12 (Tabela 1). O tratamento 10 foi adicionado com o objetivo de avaliar o efeito de um aporte maior de auxina para os frutos. Por outro lado, os tratamentos 11 e 12 foram incluídos objetivando observar qual seria o comportamento de crescimento dos frutos quando estes recebessem aplicações já na fase de crescimento, como 8-10 mm e 25-27 mm.

As aplicações foram realizadas em diferentes estádios fenológicos da planta, sendo: 10 dias após a quebra de dormência (A+10), plena floração (F2), queda de pétalas (H), frutos aos 8-10 mm e frutos aos 25-27 mm (Figura 2). Na Tabela 1 se encontram os tratamentos empregados, com as doses, produtos e estádios fenológicos de aplicação.

Figura 2 – Estádios fenológicos da macieira, segundo Fleckinger (1953), com modificações



Legenda: (A): gema dormente; (B) gema inchada - ponta de prata; (C) ponta verde; (C3-D) 1,3 cm verde; (D2) 1,3cm verde com folhas; (E) botão verde; (E2) botão rosado; (F) início da floração; (F2) plena floração; (G) final da floração; (H) queda de pétalas; (I) frutificação efetiva; (J) frutos verdes com 10mm de diâmetro.

Fonte: Francescatto (2014, p. 158).

Tabela 1 – Protocolos com fitorreguladores para incremento no tamanho de frutos de macieiras ‘Maxi Gala’. Vacaria, 2023

Tratamentos	Estádios fenológicos de aplicação				
	10 dias após quebra de dormência (A+10)	Plena floração (F2)	Queda de Pétalas (H)	Frutos aos 8-10 mm	Frutos aos 25-27 mm
T1	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle
T2	0,06g i.a. 6-BA ¹ L ⁻¹	-	-	-	-
T3	-	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	-	-	-
T4	-	-	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	-	-
T5	0,06g i.a. 6-BA L ⁻¹	-	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	-	-
T6	0,06g i.a. 6-BA L ⁻¹	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	-	-	-
T7	0,06g i.a. 6-BA L ⁻¹	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	-	-
T8	0,06g i.a. 6-BA L ⁻¹	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 2g ha ⁻¹ triptofano	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 2g ha ⁻¹ triptofano	-	-
T9	0,06g i.a. 6-BA L ⁻¹	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 6 ppm ANA	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 6 ppm ANA	-	-
T10	0,06g i.a. 6-BA L ⁻¹	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 10 ppm ANA	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 10 ppm ANA	-	-
T11 ²	-	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	-	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹	-
T12 ²	-	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 6 ppm ANA	-	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹ + 6 ppm ANA	0,01g i.a. 6-BA L ⁻¹

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

¹ i.a: ingrediente ativo 6-Benziladenina (6-BA) – produto comercial MaxCel®.

² Protocolos incluídos no ciclo 2022/23.

Os tratamentos consistiram na aplicação de 6-BA (MaxCel®, Valent BioSciences, Libertyville, IL) composto por 20 g L⁻¹ de ingrediente ativo, de formulação concentrado solúvel), sendo classificado como Regulador de crescimento vegetal do grupo químico das citocininas. Para os tratamentos com auxina foi utilizado o Ácido Naftaleno Acético (ANA, concentração 95%) e o L-Triptofano (C₁₁H₁₂N₂O₂). Ambas as substâncias foram dissolvidas previamente em álcool 30% antes da aplicação. Em ambos os ciclos, independente do tratamento, não foi adicionado espalhante a calda.

3.3 DADOS CLIMATOLÓGICOS

O clima de Vacaria - RS é classificado como temperado úmido, com verões amenos, Cfb conforme a classificação de Köppen (EMBRAPA, 2006). A seguir, estão apresentados nas Tabelas 2 a 4 os dados climatológicos mensais registrados entre os meses de janeiro de 2021 a fevereiro de 2023 (EMBRAPA, 2023). Nestas constam os principais dados climatológicos, sendo temperatura mínima (Tmin), máxima (Tmax) e média (Tmed), precipitação (Prec.), dias com precipitação, umidade relativa média (URmed), velocidade do vento média (Vv média) e horas de frio abaixo de 7,2°C (HF<7,2°C).

Tabela 2 – Dados climatológicos mensais registrados no Município de Vacaria – RS no ano de 2021

MÊS	Temperaturas médias			Prec. (mm)	Dias com precipitação	URmed (%)	Vv média (m/s)	HF< 7,2°C
	Tmin (°C)	Tmax (°C)	Tmed (°C)					
JAN	15,3	24,9	19,4	333,8	18,0	85,3	2,9	0,0
FEV	13,2	25,3	18,5	94,0	8,0	80,8	2,3	0,0
MAR	14,1	24,9	18,5	100,2	11,0	85,7	2,3	0,0
ABR	10,1	22,5	15,5	11,9	3,0	80,3	2,1	15,0
MAI	5,7	18,2	11,4	174,8	8,0	81,4	2,5	153,0
JUN	6,2	15,3	10,2	162,0	10,0	87,7	2,8	171,0
JUL	3,8	16,8	9,7	55,6	6,0	73,6	3,3	242,0
AGO	8,7	20,3	13,6	63,4	5,0	80,5	3,3	79,0
SET	10,2	20,8	14,9	240,4	13,0	84,9	3,3	8,0
OUT	10,3	21,1	15,1	112,0	10,0	80,8	3,1	14,0
NOV	12,3	25,3	17,9	105,6	8,0	75,9	2,7	0,0
DEZ	12,9	27,3	19,1	72,8	5,0	72,9	2,6	0,0
Total				1526,5	105,0			682,0
Média	10,2	21,9	15,3			80,8	2,8	
Máxima		31,3						
Mínima	-4,0							

Fonte: Adaptado de Embrapa (2023).

Tabela 3 – Dados climatológicos mensais registrados no Município de Vacaria – RS
no ano de 2022

MÊS	Temperaturas médias			Prec. (mm)	Dias com precipitação	URmed (%)	Vv média (m/s)	HF< 7,2°C
	Tmin (°C)	Tmax (°C)	Tmed (°C)					
JAN	15,5	29,0	21,0	152,0	10,0	76,2	2,6	0,0
FEV	14,3	27,3	19,8	84,6	11,0	77,2	2,8	0,0
MAR	13,7	23,7	17,9	160,2	16,0	86,4	3,1	9,0
ABR	10,7	21,1	15,2	187,2	11,0	85,3	3,1	34,0
MAI	7,0	16,1	11,0	379,0	15,0	88,8	3,1	141,0
JUN	5,4	14,7	9,8	312,2	12,0	88,5	3,0	201,0
JUL	8,8	20,1	13,7	87,4	7,0	80,9	3,8	87,0
AGO	5,4	17,6	11,1	140,0	11,0	81,9	3,6	165,0
SET	6,3	17,8	11,6	59,8	10,0	81,2	3,7	98,0
OUT	9,7	20,7	14,7	171,8	12,0	81,7	3,2	24,0
NOV	9,4	23,2	15,7	22,2	6,0	72,8	3,3	50,0
DEZ	13,4	26,7	19,2	142,0	11,0	76,0	3,0	0,0
Total				1898,4				
Média	10,0	21,5	15,1	158,2	11,0	81,4	3,2	809,0
Máxima		34,3						
Mínima	-2,7							

Fonte: Adaptado de Embrapa (2023).

Tabela 4 – Dados climatológicos registrados entre os meses de janeiro e fevereiro
de 2023 no Município de Vacaria – RS

MÊS	Temperaturas médias			Prec. (mm)	Dias com precipitação	URmed (%)	Vv média (m/s)	HF< 7,2°C
	Tmin (°C)	Tmax (°C)	Tmed (°C)					
JAN	14,8	27,8	20,2	104,0	11,0	76,0	3,0	0,0
FEV	13,6	25,4	18,8	149,4	6,0	72,5	2,6	2,0

Fonte: Adaptado de Embrapa (2023).

Os dados apresentados demonstram uma grande variação entre os ciclos avaliados no que diz respeito a temperatura. De modo geral, o ciclo 2021/22 teve temperaturas mais altas no período de agosto a dezembro quando comparado ao ciclo 2022/23.

3.3.1 Condições ambientais nas datas de aplicação

A Tabela 5 apresenta os dados das principais variáveis climatológicas observadas nas datas de aplicação dos fitorreguladores, bem como as datas de cada aplicação e o horário de início das mesmas.

Tabela 5 – Condições climatológicas observadas nas datas de aplicação dos fitorreguladores nos ciclos 2021/22 e 2022/23

Ciclo 2021/22					
Estádio fenológico	A+10	F2	H		
Data de Aplicação	03/09/2021	17/09/2021	23/09/2021		
Temperatura (°C)	21,6	11,3	16,0		
Umidade Relativa (%)	70,0	96,0	69,0		
Velocidade do vento (m/s)	3,0	3,3	5,1		
Horário da aplicação	13:58	09:30	14:00		
Ciclo 2022/23					
Estádio fenológico	A+10	F2	H	Frutos aos 8-10 mm	Frutos aos 25-27 mm
Data de Aplicação	05/09/2022	05/10/2022	17/10/2022	25/10/2022	17/11/2022
Temperatura (°C)	15,3	11,6	13,2	12,8	15,0
Umidade Relativa (%)	75,0	94,0	100	92,0	51,0
Velocidade do vento (m/s)	4,4	6,2	0,7	4,5	2,2
Horário da aplicação	13:35	08:45	08:30	09:15	10:00

Legenda: A+10 (aplicação 10 dias após quebra de dormência); F2 (aplicação no estágio de plena floração); H (aplicação em queda de pétalas).

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Para a indução de brotação foi empregado cianamida hidrogenada, sendo este um manejo realizado pela empresa. As datas de aplicação para os ciclos 2021/22 e 2022/23 foram, respectivamente, 24/08/2021 e 26/08/2022. É possível notar que, embora quebra de dormência tenha sido realizada em datas muito semelhantes entre os anos avaliados, foram necessários cerca de vinte dias a mais (Tabela 4) para se alcançar o estágio de plena floração no ciclo 2022/23 em relação ao ciclo 2021/22, comportamento decorrente das menores temperaturas ocorridas no segundo ciclo.

Para as aplicações dos fitorreguladores foi utilizado pulverizador Jacto® modelo Arbus 270 acoplado a um trator Yammarr® modelo 1175-4. A velocidade de trabalho para a pulverização foi de 6,3 m/s, com rotação de 2.000 rpm (rotações por minuto) e vazão de 880 litros por hectare.

3.4 ANÁLISES HISTOLÓGICAS

As avaliações de microscopia foram procedidas para determinação de número de células, dimensão média de células (μm^2) e espaço intercelular (μm). Assim sendo, aos 50 DAPF foi realizada a coleta dos frutos para as referidas avaliações. Esta data foi determinada com base na literatura, que normalmente indicavam o período de divisão próximo ao adotado no presente estudo, como 45 DAPF (HARADA et al., 2005) e 28 a 42 DAPF (LAKSO; GOFFINET, 2013).

Para as avaliações histológicas foram coletados cinco frutos por parcela, totalizando 20 frutos por tratamento. Para tanto, foram utilizadas três plantas por repetição para a formação da amostra. A amostragem dos frutos no campo respeitou os critérios de posição da planta e estrutura produtiva para coleta. Assim, foram coletados frutos do terço médio das plantas e de esporões contendo apenas um fruto (Figura 3). A fim de minimizar a respiração e a desidratação, bem como manter ao máximo a integridade dos tecidos celulares, os frutos foram acondicionados em sacos de papel e posteriormente em caixa de isopor com gelo.

Figura 3 – Detalhe da estrutura produtiva (esporão) e do fruto coletado para microscopia, Vacaria – RS, 2022



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

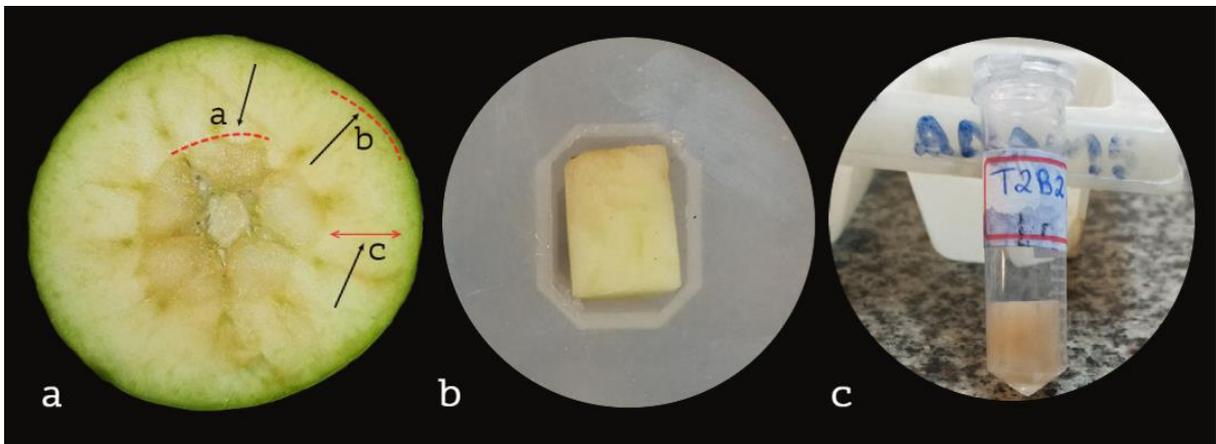
Posteriormente, em laboratório, foi quantificado a massa fresca dos frutos e mensurado o diâmetro e altura dos mesmos, com auxílio de balança de precisão e paquímetro digital, respectivamente. O diâmetro foi mensurado em dois lados opostos dos frutos para formação do diâmetro médio.

A obtenção da amostra para a preparação das lâminas histológicas se deu por meio de duas etapas. Inicialmente foi realizado um corte transversal no eixo equatorial dos frutos (sempre na porção de maior diâmetro, que geralmente corresponde a parte central do fruto), obtendo uma fatia da porção mediana dos mesmos (Figura 4a).

A partir desta foi procedido um segundo corte transversal na região do córtex (representado em 'c' na Figura 4a), compreendido entre a epiderme e limite externo do carpelo, resultando na amostra propriamente dita.

Com intuito de padronizar a amostragem foi estabelecido as dimensões de aproximadamente 1cm^3 para a amostra (Figura 4b) e evitado cortes próximos da região da epiderme, visto que estas células possuem menor dimensão (ALLAN-WOJTAS et al., 2003). Não foi distinguido o lado (exposto ou sombreado) do fruto para a amostragem, conforme realizado por outros autores (McATEE et al., 2009; POLES et al., 2020), os quais indicam não haver influência desta condição sobre o tamanho das células.

Figura 4 – Detalhe do corte transversal do fruto (4a) indicando a limite externo do carpelo (a), a região da epiderme (b) e a porção do córtex (c)



Legenda: 4a) detalhe de corte transversal em um fruto de maçã aos 50 DAPF; 4b) detalhe da amostra posicionada no histomolde; e 4c) amostra acondicionada na solução de FAA_{70%}.
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Em seguida as amostras foram submetidas a primeira etapa do protocolo de histologia, representado pela fase de fixação (1). Para tanto, as amostras foram acondicionadas em microtubos eppendorf (Figura 4c) contendo o fixador Formol Ácido Acético Glacial e Álcool (FAA_{70%}) com o intuito de manter a integridade da amostra e maximizar a resistência do tecido vegetal. O fixador foi composto por 50 ml de Formaldeído (37%), 50 ml de Ácido acético glacial e 900 ml de Etanol (70%).

Posteriormente, o material foi acondicionado em dessecador vedado com vaselina e acoplado à uma bomba à vácuo sob uma pressão negativa de -600 mmHg por um período de 48 horas a fim de auxiliar na infiltração da solução do fixador nas amostras.

As etapas subsequentes do protocolo compreenderam: 2) Desidratação em álcool etílico; 3) Pré-infiltração com solução de infiltração; 4) Infiltração; 5) Emblocamento em Historessina ((*2-hydroxyethyl methacrylate*); 6) Cortes em micrótomo e preparação das lâminas histológicas e 7) Microscopia.

Findada a etapa de fixação, as amostras passaram para a fase de desidratação (2), que consistiu no uso de seis soluções de álcool etílico com concentrações de 50, 60, 70, 80, 90 e 95%. Em ambiente à vácuo, cada solução permaneceu pelo período de 1 hora e 30 minutos em contato com os tecidos dos frutos.

Com o objetivo de substituir gradualmente o álcool dos tecidos se procedeu a etapa de pré-infiltração (3). Inicialmente foi preparada a solução de infiltração, sendo esta composta por 50 ml de Historessina e 0,5 g de ativador (*dibenzoyl peroxide*). Esta solução foi misturada na proporção de 1:1 com álcool etílico (95%) e as amostras imersas na mesma por um período de 24 horas em câmara de vácuo.

Na etapa seguinte foi realizado o processo de infiltração (4) por meio da imersão das amostras na solução de infiltração, as quais permaneceram nesta condição durante 7 dias em ambiente à vácuo. Sendo atingido este período a solução foi drenada e as amostras depositadas em moldes de polietileno, denominados de hiltomoldes (Leica *Histomold*[®]), para dar início a fase de emblocamento.

Para a fase de emblocamento (5), primeiramente foi preparada a solução de inclusão composta por 15 ml da solução de infiltração e 1 ml de catalizador *Hardener*. Esta solução foi depositada nos histomoldes de forma a envolvê-los com a historessina. Os histomoldes foram então acondicionados em bandejas e submetidos a estufa de circulação de ar forçado à 35 °C durante 48 horas para finalização do processo de polimerização.

Com as amostras devidamente emblocadas se deu início a fase de realização dos cortes histológicos (6). Visando facilitar os cortes, após a retirada das amostras dos Hiltomoldes, as mesmas foram fixadas em blocos de madeira, que encaixados no micrótomo possibilitaram maior facilidade na operação. Os cortes foram obtidos com auxílio de um micrótomo deslizante da Leica, modelo SM2010 R, sendo adotada a espessura de 8 µm. A fim de obter imagens de maior qualidade dos tecidos celulares,

após os cortes de desbaste, foi substituída a navalha até então utilizada por uma nova para o corte final.

Os cortes foram depositados sobre lâminas histológicas com água destilada aquecida, a fim de auxiliar na distensão dos mesmos. Posteriormente, com o corte esticado, o mesmo foi corado com fucsina básica por cerca de 30 segundos. Findada a etapa de coloração, foi depositado uma lamínula sobre o corte, a qual foi fixada com auxílio de verniz vitral incolor.

Para obtenção das imagens dos cortes histológicos foi utilizado um microscópio automatizado da Leica® *Microsystems*, o qual possuía uma câmera acoplada ao microscópio. Após a obtenção das imagens, as mesmas foram processadas e analisadas por meio da plataforma de software para microscópio Leica® *Application Suite* (LAS), versão 4.8.0. A calibração da câmera considerou 1 pixel igual a 0,64 *microns*, resultando na área de captura de 2048 x 1536 pixels.

A objetiva utilizada para a captura das imagens foi a de 10x, com escala e unidade de medida fixada em micrômetros. Assim sendo, a imagem capturada possuiu as dimensões de 1310,72 x 983,04 μm , o que correspondeu a uma área total de aproximadamente 1288487,53 μm^2 . Para a determinação do número de células, dimensão celular e espaço intercelular foi mensurado $\frac{1}{4}$ da imagem, o que correspondeu a 322178,625 μm^2 .

Para padronizar as medidas, foi criado um modelo com as dimensões de 322178,625 μm^2 , o qual era inserido a cada nova imagem analisada, sempre na mesma posição. O número de células foi obtido por meio da contagem manual das mesmas, uma a uma. A dimensão celular foi determinada com auxílio de uma ferramenta do próprio software. Em suma, as células eram contornadas, uma a uma, em toda a sua dimensão, sendo registrado o valor final para cada uma em μm^2 .

A fim de minimizar inconsistências na mensuração da dimensão celular, todas as células compreendidas entre o limite da área analisada e a área total da imagem capturada foram medidas separadamente. Esta prática é importante para descartar células que não tiveram toda a sua dimensão contida na medida padrão de avaliação, o que poderia resultar em dimensões menores que as de fato apresentadas. O espaço intercelular foi obtido por meio da diferença entre a soma da dimensão de todas as células da imagem e a área da imagem analisada (322178,625 μm^2).

3.5 CRESCIMENTO DE FRUTOS

No segundo ano de avaliação, com o objetivo de identificar a influência dos protocolos no crescimento dos frutos, foi realizada uma análise prévia do tamanho dos mesmos. Para tanto, o diâmetro e a altura foram mensurados aos 36, 78 e 105 DAPF. O diâmetro foi mensurado em duas posições do fruto para determinar o diâmetro médio.

Foram utilizadas duas plantas por repetição, sendo marcados 8 frutos em cada planta, totalizando 64 frutos por tratamento, sendo estes provenientes apenas de esporões contendo um único fruto. As medidas foram determinadas com auxílio de paquímetro digital (Figura 5).

Figura 5 – Detalhe dos frutos mensurados (a), da avaliação de altura (b) e diâmetro (c)



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

3.6 PARÂMETROS PRODUTIVOS E DE QUALIDADE DE FRUTOS

No presente estudo, a colheita foi iniciada conforme programação da empresa, ou seja, quando a quadra em que o experimento estava instalado começou a ser colhida, as plantas do experimento também receberam uma primeira passada de colheita. Além disso, toda a colheita foi realizada no padrão comercial da empresa, sendo colhidos somente os frutos com mais de mais de 50% da epiderme com coloração vermelha. Com isso, foram realizadas três passadas para colheita. Diante do baixo percentual de frutos na condição estipulada na primeira passada, as amostras de frutos para avaliação dos parâmetros físico-químicos foram coletadas na segunda colheita.

Foram mensuradas as variáveis de número de frutos por planta, produção (kg planta⁻¹), massa fresca média de frutos (g), produtividade (kg ha⁻¹) e parâmetros físico-químicos de frutos. A produção e o número de frutos por planta foram obtidos no momento da colheita (considerando a soma das três passadas) por meio da contagem e pesagem dos mesmos, sendo que a relação entre estes determinou a massa fresca média dos frutos. A produtividade foi calculada através da multiplicação da massa média de frutos por planta e o número de plantas por hectare de acordo com o espaçamento utilizado, sendo o resultado expresso em t. ha⁻¹.

Na segunda colheita uma amostra de 55 frutos foi coletada para as avaliações físico-químicas. No laboratório, 30 destes frutos foram pesados, um a um, a fim de determinar a distribuição dos mesmos em três classes de peso (g). Assim sendo, para a análise dos dados de calibre de frutos foi procedido o agrupamento das classes em três padrões assim descritos: frutos grandes, médios e pequenos. Assim, foram considerados como grandes os frutos com peso entre 158g a 279g, médios entre 127g e 157g e pequenos entre 50g e 126g. Para esta separação foi tomado como referência o padrão criado pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Fruticultura (CAV/UDESC).

A partir da amostra de 50 frutos foram geradas duas subamostras, sendo 20 utilizadas para a determinação das variáveis de densidade de fruto, relação diâmetro equatorial e altura (mm), coloração da epiderme (*Hue*), sólidos solúveis (°Brix) e firmeza de polpa (lb).

Os demais 35 frutos foram colocados em redes plásticas de polietileno e acondicionados em caixas plásticas vazadas. Posteriormente os frutos foram armazenados em câmara fria sob atmosfera refrigerada com temperatura de $1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$

e umidificação durante 30 dias. Após o período de armazenagem 20 frutos foram selecionados para determinação de firmeza (lb) e posterior cálculo de perda de firmeza no período de armazenagem.

A densidade foi determinada por meio do método de deslocamento de água, conforme metodologia proposta por Olabinjo et al. (2017). Em suma o método consistiu em utilizar um béquer graduado com capacidade de 1000 ml com água até a marca de 400 ml. Posteriormente, o fruto foi imerso no mesmo, sendo anotado o volume de água no béquer resultante do deslocamento do fruto. A valor resultante da diferença entre o nível de elevação e o nível original foi utilizado para calcular a densidade dos frutos por meio da fórmula: $densidade = massa/volume$, sendo os valores expressos em g/ml.

O diâmetro equatorial e altura foram expressos em milímetros e obtidos através de uma régua graduada, onde os frutos foram dispostos lado a lado. A fim de garantir maior precisão, devido ao fruto possuir formato irregular, foram realizadas duas leituras por fruto. Os valores obtidos foram divididos pelo número de frutos da amostra a fim de calcular o valor médio de diâmetro e de altura dos mesmos.

Para determinação da firmeza de polpa (amostra de 20 frutos) foi utilizado um texturômetro com ponteira de 11 mm de diâmetro. Inicialmente, com auxílio de um *peeler*, foi removido uma porção da epiderme do fruto na região equatorial e em dois lados opostos. Os valores foram expressos em libras (lb).

Os valores de sólidos solúveis foram obtidos com auxílio de refratômetro digital para açúcar modelo ITREFD-45, sendo os resultados expressos em °Brix. Para a análise se utilizou o suco dos frutos obtidos através de fatias medianas dos mesmos. A coloração foi mensurada através de colorímetro Minolta modelo CR 400, onde foram obtidos os valores de luminosidade (L), croma (C) e o ângulo de tonalidade (*Hue*).

Na primavera, quando as plantas estavam no estágio de plena floração, foi realizada a avaliação de retorno de florada. Para tanto, foram marcados 4 ramos por planta nas quatro plantas centrais da parcela. Foram quantificadas as gemas totais (floríferas e vegetativas), sendo consideradas todas as gemas floríferas para esporões e apenas a gema apical para brindilas. O retorno de floração foi determinado pela fórmula: $Retorno\ de\ floração = n^{\circ}\ total\ de\ flores / n^{\circ}\ total\ de\ gemas * 100$, sendo o resultado expresso em % de retorno de floração.

3.7 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos ao acaso, sendo adotado quatro blocos para todas as variáveis realizadas. Para a implantação do experimento à campo cada bloco foi composto por quatro plantas, que formaram uma unidade experimental, com oito plantas de bordadura antes e após cada tratamento visando reduzir os riscos de deriva entre tratamentos. Desta unidade experimental foram coletados os dados das variáveis de produção e de qualidade de frutos. Para as variáveis relacionadas a análise histológica três, entre as quatro plantas, foram selecionadas para a coleta dos frutos. Por fim, para a variável de crescimento, duas plantas da unidade experimental foram selecionadas para as avaliações de diâmetro e altura de fruto.

3.8 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$) para verificar a aderência à distribuição normal. Para as variáveis de número e dimensão de células, espaço ocupado por células, densidade de frutos, desempenho produtivo do ciclo 2021/22 (número de frutos por planta, produção, produtividade), percentual de frutos grandes e percentual de perda de firmeza após armazenagem foram realizada análise multivariada por meio do teste dos componentes principais (PCA), utilizando o software Minitab. Os dados médios destas variáveis estão disponibilizados nos apêndices.

Adicionalmente a análise de PCA, os dados de desempenho produtivo do ciclo 2021/22 também foram analisados pela análise de variância (ANOVA) e subsequente comparação múltipla de médias, sendo que os dados de produtividade foram transformados pela fórmula 'raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}$ '. Foi empregado o teste Tukey a 5 % de probabilidade de erro utilizando o software Sisvar, versão 5.8 (FERREIRA, 2018). Os dados de retorno floral, demais variáveis de qualidade de frutos, diâmetro de frutos aos 105 DAPF e número de frutos por planta em pré-colheita no ciclo 2022/23 também foram submetidos a comparação múltipla de médias conforme descrito anteriormente para as variáveis de desempenho produtivo. Os dados de diâmetro de frutos aos 36 DAPF, 78 DAPF e 105 DAPF foram submetidos a análise de regressão para verificar a constância no crescimento dos frutos.

4 RESULTADOS

4.1 CICLO 2021/22

A primeira componente principal (CP1) foi responsável por explicar 61,2% da variação dos dados (Figura 6), diferenciando os tratamentos principalmente em relação as variáveis de densidade, dimensão celular e área ocupada por células. Assim, esta componente se associou, sobretudo, ao comportamento celular relacionado a dimensão das células. Neste sentido, foi observado que a área ocupada por células e o espaço intercelular foram inversamente proporcionais, isto é, tratamentos com maior espaço ocupado por células propiciaram menor espaço intercelular.

Os tratamentos mais associados a este comportamento foram T8, T5 e T9, cujos valores de área ocupada por células foram de 300845,715 μm^2 , 296599,776 μm^2 e 281114,395 μm^2 , respectivamente (Apêndice A). Por outro lado, em T1 (237266,867 μm^2) e T2 (238335,838 μm^2) foram verificados os menores valores de área ocupada por células.

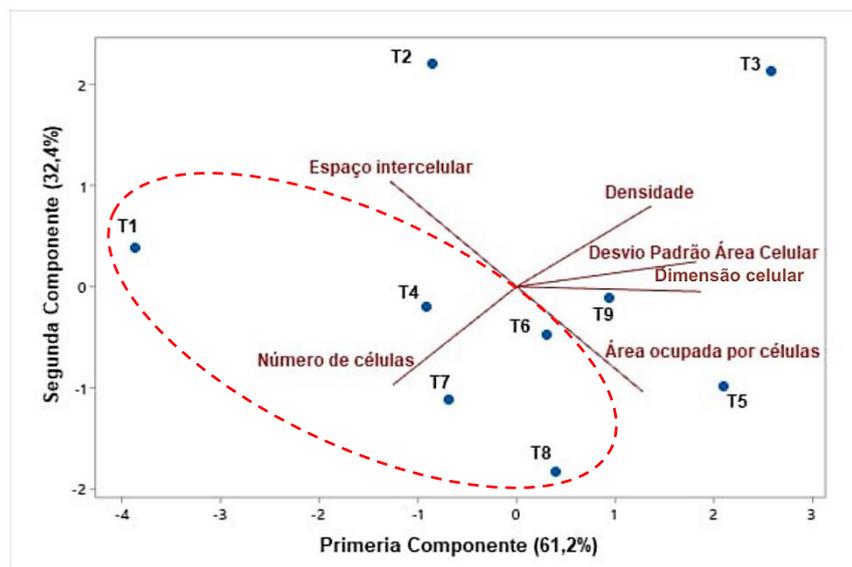
A dimensão das células foi afetada pelas aplicações, sendo observado na testemunha (T1) as células de menor dimensão (3177,034 μm^2). Nos demais tratamentos, independente da época de aplicação, houve incremento para esta variável. Neste sentido, T9, T3 e T5 foram os mais associados ao incremento da dimensão celular, com 4435,149 μm^2 , 4704,860 μm^2 e 4748,371 μm^2 respectivamente (Apêndice A). Em relação ao controle o aumento percentual correspondeu, respectivamente, a 28,36%, 32,47% e 33,09%.

O valor médio de densidade para os tratamentos foi de 0,95 g/ml, com os extremos representados por T3 (0,99g/ml) e T7 (0,93 g/ml). Assim, por conta dos valores terem sido muito próximos não foi possível estabelecer relações consideráveis com as demais variáveis, preferindo-se pautar a discussão sobre parâmetros mais expressivos, como dimensão de célula e espaço intercelular.

A segunda componente principal (CP2) foi responsável por explicar 32,4% da variação dos dados, diferenciando os tratamentos sobretudo em relação a número de células e espaço intercelular. A aplicação de fitorreguladores não promoveu aumento no número de células, sendo o maior valor encontrado no tratamento testemunha T1, com 88 células (Apêndice A) em 322178,625 μm^2 . No comparativo entre os tratamentos com aplicação de fitorreguladores, foi observado que T8 alcançou o

número de células (84) mais próxima da testemunha. Comparando o número de células do protocolo com ANA a 6 ppm e de triptofano, é possível observar que, aos 50 DAPF, plantas tratadas com ANA possuíam frutos com um menor número de células e de maior dimensão. Isto pode ser um indicativo de que a influência no processo de divisão se distingue entre o uso de uma fonte de auxina (ANA) e de um precursor da mesma (triptofano).

Figura 6 – Análise de componentes principais para o comportamento celular de frutos de maçã tratados com fitorreguladores para aumento de tamanho de frutos



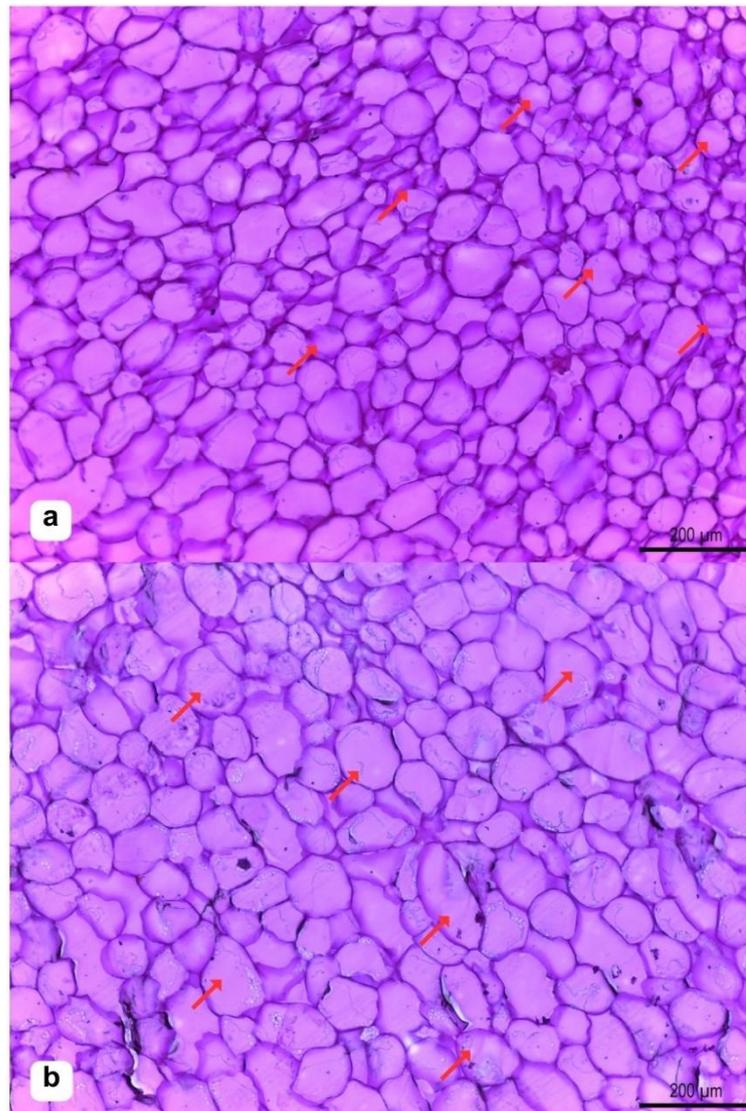
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Neste sentido, se pode visualizar no gráfico da Figura 6 que, considerando a direção do vetor e o posicionamento dos tratamentos nos quadrantes, T1, T4, T6, T7 e T8 possuíam os maiores valores de número de células. Os tratamentos T3 e T2 obtiveram o menor número de células em relação aos demais tratamentos (Figura 6). Quando comparados ao número de células do T8, tal redução foi de 22,61% (T3) e 19,04% (T2).

Analisando as variáveis de número de células e dimensão celular (μm^2) pode-se verificar que os protocolos de fitorreguladores foram mais eficientes no aumento da dimensão da célula de que na divisão celular. No entanto, ambas as variáveis afetam a estrutura celular e impactam em características como a densidade do tecido do fruto. A seguir (Figura 7) podem ser visualizadas imagens obtidas a partir dos cortes histológicos para os frutos do ciclo 2021/22. As mesmas apresentam a estrutura

celular dos frutos dos tratamentos 1 e 3 aos 50 DAPF. Nestas, é possível notar a distinção entre os tratamentos em relação a dimensão das células, sendo que as setas em vermelho comparam as células de menor dimensão em T1 (a) e de maior dimensão em T3 (b).

Figura 7 – Imagens de microscopia óptica do córtex de frutos de maçã ‘Maxi Gala’ aos 50 DAPF, ciclo 2021/22. (A barra corresponde a 200 μm)

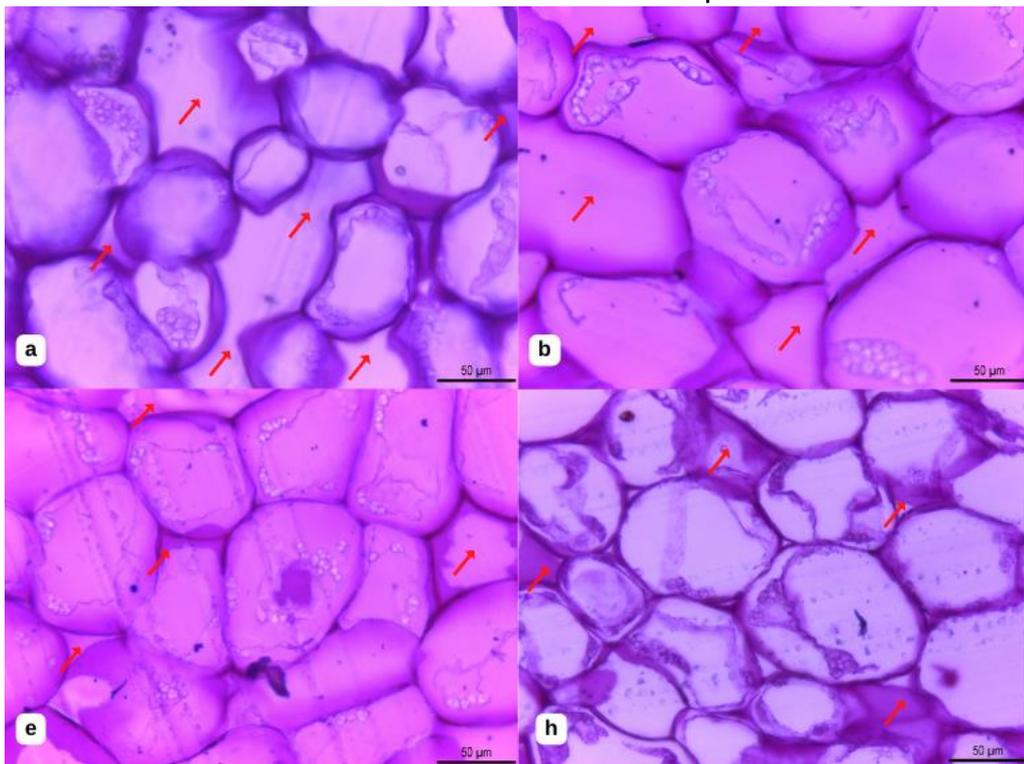


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Quando analisado o espaço intercelular, houve considerável redução em T5 e T8. Comparados a testemunha, o espaço foi reduzido em 74,87% e 69,87%, respectivamente. O tratamento 9 também minimiza o espaço entre as células em 51,63% em relação a testemunha. Por outro lado, o maior espaço intercelular foi observado em T1, T2 e T3.

Ao observar a estrutura das células é possível notar grande distinção entre os tratamentos no que diz respeito a forma como as células estão arranjadas no tecido (Figura 8). Deste modo, a formação do espaço intercelular pode ir muito além daquele formado entre uma célula e outra, podendo haver porções do tecido que naturalmente não são ocupados por células, como pode se observar claramente em 'a' e 'b' na Figura 10.

Figura 8 – Comparativo entre os tratamentos com maior (a-b) e menor espaço intercelular (e-h) aos 50 DAPF, ciclo 2021/22. As setas apontam para espaços entre as células. A barra indica 50 μ m



Legenda: a (T1); b (T2); e (T5); h (T8).

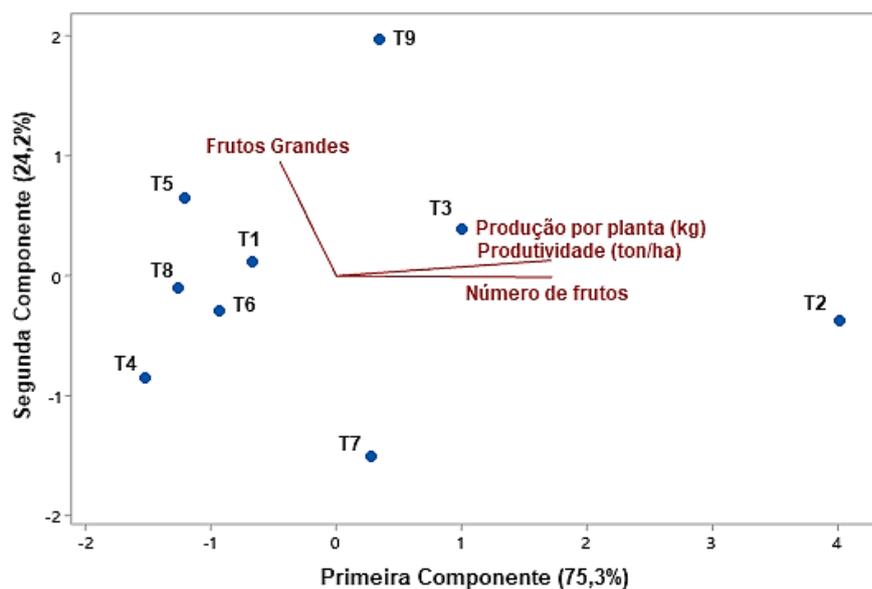
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Em relação as variáveis de desempenho produtivo (Figura 9) a CP1 foi responsável por explicar 75,3% da variação entre os dados, sendo a principal

responsável pela diferenciação dos protocolos. As variáveis que compõe a CP1 são variáveis indicativas de características produtivas, como produção e produtividade.

Para a variável de produtividade ($t. ha^{-1}$) (Apêndice E) o tratamento 2 alcançou o maior valor ($58,8 t. ha^{-1}$), diferenciando-se dos demais, exceto de T3 ($48,9 t. ha^{-1}$) e de T9 ($48,2 t. ha^{-1}$).

Figura 9 – Análise de componentes principais para o desempenho produtivo de macieiras 'Maxi Gala' tratadas com protocolos para incremento de tamanho de fruto, ciclo 2021/22



Fonte: Elaborada pela autora.

A variável que compõe a CP2 é indicativa de qualidade dos frutos (Figura 9), representada por percentual de frutos grandes (158 g a 279g). A CP2 contribui na explicação da variação no conjunto de dados em 24,2%. Se pode visualizar que T9, T5 e T3 foram os tratamentos com maior associação ao percentual de frutos grandes. Por outro lado, T7 se posicionou no quadrante oposto ao vetor, indicando menor relação do tratamento com frutos grandes.

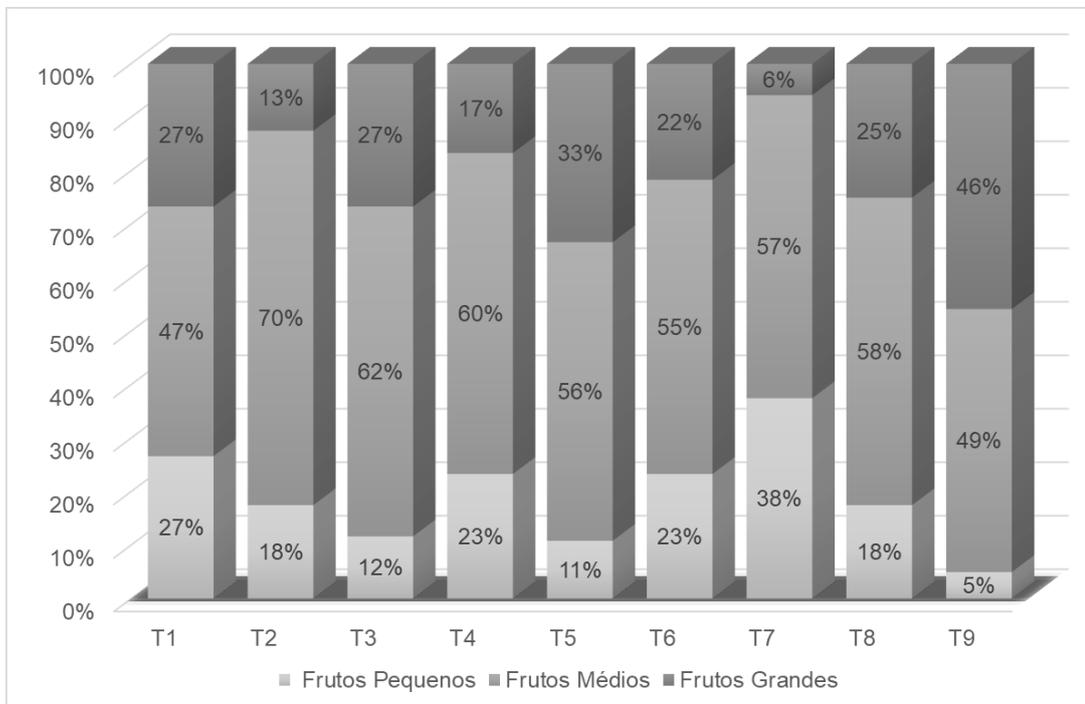
O Gráfico 2 apresenta a distribuição dos frutos nas classes de tamanho pequeno, médio e grande e complementam os resultados obtidos na análise de componentes principais. Desta forma, considerando que o principal objetivo de estudo foi o tamanho de frutos, a classificação dos frutos indica que os tratamentos T9 e T5 tiveram o maior percentual de frutos grandes em relação aos demais. Neste sentido, apesar da massa fresca de frutos (a qual considera o peso médio de frutos na colheita)

não ter se diferenciado entre os tratamentos (Apêndice E), a distribuição dos frutos, em termos práticos, se torna de maior interesse. Isto decorre do fato de que, comercialmente, os frutos são classificados de acordo com o calibre, isto é, o produtor não é remunerado pelo peso médio de fruto, mas sim pelo percentual de frutos em cada classe de calibre.

Além disso, em uma análise geral, considerando também o percentual de frutos pequenos e médios, T9 foi o tratamento mais efetivo na promoção do aumento do tamanho do fruto, onde 46% destes foram classificados como grandes (158g a 279g) (Gráfico 2). Além disso, quando analisado o percentual de frutos pequenos, T9 apresentou o menor percentual entre os demais tratamentos, com apenas 5%.

Outro comportamento visualizado (Gráfico 2) diz respeito ao percentual de frutos pequenos nos tratamentos com aplicação de fitorreguladores. Todos os tratamentos, exceto o T7, obtiveram menor percentual de frutos pequenos se comparados a testemunha.

Gráfico 2 – Percentual de distribuição dos frutos entre grandes (158g a 279g), médios (127g a 157g) e pequenos (50g a 126g)



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

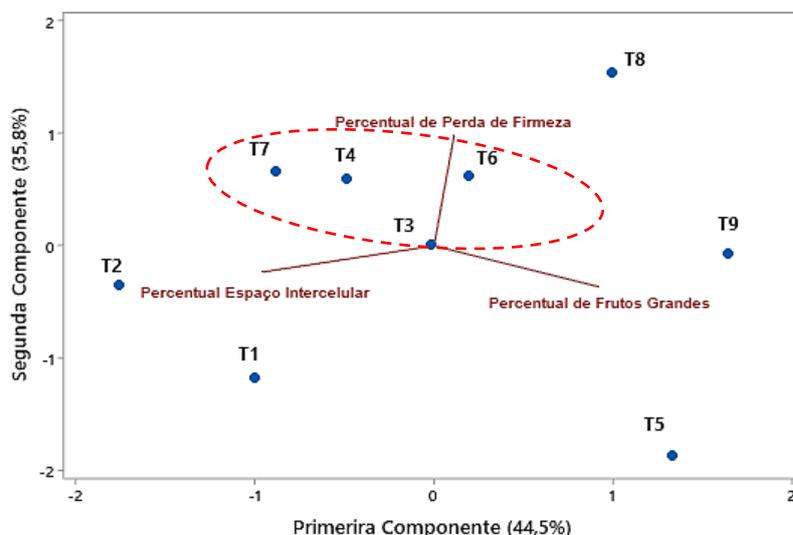
O principal objetivo da análise de componentes principais da Figura 10 foi compreender a relação entre tamanho de frutos, espaço intercelular e perda de

firmeza no armazenamento. Os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) foram suficientes para explicar 80,3% da variação no conjunto de dados (Figura 13). A contribuição da CP1 para a variação total foi de 44,5%, diferenciando os tratamentos pelo percentual de frutos grandes e o percentual de espaço intercelular.

Assim, o comportamento dos tratamentos para frutos grandes foi o mesmo discutido para a Figura 9, porém, adicionalmente, foi observado que frutos maiores possuíram menor espaço intercelular. A exceção ocorreu para T3 que, embora tenha promovido maior crescimento dos frutos, apresentou espaço intercelular maior que T5, T8 e T9. Por outro lado, o espaço intercelular em T3 ainda foi 33,06% menor que em T1, dando um comportamento intermediário ao tratamento.

Na segunda componente a separação dos tratamentos se deu pela variável de perda de firmeza após armazenagem. O percentual de variação dos dados explicado por esta componente foi de 35,8%. Os tratamentos com maior perda de firmeza foram T4, T6, T3 e T7 com redução de 20,27%, 20,61%, 18,10% e 18,05%, respectivamente. Porém, a análise do comportamento de cada tratamento para esta variável necessita ser realizada em conjunto com o valor inicial de firmeza, no momento da colheita. Esta variável será analisada e discutida com maior profundidade na seção de Discussões.

Figura 10 – Análise de componentes principais para o comportamento de perda de firmeza de polpa em relação ao espaço intercelular, ciclo 2021/22



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Em relação aos demais dados de qualidade de frutos, não foi observada influência dos protocolos adotados sobre os parâmetros de formato do fruto,

(Apêndice F), coloração da epiderme (Apêndice G e H) e sólidos solúveis totais (Apêndice I).

Para os dados de retorno de floração (Tabela 6) foi observado que a maior parte dos protocolos não se diferenciaram para esta variável. Diferenças foram encontradas apenas para o tratamento 3, que teve redução no retorno de florada quando comparado a T2, T5 e T7. Porém, quando comparado a T1, T4, T6, T8 e T9 não se diferenciou estatisticamente. O percentual médio de retorno de floração para os tratamentos foi de 75,98.

Tabela 6 – Percentual de retorno de florada no ciclo subsequente à aplicação de fitorreguladores para aumento do tamanho de frutos, Vacaria – RS.

Tratamento	Retorno de Florada (%)
T1	76,76 ab
T2	79,55 a
T3	66,67 b
T4	78,35 ab
T5	80,41 a
T6	72,23 ab
T7	79,32 a
T8	77,21 ab
T9	73,32 ab
CV (%)	6,48
Média	75,98

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

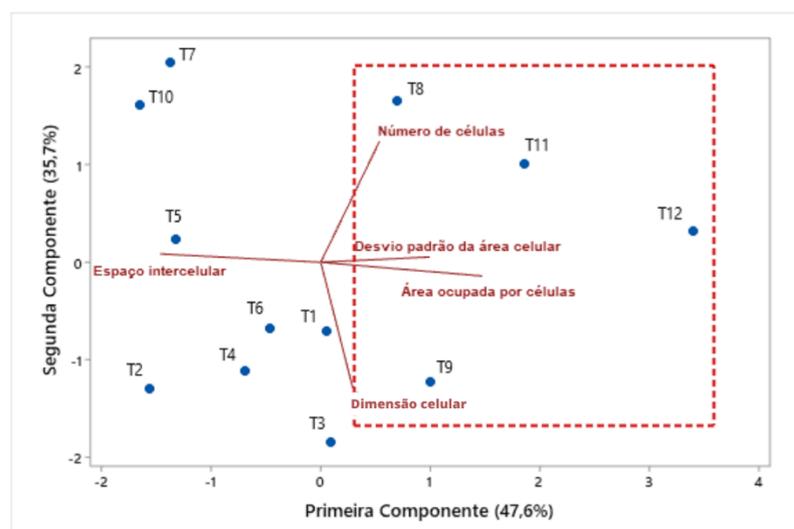
4.2 CICLO 2022/23

De acordo com o resultado da análise de componentes principais para as variáveis associadas ao comportamento celular (Figura 11), a CP1 foi responsável por explicar 47,6 % da variação dos dados. A diferenciação dos tratamentos nesta componente se deu especialmente pela área ocupada por células.

Neste sentido, os tratamentos posicionados à direita (Figura 11) possuem menor espaço intercelular e, por conseguinte, maior a área ocupada por células. O oposto também é verdadeiro. Analisando o posicionamento dos tratamentos se pode visualizar que T12 apresentou o menor espaço intercelular, com redução de 28,66% (Apêndice B) em relação a testemunha (T1), sendo o melhor protocolo considerando esta variável. Se pode ainda destacar que T11, T9 e T8 também foram capazes de reduzir o espaço intercelular quando comparados a testemunha em 25,81%, 11,69% e 11,31%, respectivamente.

Deste modo, foi possível formar um grupo para estes tratamentos para as variáveis associadas a estrutura celular. Quando analisados os dados médios (Apêndice B) se constata que a área ocupada por células foi maior em T12 (281302,543 μm^2), T11 (279669,332 μm^2), T9 (275121,360 μm^2) e T8 (271363,665 μm^2).

Figura 11 – Comportamento celular de frutos tratados com fitoreguladores para aumento de tamanho de frutos, ciclo 2022/23, Vacaria - RS



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

A segunda componente principal foi responsável por diferenciar os protocolos principalmente em relação a dimensão e quantidade das células, sendo capaz de explicar 35,7% da variação dos dados. Assim, os protocolos 7, 10, 8, 11 e 12 demonstraram a maior quantidade de células que os demais, sendo diferenciados pela dimensão das células e, conseqüentemente, pela área ocupada por células e espaço intercelular.

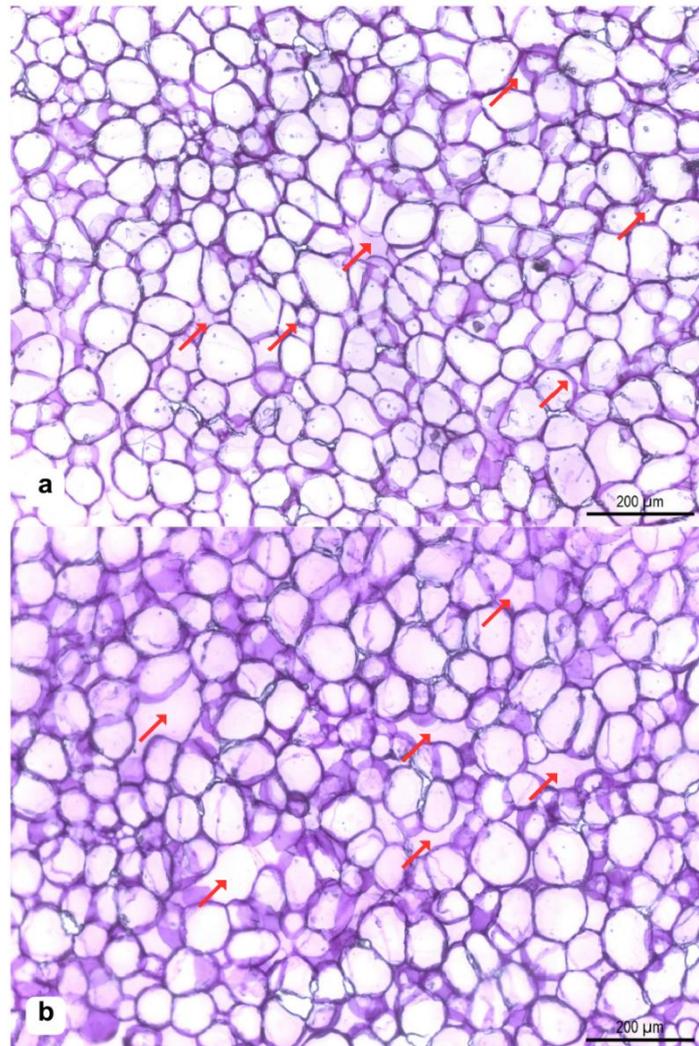
Ao serem comparados os ciclos de produção, os protocolos 8 e 9 mantiveram o mesmo comportamento, com o protocolo 8 (triptofano) possuindo o maior número de células e o protocolo 9 (ANA 6 ppm) com maior dimensão das células. Considerando que ambos possuíram o mesmo número e estádios de aplicação se pode inferir que o uso de uma fonte de auxina ou de um precursor da mesma influencia o comportamento celular de forma distinta. Neste sentido, triptofano demonstrou ser mais efetivo na promoção da divisão celular. Por outro lado, quando empregado ANA o principal efeito foi sobre a dimensão das células. Deste modo, esse resultado sugere que há um comportamento contrário entre as substâncias.

No segundo ano de avaliação foram acrescentados três protocolos às avaliações. O protocolo 10 utilizou o mesmo número e momentos de aplicação que o protocolo 9, no entanto, se empregou uma dose superior de ANA, correspondente a 10 ppm. O aumento da dose de ANA resultou no incremento de divisão celular, quando comparado ao T9 somente (Figura 11), aumentando o número de células, tornando-as, no entanto, menores, o que se associou negativamente com espaço intercelular. Detalhes da estrutura celular do tratamento 10 comparado ao testemunha, no ciclo 2022/23, podem ser visualizados na Figura 12 a seguir.

Os protocolos 11 e 12, também inseridos no segundo ano de avaliação, consideraram aplicações em dois estádios diferentes dos demais protocolos: frutos de 8-10 mm e frutos de 25-27 mm. O protocolo 11 usou apenas 6-BA, ao passo que o protocolo 12 combinou aplicações de 6-BA com ANA. A quantidade de células dos protocolos 8, 11 e 12 não se diferenciou, com 71 células em $322178,625 \mu\text{m}^2$ (Apêndice B). No entanto, a dimensão das células foi respectivamente crescente, possibilitando ao protocolo 12 uma maior área ocupada por células e, conseqüentemente, um menor espaço intercelular (Figura 11).

Diante do exposto, se nota que a alteração da estrutura celular não está relacionada simplesmente com substâncias promotoras e doses, mas é intimamente relacionada com os estádios de aplicação.

Figura 12 – Imagens de microscopia óptica do córtex de frutos de maçã ‘Maxi Gala’ aos 50 DAPF, ciclo 2022/23. As setas em vermelho comparam menores espaços intercelulares em T1 (a) e espaços intercelulares maiores em T10 (b). (A barra corresponde a 200 μ m)



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Em relação a variável de crescimento de frutos não houve diferença significativa entre as relações diâmetro/altura (Tabela 7). Como base, se admite que valores mais próximos a 1 conotam frutos com formatos uniformes, sendo que ao passo que esse valor aumenta se considera que os frutos se tornam mais largos, isto é, com forma achatada, característica não desejada comercialmente. Com base nos dados (Tabela 7), em todas as avaliações essa relação apresentou valores próximos a 1, demonstrando que as substâncias utilizadas não causam deformação nos frutos.

Tabela 7 – Relação diâmetro/altura médios para frutos mensurados aos 36 DAPF, 78 DAPF e 105 DAPF

Tratamento	Relação diâmetro e altura de frutos (mm)		
	36 DAPF	78 DAPF	105 DAPF
T1	0,91	1,01	1,04
T2	0,91	1,02	1,04
T3	0,92	1,04	1,05
T4	0,92	1,03	1,05
T5	0,91	1,02	1,04
T6	0,95	1,04	1,07
T7	0,92	1,04	1,07
T8	0,90	1,02	1,03
T9	0,94	1,03	1,04
T10	0,90	1,01	1,02
T11	0,93	1,03	1,05
T12	0,91	1,03	1,05

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Para a análise do diâmetro médio de frutos aos 105 DAPF (Tabela 8), não houve diferença estatística entre os tratamentos, sendo o diâmetro médio observado de 60,46 mm.

Tabela 8 – Diâmetro médio de frutos de 'Maxi Gala' aos 105 DAPF. Vacaria – RS, 2023

Tratamento	Diâmetro médio de fruto (mm)
	105 DAPF
T1	64,06 ^{ns}
T2	62,88
T3	62,22
T4	61,55
T5	60,71
T6	60,53
T7	60,16
T8	59,46
T9	59,37
T10	58,37
T11	58,21
T12	58,09
CV (%)	5,48
Média	60,46

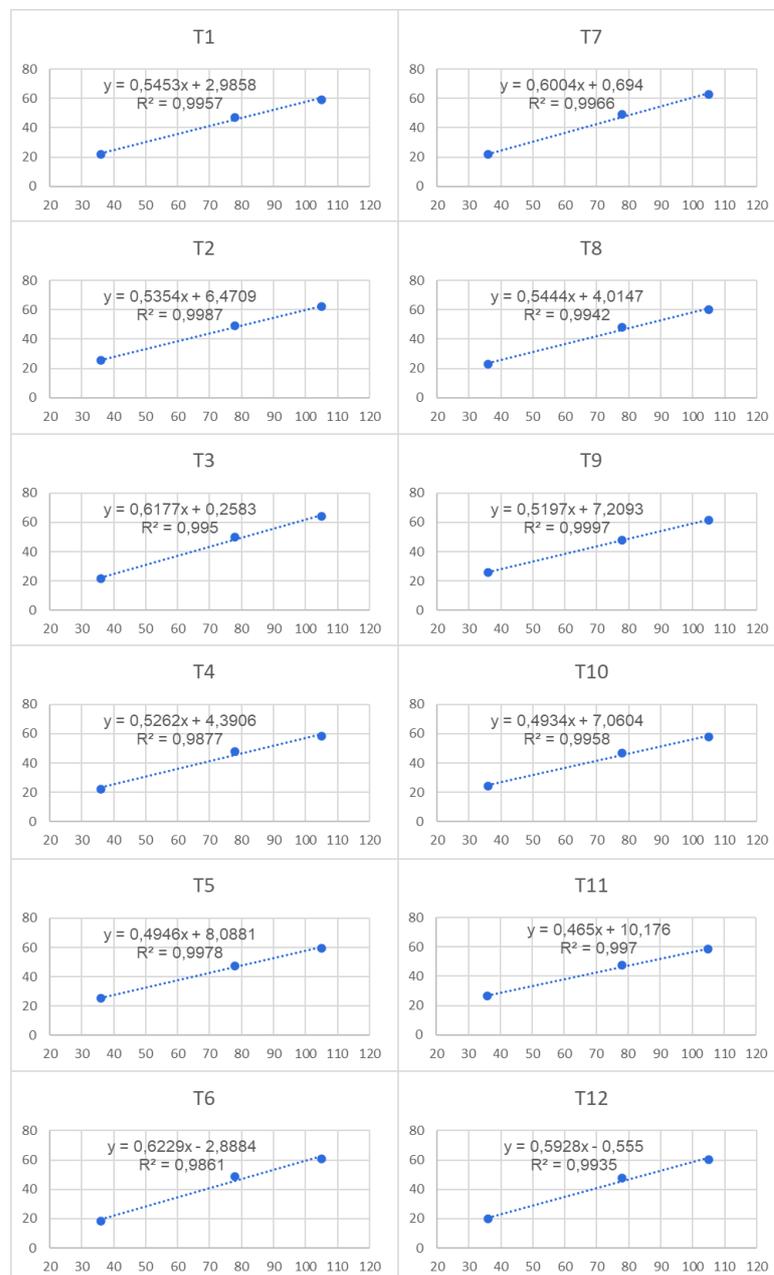
^{ns} - não significativo pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

No que diz respeito ao incremento em diâmetro dos frutos ao longo do ciclo, conforme gráficos da Figura 13, se pode observar significativa regressão linear para

o crescimento dos frutos em todos os protocolos (dados médios de diâmetro em cada data de avaliação disponíveis no Apêndice K), comportamento que está de acordo com o apresentado por McATEE et al. (2009), os quais afirmam que o crescimento é constante ao longo do ciclo de produção.

Figura 13 – Regressão linear para o comportamento de crescimento de frutos de macieiras ‘Maxi Gala’ ao longo da estação de crescimento, com o eixo x representado pelo número de dias após a plena floração (DAPF) e o eixo y pelo diâmetro médio de frutos (mm)



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Para a variável de número de frutos por planta em pré-colheita não houve diferença significativa entre a maior parte dos tratamentos (Tabela 9), havendo distinção apenas entre os tratamentos 7 e 8.

Tabela 9 – Número médio de frutos em pré-colheita em plantas de macieira ‘Maxi Gala’ sob diferentes protocolos para aumento do tamanho de frutos. Vacaria- RS, 2023

Tratamento	Número de frutos
T1	120 ab
T2	121 ab
T3	119 ab
T4	121 ab
T5	128 ab
T6	125 ab
T7	88 b
T8	153 a
T9	125 ab
T10	138 ab
T11	137 ab
T12	129 ab
CV (%)	19,61
Média	125

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.
 Fonte: Elaborada pela autora (2023).

5 DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE CELULAR E DESEMPENHO PRODUTIVO

Com base no comportamento celular observado aos 50 DAPF no ciclo 2021/23, se pode inferir que o aumento da dimensão das células possui relação com o incremento no calibre dos frutos. Assim, houve relação positiva entre a dimensão celular aos 50 DAPF nos tratamentos 5,3 e 9 e maior percentual de frutos grandes observados nestes tratamentos na colheita.

Neste sentido, foi observado que o principal efeito dos protocolos de aplicação foi sobre o aumento da dimensão celular, especialmente no primeiro ciclo de avaliação. O aumento da dimensão das células é sugerido em outros trabalhos como um dos processos responsáveis pelo crescimento dos frutos (DRAZETA et al., 2004; HARADA et al., 2005; MCATEE et al., 2009). Além disso, é proposto que o aumento das lacunas de ar entre as células, ou seja, de espaço intercelular, também contribua para o aumento do tamanho do fruto (McATEE et al., 2009), o que pode explicar o resultado obtido no tratamento 3 no ciclo 2022/23.

O menor efeito da 6-BA, ANA e triptofano no incremento do número de células pode estar associado ao balanço hormonal já estabelecido nas plantas no momento das aplicações. McAtee et al. (2013) afirmam haver mudanças complexas a nível molecular, bioquímico e estrutural durante as fases que envolvem o crescimento dos frutos. Desta forma, ao serem aplicados as substâncias, o meio regulatório da própria planta pode desencadear respostas distintas diante de um novo aporte hormonal.

Além disso, as condições do ambiente, sobretudo a temperatura, impactam o comportamento da divisão e expansão celular, especialmente no período de aplicação adotado no presente estudo. Vários autores salientam que as condições de temperatura durante as primeiras semanas após a plena floração impactam substancialmente o crescimento de frutos (BERGH, 1990; WARRINGTON, 1999; STANLEY et al., 2000), pois além da temperatura afetar o metabolismo celular (FLAISHMAN et al., 2015) esse período coincide com a fase de divisão das células (HARADA et al., 2005; LAKSO; GOFFINET, 2013).

No ciclo 2022/23 o número de células entre os tratamentos foi muito similar, mesmo com variação entre a carga frutal. Tal comportamento foi evidenciado em T7 (88 frutos planta⁻¹) e T8 (153 frutos planta⁻¹) (Tabela 9), que apresentaram 71 células em uma área de 322178,625 μm^2 (Apêndice B). Contudo, em uma análise geral, no

ciclo 2022/23 o número de células entre os protocolos foi menor em relação ao ciclo 2021/22. Este comportamento pode estar relacionado às condições climáticas do local (Tabelas 1 a 3), tendo em vista que as temperaturas na primavera/verão foram mais baixas no segundo ciclo de avaliação. No comparativo, as temperaturas de setembro a fevereiro de 2022/23 foram menores as de 2021/22 em: 9,2°C; 6,4°C; 9,6°C; 8,1°C; 1,2°C e 1,0°C, respectivamente.

As aplicações na fase de frutos em crescimento (8-10 mm e 25-27 mm) foram mais eficientes para reduzir espaço intercelular e aumentar a área ocupada por células. Assim, T12 (40876,130 μm^2) apresentou o menor espaço entre células, com redução de 28,66% comparado a testemunha (57298,348 μm^2). Além disso, comparado ao T9, cujas aplicações de 6-BA também foram combinadas com 6ppm de ANA, porém não ultrapassando o estágio de queda de pétalas, houve incremento de 7,75% no número de células.

Embora represente um percentual relativamente baixo, a contribuição deste incremento foi alta, pois o espaço intercelular foi reduzido em 19,20% no tratamento 12. Considerando que a valor de área celular entre T9 e T12 foi praticamente a mesma (diferença percentual de apenas 2,10%), o que explica a redução no espaço intercelular é o número de células.

De modo geral, o uso de ANA e triptofano reduziu o espaço intercelular em relação a testemunha e ao uso isolado de 6-BA, exceto para T11, onde uma aplicação de 6-BA em plena floração e uma em frutos com 8-10 mm também reduziu o espaço em 25,81% em comparação a testemunha. A redução no espaço intercelular observada com a aplicação de triptofano na safra 2021/2022 se repetiu, contudo, de forma menos intensa.

Em relação ao desempenho produtivo, a produção por planta e produtividade variaram entre os tratamentos no ciclo 2021/2022. A produtividade de frutos foi estatisticamente superior no tratamento 2 em relação aos demais, exceto quando comparado aos tratamentos 3 e 9 (Apêndice E). A maior produtividade em T2 pode ter decorrido do maior número de frutos por planta deste tratamento, pois se considera que este fator impacta diretamente na produção da plantas (BU et al., 2020). Os tratamentos 3 e 9, por sua vez, também não diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, sendo que o maior percentual de frutos grandes dos mesmos pode ter contribuído para o incremento em produtividade.

Para o ciclo produtivo de 2022/23, com base nos dados de contagem de frutos em pré- pré-colheita, os tratamentos não se diferenciaram, exceto em T7 e T8, que se distinguiram entre si por terem, respectivamente, o menor (88 frutos planta⁻¹) e o maior número de frutos (153 frutos planta⁻¹). Contudo, até os 105 DAPF não houve distinção entre os tratamentos para o diâmetro de frutos. Assim sendo, somente os dados de produção a serem obtidos na colheita poderão elucidar o comportamento das plantas em relação aos aspectos produtivos no segundo ciclo de avaliação.

5.2 QUALIDADE DE FRUTOS DO CICLO 2021/22

Com exceção da firmeza, outros parâmetros de qualidade, representados por formato do fruto, coloração da epiderme e sólidos solúveis, não foram influenciados pelos pela aplicação dos fitorreguladores. A firmeza está entre os parâmetros mais relevantes para determinar o ponto de colheita, pois é um importante índice de maturação. Para longos períodos de armazenagem de maçãs do grupo Gala é recomendado firmeza de polpa entre 19 e 17 lb (84,4 e 75,6 N). Por outro lado, para médios períodos de armazenagem o limite de firmeza de polpa na colheita deve ser de 16 lb (71,1 N) (SCOLARO et al., 2015), sendo adotado esse valor como o ideal no presente estudo.

A colheita de frutos no ponto ideal é fundamental para a armazenagem e qualidade dos frutos no período pós-colheita (ORNELAS-PAZ et al., 2018). Quando colhidas de forma precoce parâmetros como sabor, coloração da epiderme e tamanho dos frutos são prejudicados, reduzindo a qualidade dos mesmos. Do mesmo modo, colheitas com ponto de maturação acima do ideal intensificam a perda de firmeza e reduzem a capacidade de armazenamento dos frutos (FATHIZADEH; ABOONAJMI; HASSAN-BEYGI, 2021).

Neste sentido, os dados de firmeza obtidos na colheita (Apêndice I) evidenciam que T1 (17,76 lb), T3 (17,93 lb), T5 (17,40), T2 (16,44lb) e T7 (16,31 lb) estavam em ponto de maturação adequados. Todavia, T9, T4, T6 e T8 estavam com firmeza abaixo do ideal, com 15,37 lb, 15,65 lb, 14,30 lb e 14,23 lb, respectivamente. De fato, dos três tratamentos com o maior índice de firmeza de polpa (T1, T3 e T5) dois deles foram associados a menor perda de firmeza no período de armazenagem refrigerada, sendo estes T5 e T1. Quando este comportamento é relacionado com a estrutura celular se verifica que a manutenção da firmeza pode ter sido favorecida nestes

tratamentos de duas formas distintas. Em T1, embora o espaço intercelular tenha sido elevado, foi o tratamento com maior número de células. O T5, por sua vez, apresentou menos células, mas o espaço intercelular dos frutos era menor.

A relação da estrutura celular com a firmeza já é bem estabelecida, sendo dois atributos fortemente ligados (ALLAN-WOJTAS et al., 2003; RIJAS-CANDELAS et al., 2021; YANG et al., 2022). Em frutos climatéricos, como a maçã, a perda de firmeza decorre especialmente pela despolimerização de polissacarídeos da parede celular pela ação de enzimas hidrolíticas (CÁRDENAS-PÉREZ et al., 2017), pela redução do turgor celular e alterações nas características da cutícula (SU et al., 2022). O fator dimensão e forma das células também é citado entre os de maior influência na firmeza dos frutos (ORNELAS-PAZ et al., 2018). Desta forma, a perda de firmeza de apenas 5% do tratamento 5 pode ser explicada pela maior área ocupada por células e o menor espaço intercelular, conforme apontado em outros estudos (ROJAS-CANDELAS, 2021; SU et al., 2022).

O tratamento 3, embora estivesse entre os mais firmes na colheita, apresentou perda de firmeza de 3,32 lb, uma redução de 18,51% em relação a firmeza inicial, o que representa um valor intermediário considerando os demais tratamentos (Apêndice I). Este resultado pode estar associado ao menor número de células e maior espaço intercelular observada no tratamento (Apêndice A). Conforme demonstrado por Ng et al. (2013) essas características influenciam negativamente a firmeza, além de indicarem menor área de contato célula-a-célula, fator importante para determinação da firmeza.

Para os demais tratamentos (T9, T4, T6 e T8) entende-se que a menor firmeza na colheita pode ter reduzido o potencial de armazenagem dos mesmos, prejudicando a capacidade de manutenção da firmeza se comparados a outros tratamentos. Com isso, a comparação da perda de firmeza destes com os tratamentos colhidos no ponto ideal pode desfavorece-los.

Uma análise, no entanto, que pode indicar o efeito do espaço intercelular na manutenção da firmeza pode ser realizada entre T7 e T8, cujos frutos estavam, respectivamente, com firmeza adequada e abaixo do ideal. O tratamento 8, mesmo com firmeza 2,08 lb menor, ainda foi capaz de ter perda de firmeza menor após 30 dias de armazenamento (Apêndice I). Embora a diferença tenha sido, numericamente baixa, ao considerar a firmeza inicial, T8 manteve os frutos mais firmes. Esse

comportamento pode estar diretamente associado a estrutura celular, pois este teve espaço intercelular 44,04% menor que T7.

É importante considerar que os dados de firmeza deste estudo foram obtidos de um único ciclo produtivo. Esta é uma limitação importante em termos de fornecer conclusões efetivas sobre a real influência dos protocolos e das alterações da estrutura celular na qualidade dos frutos.

CONCLUSÕES

- As doses e estádios de aplicação de fitorreguladores influenciam diretamente a dimensão das células;
- A 6-benziladenina aumenta a dimensão das células independente do estágio fenológico de aplicação;
- Triptofano promove maior divisão celular, se associando a maior quantidade de células menores, enquanto ANA se relaciona a células de maior dimensão;
- A redução do espaço intercelular reduz a perda de firmeza dos frutos no período de armazenagem;
- O incremento na dimensão e/ou número de células é inversamente proporcional ao espaço intercelular, proporcionando o aumento do tamanho do fruto;
- O uso combinado de ANA e 6-BA se mostrou promissor em testes futuros, pois promoveu a melhor relação entre estrutura celular e aumento do tamanho de frutos;
- Para estágio de aplicação, pesquisas futuras devem considerar aplicações em frutos com 8-10 mm, pois verificou-se comportamento de interesse em frutos tratados neste estágio, com aumento no número de células e redução de espaço intercelular.

REFERÊNCIAS

- ALI, Muhammad Moaaz et al. Effect of environmental factors on growth and development of fruits. **Tropical Plant Biology**, v. 14, p. 226-238, 2021.
- ALLAN-WOJTAS, P. et al. An Integrated Microstructural and Sensory Approach to Describe Apple Texture. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 128, n. 3, p. 381-390, 2003.
- ARGENTA, Luiz Carlos et al. Fruit quality of 'Gala' and 'Fuji' apples cultivated under different environmental conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 303, p. 111195, 2022.
- BERGH, O. Effect of time of hand-thinning on apple fruit size. *South African Journal of Plant and Soil*, v. 7, n. 1, p. 1-10, 1990.
- BHATLA, Satish. C. Auxins. In: BHATLA, Satish C.; LAL, Manju A. **Plant physiology, development and metabolism**. 1 ed. Singapura: Springer, 2018. p. 569-601.
- BONS, Harsimrat K.; KAUR, Manjot. Role of plant growth regulators in improving fruit set, quality and yield of fruit crops: a review. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 95, n. 2, p. 137-146, 2020.
- BRDE - Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul.
Cadeia produtiva da maçã: produção, armazenagem, comercialização, industrialização e financiamentos do BRDE na região sul do Brasil. Porto Alegre: BRDE, 2005.
- BU, Haidong et al. Endogenous auxin content contributes to larger size of apple fruit. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 592-540, 2020.
- BUBÁN, T. The use of benzyladenine in orchard fruit growing: a mini review. **Plant growth regulation**, v. 32, n. 2, p. 381-390, 2000.
- CÁRDENAS-PÉREZ, S. et al. Prediction of the nanomechanical properties of apple tissue during its ripening process from its firmness, color and microstructural parameters. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 39, p. 79-87, 2017.
- CHO, Lae-Hyeon; YOON, Jinmi; AN, Gynheung. The control of flowering time by environmental factors. **The Plant Journal**, v. 90, n. 4, p. 708-719, 2017.
- CSUKASI, Fabiana et al. Gibberellin biosynthesis and signalling during development of the strawberry receptacle. **New Phytologist**, v. 191, n. 2, p. 376-390, 2011.
- DASH, Madhumita; MALLADI, Anish. The AINTEGUMENTA genes, MdANT1 and MdANT2, are associated with the regulation of cell production during fruit growth in apple (*Malus domestica* Borkh.). **BMC Plant Biology**, v. 12, n. 1, p. 1-15, 2012.
- DENARDI, Frederico. Variedades. In: FIORAVANÇO, João Caetano; SANTOS, Régis Sivori Silva dos (ed.). **Maçã: o produtor pergunta, a Embrapa responde**.

Coleção 500 perguntas, 500 respostas. Brasília, 2013. Cap. 4, p. 41-56. Disponível em: <https://mais500p500r.sct.embrapa.br/view/pdfs/90000020-ebook-pdf.pdf>. Acesso em: 28 mar. 2020.

DEVOGHALAERE, Fanny et al. A genomics approach to understanding the role of auxin in apple (*Malus x domestica*) fruit size control. **BMC Plant Biology**, v. 12, n. 1, p. 1-15, 2012.

DIN, Shaila et al. Fruit set and development: Pre-requisites and enhancement in temperate fruit crops. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 2, p. 1203-1216, 2019.

DRAŽETA, Lazar et al. Air volume measurement of 'Braeburn' apple fruit. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 399, p. 1061-1069, 2004.

ECCHER, G. et al. Apple (*Malus domestica* L. Borkh) as an emerging model for fruit development. **Plant Biosystems**, v. 148, n. 1, p. 157-168, 2014.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de solos**, 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa CNPS, 2006. 306p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **World Food and Agriculture: Statistical Yearbook 2021**. Rome. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cb4477en>. Acesso em 14 nov.2022.

FAORO, Ivan Dagoberto. **Um pouco da história do grupo 'Gala'**. Agapomi, n.323, abril, p.8-9, 2021.

FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Crops and livestock products. 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em 14 nov. 2021.

FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Value of Agricultural Production. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>. Acesso em 14 nov.2022.

FARINATI, Silvia et al. Rosaceae fruit development, ripening and post-harvest: an epigenetic perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1247, 2017.

FATHIZADEH, Zahed; ABOONAJMI, Mohammad; HASSAN-BEYGI, Seyed Reza. Nondestructive methods for determining the firmness of apple fruit flesh. **Information Processing in Agriculture**, 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar versão 5.8. Lavras: DEX/Ufla, v.79, 2018.

FIORAVANÇO, João Caetano et al. **Cultura da macieira no Rio Grande do Sul: análise situacional e descrição varietal**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010.

FLAISHMAN, Moshe A. et al. Differential response of cell-cycle and cell-expansion regulators to heat stress in apple (*Malus domestica*) fruitlets. **Plant Science**, v. 233, p. 82-94, 2015.

FRANCESCATTO, Poliana. **Desenvolvimento das estruturas reprodutivas da macieira (*Malus domestica* Borkh.) sob diferentes condições climáticas** – da formação das gemas à colheita dos frutos. 2014. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

GALIMBA, Kelsey D. et al. Gibberellic acid induced parthenocarpy ‘Honeycrisp’ apples (*Malus domestica*) exhibit reduced ovary width and lower acidity. **Horticulture Research**, v. 6, 2019.

GOOGLE EARTH PRO. Versão 7,3,6. Acesso em 16. Jan. 2023.

HARADA, Takeo et al. Involvement of cell proliferation and cell enlargement in increasing the fruit size of *Malus* species. **Scientia Horticulturae**, v. 105, n. 4, p. 447-456, 2005.

HARTIG, Katja; BECK, Erwin. Crosstalk between auxin, cytokinins, and sugars in the plant cell cycle. **Plant Biology**, v. 8, n. 03, p. 389-396, 2006.

HIRST, Peter M. et al. Advances in understanding flowering and pollination in apple trees. **Achieving sustainable cultivation of apples**, p. 109-126, 2017.

HORTIFRUTI/CEPEA. **Anuário 2020-2021**. São Paulo: Esalq/USP, n. 207, 2020.

Disponível em:

<https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/retrospectiva-2020-perspectivas-2021.aspx>. Acesso em: 14 mar. 2021.

HORTIFRUTI/CEPEA. **Especial frutas 2022**: Por que as exportações recordes de 2021 não se sustentaram em 2022?. São Paulo: Esalq/USP, n.228, nov. 2022. Disponível em: <https://www.hfbrasil.org.br/br/revista.aspx>. Acesso em 14 nov.2022.

Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2023). Gráficos Anuais de Condições Registradas. Disponível em: <https://tempo.inmet.gov.br/PrecAcumulada>. Acesso em 09. fev.2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTADÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>. Acesso em: 11 abr. 2021.

JIANG, Kai; TADAO, Asami. Chemical regulators of plant hormones and their applications in basic research and agriculture. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 82, n. 8, p. 1265-1300, 2018.

JING, Shan; MALLADI, Anish. Identification of potential regulators of cell production and early fruit growth in apple (*Malus domestica* Borkh.). **Scientia Horticulturae**, v. 297, p. 110939, 2022.

KALRA, Geetika; BHATLA, Satish. Cytokinins. In: BHATLA; Satish; LAL, Manju. **Plant Physiology, Development and Metabolism**. Singapura: Springer, 2018. p. 603-615.

KARIM, Siti Khadijah A. et al. Cell division controls final fruit size in three apple (*Malus domestica*) cultivars. **Horticulturae**, v. 8, n. 7, p. 657, 2022a.

KRETZSCHMAR, Aike Anneliese; RUFATO, Leo. Maçãs: O que você ainda não sabe sobre a atividade. **Campo&Negócios**. 2020. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/macac-o-que-voce-ainda-nao-sabe-sobre-a-atividade/>. Acesso em: 17 abr.2021.

KUDO, Toru; KIBA, Takatoshi; SAKAKIBARA, Hitoshi. Metabolism and long-distance translocation of cytokinins. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 52, n. 1, p. 53-60, 2010.

KVISTSCHAL; Marcus Vinícius; DENARDI, Frederico; HAWERROTH, Maraisa Crestani. Características das cultivares brasileiras de maçã. **Revista Campo e Negócios**, 2015.

LAKSO, Alan; GOFFINET; Martin. Apple Fruit Growth. New York fruit quarterly. **Springer**, v. 21, n. 1, 2013. Disponível em: <http://www.hort.cornell.edu/expo/proceedings/2014/Tree%20Fruit/Apple%20Fruit%20Growth%20Lakso.pdf>. Acesso em 22 mar. 2020.

LETHAM, D. S. Regulators of Cell Division in Plant Tissues: VI. The effects of zeatin and other stimulants of cell division on apple fruit development. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 1, p. 1-20, 1969.

POLES, L. et al. Role of fruit flesh cell morphology and MdPG1 allelotype in influencing juiciness and texture properties in apple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 164, p. 111161, 2020.

LÖTZE, E.; BERGH, O. Early prediction of harvest fruit size distribution of an apple and pear cultivar. **Scientia Horticulturae**, v. 101, n. 3, p. 281-290, 2004.

McATEE, Peter A. et al. A rapid method of fruit cell isolation for cell size and shape measurements. **Plant methods**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2009.

McATEE, Peter et al. A dynamic interplay between phytohormones is required for fruit development, maturation, and ripening. *Frontiers in Plant Science*, v. 4, p. 79, 2013.

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

MALLADI, Anish; JOHNSON, Lisa Klima. Expression profiling of cell cycle genes reveals key facilitators of cell production during carpel development, fruit set, and fruit

growth in apple (*Malus domestica* Borkh.). **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 1, p. 205-219, 2011.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 5, de 9 de fevereiro de 2006**. Regulamento Técnico da Maçã. 2006.

MARCOTTE, Bastien Vallée et al. Health Benefits of Apple Juice Consumption: A Review of Interventional Trials on Humans. **Nutrients**, v. 14, n. 4, p. 821, 2022.

MARINI, Richard; SHERIF, Sherif; SMITH, Alson. Physiology of pruning fruit trees. **Virginia Cooperative Extension**, Virginia Tech, p. 1-8, 2020.

MARIOTTI, Lorenzo et al. Fruit-set and early fruit growth in tomato are associated with increases in indoleacetic acid, cytokinin, and bioactive gibberellin contents. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 4, p. 405-415, 2011.

MILOŠEVIĆ, Tomo; MILOŠEVIĆ, Nebojša; MLADENOVIĆ, Jelena. The influence of organic, organo-mineral and mineral fertilizers on tree growth, yielding, fruit quality and leaf nutrient composition of apple cv. 'Golden Delicious Reinders'. **Scientia Horticulturae**, v. 297, p. 110978, 2022.

MOSA, Walid FA; ALI, Hayssam M.; ABDELSALAM, Nader R. The utilization of tryptophan and glycine amino acids as safe alternatives to chemical fertilizers in apple orchards. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 1983-1991, 2021.

MUSACCHI, Stefano; SERRA, Sara. Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 409-430, 2018.

NG, Jovyn KT, et al. Cell wall structures leading to cultivar differences in softening rates develop early during apple (*Malus x domestica*) fruit growth. **BMC Plant Biology**, v.13, n.183, p. 1-17, 2013.

OLABINJO, Oyebola et al. Analysis of physical and chemical composition of sweet orange (*Citrus sinensis*) peels. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 238892, 2017.

ORNELAS-PAZ, José de Jesús et al. Relationship between the firmness of Golden Delicious apples and the physicochemical characteristics of the fruits and their pectin during development and ripening. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 33-41, 2018.

OZGA, Jocelyn; VAN HUIZEN, Rika; REINECKE, Dennis. Hormone and seed-specific regulation of pea fruit growth. **Plant Physiology**, v. 128, n. 4, p. 1379-1389, 2002.

PETRI, José Luiz et al. **Reguladores de crescimento para frutíferas de clima temperado**. Florianópolis: Epagri, 2016. 229p.

PETRI, José Luiz et al. **Raleio de frutos na cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2017. 61p. (Epagri. Boletim Técnico, 179).

RADEMACHER, Wilhelm. Plant Growth Regulators: Backgrounds and Uses in Plant Production. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 4, p. 845-872, 2015.

READ, Nicola C.; SCHAFFER, Robert J.; DAVID, Karine M. But Weight, There's More: Genetic and Hormonal Control of Fruit Size in Fleshy Fruits. **Annual Plant Reviews online**, p. 215-250, 2018.

ROJAS-CANDELAS, L. E. et al. Physicochemical, structural and nanomechanical study elucidating the differences in firmness among four apple cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, v. 171, p. 111342, 2021.

SCHALLER, G. Eric; BISHOPP, Anthony; KIEBER, Joseph J. The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development. **The Plant Cell**, v. 27, n. 1, p. 44-63, 2015.

SCOLARO, ANDREIA et al. Controle da maturação pré-colheita de maçãs 'Royal Gala' pela inibição da ação ou síntese do etileno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 38-47, 2015.

SHAMSI, Imran Haider et al. The Role of Growth Regulators in Senescence. In: SARWAT, Maryam; TUTEJA, Narendra (Org). **Senescence Signalling and Control in Plants**. Academic Press: Elsevier, 2018. Cap. 6, p. 99-110.

SIDHU, Ramandeep Singh; BOUND, Sally A.; HUNT, Ian. Crop Load and Thinning Methods Impact Yield, Nutrient Content, Fruit Quality, and Physiological Disorders in 'Scilate' Apples. **Agronomy**, v. 12, n. 9, p. 1989, 2022.

SOZO, J. Cultivares de macieira: a visão do produtor. *In: XVI Enfrute*. Fraiburgo, Santa Catarina. **Anais...** Caçador: Epagri, vol. 1 (palestras), p. 26-31, 2019.

SU, Qiufang et al. Variation in cell wall metabolism and flesh firmness of four apple cultivars during fruit development. **Foods**, v. 11, n. 21, p. 3518, 2022.

STANLEY, C. J. et al. Towards understanding the role of temperature in apple fruit growth responses in three geographical regions within New Zealand. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 75, n. 4, p. 413-422, 2000.

STERN, Raphael A.; FLAISHMAN, Moshe A. Benzyladenine effects on fruit size, fruit thinning and return yield of 'Spadona' and 'Coscia' pear. **Scientia Horticulturae**, v. 98, n. 4, p. 499-504, 2003.

STERN, Raphael A. et al. CPPU and BA increase fruit size of 'Royal Gala' (*Malus domestica*) apple in a warm climate. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 78, n. 3, p. 297-302, 2003.

STERN, Raphael A. et al. Effect of synthetic auxins on fruit development of 'Bing' cherry (*Prunus avium* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 114, n. 4, p. 275-280, 2007.

TAIZ, Lincoln; Zeiger, Eduardo. Sinais e Transdução de Sinais. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. p. 418.

TODA FRUTA. **Maçã**: Santa Catarina espera colher melhor safra da história. Revista Toda Fruta. 2022. Disponível em: <https://www.todafruta.com.br>. Acesso em 24 set. 2022.

WANG, Yu Hua; IRVING, Helen R. Developing a model of plant hormone interactions. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 4, p. 494-500, 2011.

WARRINGTON, I. J. et al. Apple fruit growth and maturity are affected by early season temperatures. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 124, n. 5, p. 468-477, 1999.

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

YANG, Ling et al. Differential pulp cell wall structures lead to diverse fruit textures in apple (*Malus domestica*). **Protoplasma**, v. 259, n. 5, p. 1205-1217, 2022.

ZADRAVEC, P. et al. Fruit growth patterns of four apple cultivars using nonlinear growth models. **European Journal Horticultural Science**, v. 79, p. 52-59, 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A - MÉDIAS DAS VARIÁVEIS ASSOCIADAS AO COMPORTAMENTO CELULAR³ DE FRUTOS DE 'MAXI GALA' SOB DIFERENTES PROTOCOLOS PARA AUMENTO DE TAMANHO DE FRUTO, CICLO 2021/22, VACARIA-RS.

Tratamento	Número de Células	Dimensão celular (μm^2)	Desvio padrão da dimensão celular	Área ocupada por células (μm^2)	Desvio padrão da área ocupada	Espaço intercelular (μm^2)
T1	88	3177,034	1784,391	237266,867	1758,078	84911,758
T2	68	4132,549	1958,432	238335,838	2034,699	83842,787
T3	65	4704,860	2284,644	265340,377	2398,247	56838,248
T4	80	4002,463	1923,243	268058,479	2014,167	54120,146
T5	77	4748,371	2096,458	300845,715	2286,797	21332,910
T6	76	4238,788	2047,962	280199,489	2105,540	41979,136
T7	81	4237,641	1977,251	276462,856	2066,479	45715,769
T8	84	4262,901	2039,785	296599,776	2168,497	25578,849
T9	72	4435,149	2079,142	281114,395	2211,564	41064,230

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

³ Variáveis mensuradas em uma área correspondente a 322178,625 μm^2 .

APÊNDICE B - MÉDIAS DAS VARIÁVEIS ASSOCIADAS AO COMPORTAMENTO CELULAR⁴ DE FRUTOS DE 'MAXI GALA' SOB DIFERENTES PROTOCOLOS PARA AUMENTO DE TAMANHO DE FRUTO, CICLO 2022/23, VACARIA-RS.

Tratamento	Número de Células	Dimensão celular (μm^2)	Desvio padrão da dimensão celular	Área ocupada por células (μm^2)	Desvio padrão da área ocupada	Espaço intercelular (μm^2)
T1	68	4913,760	2141,602	264880,326	2286,400	57298,348
T2	66	4869,221	1766,918	263899,607	2016,418	58279,066
T3	65	4964,565	2008,891	269083,407	2218,092	53095,267
T4	66	4862,244	1853,137	266998,332	2064,003	55180,342
T5	67	4563,478	1883,470	261666,999	2026,358	57801,468
T6	67	4838,269	1970,884	265636,713	2197,987	56541,961
T7	71	4359,047	1953,274	260030,948	2093,785	62147,725
T8	71	4439,816	1969,530	271363,665	2055,916	50815,009
T9	66	4863,887	2043,894	275121,360	2161,335	50594,603
T10	70	4348,218	1979,386	258898,508	2088,799	63280,166
T11	71	4539,799	1887,832	279669,332	2080,100	42509,341
T12	71	4763,502	2244,234	281302,543	2368,712	40876,130

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

⁴ Variáveis mensuradas em uma área correspondente a 322178,625 μm^2 .

**APÊNDICE C – DIÂMETRO, ALTURA E PESO DE FRUTOS AOS 50 DIAS APÓS
A PLENA FLORAÇÃO (DAPF), CICLO 2021/22, VACARIA – RS.**

Tratamento	Diâmetro médio (mm)	Altura (mm)	Massa fresca (g)
T1	26,79 ^{ns}	30,29 ^{ns}	11,59 ^{ns}
T2	25,74	30,00	10,22
T3	27,51	29,99	11,70
T4	26,12	29,20	10,13
T5	26,71	30,39	11,43
T6	25,86	28,29	9,79
T7	25,27	28,46	9,61
T8	25,65	28,80	9,83
T9	27,17	30,94	11,72
CV (%)	3,76	4,24	11,87
Média	26,31	29,58	10,67

^{ns} - não significativo entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

**APÊNDICE D – DIÂMETRO, ALTURA E PESO DE FRUTOS AOS 50 DIAS APÓS
A PLENA FLORAÇÃO (DAPF), CICLO 2022/23, VACARIA- RS.**

Tratamento	Diâmetro médio (mm)	Altura (mm)	Massa fresca (g)
T1	31,54 ^{ns}	33,26 ^{ns}	16,95 ^{ns}
T2	31,45	33,50	16,53
T3	33,06	33,30	17,83
T4	31,67	32,42	16,38
T5	30,88	32,77	15,74
T6	31,40	32,66	15,84
T7	31,86	32,93	16,68
T8	31,58	32,78	16,17
T9	31,83	33,75	17,13
T10	31,11	32,63	16,23
T11	30,69	32,11	15,53
T12	32,63	33,33	16,92
CV (%)	4,38	3,29	9,76
Média	31,64	32,95	14,49

^{ns} - não significativo entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

APÊNDICE E – VARIÁVEIS ASSOCIADAS AO DESEMPENHO PRODUTIVO DE MACIEIRAS ‘MAXI GALA’ SOB APLICAÇÃO DE FITORREGULADORES PARA INCREMENTO DO TAMANHO DE FRUTOS, CICLO 2021/22, VACARIA – RS.

Tratamento	Nº de frutos por planta	Produção por planta (kg)	Produtividade* (t. ha ⁻¹)	Massa fresca de frutos (kg)
T1	104b	11,88b	42,4b	0,118 ^{ns}
T2	141a	16,46a	58,8a	0,117
T3	115b	13,68ab	48,9ab	0,122
T4	94b	10,97b	39,2b	0,118
T5	95b	11,68b	41,7b	0,126
T6	95b	11,88b	42,4b	0,127
T7	108b	12,63ab	45,1b	0,118
T8	97b	11,32b	40,4b	0,116
T9	108b	13,49ab	48,2ab	0,125
Média	106	12,66	4,59	
CV (%)	9,16	14,27	45,22	

*Dados transformados pela fórmula ‘Raiz quadrada de Y + 0.5 – SQRT’.

^{ns} - não significativo entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

**APÊNDICE F – DENSIDADE E VARIÁVEIS ASSOCIADAS A FORMA DO FRUTO
NA COLHEITA: DIÂMETRO DE FRUTO (DF), ALTURA DE FRUTO (AF) E
RELAÇÃO ALTURA/DIÂMETRO (AF/DF), CICLO 2021/22, VACARIA – RS.**

Tratamento	Densidade (g/ml)	DF (mm)	AF (mm)	AF/DF
T1	0,94 ^{ns}	65,00 ^{ns}	66,25 ^{ns}	1,01 ^{ns}
T2	0,96	64,82	66,82	1,03
T3	0,99	66,95	67,07	1,00
T4	0,95	64,45	66,32	1,03
T5	0,97	65,20	67,70	1,03
T6	0,95	64,87	67,12	1,03
T7	0,93	63,52	64,45	1,01
T8	0,94	65,77	66,90	1,01
T9	0,95	67,32	68,32	1,01
CV (%)	-	2,60	2,97	1,65
Média	0,95	65,32	66,77	1,02

^{ns} - não significativo entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

APÊNDICE G - LUMINOSIDADE (L), CROMA (C) E ÂNGULO *Hue* DE FRUTOS DE MAÇÃ 'MAXI GALA' NA COLHEITA AVALIADOS NA PORÇÃO DE MENOR COLORAÇÃO VERMELHA DO FRUTO, CICLO 2021/22, VACARIA – RS.

Tratamento	Coloração da epiderme		
	L	C	<i>Hue</i>
T1	65,21 ^{ns}	38,04 ^{ns}	64,83 ^{ns}
T2	66,80	39,95	69,43
T3	66,82	37,94	66,75
T4	69,26	39,28	73,40
T5	62,47	38,23	58,42
T6	64,07	36,55	60,57
T7	66,20	38,24	67,34
T8	68,99	38,34	72,94
T9	69,04	37,07	73,63
CV (%)	5,27	5,09	12,30
Média	66,54	38,18	67,48

^{ns} - não significativo entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

APÊNDICE H - LUMINOSIDADE (L), CROMA (C) E ÂNGULO Hue DE FRUTOS DE MAÇÃ 'MAXI GALA' NA COLHEITA AVALIADOS NA PORÇÃO DE MAIOR COLORAÇÃO VERMELHA DO FRUTO, CICLO 2021/22, VACARIA – RS.

Tratamento	Coloração da epiderme		
	L	C	Hue
T1	49,46 ^{ns}	40,93 ^{ns}	37,84 ^{ns}
T2	51,86	41,76	41,83
T3	49,76	41,45	37,10
T4	51,11	40,74	41,21
T5	47,88	40,15	35,66
T6	50,12	38,65	38,42
T7	50,74	39,41	40,67
T8	49,65	41,98	37,18
T9	50,52	40,41	40,48
CV (%)	6,70	4,07	12,86
Média	50,12	40,60	38,93

^{ns} - não significativo entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).
 Fonte: Elaborada pela autora (2023).

APÊNDICE I – FIRMEZA DE POLPA NA COLHEITA, APÓS ARMAZENAGEM E PERDA DE FIRMEZA APÓS ARMAZENAMENTO, CICLO 2021/22, VACARIA – RS.

Tratamento	Firmeza de polpa (lbs) na colheita	Firmeza de polpa (lbs) aos 30 DAA	Perda de Firmeza (lbs)	Redução percentual (%)
T1	17,76	15,54	2,21	12,46
T2	16,44	13,95	2,48	15,10
T3	17,93	14,61	3,32	18,51
T4	15,65	12,47	3,17	20,27
T5	17,40	16,52	0,88	5,07
T6	14,30	11,36	2,95	20,61
T7	16,31	13,36	2,94	18,05
T8	14,23	11,74	2,49	17,53
T9	15,37	12,20	3,17	20,62

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

**APÊNDICE J – SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (°BRIX) NA COLHEITA CICLO
2021/22, VACARIA – RS.**

Tratamentos	SST (°Brix)
T1	12,90 ^{ns}
T2	13,22
T3	13,55
T4	13,52
T5	13,27
T6	13,05
T7	13,55
T8	12,85
T9	13,00
CV (%)	4,83
Média	13,21

^{ns} - não significativo entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

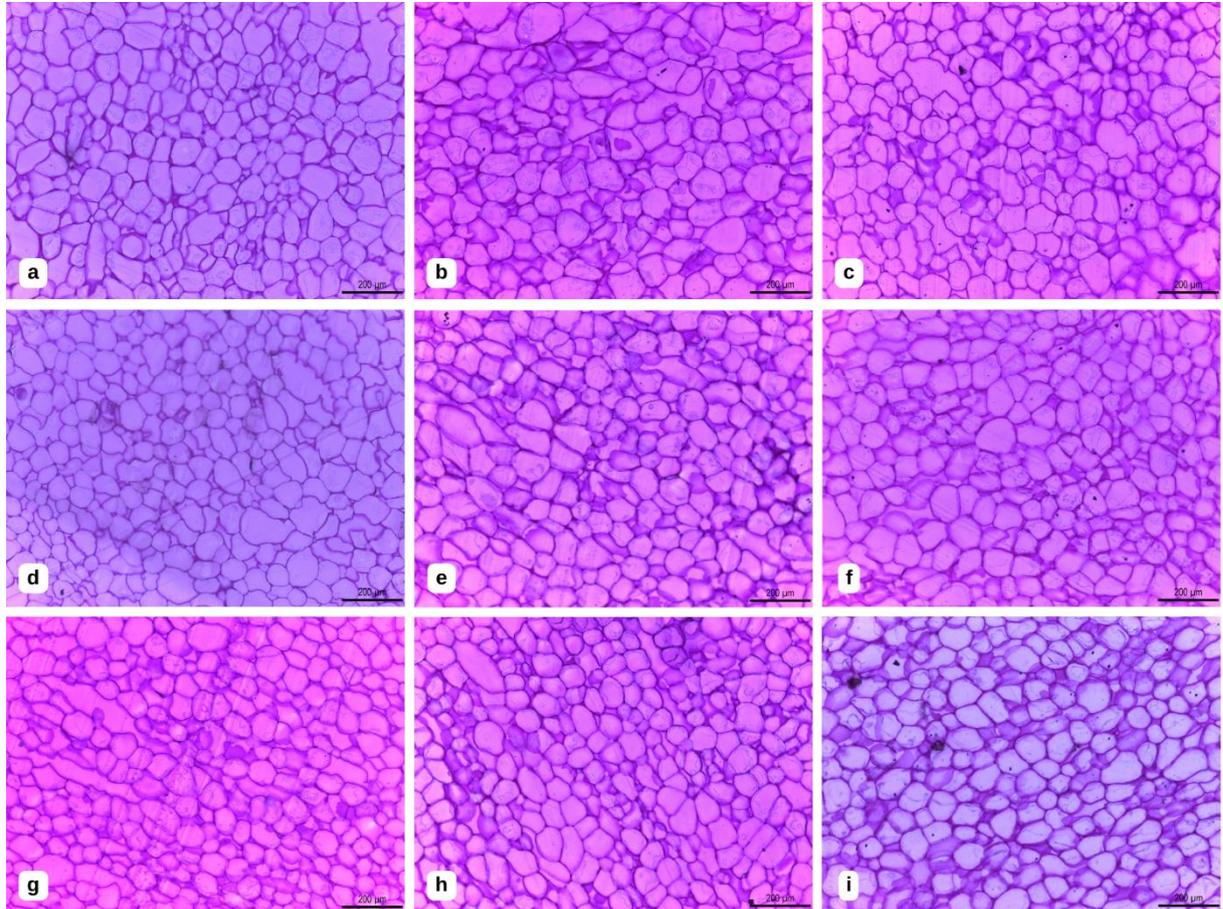
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

APÊNDICE K – DIÂMETRO MÉDIO DE FRUTOS (DM) AOS 36 DAPF (DM36), 78 DAPF (DM78), 105 DAPF (DM105) E INCREMENTO MÉDIO OBSERVADO (mm) NO CICLO 2022/23, VACARIA – RS.

Tratamentos	Dias após a Plena Floração			Incremento (mm)
	DM36 (mm)	DM78 (mm)	DM105 (mm)	
T1	22,06	46,95	59,38	37,32
T2	25,45	48,99	62,23	36,78
T3	21,82	50,18	64,06	42,25
T4	22,42	47,77	58,22	35,80
T5	25,54	47,58	59,46	33,93
T6	18,38	48,64	60,72	42,34
T7	21,76	48,93	62,89	41,12
T8	22,96	48,14	60,17	37,20
T9	25,78	48,11	61,56	35,78
T10	24,32	46,81	58,09	33,77
T11	26,52	47,46	58,38	31,86
T12	18,44	47,60	60,53	42,09

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

APÊNDICE L – IMAGENS DE MICROSCOPIA ÓPTICA DO CÓRTEX DE FRUTOS DE MACIEIRA ‘MAXI GALA’ DEMOSTRANDO A ESTRUTURA CELULAR AOS 50 DAPF NO CICLO 2021/22. VACARIA – RS. (A barra corresponde a 200 µm).

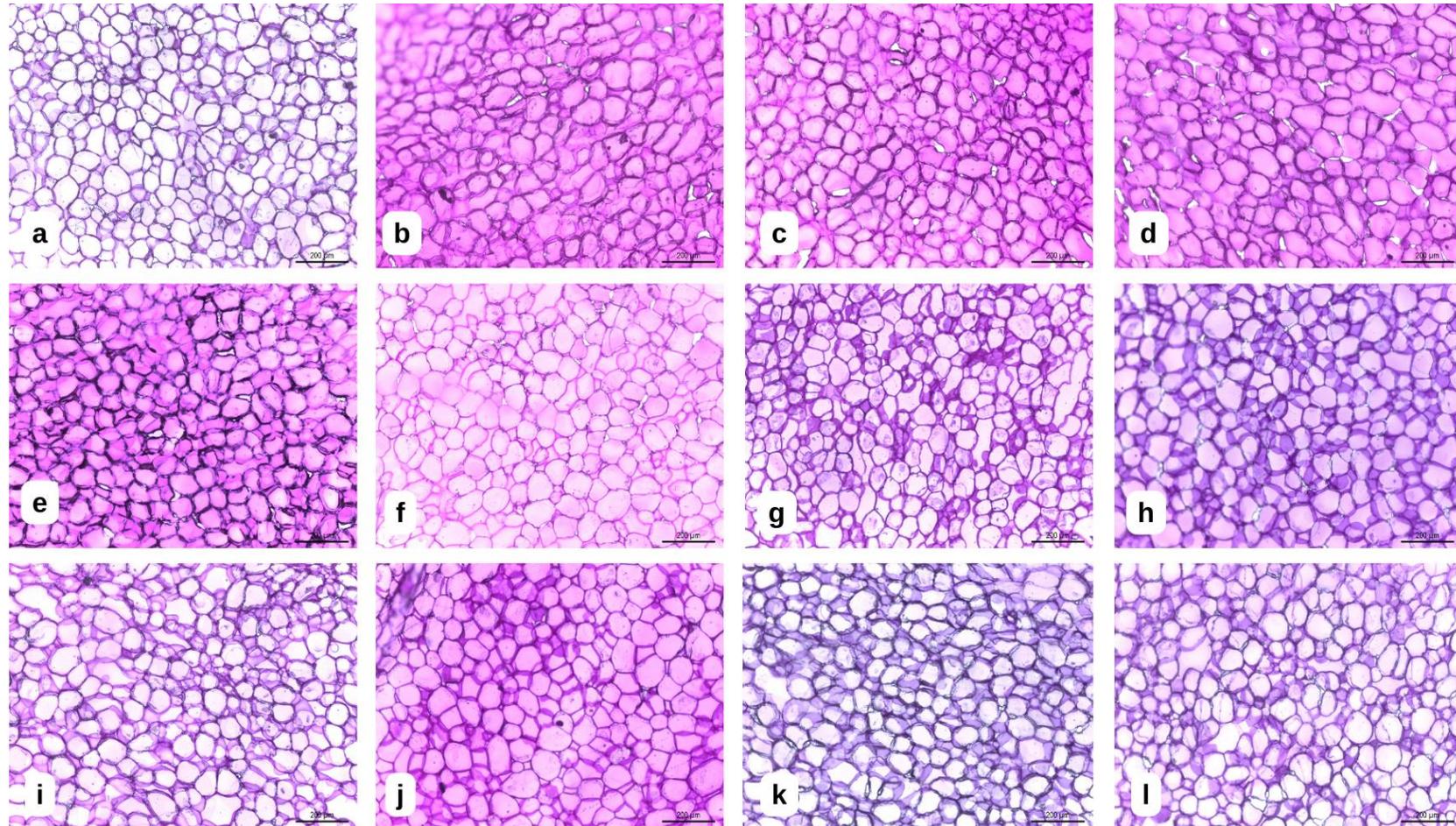


Legenda: a (T1); b (T2); c (T3); d (T4); e (T5); f (T6); g (T7); h (T8); i (T9).

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

APÊNDICE M – ESTRUTURA CELULAR DE FRUTOS DE MACIEIRA ‘MAXI GALA’ SOB DISTINTOS PROTOCOLOS PARA INCREMENTO EM CALIBRE DE FRUTOS, DEMOSTRANDO A ESTRUTURA CELULAR AOS 50 DAPF NO CICLO 2022/23.

VACARIA – RS. (A barra corresponde a 200 µm).



Legenda: a (T1); b (T2); c (T3); d (T4); e (T5); f (T6); g (T7); h (T8); i (T9); j (T10); k (T11); l (T12).

Fonte: Elaborada pela autora (2023).