

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISILOGIA VEGETAL



**Tese**

Metabolismo de carboidratos, conteúdo de água e necrose floral em pereira (*Pyrus* sp.) em condições de falta de frio

**Anderson Carlos Marafon**

Pelotas, 2008.

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**ANDERSON CARLOS MARAFON**

Metabolismo de carboidratos, conteúdo de água e necrose floral em pereira (*Pyrus* sp.) em condições de falta de frio

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Fisiologia Vegetal).

**Orientador:** Dr. Flávio Gilberto Herter

**Co-orientadores:** Dr. Idemir Citadin

Dr. Luciano do Amarante

Pelotas, 2008.

Dados de catalogação na fonte:

Maria Beatriz Vaghetti Vieira – CRB 10/1032

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

M298m Marafon, Anderson Carlos

Metabolismo de carboidratos, conteúdo de água e necrose floral em pereira (*Pyrus* sp.) em condições de falta de frio / Anderson Carlos Marafon; orientador: Flavio Gilberto Herter; co-orientadores: Idemir Citadin e Luciano do Amarante – Pelotas, 2008. – 82f. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2008.

1. Fisiologia vegetal. 2. Carboidratos. 3. Enzimas. 4. Conteúdo de água. 5. Abortamento floral. 6. Pereira (*Pyrus* sp.). I. Herter, Flavio Gilberto. II. Citadin, Idemir. III. Amarante, Luciano do. IV. Título.

CDD: 581.133

**Banca examinadora:**

Dr. Flávio Gilberto Herter – FAEM/UFPel - Presidente

Dr. Idemir Citadin – UTFPR/Pato Branco - PR

Dr. Valmor João Bianchi – IB/UFPel

Dr. Luciano do Amarante – IQG / UFPel

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu pai Ari Emilio (*in memoriam*) pelos ensinamentos e lições de vida que me fizeram aprender e que me fazem buscar os objetivos com muita fé e coragem.

À minha mãe Ivete e aos demais familiares e à minha namorada pelo apoio e a motivação que me incentivaram a desenvolver este trabalho com fé e coragem e por terem contribuído decisivamente nesta conquista tão grandiosa para mim.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal pelos ensinamentos e por todo o conhecimento transmitido durante estes últimos anos.

Ao meu orientador Dr. Flávio Gilberto Herter por compartilhar suas experiências profissionais e pela orientação na execução desta tese de doutorado.

Aos co-orientadores Drs. Luciano do Amarante e Idemir Citadin pelo auxílio e as contribuições prestadas durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal pela construção de idéias e pela amizade durante estes anos de convivência.

Ao colega Fernando do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de Fruticultura de Clima Temperado pelo apoio concedido e o companheirismo.

Aos membros da banca examinadora desta tese por aceitarem o convite de participarem da avaliação e da arguição deste trabalho de pesquisa.

À Embrapa Clima temperado por disponibilizar os recursos financeiros para a aquisição dos reagentes utilizados e pela utilização da infra-estrutura de seus laboratórios e demais instalações, bem como dos pomares de pereira.

Aos pesquisadores, funcionários e estagiários da Embrapa Clima Temperado, especialmente dos Laboratórios de Agrometeorologia e de Fisiologia Vegetal, pela grande contribuição durante a execução dos experimentos.

Ao Senhor Deus por ter me dado vida e saúde para poder estudar e aprender todos os dias, com muita fé, os seus ensinamentos divinos.

## RESUMO

MARAFON, Anderson Carlos **Metabolismo de carboidratos, conteúdo de água e necrose floral em pereira (*Pyrus sp.*) em condições de falta de frio** 2008. Tese (Doutorado) - Programa de Pós- Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O abortamento de gemas florais é um dos fatores mais limitantes para produção comercial de cultivares de pereira de alta qualidade na região Sul do Brasil. Dentre as possíveis causas deste fenômeno cita-se um complexo de fatores genéticos e ecofisiológicos, principalmente a satisfação do requerimento em frio hibernal das plantas. A pesquisa teve por objetivos comparar as concentrações e a atividade das enzimas do metabolismo de carboidratos em ramos de pereira submetidos à flutuação térmica, determinar a dinâmica da água nos tecidos e caracterizar a época e a intensidade de ocorrência de sintomas de necrose em gemas florais de pereira durante o inverno. Foram realizados três experimentos separadamente, utilizando-se pereiras (*Pyrus sp.*) pertencentes à coleção instalada no Centro de Pesquisa Agropecuária da Embrapa Clima Temperado de Pelotas/RS. O experimento 1 foi efetuado sob condições controladas, a partir da submissão de ramos enxertados da cultivar Housui à flutuação térmica, para determinação das concentrações de amido e açúcares solúveis e as atividades das enzimas invertase ácida da parede (IAP) e sacarose-fosfato sintase (SPS) nas gemas e nos ramos. Os experimentos 2 e 3 foram realizados sob condições naturais, para determinar do conteúdo de água (umidade ponderal) nos tecidos e a avaliar o grau de severidade da necrose floral durante o inverno. No primeiro experimento observou-se que, sob condições de privação de frio as concentrações de açúcares solúveis totais (AST) e açúcares redutores (AR) e a atividade das enzimas SPS e IAP nos ramos e nas gemas foram

menores do que em condições de submissão das plantas ao frio. Possivelmente, a falta de frio não induziu a mobilização do amido, diminuindo a capacidade de síntese e exportação de sacarose nos tecidos de reserva, reduzindo o suprimento de açúcares solúveis e a ressíntese do amido nas gemas. A umidade ponderal dos tecidos apresentou variações nas gemas da cultivar Kieffer, onde ocorreu incremento no conteúdo de água (reidratação) na fase que antecede à brotação. Entretanto, na cultivar 'Housui' houve diminuição no conteúdo de água das gemas. Esta desidratação pode ser conseqüência do aumento da atividade respiratória dos tecidos causado pelas altas temperaturas durante o inverno, que conduziram ao esgotamento das reservas de carboidratos e o abortamento floral. No início do inverno, a cultivar Housui apresenta gemas florais sem sintomas de necrose, mas com duplicação de inflorescência. Entretanto, a partir da metade do inverno, os sintomas de necrose se tornam cada vez mais intensos, paralelamente ao aumento da temperatura no final do inverno, afetando a maior parte das gemas no período que antecede à floração. A intensificação dos sintomas do abortamento floral esteve relacionada com a falta de frio e à oscilação térmica durante a dormência, devido ao efeito negativo das altas temperaturas sobre o acúmulo de frio, impedindo a mobilização de amido nos ramos e a absorção de açúcares e água nas gemas.

**Termos de indexação:** carboidratos, enzimas, água, abortamento floral.



## ABSTRACT

MARAFON, Anderson Carlos **Carbohydrate metabolism, water content and floral bud necrosis in pear trees (*Pyrus* sp.) in lack chilling conditions** 2008. Tese (Doutorado) - Programa de Pós- Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The flower bud abortion ('bud jump' or floral bud drop) is one of the main problems that limits the production of pear tree cultivars of high quality and commercial interest in the South Brazil region. Among the possible causes of this phenomenon are cited genetic and eco-physiological factors, mainly the chilling requirement satisfaction during the winter period. The aim of this work was to compare the carbohydrate metabolism between tissues, after submission of twigs to temperature fluctuation during the winter. Others objectives were to evaluate the water content in tissues and characterizes the occurrence time and intensity of the flower bud necrosis in pear trees cv. Housui (*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nak.) during the rest period. Three experiments were conducted separately using pear trees belongs to the collection orchard of Embrapa Clima Temperado of Pelotas – RS. The experiment 1 was carried out to determine the carbohydrate concentrations and enzyme activities, after the submission of grafted twigs of pear tree 'Housui' to the temperature fluctuation. The experiments 2 e 3 were made to determine the water content in tissues and the degree of bud necrosis severity during the winter period. The cell wall acid invertase (IAP) and sucrose-phosphate synthase (SPS) activities were lower in tissues of twigs that receive insufficient chilling during the dormancy period. Possibly, the lack of cold didn't induce the mobilization of the starch, reducing the synthesis capacity and sucrose export in reserve tissues, reducing the supply of soluble sugars and the ressíntesis of the starch in floral buds. The water content showed variations in

'Kieffer' buds, where occurred a water increment (rehydratation) in the phase nearly to budbreak. However, the 'Housui' buds showed decrease on the water content. This dehydration would be consequence of the increase in respiratory activity of the buds caused by high temperatures during winter period. In consequence, this could to lead exhaustion in carbohydrates reserves and provoke bud necrosis. In the beginning of the winter, the Housui cultivar showed floral buds without necrosis symptoms, but with inflorescence duplication. The necrosis symptoms started from the half of the winter and became more intense, parallel to the increase of the temperature in the end of the winter, affecting most of buds nearly to budbreak. The symptoms intensification would be related with the lack chilling and thermal oscillation during the rest period, due to the negative effect of high temperatures on chilling accumulation.

**Index Terms:** carbohydrates, enzymes, water, floral bud abortion.

## Lista de Figuras

- Figura 2.1** Temperaturas mínimas e máximas diárias (°C) durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....32
- Figura 2.2** Época e intensidade de ocorrência de necrose floral em gemas de pereira cv. 'Housui' durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007. ....34
- Figura 2.3** Percentagem média de gemas sadias, com necrose leve e com severa em pereiras cv. Housui durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007. ....35
- Figura 2.4** Primórdios florais de pereira japonesa (*Pyrus pyrifolia* Nakai) cv. Housui sadios (a, b, c e d), com necrose leve (e, f e g) e severa (h e i) durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....37
- Figura 3.1** Temperaturas mínimas e máximas diárias (°C) e precipitação pluviométrica acumulada (mm) durante o inverno de 2005. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.....42
- Figura 3.2** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar Kieffer durante a dormência. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.....45
- Figura 3.3** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar Housui durante a dormência. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.....47
- Figura 4.1** Tratamentos térmicos utilizados nos ramos de pereira cultivar Housui durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....53
- Figura 4.2** Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e de amido ( $\text{mg g}^{-1}$  MS) em tecidos de pereira cv. Housui na fase de indução à brotação. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.58

**Figura 4.3** Atividade da invertase ácida da parede (IAP) e da sacarose-fosfato sintase (SPS) em tecidos ( $\text{nmol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) de pereira cv. Housui na fase de indução à brotação. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.60

## Lista de Tabelas

- Tabela 2.1** Resumo da análise de variância para a variável percentagem de gemas sem necrose (GSN), gemas com necrose leve (GNL) e com necrose severa (GNS). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....33
- Tabela 3.1** Resumo da análise de variância para a umidade ponderal em tecidos de pereiras nas cultivares Housui e Kieffer durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005. ....43
- Tabela 3.2** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar Kieffer em diferentes porções de ramo. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.....44
- Tabela 3.3** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar 'Housui' em diferentes porções de ramo. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.....46
- Tabela 4.1** Resumo da análise de variância para as concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e amido e a atividade da IAP e da SPS, Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....56

## Lista de Anexos

- Anexo A** Floração de ramos enxertados de pereira 'Housui' aos 21 dias após o término dos tratamentos térmicos: T1) Condições naturais; T2) 800h (5°C); T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300 h (5°C); T4) 800h (15°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....79
- Anexo B** Floração de ramos enxertados de pereira 'Housui', aos 23 dias após o término dos tratamentos térmicos: T1) Condições naturais; T2) 800h (5°C); T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300h (5°C) e T4) 800h (15°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....79
- Anexo C** Floração dos ramos enxertados de pereira 'Housui' aos 25 dias após o término dos tratamentos térmicos: T1) Condições naturais; T2) 800h (5°C); T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300h (5°C) e T4) 800h (15°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.....80
- Anexo D** Floração e brotação dos ramos enxertados de pereira 'Housui' aos 31 dias após término dos tratamentos térmicos: T2) 800 h (5°C) e T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300h (5°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007. ....80

## Sumário

<b>RESUMO.....</b>	<b>3</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>5</b>
Lista de Figuras.....	7
Lista de Anexos.....	10
<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>13</b>
<b>1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>17</b>
<b>2. ÉPOCA DE OCORRÊNCIA E INTENSIDADE DA NECROSE FLORAL EM GEMAS DE PEREIRA JAPONESA ‘HOUSUI’ DURANTE O INVERNO .....</b>	<b>29</b>
2.1 INTRODUÇÃO .....	30
2.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	32
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
2.4 CONCLUSÕES .....	38
<b>3. UMIDADE PONDERAL EM TECIDOS DE PEREIRAS (<i>Pyrus</i> sp.) ‘KIEFFER’ E ‘HOUSUI’ DURANTE O INVERNO.....</b>	<b>39</b>
3.1 INTRODUÇÃO .....	40
3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	41
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	43
3.4 CONCLUSÕES .....	48
<b>4. METABOLISMO DE CARBOIDRATOS EM TECIDOS DE PEREIRA JAPONESA SUBMETIDOS À FLUTUAÇÃO TÉRMICA DURANTE O INVERNO.....</b>	<b>49</b>
4.1 INTRODUÇÃO .....	50
4.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	52
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	56
4.4 CONCLUSÕES .....	62
<b>DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>64</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>78</b>



## INTRODUÇÃO GERAL

A pereira pertence à família *Rosaceae*, subfamília *Pomaceae* e ao gênero *Pyrus*. Este gênero conta com pelo menos 22 espécies e é originário de regiões montanhosas da China Ocidental, sendo que, todas as espécies são nativas do continente asiático ou europeu. Além das pereiras tipo ocidentais ou européias (*P. communis*) também são encontrados os tipos orientais ou asiáticos, cultivadas na China (*P. serotina*, *P. ussuriensis* e *P. bretschneideri*) e no Japão (*P. pyrifolia*) e os híbridos (CENTELLAS-QUEZADA e NAKASU, 2003).

A pêra é a terceira fruta de clima temperado mais produzida no mundo, atrás somente da uva e da maçã. O Brasil é o segundo maior importador mundial de pêras. O consumo de pêra, no Brasil, é da ordem de 220 mil toneladas ano<sup>-1</sup>, enquanto a produção atinge apenas cerca de 10% do total consumido. A pêra é o principal item de importação de frutas frescas do país, com crescimento de 8 a 10% ao ano. Em 2005, a importação chegou à 102.558 ton (46%) de um total de 224.495 ton de frutas frescas importadas, representando uma perda de divisas de US\$ 54.016.000 (43%) de um valor total de US\$ 125.634.000 gastos com a importação (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2007).

O cultivo comercial da pereira no país ainda é pouco expressivo. Estima-se que a área plantada seja de 2.300 hectares e que a produção média fique em torno de 18.500 ton<sup>-1</sup> ha<sup>-1</sup>, atendendo apenas a 10% do total consumido no país. Os principais estados produtores são: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Paraná e Minas Gerais. O plantio de cultivares cujos frutos são de baixa qualidade comercial favorece a importação de pêras, principalmente da Argentina (82%) e dos Estados Unidos (6,5%). Da Argentina é importada a maioria das pêras consumidas no país, essencialmente, pêras européias. As pêras asiáticas são importadas principalmente do Chile e em quantidades menores (JUNQUEIRA e PEETZ, 2003).

No Brasil, foram lançadas pelo Instituto Agrônomo (IAC) em Campinas - SP, através do programa de melhoramento genético pioneiro no país, algumas cultivares híbridas de pereira baixa exigência em frio, como a 'Primorosa', 'Centenária', 'Seleta', 'Triunfo' e 'Tenra' que teve início na década de 60. Na década de 70, a partir do programa de melhoramento desenvolvido no Centro de Pesquisa de Fruticultura de Clima Temperado (atual Embrapa Clima Temperado), em Pelotas - RS, que priorizou o desenvolvimento de cultivares de baixa exigência em frio, foi lançada a cultivar 'Cascatense', originária do cruzamento entre 'Packham's Triumph' x 'Le Conte'. A pereira tem necessidade em frio equivalente à macieira para superar a fase de endodormência, variando entre 700 a 1500 horas de frio ( $HF \leq 7,2^{\circ}C$ ). Embora atualmente exista, no Brasil, disponibilidade de cultivares de pereira de baixo requerimento em frio (menos de 500 HF), em geral, a qualidade dos frutos dessas cultivares é relativamente baixa. Dessa forma, enquanto novas cultivares não são criadas ou introduzidas, os produtores brasileiros podem optar por cultivares de ótima qualidade como: William's Bon Chrétien, Red Bartlett, Packham's Triumph, Abate Fetel, Housui, Kousui, Nijisseiki e Ya-li com requerimento em frio entre 700 e 1200 horas de frio (NAKASU e FAORO, 2003).

A região Sul do Brasil desenvolveu o cultivo de fruteiras de clima temperado, com destaque para as culturas da macieira, videira, pessegueiro e ameixeira, porém a pereira não apresentou ao mesmo desenvolvimento. O desenvolvimento da cultura tem sido limitado devido à irregularidade na produção e à baixa produtividade dos pomares. Os principais problemas limitantes ao desenvolvimento da cultura são: a indefinição de porta-enxertos, as baixas taxas de diferenciação floral, os elevados índices de abortamento de gemas florais (variável de acordo com o cultivar, o local e o ano) e a baixa porcentagem de frutificação efetiva (NAKASU et al., 1995).

Quando a pesquisa brasileira encontrar soluções para esses problemas, o cultivo da pereira poderá se tornar uma alternativa consistente para a diversificação sustentável da fruticultura de clima temperado na região Sul do país, principalmente, em locais onde a macieira já é explorada com sucesso, aproveitando-se a infraestrutura pré-existente. Tanto pela similaridade nas condições climáticas para produção, quanto pela otimização das estruturas de pós-colheita e conservação e dos canais de comercialização, a exploração da pereira pode complementar as atividades da cadeia produtiva da maçã no Sul do Brasil (PETRI, 2008).

A pêra tem apresentado uma notável expansão de consumo no Brasil nos últimos anos e demonstra ter potencial para competir com as outras frutas de clima temperado como a maçã, podendo obter bons preços no mercado e ter demanda de volume o ano todo, visto que a maçã tem, no primeiro semestre, um período complexo de comercialização no país (CABRERA, 2008).

A hipótese ou teoria trófica afirma que a capacidade de brotação das gemas é o reflexo da sua capacidade de atrair e utilizar os nutrientes. De acordo com esta hipótese, as gemas somente poderiam se desenvolver quando houvesse um adequado suprimento de açúcares solúveis derivados da mobilização das reservas nas partes perenes da árvore. A teoria trófica afirma que a capacidade de brotação das gemas é determinada pela disponibilidade de carboidratos nestas gemas, a qual por sua vez, dependeria do balanço entre a capacidade de importação e o consumo local (capacidade de utilização) de açúcares solúveis (GENDRAUD e PÉTEL, 1990).

A ramificação é um mecanismo dependente da condição própria de cada gema, que por sua vez, é reflexo da sua capacidade intrínseca de crescimento e da evolução do seu crescimento antes da brotação (LEITE et al., 2004).

A disponibilidade e o controle da distribuição de água e carboidratos nos tecidos das plantas frutíferas de clima temperado são os principais determinantes da sua produtividade. A brotação das gemas requer a importação de açúcares solúveis, provenientes da mobilização do amido dos tecidos, para sustentar a retomada do crescimento das gemas após a superação da endodormência (FAUST, 1989).

A mobilização de amido foi estudada em ramos de nogueira (*Juglans regia*) por Améglio et al. (2001), que observaram duas fases de mobilização do amido: uma primeira fase dita outono-hipernal, descrita na literatura como um mecanismo de tolerância ao resfriamento e uma segunda, durante o início da primavera, quando as reservas amiláceas são maciçamente mobilizadas para a retomada do crescimento ativo das gemas. Entre estas duas fases pode ocorrer o inverso, ou seja, os açúcares solúveis se reconstituírem novamente em grânulos de amido. Quando o suprimento de açúcares solúveis supera a demanda celular para o crescimento e a respiração basal das gemas, ocorre o processo de 'ressíntese' de amido. Assim, a hidrólise do amido tanto pode ocorrer sob baixas temperaturas durante o inverno, como também no início da primavera, com o aumento progressivo da temperatura coincidindo com as fases de inchamento e brotação das gemas.

A hipótese deste trabalho é de que ocorre uma grande alteração no metabolismo e no transporte de açúcares solúveis dos tecidos fontes (parênquima do xilema) para os drenos (gemas), ocasionada pela falta de frio e pela flutuação térmica durante a endodormência. Assim, um deficiente fornecimento de açúcares para as gemas na fase de indução à brotação, causaria a necrose dos primórdios florais e processos de floração e brotação desuniformes e irregulares.

Esta tese foi estruturada, de forma a compor três capítulos, onde foram abordados o metabolismo de carboidratos, a dinâmica da água nos tecidos e a intensidade de ocorrência de abortamento floral durante a dormência. Dessa forma, o objetivo deste trabalho de pesquisa foi caracterizar o metabolismo de carboidratos em tecidos submetidos à privação em frio, a dinâmica da água e a intensidade de ocorrência de necrose floral durante a dormência de gemas de pereira.

## **1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

As plantas frutíferas de clima temperado apresentam ritmo de crescimento anual determinado pelas estações climáticas. Durante o período de crescimento, as plantas crescem e se desenvolvem rapidamente, favorecidas por condições adequadas de temperatura, água e fotoperíodo. Já, durante o outono e no inverno, quando as condições climáticas do meio se tornam desfavoráveis devido à diminuição da temperatura e do fotoperíodo, ocorre a redução até a completa parada do crescimento das plantas, de forma a permitir sua sobrevivência em períodos de escassez de água ou em baixas temperaturas. Esta parada de crescimento corresponde ao período de dormência, que pode ser considerado como uma adaptação da planta à um determinado clima visando sua sobrevivência em condições adversas. Durante este período, as atividades metabólicas essenciais das plantas continuam ocorrendo, mas com intensidade reduzida (SAMISH, 1954).

A dormência é a suspensão temporária do crescimento visível de estruturas vegetais contendo um meristema, como no caso das gemas das plantas frutíferas de clima temperado. O período de dormência vai desde a paralisação do crescimento no final do verão, até o início da brotação, na primavera seguinte. Os fatores que controlam a entrada e a saída da dormência das gemas podem ser classificados como endógenos (hormonais, nutricionais e genéticos) e exógenos (temperatura, fotoperíodo e a disponibilidade de água) (PETRI et al., 1996).

Lang et al. (1987) classificaram a dormência em três fases distintas e com regulação independente chamadas de: paradormência, endodormência e ecodormência. Na paradormência, a ausência de desenvolvimento da gema é resultante da inibição por outro órgão ou região do vegetal em crescimento, como as gemas terminais ou as folhas. É, por isso, conhecida como inibição correlativa à longa distância, no caso da gema apical. Na endodormência, o não desenvolvimento da gema é resultante de uma série de eventos bioquímicos e fisiológicos que acontecem em níveis meristemáticos ou muito próximos. Ela é induzida e eliminada pelo efeito das baixas temperaturas. Durante a ecodormência, um novo fluxo de crescimento e no desenvolvimento da gema só ocorre a partir do estabelecimento de condições favoráveis de temperatura e fotoperíodo. Diferentes fatores podem exercer influência na superação da endodormência, porém, qualquer que seja ele, a sucessão de eventos em nível de gema é a mesma. Os fatores mais eficazes são baixas temperaturas, dias longos, estresse hídrico e os reguladores de crescimento.

O principal efeito da temperatura refere-se à ação positiva das baixas temperaturas de inverno sobre a superação da dormência. Mauget (1987) observou que, plantas de videira cultivadas em ambiente protegido durante o inverno não brotavam, enquanto que, plantas expostas às baixas temperaturas apresentavam um crescimento vegetativo normal. A temperatura é o principal fator ambiental que interfere na dinâmica da dormência. A satisfação do requerimento em frio é um fator limitante para a produção comercial de frutas de clima temperado em regiões subtropicais com condições de inverno ameno. A insuficiência em frio e a flutuação térmica durante o inverno resultam em processos de brotação e floração desuniformes e irregulares, com pouco enfolhamento e poucas flores abertas, afetando negativamente a produtividade (MAUGET e RAGEAU, 1988; HERTER et al., 1994; HAUAGGE e CUMMINS, 2000; LEITE et al., 2004).

As plantas frutíferas de clima temperado se adaptam naturalmente às regiões com estações climáticas bem definidas, similares aos seus locais de origem, onde durante a primavera e o verão ocorrem temperaturas apropriadas ao crescimento e durante outono e o inverno, as baixas temperaturas permitem a redução gradativa até a paralisação completa do crescimento das gemas. A dormência tem uma influência direta sobre a produção e qualidade de frutos, sendo que, durante esta fase, as reservas acumuladas no período vegetativo, principalmente de carboidratos, são de grande importância para proteção dos tecidos meristemáticos contra as baixas temperaturas do inverno e contribuem para o fornecimento de energia e precursores durante a fase de brotação. Entretanto, nas regiões com invernos pouco rigorosos, as plantas manifestam anormalidades nas gemas como o atraso e a desuniformidade na brotação e floração, com um maior período de crescimento dos ramos, que reduz o seu potencial produtivo.

A evolução das espécies e surgimento dos órgãos vascularizados permitiu uma separação funcional e espacial dos locais de síntese e de utilização do carbono nas plantas superiores. Os tecidos ou órgãos 'fonte', tais como folhas maduras, são locais fotossinteticamente ativos onde ocorre a assimilação do carbono. Estes tecidos exportam o carbono sob a forma de açúcares solúveis até os tecidos ou órgãos fotossinteticamente inativos, classificados como 'drenos', pela importação líquida destes açúcares, contribuindo com a formação de reservas. As gemas são consideradas como tecidos drenos de fotoassimilados, por que preferencialmente metabolizam os substratos ao invés de estocá-los (LALONDE et al., 2004).

Nas plantas lenhosas, o padrão de alocação de carbono pelas células é função das interações fonte-dreno que ocorrem dentro da planta. Experiências indicam que a capacidade de um 'dreno' em atrair e mobilizar fotoassimilados em sua direção depende fundamentalmente de dois fatores: (i) tamanho do dreno, determinado pelo número de células e (ii) força-dreno, determinada pela atividade metabólica do tecido. Os maiores determinantes da força-dreno são a atividade dos co-transportadores e das  $H^+$ -ATPases na membrana plasmática e a atividade das enzimas do metabolismo de açúcares (HO, 1988).

O parênquima do xilema é um tecido de reserva nos vegetais lenhosos e constitui-se em um tecido 'dreno' durante o período vegetativo, uma vez que ele estoca, na forma de amido, o carbono assimilado em nível de folha. Por outro lado, durante o período de repouso e na retomada do crescimento, o parênquima pode mobilizar suas reservas de amido para outros tecidos, tornando-se então, um tecido 'fonte' essencial para garantir a perenidade da planta. As células do parênquima do xilema estão envolvidas com a reserva e translocação de nutrientes e assimilados das plantas lenhosas para os tecidos em desenvolvimento. Juntamente com os vasos condutores, as células do parênquima formam um estoque de reservas. São as estreitas relações existentes entre sistema condutor e células do parênquima que asseguram a perenidade da árvore, através da passagem dos assimilados dos tubos crivados do floema para as células do parênquima durante o período de formação de reservas (BONNEMAIN, 1978), e do parênquima para os vasos do xilema no período de mobilização de reservas (ZIMMERMANN e BROWN, 1971).

As células de transferência do xilema são as únicas células anatomicamente especializadas na troca de nutrientes entre o parênquima (simplasto) e os vasos do xilema (apoplasto), exercendo forte controle sobre o fluxo de açúcares em direção às gemas durante a mobilização de reservas. Além disso, estas células xilemáticas apresentam elevada atividade respiratória, característica de células altamente especializadas no transporte de solutos, semelhante ao que ocorre nas células companheiras do floema na fase vegetativa (ESSIAMAH e ESCHRICH, 1985).

A membrana das células de transferência do xilema é semipermeável, sendo que aproximadamente metade da superfície das células está conectada aos vasos do xilema por meio de pontoações, enquanto a outra metade conecta-se com as células parênquima por meio de plasmodesmas. Além de apresentarem um grande número de mitocôndrias, também possuem  $H^+$ -ATPases na membrana plasmática,



que consomem ATP e bombeiam uma grande quantidade de prótons para dentro dos vasos do xilema, diminuindo o pH da seiva (BONNEMAIN e FROMARD, 1987).

A seiva do xilema tem sido proposta como principal via de transporte dos açúcares solúveis produzidos nos tecidos de reserva (raízes/ramos) para os tecidos drenos (gemas) em macieira (WILLIAMS e RAESE, 1974), noqueira (AMEGLIO et al., 2001; LACOINTE et al., 2001) e cerejeira (LOESCHER et al., 1990).

A dinâmica das concentrações de carboidratos nas plantas frutíferas de clima temperado é bem definida ao longo do ano. Durante o inverno, os açúcares solúveis atingem seus picos de concentração para a aquisição de tolerância ao resfriamento, sendo que, no início da primavera suas concentrações diminuem. O amido alcança sua concentração máxima no final do outono, período de queda das folhas, diminui durante o inverno para o fornecimento de açúcares solúveis e a proteção contra o resfriamento e volta a aumentar no início da primavera, quando estes açúcares são utilizados para a reconstituição ou ressíntese do amido (PREISS e SIVAK, 1996).

Lacointe et al. (1993) verificaram que as concentrações de amido e de açúcares solúveis totais obedecem a um padrão inverso durante a dormência, sugerindo que ocorra um processo de interconversão entre eles. As variações no conteúdo de amido em ramos de noqueira durante o inverno foram inversamente correlacionadas às concentrações de açúcares solúveis na seiva do xilema, principalmente a sacarose e os produtos de sua hidrólise, ou seja, glicose e frutose. Com a paralisação do crescimento vegetativo, a concentração de amido nos tecidos de reserva aumenta e o teor de açúcares solúveis diminui. Durante o inverno, o conteúdo de açúcares solúveis aumenta e o amido diminui gradativamente nos ramos. Após a superação da dormência, ocorrem uma nova formação e o armazenamento de amido nos tecidos adjacentes à gema (base), associados com a diminuição nos níveis de açúcares solúveis nos ramos (BONHOMME et al., 2005).

A degradação dos grânulos requer a interação entre enzimas hidrolíticas e a superfície do grânulo. Witt et al. (1995) detectaram uma endoamilase específica ligada ao grânulo de amido em ramos de álamo (*Populus*). Esta enzima difere nas suas propriedades cinéticas em relação às amilases solúveis, sendo dependente da temperatura e com pH ótimo alcalino. Enquanto as baixas temperaturas forneceriam as condições favoráveis para a atividade da amilase e as altas temperaturas teriam um efeito inibitório na adsorção da enzima ao grânulo, diminuindo a sua degradação.

A  $\alpha$ -amilase (E.C. 3.2.1.1) está envolvida com a resposta ao estresse provocado pelas baixas temperaturas em macieira (WEGRZYN et al., 2000). Na videira, várias isoformas de  $\alpha$ -amilases foram observadas durante a estação de inverno. As isoformas de ponto isoelétrico elevado (6,5) são predominantes durante a primeira metade do período de inverno, enquanto que, as isoformas de baixo ponto isoelétrico (4,5) são majoritárias na fase que antecede a brotação. A diminuição da temperatura de 12°C para 4°C induziu a expressão máxima de todas as isoformas em tecidos de videira (BERBEZY et al., 1997). Mesmo assim, a indução de outras amilases, como a  $\beta$ -amilase e a fosforilase, pode ocorrer mesmo na ausência de baixas temperaturas (GUY et al., 2008).

As porções apicais do ramo de noqueira apresentaram atividade da  $\alpha$ -amilase superiores em relação às basais, demonstrando que, existe uma forte atividade da enzima na região apical pouco antes da brotação, relacionada com as baixas temperaturas durante o inverno. Isto significa que a capacidade de mobilização das reservas amiláceas é mais intensa na parte terminal do ramo e estaria relacionada com o mecanismo de brotação acrópeta dos ramos nesta espécie (CITADIN, 2004).

Nas espécies da família *Rosaceae* incluindo a macieira, o pessegueiro, a pereira e a ameixeira, o sorbitol juntamente com a sacarose são os principais açúcares produzidos pela fotossíntese e transportados para os tecidos drenos (QUICK e SCHAFFER, 1996) para a formação de reservas e o crescimento dos frutos. Ao contrário da sacarose, que pode ser sintetizada e utilizada em folhas de todas as idades, o sorbitol é predominantemente sintetizado em folhas maduras (YAMAKI e ISHIKAWA, 1986).

A sacarose é a mais importante forma de transporte de carbono em plantas, mas nas espécies da família *Rosaceae*, o sorbitol é o principal produto fotossintético. O sorbitol é considerado um carboidrato de reserva, podendo ser armazenado nos vacúolos e atuar em situações de estresse. O sorbitol exerce diversas funções, principalmente em tecidos não fotossintetizantes, em virtude da sua capacidade de regulação osmótica das células, atuando na proteção de enzimas, na tolerância à desidratação e na resistência ao congelamento (LOESCHER e EVERARD, 1996).

Embora o sorbitol esteja presente em altas concentrações no lenho e na casca, estes tecidos tem capacidade muito pequena de metabolizarem o sorbitol. Dessa forma, é possível que o sorbitol presente nos ramos seja estocado como forma de

reserva e proteção osmótica das células, sendo utilizados pelos tecidos drenos com capacidade de metabolizá-los como gemas e frutos (McQUEEN et al., 2004).

Os tecidos 'drenos' possuem capacidade pequena ou nula de sintetizarem sorbitol, como acontece em ramos de macieira, que sintetizam muito pouco a partir da frutose. Assim, a síntese do sorbitol ocorreria predominantemente nas folhas e a sua utilização metabólica nos tecidos drenos (LOESCHER e EVERARD, 1996).

Com a redução da temperatura durante o inverno, a quantidade de sorbitol aumenta nos tecidos como forma de proteção ao frio e, com o aumento progressivo da temperatura no período próximo a floração, sua concentração diminui em virtude da sua degradação nos tecidos drenos (McQUEEN e MINCHIN, 2005).

A atividade da enzima sorbitol-6-fosfato desidrogenase (SDH, EC 1.1.1.200), que catalisa a síntese do sorbitol, aumenta em situação de estresse hídrico, causando acúmulo de sorbitol no floema. Por outro lado, a atividade da sacarose-6-fosfato sintase (SPS, EC 2.4.1.14) não é afetada pelo déficit hídrico (LO BIANCO et al., 2000). A degradação pode ocorrer pela SDH dependente de  $\text{NAD}^+$  (SDH- $\text{NAD}^+$ ), que transforma o sorbitol em frutose, ou pela SDH dependente de  $\text{NADP}^+$  (SDH- $\text{NADP}^+$ ), que por sua vez produz glicose (ZHOU et al., 2006).

A sacarose é o principal substrato respiratório da maioria plantas superiores, e por ser móvel, mantém o vegetal vivo e ativo. A sacarose tem um papel fundamental nas plantas, não só como substrato para sustentar o crescimento heterotrófico dos 'tecidos drenos' e regulador osmótico celular na tolerância ao frio, mas também atua como importante molécula sinalizadora, que regula o metabolismo tanto na fonte quanto no dreno em condições de estresse (ROITSCH, 1999).

Existem três sistemas enzimáticos envolvidos no metabolismo da sacarose. O primeiro sistema corresponde à invertase (EC 3.2.1.26) que catalisa a hidrólise irreversível da sacarose em frutose e glicose. O segundo é a sacarose sintase (EC 2.4.1.13, SS) que catalisa a reação reversível da UDP-glicose + frutose em sacarose + UDP. As invertases produzem duas hexose glicose e frutose e a SS produz frutose mais UDP-glicose. O terceiro corresponde a sacarose-6-fosfato sintase (SPS, EC 2.4.1.14), uma enzima solúvel no citoplasma que catalisa a reação da UDP-glicose + frutose-6-fosfato em sacarose-6-fosfato + UDP. Apartir da degradação do amido ocorre aumento na relação G6-P/Pi no citossol das células, favorecendo a ativação da SPS e a síntese de sacarose nos tecidos de reserva (HUBER e HUBER, 1996).

Entre as enzimas do metabolismo do carbono, as invertases são classificadas de acordo com seu ponto isoelétrico, seu pH ótimo de atividade e sua localização celular. As invertases ácidas possuem pH ótimo entre 3,5 a 5,1 e estão localizadas no vacúolo ou na parede celular, relacionadas ao mecanismo de translocação da sacarose do apoplasto para o simplasto. As invertases alcalinas com pH ótimo entre 7,0 e 8,0, são solúveis no citossol das células e estão envolvidas na mobilização da sacarose para atender à demanda metabólica das células (ROITSCH et al., 2003).

Como regra geral, o transporte de íons e nutrientes inorgânicos através da membrana plasmática, depende do gradiente eletroquímico estabelecido entre os lados interno e externo da membrana. Uma  $H^+$ -ATPase ligada à membrana plasmática das células de transferência do xilema em ramos de noqueira demonstrou ser o maior ponto de controle das trocas de açúcares entre estas células e os vasos do xilema (ALVES et al., 2001; 2004).

A translocação dos açúcares solúveis produzidos pela mobilização das reservas de amido e o restabelecimento da continuidade hidráulica do xilema no início da primavera, permitiria a absorção ativa de açúcares pelas gemas, através da atuação de co-transportadores  $H^+$ -açúcar e das  $H^+$ -ATPases (ALVES et al. 2007).

Após a satisfação do requerimento em frio das plantas, o efluxo de açúcares solúveis é alto e o influxo é baixo. O alto conteúdo de açúcares nos vasos do xilema aumenta o potencial osmótico da seiva, gerando uma pressão interna que permite o reestabelecimento da condutividade hidráulica dos vasos. Assim, as gemas seriam capazes de brotar sob condições favoráveis, dependendo da sua capacidade de importação de açúcares e da atividade das  $H^+$ -ATPases (GÉVAUDANT et al., 2001).

A funcionalidade das  $H^+$ -ATPases da membrana plasmática garante a geração do gradiente de potencial eletroquímico necessário para o transporte dos açúcares solúveis, associada aos co-transportadores  $H^+$ /açúcar, sendo fundamental para induzir a brotação das gemas. Fromard et al. (1995) demonstraram que as  $H^+$ -ATPases ocorrem com maior frequência nas células de transferência do que nas células do parênquima do xilema, visto que estas células são especializadas no transporte de íons. Durante o inverno, a seiva do xilema das plantas frutíferas de clima temperado apresenta pH próximo da neutralidade. Após a superação da dormência, ocorre uma diminuição no pH da seiva (acidificação), devido ao efluxo de açúcares solúveis dos tecidos de reserva, com atuação das  $H^+$ ATPases, que bombeiam prótons para os vasos e causam a acidificação da seiva do xilema.

O mecanismo de acidificação da seiva do xilema se deve à ativação e atuação das H<sup>+</sup>-ATPases associadas à membrana das células de transferência no início da primavera, para a geração de um gradiente de potencial eletroquímico favorável à movimentação dos açúcares das células do parênquima para os vasos do xilema. A acidificação do pH da seiva do xilema favorece a ativação da invertase ácida da parede, que hidrolisa a sacarose ainda no apoplasto e favorece a sua importação, fornecendo hexoses aos tecidos meristemáticos para induzir a sua brotação das gemas (SAUTER e AMBROSIUS, 1986).

Alves et al. (2004) verificaram que as baixas temperaturas não tiveram efeito sobre a atividade das H<sup>+</sup>-ATPases durante o inverno. Por outro lado, também observaram que as plantas mantidas sob privação de frio (15°C) apresentaram alta atividade durante a dormência, que provocou um alto consumo de energia, resultando numa brotação fraca e irregular. Alves et al. (2007) verificaram que, a diminuição da concentração de açúcares na seiva vascular na primavera é reflexo da alta taxa de absorção (influxo) de açúcares solúveis pelas gemas, sugerindo o envolvimento das H<sup>+</sup>-ATPases na geração do gradiente de prótons favorável à absorção destes açúcares dos vasos do xilema durante a fase de brotação.

Decourteix et al. (2006) demonstraram a presença de um co-transportador de sacarose (JrSUT1) e de uma H<sup>+</sup>-ATPase (JrAHA) localizados nas células de transferência do xilema em ramos de nogueira. Algumas evidências suportam a hipótese da existência dos transportadores H<sup>+</sup>/açúcares na membrana plasmática: (1) as células de transferência do xilema são as únicas conectadas com outras células parênquimáticas (simplasto) e com os vasos do xilema (apoplasto), demonstrando que o influxo de sacarose necessita de um transportador (CZANINSKI, 1987); (2) as células de transferência do xilema, atuam de maneira similar às células companheiras do floema, exibindo alta atividade respiratória, característica de células especializadas no transporte de nutrientes e de assimilados (ALVES et al., 2001); (3) as H<sup>+</sup>-ATPases gera o gradiente de potencial eletroquímico que possibilita o transporte ativo da sacarose através a membrana plasmática das células de transferência (FROMARD et al., 1995); (4) a absorção dos açúcares pode sofrer inibição por eles mesmos ou por outros açúcares (MAUREL et al., 2004b).

Em nogueira, a sacarose é a principal forma de açúcar circulante na seiva do xilema durante o inverno. A concentração de sacarose na seiva do xilema varia inversamente com a temperatura, em função de dois movimentos opostos que

ocorrem entre o simplasto e o apoplasto: o efluxo (secreção) e o influxo (absorção) de açúcares. A temperatura seria um fator determinante na direção do fluxo, sendo que, sob baixas temperaturas predominaria o efluxo (AMÉGLIO e CRUIZIAT, 1992).

Améglio et al. (2004) submeteram ramos de noqueira (*Juglans regia*) à temperatura de 1°C durante a dormência e verificaram que o efluxo de sacarose foi alto e o influxo, permaneceu baixo. Por outro lado, à temperatura de 15°C, o efluxo foi muito baixo e inferior ao influxo, mesmo que este último não tenha aumentado. A partir disso, estes autores propuseram que o efluxo e não o influxo seria dependente da temperatura. A temperatura de 15°C não é indutiva para que ocorra a hidrólise do amido nas células do parênquima do xilema, impedindo a síntese de sacarose, que é determinante na taxa de efluxo deste açúcar para dentro dos vasos do xilema.

A explicação clássica para o gradiente de pressão gerado nos vasos do xilema pressupõe que o movimento de água e solutos ocorra devido à diferença entre o potencial osmótico da seiva (apoplasto) e das células de transferência (simplasto), conectadas com as células do parênquima do xilema. O efluxo de sacarose das células do parênquima para os vasos do xilema ocorre por difusão facilitada sob baixas temperaturas. Ao contrário, o influxo de sacarose dos vasos para as células parênquimáticas, aumenta proporcionalmente com a temperatura, mediado por um processo de transporte ativo via simporte. O gradiente de potencial eletroquímico gerado entre os dois compartimentos possibilitaria o fluxo de água, por osmose, para os vasos do xilema, através da membrana semipermeável, reestabelecendo a condutividade hidráulica dos vasos e a conexão vascular com as gemas e possibilitando o fluxo da seiva para sustentar o processo de brotação. Enquanto o efluxo dos açúcares solúveis ocorre através de um mecanismo de transporte facilitado, o influxo é considerado um transporte via simporte  $H^+$ -açúcar, com gasto de ATP para geração do gradiente entre apoplasto e simplasto (SAUTER, 1983).

As aquaporinas são canais protéicos presentes na membrana plasmática ou nas membranas intercelulares das células vegetais, que facilitam o transporte de água (MAUREL et al, 2008). Sakr et al. (2003) verificaram que aumento na atividade das aquaporinas da membrana das células de transferência do xilema, ocorreu simultaneamente com aumento do potencial osmótico da seiva do xilema, causado pelo efluxo de sacarose das células do parênquima, que diminuiu o potencial hídrico da seiva, atraindo osmoticamente água para dentro dos vasos xilemáticos.

A demanda interna de carbono dos tecidos é estimada pelos custos envolvendo a síntese de biomassa e a manutenção da atividade respiratória basal. A síntese de biomassa inclui os custos com a formação dos esqueletos carbônicos, enquanto que, a manutenção da respiração requer gasto de energia (ATP) e poder redutor (NADH). O processo de obtenção de energia para a indução da brotação das gemas se inicia durante o inverno com a mobilização do amido pela ação da *alfa-amilase* que hidrolisa as ligações glicosídicas  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4), com a liberação de maltose, como produto principal e oligossacarídeos chamados dextrinas – contendo em média oito unidades de glicose com uma ou mais ligações glicosídicas  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6). A maltase é a enzima responsável pela hidrólise da maltose em duas moléculas de glicose. A glicólise transforma a glicose em duas moléculas de piruvato, que posteriormente é degradado para a produção de energia. Parte da energia liberada da hidrólise da molécula de glicose é conservada na forma de ATP e NADH. Inicialmente, a glicose é fosforilada por dois ATPs e convertida em duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato (3-PGA), que são oxidadas pelo  $\text{NAD}^+$  e fosforiladas numa reação que emprega o fosfato inorgânico ( $\text{P}_i$ ). O resultado líquido do processo total de glicólise de uma molécula de glicose é a formação de 2 ATP, 2 NADH e 2 piruvatos. A equação geral da glicólise é:  $\text{Glicose} + 2 \text{ADP} + 2\text{P}_i + 2 \text{NAD}^+ \rightarrow 2 \text{piruvato} + 2 \text{NADH} + 2\text{H}^+ + 2 \text{ATP} + 2 \text{H}_2\text{O}$ . Os elétrons produzidos na re-oxidação do  $\text{NADH}^+$  em  $\text{NAD}^+$  em condições aeróbicas são transferidos para o oxigênio molecular na cadeia transportadora de elétrons (CTE) que libera a energia para a síntese de ATP através do processo de fosforilação oxidativa. A molécula de glicose é eletricamente neutra, mas quando é fosforilada torna-se um composto bastante carregado negativamente e hidrofílico, o que impede a sua transferência através da membrana celular, confinando-a à célula. Na primeira reação da glicólise, a molécula de glicose é ativada por uma fosforilação no grupamento hidroxila do carbono 6, com a formação da glicose-6-fosfato (G6-P), um importante intermediário central para várias rotas metabólicas. Esta fosforilação se dá pela transferência de um grupo fosfato do ATP, através de uma reação irreversível catalisada pela hexocinase em presença de íons magnésio e que interage com as cargas negativas dos grupos fosfato do ATP para formar o complexo  $\text{Mg}^+\text{ATP}^{2-}$ . A enzima hexocinase catalisa a fosforilação de diferentes hexoses, como a D-glicose e a D-frutose e é inibida alostericamente pelo produto da sua própria reação, a glicose-6-fosfato. A oxidação da glicose também pode ocorrer através da via das pentoses fosfato que é uma via

metabólica alternativa à glicólise que não requer e nem produz ATP, convertendo a glicose em ribose-5-fosfato (para a síntese de nucleotídeos e ácidos nucléicos) e outros tipos de monossacarídeos, além de produzir NADPH, um importante agente redutor dentro das células (TAIZ e ZEIGER, 2006).



**2. ÉPOCA DE OCORRÊNCIA E INTENSIDADE DA NECROSE FLORAL EM  
GEMAS DE PEREIRA JAPONESA 'HOUSUI' DURANTE O INVERNO**

## 2.1 INTRODUÇÃO

As gemas floríferas das plantas lenhosas de clima temperado são formadas durante o verão e parcialmente diferenciadas durante a estação de crescimento, antes do período de senescência das folhas. Durante o período de dormência não ocorrem alterações visíveis quanto ao tamanho ou à diferenciação dos primórdios. As gemas atravessam o período de repouso, já possuindo os primórdios, porém, em estado embrionário, que só se desenvolvem na estação de crescimento seguinte.

A pereira possui ramos com gemas vegetativas e/ou floríferas, estando estas distribuídas lateral ou terminalmente. As gemas floríferas podem ser formadas terminalmente sobre esporões ou ramos, ou lateralmente sobre ramos. As flores são geralmente hermafroditas e se desenvolvem acropetalmente, dispostas em um rácimo tipo corimbo, formado por cinco a onze flores e número similar de folhas. As flores podem sair antes ou junto com as folhas, na inflorescência, como ocorre nas cultivares Kousui e Housui, respectivamente (FAORO, 2001).

Os primórdios florais da pereira encontram-se dispostos em sequência espiral e em diferentes níveis de desenvolvimento. O tamanho dos primórdios diminui em direção ao ápice, todavia, o primórdio terminal atinge o mesmo tamanho que os basais e às vezes até maior. Na macieira, a flor apical da inflorescência se desenvolve primeiro e depois as flores laterais. O desenvolvimento das flores em pereira é similar, com a diferença de que a flor apical é a menos desenvolvida e a última em abrir na primavera. O desenvolvimento floral caracteriza-se pelo crescimento do primórdio floral e a maturação das suas células reprodutivas, culminando com a antese ou abertura das flores (WESTWOOD, 1993).

As condições climáticas de inverno na região Sul do Brasil são muito variáveis de ano para ano e dentro do mesmo ano, com ocorrência freqüente de flutuações de temperatura. O desenvolvimento da cultura da pereira na Região Sul do Brasil tem sido limitado devido à irregularidade na produção e a baixa produtividade dos pomares. Os principais problemas limitantes ao desenvolvimento da cultura são: a indefinição de porta-enxertos, as baixas taxas de diferenciação floral, os elevados índices de abortamento de gemas florais (variável de acordo com a cultivar, o local e o ano) e a baixa porcentagem de frutificação efetiva (NAKASU et al., 1995).

O fenômeno do abortamento de gemas florais em pereira tem ocorrido no Brasil (MARODIN, 1998) e em diversos países como Espanha (MONTESINOS e

VILARDELL, 1991; 1996), Itália (SELLI et al., 1985) e Nova Zelândia (KINGSTON et al., 1990; KLINAC e GEDDES, 1995). No Brasil, o abortamento floral já é observado desde o ano de 1968, nas regiões de Pelotas (RS), Videira e Fraiburgo (SC), principalmente em cultivares de origem asiática. A insatisfação do requerimento em frio e o abortamento são os principais fatores limitantes para produção de cultivares de pereira com maior qualidade e interesse comercial (HERTER et al., 2002).

O abortamento de gemas florais em pereira japonesa ocorre praticamente em todos os pomares, com maior ou menor intensidade, dependendo da cultivar, local e ano. Diversos trabalhos já foram desenvolvidos procurando quantificar a intensidade deste distúrbio e as suas possíveis causas (MOONEY et al., 1992; MARODIN, 1998; ARRUDA e CAMELATO, 1999; PETRI e HERTER, 2002; MARTINS et al., 2000).

A satisfação do requerimento em frio durante o inverno é fundamental para garantir o desenvolvimento normal das gemas florais das plantas frutíferas de clima temperado. O abortamento de gemas florais é uma desordem fisiológica que se manifesta em regiões de inverno pouco rigoroso, estando assim, diretamente relacionado com a região e as condições climáticas anuais. Petri et al. (2002) afirmaram que a falta de frio e a ocorrência de dias quentes ao longo do inverno provocam aumento no número de gemas com necrose, já que o problema é menor nas regiões mais frias do que nas regiões mais quentes. A ocorrência de flutuações térmicas e a elevação da temperatura durante o inverno influenciariam diretamente na atividade respiratória das gemas, aumentando o consumo local de carboidratos e a severidade de necrose dos primórdios florais no final do período de dormência.

O abortamento se manifesta durante a dormência e se intensifica próximo à fase de floração, quando ocorre o dessecamento dos primórdios das gemas florais. As gemas afetadas apresentam um desenvolvimento no início do inverno, quando então, no período que antecede a brotação, as gemas secam e se desintegram ao serem tocadas ou mesmo pela ação do vento (MONTESINOS e VILARDELL, 1996).

Legave et al. (1982) sugeriram que a abscisão de flores em damasqueiro está relacionada com a competição por carboidratos e à demanda metabólica dos tecidos meristemáticos em crescimento, demonstrando que a insatisfação do requerimento em frio induziu a queda das gemas floríferas no período que antecede à floração.

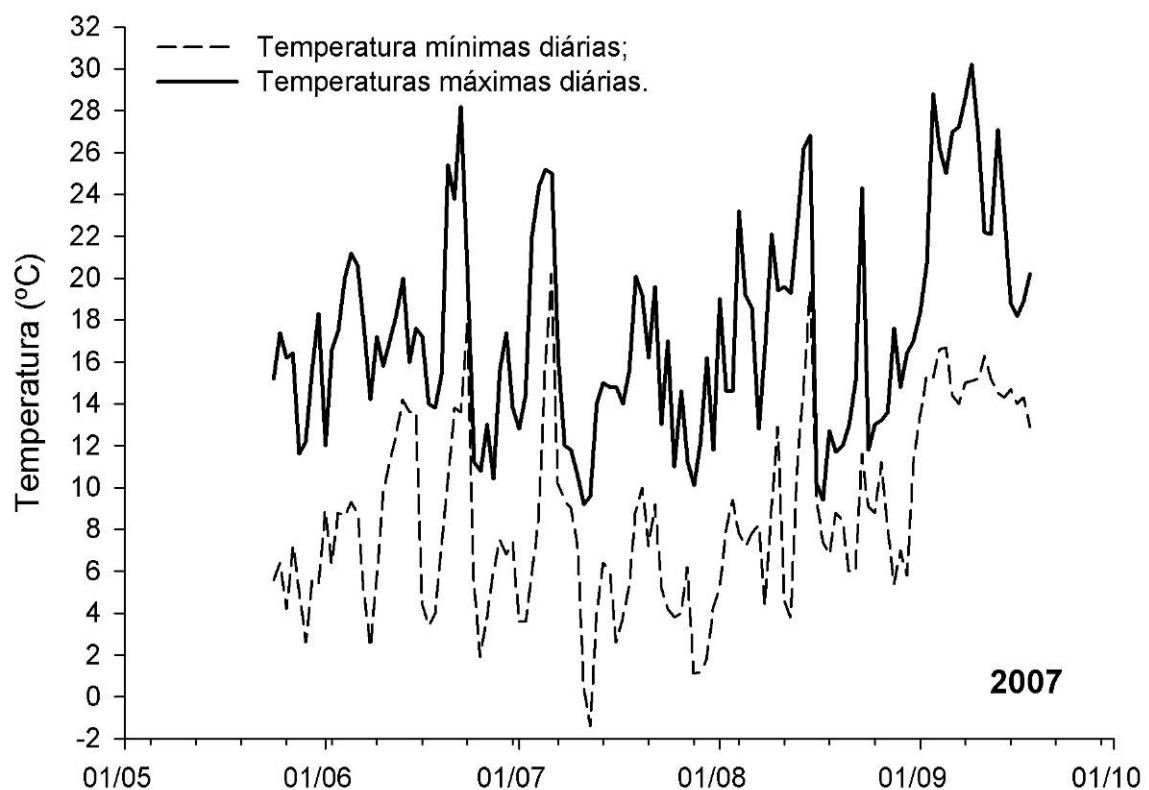
O objetivo deste trabalho foi caracterizar a época e a intensidade de ocorrência de sintomas de necrose em primórdios florais de gemas de pereira japonesa cultivar Housui durante o período hibernal.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

As gemas foram coletadas em pereiras japonesas [*Pyrus pyrifolia* (Burm) Nak.] cv. 'Housui', com 14 anos de idade, pertencentes à coleção instalada na Embrapa Clima Temperado de Pelotas - RS. A classificação climática da região de Pelotas é do tipo Cfa (segundo Köppen), subtropical úmido com precipitação média anual de 1582 mm, temperatura média anual de 18,4°C, umidade relativa média anual de 78% e média de 550 horas de frio (HF) abaixo de 7,2 °C durante o inverno.

A cultivar Housui foi obtida através do cruzamento entre (Kikisui x Yagumo) x Yagumo e lançada em 1972 pelo Instituto Nacional de Ciências em Plantas frutíferas em Tsukuba no Japão (HAUAGGE e CUMMINS, 2000). A 'Housui' tem média exigência em frio (720 horas  $\leq$  7,2° C) e tem tido altos índices de abortamento floral na região Sul do Brasil, próximos a 100% na maioria dos anos (FAORO, 2001).

Foram coletadas quinze gemas florais de cinco plantas, sendo cinco gemas de esporões, cinco gemas terminais e cinco axilares, aleatoriamente, em cada época de coleta (24/05, 20/06, 19/07, 21/08 e 18/09) no inverno de 2007 (Figura 4.1).



**Figura 2.1** Temperaturas mínimas e máximas diárias (°C) durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

Após coletadas, as gemas foram imediatamente armazenadas em frascos contendo solução de FAA (10% de Formaldeído a 40%, 5% de Ácido acético glacial e 85% de Álcool etílico a 70%) para serem posteriormente avaliadas. A avaliação das gemas foi realizada sob um microscópio estereoscópio ZEISS STEMI SV11 (lupa binocular), no Laboratório de Imunologia e Microscopia Eletrônica da Embrapa Clima Temperado de Pelotas – RS. A dissecação das gemas florais envolveu a retirada de escamas, brácteas e primórdios foliares com auxílio de uma pinça para a observação dos primórdios florais. Foram contados o número total de primórdios florais e o número de primórdios com necrose para a determinação das percentagens de gemas sadias, gemas com necrose leve (menos de 50% dos primórdios afetados) e gemas com necrose severa (mais que 50% afetados).

O experimento foi conduzido de acordo com um delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições. O experimento foi conduzido em esquema fatorial duplo 3x5 com três (3) níveis do fator severidade da necrose (leve, severa ou sadia) e cinco (5) níveis do fator data de coleta (24/05, 20/06, 19/07, 21/08 e 18/09). As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

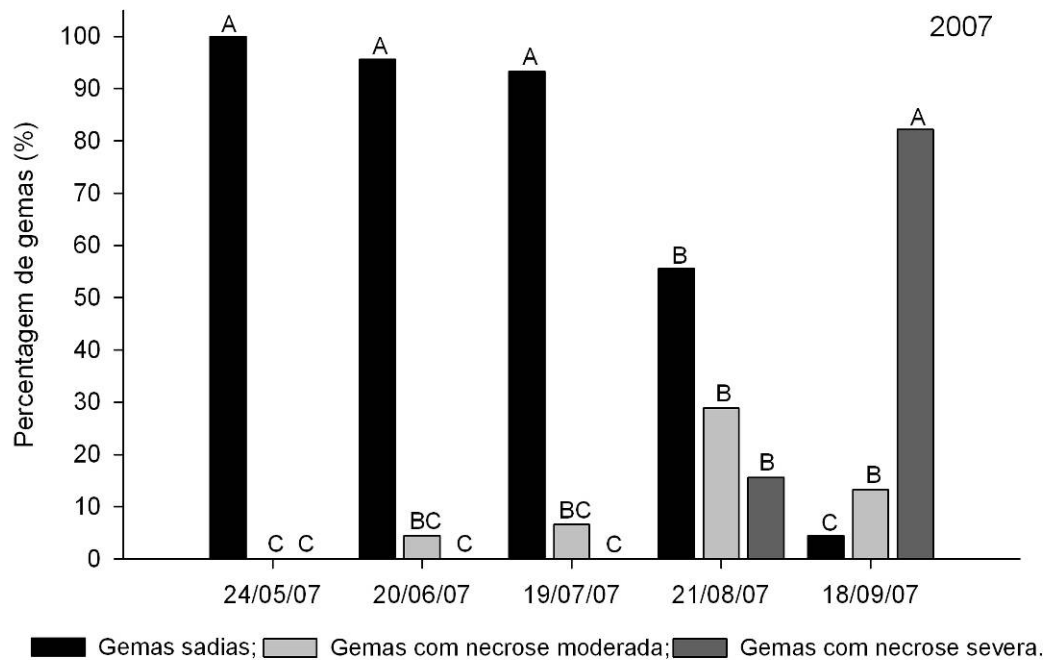
Ocorreu diferença significativa entre épocas de coleta e entre os tipos de gemas, sendo que, durante as três primeiras épocas predominaram as gemas sadias e nas duas últimas, as gemas com necrose leve e severa (Tabela 4.1).

**Tabela 2.1** Resumo da análise de variância para a variável percentagem de gemas sem necrose (GSN), gemas com necrose leve (GNL) e com necrose severa (GNS). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

Fonte de Variação	Quadrado Médio		
	PGSN <sup>1</sup>	PGNL <sup>1</sup>	PGNS <sup>1</sup>
Época (E)	3,447**	0,400**	2,483**
Tipo de gema (G)	0,117*	0,15*	0,001ns
E x G	0,057ns	0,052ns	0,002ns
Resíduo	0,032	0,033	0,039
CV (%)	16,36	84,66	63,66
Média	69,78	10,67	19,56

<sup>1</sup>dados transformados pela equação  $\text{arc. sen } (x/100)^{1/2}$ ; ns - não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade de erro; \*\*, \* significativo pelo teste F a 1 e a 5% de probabilidade de erro, respectivamente.

Nas três primeiras coletas (24/05, 20/06 e 19/07), efetuadas durante o inverno, não foram verificados sintomas de necrose nos primórdios da maioria das gemas, com índices de necrose leve inferiores à 5% de gemas afetadas. Nas duas últimas coletas (21/08 e 18/09) no final do inverno, as gemas manifestaram sintomas de necrose, que se intensificaram gradativamente, atingindo níveis críticos muito elevados na saída da dormência. Enquanto na quarta coleta (21/08), cerca de 30% das gemas apresentava necrose leve e 15% necrose severa, na última avaliação (18/09), os sintomas de necrose atingiam mais de 95% dos primórdios florais, 80% deles com sintomas de necrose severa (Figura 4.2).



Médias seguidas de mesma letra maiúscula dentro de um mesmo nível de necrose não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

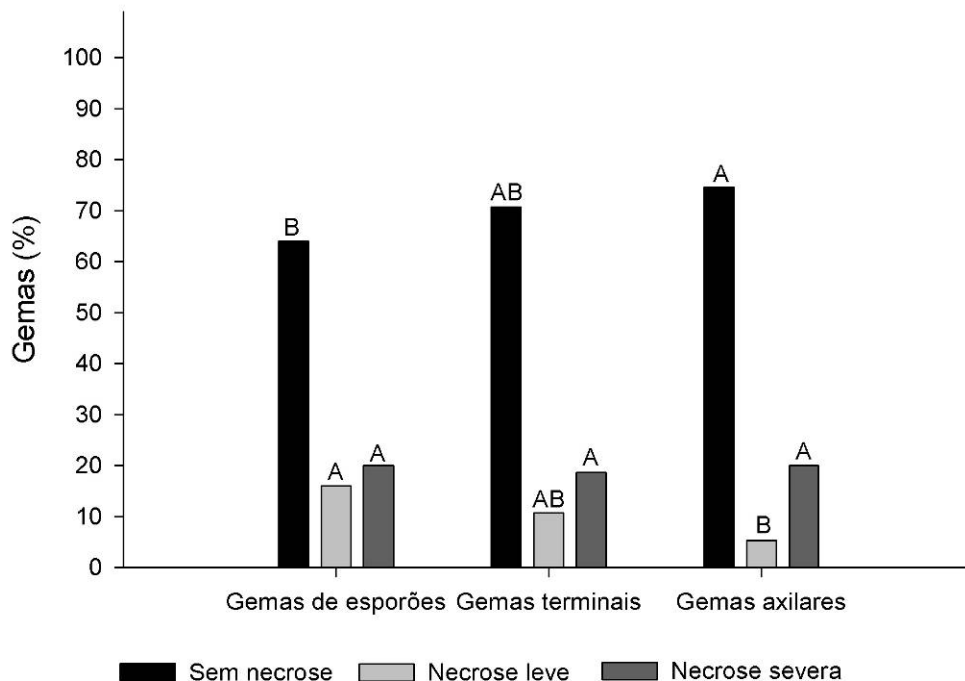
**Figura 2.2** Época e intensidade de ocorrência de necrose floral em gemas de pereira cv. 'Housui' durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

A necrose das gemas se manifestou desde a segunda coleta (20/06), no início do inverno, mas somente se intensificou a partir da quarta coleta (21/08) no período que antecede à floração, associada ao aumento na temperatura. De acordo alguns autores (Klinac e Geddes, 1995; Rakngan et al., 1996; Herter et al., 2002; Do Oh e

Klinac, 2003), a falta de frio e a ocorrência de flutuações térmicas durante o inverno se constituem nas principais causas do abortamento de gemas florais em pereira, devido ao efeito negativo das altas temperaturas na satisfação do requerimento em frio e na atividade metabólica dos tecidos destas plantas.

Petri et al. (2002) avaliaram o abortamento floral nas cultivares Housui, Kousui e Nijisseiki no planalto catarinense, em locais com diferentes condições climáticas: Caçador (550 HF) com altitude média de 1000 e São Joaquim (750 HF) com altitude média de 1300 m e verificaram a região de menor altitude apresentou maior percentagem de gemas abortadas. Honjo et al. (2002) verificaram correlação inversa entre o acúmulo em frio hibernar e a taxa de abortamento floral em pereira japonesa.

Dentre os diferentes tipos de gemas, as dos esporões foram as mais afetadas pela necrose leve em relação às demais. Isto pode ser explicado pelo fato de que, nestas gemas o processo de diferenciação ocorre antes do que nas gemas terminais e axilares dos ramos, que se desenvolvem mais tardiamente (Figura 4.3).



Médias seguidas de mesma letra maiúscula em um mesmo nível de necrose nas gemas não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**Figura 2.3** Percentagem média de gemas sadias, com necrose leve e com severa em pereiras cv. Housui durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

Marodin et al. (2008) constataram que os sintomas de necrose dos primórdios florais se manifestam desde o final do outono, mas somente se intensificam no final da dormência de pereiras 'Packham's Triumph', durante a fase de desenvolvimento das anteras e do pistilo. Estes autores também afirmam que o abortamento floral está relacionado com o total de horas de frio acumulado durante a endodormência.

A satisfação do requerimento em frio antecipa a floração das gemas e aumenta o número de flores abertas. Como ocorre formação de um grande número de gemas florais na cultivar Housui há intensa competição por nutrientes, assimilados e água. Na Nova Zelândia, as cultivares Housui e Kousui foram avaliadas após sofrerem podas outonais, sendo constatado que a Housui apresentou menores níveis de abortamento quando podada no início do outono. Em geral, a poda de outono, em detrimento da poda hibernal, pode ser uma prática usada para reduzir o abortamento em pomares jovens e aumentar sua produção (MOONEY et al., 1992).

A intensidade e a época de ocorrência da necrose floral foram influenciadas pela falta de frio hibernal. A grande percentagem de gemas sadias no início do inverno demonstra que os fatores envolvidos com o abortamento floral estariam relacionados com as condições térmicas ao longo do inverno, já que a intensidade do problema é maior nos anos com menor acúmulo de frio (HERTER et al., 1994).

Herter et al. (2002) verificaram que, pereiras da cultivar Nijisseiki que sofreram eliminação de 50% das gemas durante o inverno (em maio) apresentaram menor taxa de abortamento (56%) em relação às testemunhas que tiveram 74%.

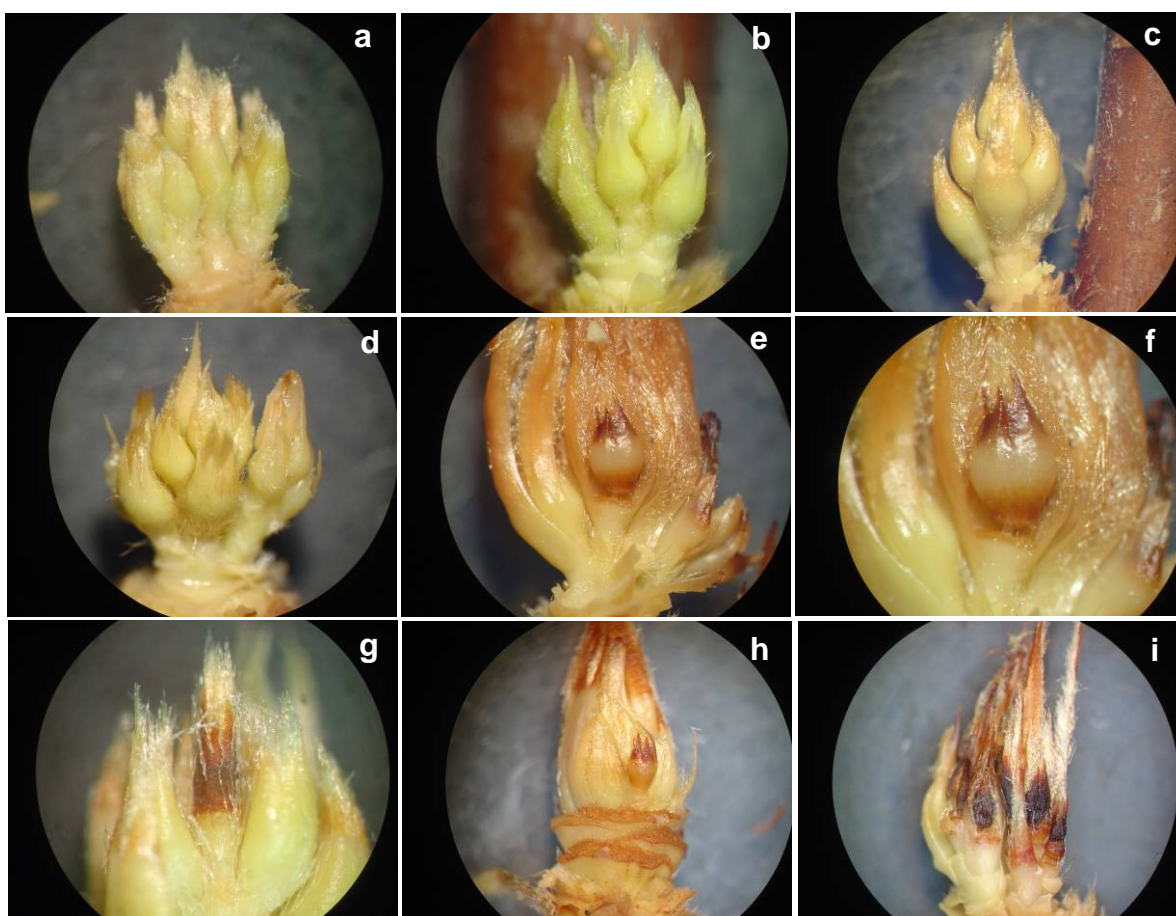
A comparação feita por Klinac e Guedes (1995) entre o grau de severidade de necrose floral e a produtividade em pereira, demonstrou que, apenas quando o abortamento excede 48% das flores abortadas, ocorrem perdas significativas de produtividade, abaixo deste nível a produção de frutos ficaria assegurada. Marodin (1998) também afirma que é possível produzir uma carga satisfatória de frutos desde que a taxa de abortamento de gemas florais não seja superior à 50%.

Embora apresentassem baixos índices de necrose nas três primeiras coletas, foi constatada a ocorrência de um grande número de gemas com duplicação de inflorescências, conforme registros fotográficos efetuado na lupa (Figura 10a, b e d). A duplicação de inflorescências teria início ainda durante o verão, durante a fase de diferenciação floral. O maior número de primórdios florais aumentaria a competição por nutrientes e assimilados e a incidência de abortamento floral. Veríssimo et al.



(2004) verificaram a existência de grande número de gemas de pereiras asiáticas, apresentando inflorescências duplicadas no início do inverno no Rio Grande do Sul.

A partir da metade do inverno algumas gemas apresentavam sintomas de necrose leve (Figura 10 e, f e g), que se intensificaram a partir do mês de julho. A intensificação da necrose dos primórdios florais ocorreu no final do período hibernal, associada ao aumento progressivo da temperatura no início da primavera, havendo um colapso no crescimento das gemas, possivelmente, devido ao esgotamento das reservas de carboidratos, que conduz a desidratação e a necrose severa dos primórdios florais das gemas no final da dormência (Figura 10 h e i).



**Figura 2.4** Primórdios florais de pereira japonesa (*Pyrus pyrifolia* Nakai) cv. Housui sadios (a, b, c e d), com necrose leve (e, f e g) e severa (h e i) durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

De acordo com nossos resultados, a manifestação dos sintomas de necrose floral seria consequência da falta de frio durante o inverno e a intensificação destes sintomas ocorreria a partir da metade do inverno com os aumentos de temperatura.

A insuficiência em frio durante o inverno seria uma das principais causas do abortamento floral em pereira japonesa, principalmente, devido ao efeito negativo das altas temperaturas sobre a dormência. O abortamento mostrou relação com a quantidade de frio, já que, ramos submetidos ao frio no período de dormência obtiveram reduzida percentagem de abortamento (PETRI e HERTER, 2002).

Armas-Reyes et al. (2006) afirmaram que as elevadas taxas de abortamento de gemas florais em damasqueiro são ocasionadas pelas altas temperaturas durante o inverno, as quais reduziram a diferenciação e o desenvolvimento das anteras, resultando em anormalidades no desenvolvimento das gemas no período de pré-antese, com flores contendo ovários pequenos, pistilos deformados ou sésseis.

## **2.4 CONCLUSÕES**

Durante a primeira metade do inverno, a maior parte das gemas não apresenta sintomas de necrose, entretanto, a partir desse período, os sintomas de necrose se tornam gradativamente mais intensos, até atingirem praticamente todas as gemas no final do inverno. A falta de frio, associada à oscilação térmica durante o inverno podem ser as principais causas do abortamento floral em pereira japonesa, devido ao efeito negativo das altas temperaturas na mobilização de reservas e na absorção de água e carboidratos das gemas florais em fase de desenvolvimento.

**3. UMIDADE PONDERAL EM TECIDOS DE PEREIRAS (*Pyrus* sp.) 'KIEFFER' E  
'HOUSUI' DURANTE O INVERNO**

### 3.1 INTRODUÇÃO

A água constitui aproximadamente 50% da massa fresca dos tecidos das plantas lenhosas, desempenhando importantes papéis na sua fisiologia, graças às suas propriedades físico-químicas. A água é o principal solvente orgânico das mais diversas reações bioquímicas e possui uma série de características que a tornam fundamental para o desenvolvimento das plantas. Além de servir como principal meio de difusão de solutos, a água é uma substância de alta capacidade calorífica, funcionando como regulador térmico em diversas reações. Devido à sua natureza polar, as moléculas de água são fortemente atraídas umas pelas outras pelas pontes de hidrogênio, resultando numa força de coesão que permite a formação de colunas de água dentro dos vasos do xilema, fundamental para transporte da seiva desde as raízes até as folhas sob tensão (TAIZ e ZEIGER, 2006).

O conhecimento da dinâmica da água nos tecidos das plantas frutíferas de clima temperado é muito importante para a compreensão dos processos de mobilização de reservas e de ativação do metabolismo enzimático durante a dormência e na fase de indução à brotação. A dinâmica da água nos tecidos está relacionada à dinâmica dos açúcares solúveis, embora ocorra também a sua movimentação passiva a pequenas distâncias, por meio de difusão simples ou facilitada por proteínas de transporte da membrana (BUCKHOUT e TUBBE, 1996).

No início do inverno, as gemas apresentam um processo de desidratação, devido à migração da água para os seus tecidos adjacentes, como uma forma de proteção contra ao resfriamento, ou seja, como um mecanismo de tolerância ao frio. Ao contrário, após a superação da dormência, ocorreria um deslocamento da água dos ramos adjacentes em direção aos primórdios das gemas, trazendo consigo os açúcares solúveis originados da mobilização de reservas (CARVALHO, 2001).

A água também poderia ser encontrada agregada à macromoléculas de natureza protéica durante a dormência, sendo gradualmente liberada durante o período dormente e rapidamente liberada na fase de indução à brotação, quando cerca de dois terços dela é liberada e se encontra no estado livre, ocorrendo um substancial aumento no tamanho das gemas, mesmo sem sinal visível de brotação (FAUST et al., 1991; LIU et al., 1993; FAUST et al., 1995; EREZ et al., 1998).

O deslocamento da água traz conseqüências fisiológicas importantes, pois junto com a água, também podem ser transportados solutos, como a sacarose,

sintetizada nas células do parênquima dos ramos e/ou das raízes em direção às gemas e seus tecidos adjacentes, aumentando a formação de reservas de amido nestes tecidos. Como o floema não é considerado funcional durante o inverno, sugere-se que a via xilemática seja a principal via de transporte da água e solutos, principalmente dos açúcares solúveis, que suplante a demanda metabólica das gemas durante a fase de brotação (LOESCHER et al., 1990).

A continuidade hidráulica entre os feixes vasculares do xilema e os primórdios das gemas é fundamental para garantir o suprimento de água e nutrientes na fase que antecede o florescimento. A diferenciação dos elementos de condução do xilema é essencial para garantir o desenvolvimento das gemas na fase de brotação. A estruturação e o desenvolvimento da conexão vascular entre vasos e primórdios florais só ocorre quando as condições intrínsecas e extrínsecas à planta são apropriadas. Bartolini e Giorginelli (1994) demonstraram que, durante a dormência, os elementos condutores do xilema não estão completamente diferenciados e a conexão entre os primórdios das gemas e os feixes vasculares do ramo se dá unicamente através das células do pró-câmbio. Somente na fase que antecede a brotação, o câmbio vascular produz o xilema secundário, com o surgimento de novas células funcionais, que estabelecem a conexão entre vasos e primórdios.

Améglio et al. (2001) constataram que o efeito das baixas temperaturas no aumento dos açúcares solúveis poderia explicar os altos valores do potencial osmótico da seiva do xilema durante o inverno. Os açúcares solúveis chegam a responder por 60% de potencial hídrico da seiva, direcionando osmoticamente a água presente nas fibras e nas células do parênquima para dentro dos vasos xilemáticos. A ocorrência de temperaturas altas durante o inverno poderia provocar o mecanismo de reabsorção (influxo) de açúcares solúveis da seiva do xilema para as células do parênquima, resultando num ciclo fútil ou inútil entre efluxo e influxo.

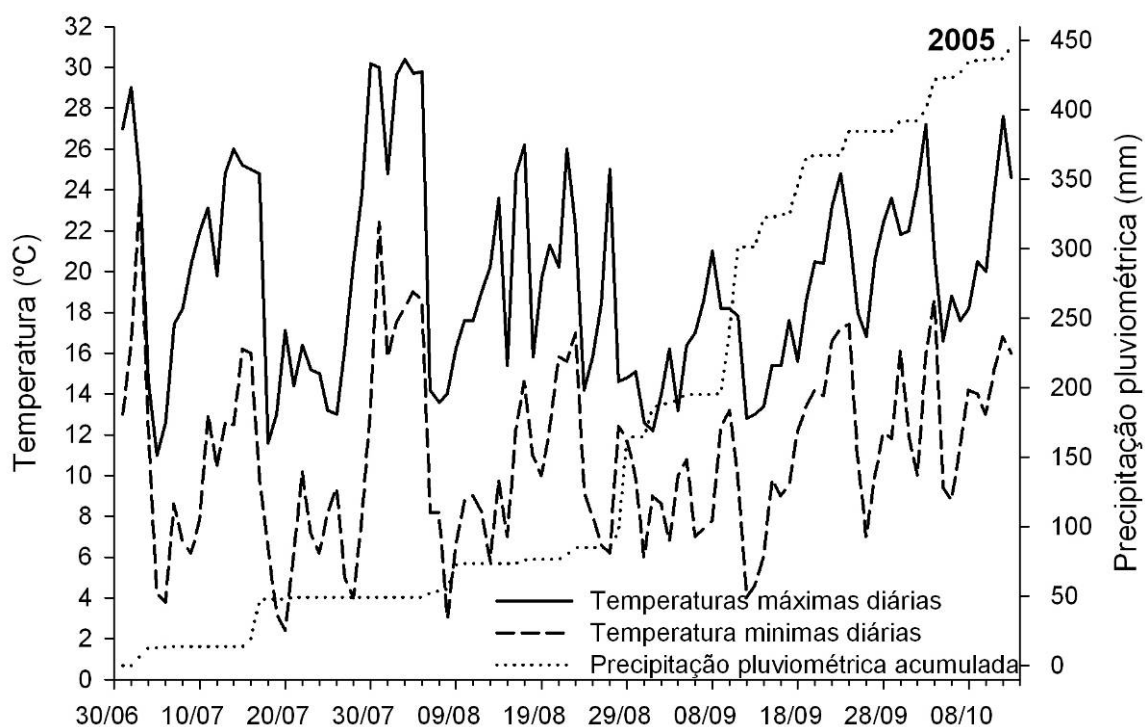
O objetivo deste trabalho foi estudar a dinâmica da água (umidade ponderal) em tecidos de duas cultivares de pereira durante o período hibernal.

### **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido na Embrapa Clima Temperado de Pelotas - R.S., onde a altitude média é de 224 m e as coordenadas geográficas são de 52°21'

Oeste e 31°52' Sul. A classificação climática da região de Pelotas é do tipo 'Cfa' (segundo Köppen), clima subtropical úmido, com precipitação média anual de 1582 mm, temperatura média anual de 18,4°C, umidade relativa média anual de 78% e média de 550 horas de frio (HF) abaixo de 7,2 °C durante o inverno.

O experimento foi conduzido em 2005, com duas cultivares de pereira: Kieffer e Housui, pertencentes à coleção instalada na Embrapa Clima Temperado. Os tecidos vegetais analisados consistiram em amostras do lenho (xilema), casca e gemas. Foram avaliadas quatro porções de ramos (terminal, mediana e basal do ramo e esporões) em cinco datas (01/07, 03/08, 06/09, 23/09 e 13/10) (Figura 3.1).



**Figura 3.1** Temperaturas mínimas e máximas diárias (°C) e precipitação pluviométrica acumulada (mm) durante o inverno de 2005. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.

A cultivar Housui foi obtida através do cruzamento entre (Kikisui x Yagumo) x Yagumo e lançada em 1972 pelo Instituto Nacional de Ciências em Plantas frutíferas em Tsukuba no Japão. A cultivar Kieffer foi criada no ano de 1873 na Pensilvânia por Peter Kieffer, originada do cruzamento entre *P. pyrifolia* e a cultivar Bartlett e é muito utilizada para a indústria nos Estados Unidos (HAUAGGE e CUMMINS, 2000).

A cultivar Housui apresenta média exigência em frio (720 horas  $\leq 7,2^{\circ}$  C) e tem altos índices de abortamento floral na região Sul do Brasil, próximos à 100% na maioria dos anos. A cultivar Kieffer tem necessidade em frio de aproximadamente 300 horas de frio e apresenta baixos índices de abortamento floral (FAORO, 2001).

A determinação da umidade ponderal foi efetuada no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima Temperado, após secagem das amostras estufa à  $70^{\circ}$ C por 72 h, sob ventilação forçada, de acordo com a fórmula:  $UP = MF-MS/MS$ , onde UP = umidade ponderal, MF = massa fresca e MS = massa seca. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo a unidade experimental constituída por uma planta. O experimento foi conduzido em esquema fatorial triplo  $3 \times 4 \times 5$  em parcelas subdivididas, com três repetições por tratamento. Os fatores experimentais foram os tecidos (3 níveis), as porções do ramo (4 níveis) e as datas de coleta (5 níveis). As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu interação significativa entre os fatores tecido, época de coleta e porção do ramo para os valores da umidade ponderal (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1** Resumo da análise de variância para a umidade ponderal em tecidos de pereiras nas cultivares Housui e Kieffer durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.

Fonte de Variação	GL	QM	
		Housui	Kieffer
Tecido (T)	2	10,258**	13,136**
Porção do ramo (P)	3	0,039*	0,184**
Época (E)	4	0,047*	0,364**
T x P	6	0,267**	0,187**
T x E	8	0,121**	0,284**
P x E	12	0,070**	0,037**
T x P x E	24	0,025*	0,024*
Resíduo	240	0,014	0,013
<b>CV (%)</b>		9,85	10,03
<b>Média Geral</b>		1,21	1,15

\*, \*\* significativo pelo teste F a 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente.

A umidade ponderal apresentou pequenas variações nos tecidos da casca e do lenho das cultivares Kieffer e Housui durante o inverno. Os tecidos da casca apresentaram os maiores conteúdos de água em relação aos tecidos do lenho e das gemas nas diferentes cultivares e porções de ramos avaliados durante a dormência.

Na cultivar Kieffer, a umidade ponderal foi superior nas gemas das porções terminais e nos esporões, com considerável aumento na umidade ponderal em todas as porções na fase que antecede a brotação após a coleta de 23/09 (Tabela 3.2).

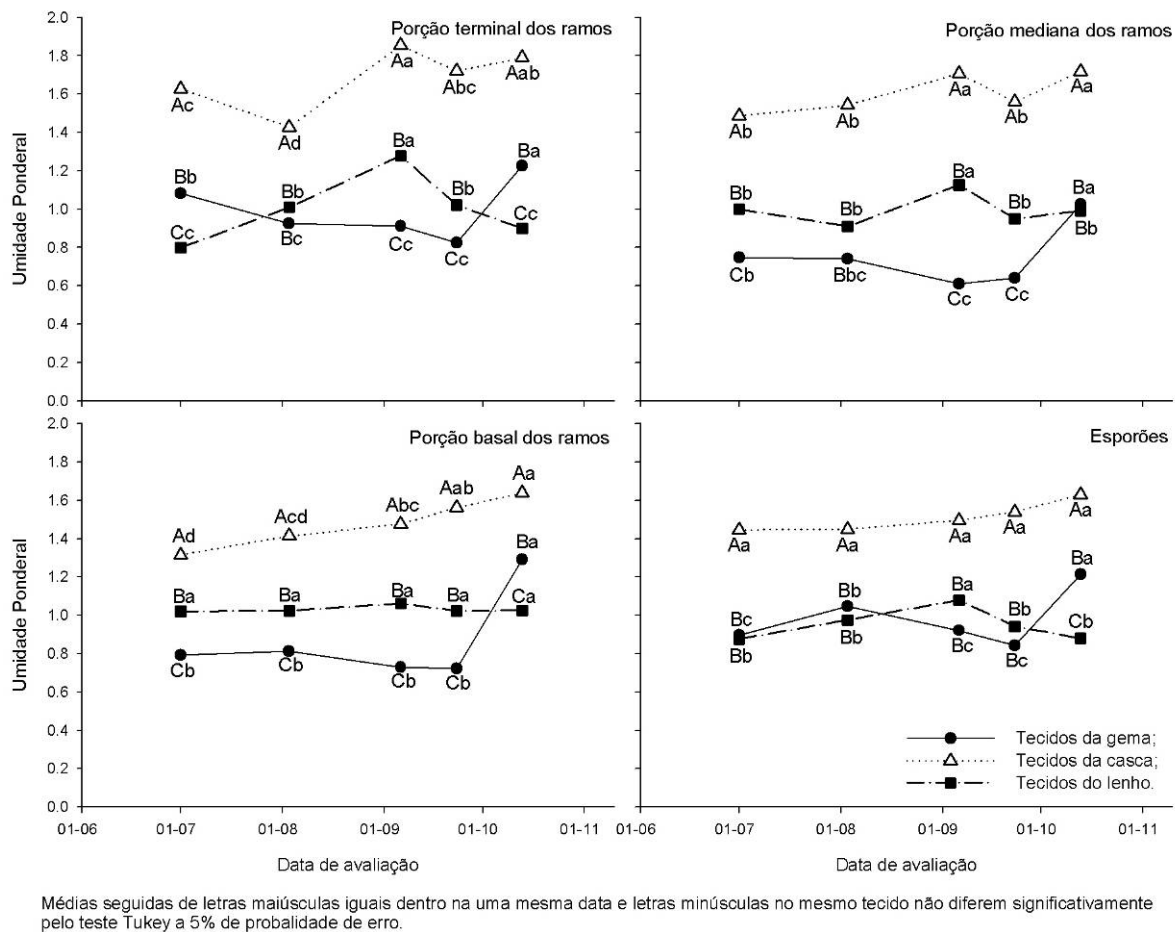
**Tabela 3.2** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar Kieffer em diferentes porções de ramo. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.

Porção dos ramos	Data de avaliação				
	01/07/05	03/08/05	06/09/05	23/09/05	13/10/05
Tecidos da gema					
Terminal	1,08A	0,92AB	0,91A	0,82AB	1,23A
Mediana	0,75B	0,74B	0,61B	0,64C	1,03A
Basal	0,79B	0,81B	0,73B	0,72BC	1,29A
Esporão	0,90AB	1,05A	0,92A	0,84A	1,21A
Tecidos da casca					
Terminal	1,63A	1,43A	1,85A	1,72A	1,79A
Mediana	1,49AB	1,54A	1,71B	1,56A	1,72A
Basal	1,32B	1,41A	1,48C	1,56A	1,64A
Esporão	1,45AB	1,45A	1,50C	1,54A	1,63A
Tecidos do lenho					
Terminal	0,80B	1,01A	1,28A	1,02A	0,90AB
Mediana	1,00A	0,91A	1,13AB	0,95A	0,99B
Basal	1,02A	1,02A	1,06B	1,02A	1,03A
Esporão	0,88AB	0,98A	1,08AB	0,94A	0,88B

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais dentro da coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A umidade ponderal manteve-se relativamente constante nas gemas até a quarta coleta (23/09), quando, na última coleta (13/10), ocorreu um rápido aumento no conteúdo de água em todas as porções do ramo e também nos esporões. De forma geral, o conteúdo de água no lenho aumenta até a terceira coleta (03/08) e apresentou reduções nas duas últimas coletas (23/09 e 13/10). Estas reduções na umidade ponderal do lenho podem ter ocorrido em função da migração da água, juntamente com açúcares solúveis, para induzir a brotação das gemas (Figura 3.2).





**Figura 3.2** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar Kieffer durante a dormência. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.

O considerável aumento na umidade ponderal das gemas da cultivar Kieffer no período final de dormência sugere que o estado de hidratação da gema teria forte relação com sua capacidade de brotação. Cottignies (1990) após medir o potencial hídrico e osmótico das gemas terminais de freixo (*Fraxinus excelsior* L.) no final da dormência, verificou que o aumento no potencial hídrico, uma semana antes da brotação, possibilitou a reativação do metabolismo e induziu a brotação das gemas.

O aumento no conteúdo de água que ocorre nas gemas na fase que antecede a brotação, estaria relacionado ao processo de retomada de crescimento no início da primavera. Essiamah e Eschrich (1986) atribuem o aumento na massa fresca das gemas no início da primavera ao aumento na importação e no influxo de água e solutos que ocorre após a superação da endodormência, na fase que antecede à brotação, ocorrendo a reidratação e ativação do metabolismo das gemas.

Quanto às diferentes porções de ramo avaliadas na cultivar Housui, nota-se que as gemas terminais e os esporões são os que contêm maior conteúdo relativo de água (umidade ponderal) e os tecidos do lenho do esporão, os que apresentaram menor conteúdo de água em relação às demais porções do ramo (Tabela 3.3).

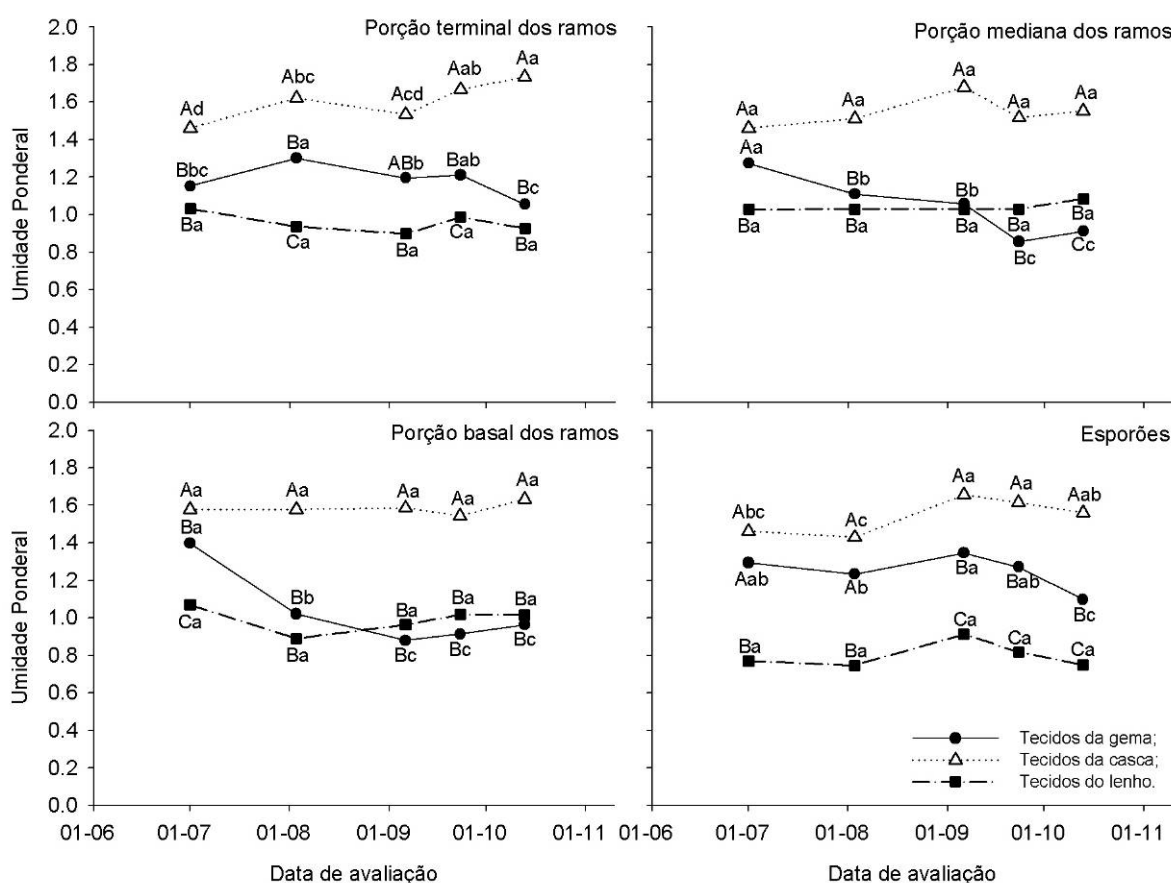
**Tabela 3.3** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar ‘Housui’ em diferentes porções de ramo. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.

Porção dos ramos	Data de avaliação				
	01/07/05	03/08/05	06/09/05	23/09/05	13/10/05
Tecidos da gema					
Terminal	1,15B	1,30A	1,20AB	1,21A	1,06 AB
Mediana	1,27AB	1,11A	1,06B	0,86B	0,91B
Basal	1,40A	1,02B	0,88B	0,91B	0,96AB
Esporão	1,29AB	1,23A	1,35A	1,27A	1,10A
Tecidos da casca					
Terminal	1,46A	1,62A	1,53A	1,67A	1,73A
Mediana	1,46A	1,51A	1,68A	1,52A	1,55B
Basal	1,58A	1,58A	1,59A	1,54A	1,63AB
Esporão	1,46A	1,43A	1,66A	1,62A	1,56B
Tecidos do lenho					
Terminal	1,03A	0,94A	0,90A	0,99A	0,93B
Mediana	1,03A	1,03A	1,03A	1,03A	1,08A
Basal	1,07A	0,89AB	0,96A	1,02A	1,02AB
Esporão	0,77B	0,75B	0,91A	0,82B	0,75C

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais dentro da coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A reidratação das gemas envolve a geração de um potencial de pressão no ramo, ocasionado pelo efluxo de açúcares solúveis das células parenquimáticas, que vai atrair osmoticamente a água para dentro dos vasos do xilema durante o processo de mobilização de reservas. Segundo Leite (2004), a reidratação das gemas ocorre, em geral, um mês antes da brotação, associado com a mobilização do amido e ao deslocamento da água junto com os açúcares solúveis. A aceleração do crescimento das gemas se manifesta após a superação da endodormência, pela redução e estabilização dos valores do tempo médio de brotação realizado pelo ‘teste de estacas de nós isolados’, com aumento no conteúdo de água nas gemas.

Na cultivar Housui, verificou-se que a umidade ponderal das gemas manteve-se constante até a terceira coleta (06/09) e sofreu reduções significativas nas últimas duas coletas em todas as porções dos ramos. As gemas da base dos ramos sofrem significativas reduções na umidade ponderal nas duas primeiras coletas (01/07 e 03/08). Nas porções terminal, mediana e esporões, as reduções no conteúdo de água ocorrem somente a partir da terceira coleta (06/09) (Figura 3.3).



Médias seguidas de letras maiúsculas iguais dentro da mesma data e letras minúsculas dentro do mesmo tecido não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**Figura 3.3** Umidade ponderal em tecidos de pereira cultivar Housui durante a dormência. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2005.

A redução na umidade ponderal das gemas na fase que antecede a brotação estaria associada com a desidratação das gemas e teria sido ocasionada pela insuficiência em frio hibernal, conduzindo à necrose no período final da dormência. Possivelmente, a competição por nutrientes e assimilados entre as gemas é maior na cultivar Housui do que na 'Kieffer', que tem menor formação de gemas floríferas.

A menor quantidade de água observada na cultivar Housui pode ser conseqüência do menor teor de açúcares solúveis nas gemas das plantas que se desenvolvem em condições de insuficiência em frio, visto que, o transporte de água dependeria da mobilização dos carboidratos nos tecidos fonte (lenho). Assim, o menor teor de açúcares solúveis no lenho verificado nas plantas com baixo acúmulo em frio, impediria o movimento passivo da água para dentro dos vasos xilemáticos e, conseqüentemente, a rehidratação das gemas, provocando a necrose floral.

As condições climáticas no outono e inverno são muito variáveis na região Sul do Brasil, com grandes oscilações de temperatura durante o inverno. A intensidade de incidência do abortamento floral estaria relacionada com a insuficiência em frio, associada à ocorrência de flutuações térmicas durante a dormência. As altas temperaturas aumentariam a atividade respiratória das gemas, aumentando a demanda energética e o consumo de açúcares solúveis para a manutenção do metabolismo dos tecidos meristemáticos (HERTER et al., 1994).

### **3.4 CONCLUSÕES**

O aumento no conteúdo de água nas gemas da cultivar 'Kieffer' no final da dormência estaria relacionado com a mobilização de reservas para a retomada do crescimento das gemas, após a satisfação do requerimento em frio durante a endodormência. Por outro lado, a insatisfação do requerimento em frio hibernal refletiu na desidratação das gemas das plantas da cultivar 'Housui', conduzindo ao esgotamento das reservas de carboidratos nestes tecidos que culminaram com o alto grau de severidade de necrose floral no final da dormência.

**4. METABOLISMO DE CARBOIDRATOS EM TECIDOS DE PEREIRA JAPONESA  
SUBMETIDOS À FLUTUAÇÃO TÉRMICA DURANTE O INVERNO**

## 4.1 INTRODUÇÃO

A superação da dormência das plantas lenhosas é um processo complexo que envolve mudanças metabólicas nos tecidos meristemáticos, onde interagem fatores como a regulação hormonal e a disponibilidade de água, nutrientes e carboidratos. Diferentes fatores exercem influência na superação da dormência, porém, os mais eficazes são as baixas temperaturas, o estresse hídrico e os reguladores de crescimento, como as giberelinas (CRABBÉ e BARNOLA, 1996).

O amido é o carboidrato de reserva mais abundante das plantas lenhosas de clima temperado, sendo sintetizado nos cloroplastos durante a fotossíntese ou nos amiloplastos de órgãos não-fotossintetizantes de reserva, como tecidos lenhosos da parte aérea e raízes. A degradação do amido é responsável pela geração de glicose que mantêm um gradiente de concentração que favorece o aumento da síntese de sacarose como forma de proteção ao frio (PREISS e SIVAK, 1996).

A mobilização dos carboidratos nos órgãos lenhosos das plantas frutíferas de clima temperado está diretamente ligada aos eventos climáticos, sobretudo à temperatura, tendo grande importância nos estudos sobre adaptação. As baixas temperaturas provocam efeitos como alterações no estado físico das membranas e na atividade enzimática, influenciando, conseqüentemente, o balanço metabólico da planta (FAUST, 1989). Alguns autores verificaram variações no conteúdo de carboidratos em tecidos de macieira (CARVALHO e ZANETTE, 2004), pessegueiro (LEITE et al., 2004; BONHOMME et al., 2005) e pereira (RODRIGUES et al., 2006).

A mobilização do amido visa aumentar a quantidade de açúcares solúveis potencialmente utilizáveis para o metabolismo celular (BECK e ZIEGLER, 1989). Yoshioka et al. (1988) relacionaram a mobilização do amido em ramos de macieira à um mecanismo de tolerância ao frio, que ocorre na transição do outono/inverno. Estes autores observaram que, durante o inverno, o amido é degradado pelas amilases e metabolizado em sacarose pelas enzimas sacarose-fosfato sintase e/ou sacarose sintase, em resposta à diminuição da temperatura do ar. A sacarose produzida seria transportada dos ramos até os tecidos das gemas, onde seria hidrolisada em glicose e frutose, servindo como fonte de energia e também na biossíntese de precursores carbônicos na fase de indução à brotação das gemas.

Durante o inverno, as reservas amiláceas são parcialmente convertidas em açúcares solúveis nos tecidos de reserva e, maciçamente utilizadas na primavera

para sustentar a brotação das gemas (LACOINTE et al., 1993). Em plantas frutíferas pertencentes à família *Rosaceae*, incluindo gêneros economicamente importantes como *Malus* (macieira), *Pyrus* (pereira) e *Prunus* (pessegueiro, cerejeira e ameixeira), o sorbitol predomina como principal açúcar de translocação na seiva do floema (60-90%) durante o verão (LOESCHER et al., 1990). Porém, mesmo nesta família, há circulação de glicose e sacarose na seiva do xilema durante o inverno. Em noqueira, a sacarose é a principal forma de açúcar solúvel circulante na seiva do xilema durante o inverno (AMÉGLIO e CRUZIAT, 1992).

A enzima sacarose-6-fosfato sintase (SPS) participa da conversão de UDP-glicose mais frutose em sacarose-6-P e desempenha papel preponderante na mobilização de reservas glicídicas nos tecidos vegetais. O aumento da atividade da enzima indica a capacidade dos tecidos em sintetizarem sacarose durante o inverno. Uma estreita ligação foi observada entre a síntese de sacarose e a atividade da SPS, tanto em tecidos fotossintéticos, quanto em tecidos não fotossintéticos (HUBBARD et al., 1991). A expressão e a atividade da SPS são estimuladas pela glicose e inibidas pela sacarose (HESSE et al., 1995).

Schrader e Sauter (2002) verificaram que, a atividade da sacarose-fosfato sintase (SPS) nas células do parênquima do xilema das plantas frutíferas de clima temperado apresenta aumento no final do outono, máxima atividade no inverno, durante a conversão do amido em açúcares solúveis e declínio no início da primavera, quando ocorre a ressíntese do amido. Em ramos de *Populus*, *Salix*, *Acer* e *Fagus* condicionados a 0°C e 10°C durante a dormência, a atividade da SPS foi superior naqueles que foram submetidos à temperatura menor.

A invertase ácida da parede (IAP) está associada à absorção de açúcares e sua atividade condiciona a força de tecido 'dreno'. Localizada mais especificamente na parede celular, ela participa do fluxo de açúcares solúveis, associada à co-transportadores H<sup>+</sup>-hexoses (BONNEMAIN e FROMARD, 1987). Ao hidrolisar a sacarose em nível apoplástico, a IAP facilita o carregamento dos órgãos ou tecidos drenos com frutose e glicose. A expressão da IAP é induzida pela sacarose ou pelo estresse como aquele causado pelo frio ou por injúrias mecânicas. A IAP hidrolisa a sacarose em glicose e frutose, aumentando o gradiente de concentração de sacarose no sentido do descarregamento do apoplasto em direção aos tecidos drenos. As hexoses liberadas atuam coordenadamente com os co-transportadores H<sup>+</sup>-hexoses das células de transferência do xilema, através de um eficiente sistema

de cooperação, que resulta num mecanismo regulatório capaz de atrair sacarose aos tecidos-fonte (EHNESS e ROITSCH, 1997; GODT e ROITSCH, 1997).

Maurel et al. (2004a) verificaram um aumento na atividade da IAP em tecidos meristemáticos de gemas de pessegueiro pouco antes da brotação e afirmaram que, a sacarose seria hidrolisada no apoplasto antes de ser absorvida pelos tecidos. A reação de hidrólise da sacarose, catalisada pela IAP, produz glicose e frutose no apoplasto. As hexoses entrariam nas células através de transporte ativo associadas aos co-transportadores  $H^+$ -hexoses, favorecendo a importação de mais sacarose. Eschrich (1989) evidenciou a presença da enzima IAP em vários tecidos de muitas espécies vegetais. Trata-se de uma invertase ácida, com pH ótimo em torno de 4,6, sendo totalmente inativada em pH próximo à 6,5. Este autor sugere que a sacarose descarregada no apoplasto seria convertida em glicose e frutose pela IAP, gerando um gradiente de potencial entre fonte e dreno, favorável à importação de sacarose.

O objetivo da realização deste trabalho foi comparar as concentrações de carboidratos e a atividade das enzimas SPS e IAP em tecidos de pereira japonesa cv. Housui, submetidos à flutuação térmica durante o período de dormência.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Embrapa Clima Temperado de Pelotas - R.S., onde a altitude média é de 224 m e as coordenadas geográficas são de 52°21' Oeste e 31°52' Sul. A classificação climática da região de Pelotas é do tipo Cfa (segundo Köppen), subtropical úmido com precipitação média anual de 1582 mm, temperatura média anual de 18,4°C e umidade relativa média anual de 78%.

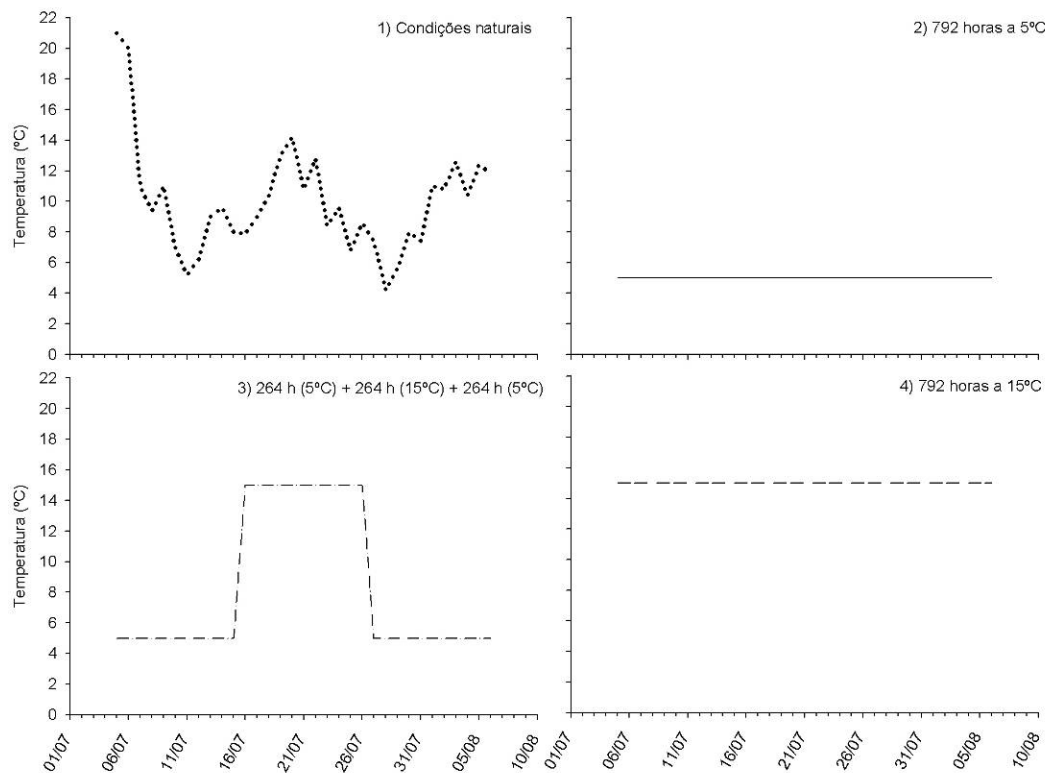
O material experimental consistiu em ramos de pereira japonesa cultivar 'Housui' [*Pyrus pyrifolia* (Burm) Nak.], coletados em plantas com 14 anos de idade, pertencentes à coleção instalada na Embrapa Clima Temperado de Pelotas – R.S.. Os ramos foram coletados em 23 de maio de 2007 e, em seguida, enxertados sobre porta-enxertos de *Pyrus calleriana*. Os ramos enxertados permaneceram em telado até o início dos tratamentos térmicos no dia 06 de junho de 2007.

A cultivar Housui foi obtida através do cruzamento entre (Kikisui x Yagumo) x 'Yagumo' e lançada em 1972 pelo Instituto Nacional de Ciências em Plantas



frutíferas em Tsukuba no Japão (HAUAGGE e CUMMINS, 2000). A planta tem exigência média de 720 horas de frio abaixo de 7,2° C e tem apresentado altos índices de abortamento floral, próximos à 100%, na maioria dos anos na região Sul do Brasil (FAORO, 2001).

No início do inverno de 2007, os ramos enxertados foram submetidos aos seguintes tratamentos térmicos: T1) Condições naturais (CPACT - Embrapa Clima Temperado); T2) Frio contínuo: 800 horas em câmara de refrigeração sob temperatura de 5°C; T3) Alternância de temperatura: 300 h em câmara fria a 5°C + 200h em câmara de crescimento a 15°C + 300 h em câmara fria a 5°C; T4) Privação total de frio: 800h em câmara de crescimento a 15°C (Figura 2.1).



**Figura 4.1** Tratamentos térmicos utilizados nos ramos de pereira cultivar Housui durante o inverno. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

Após o término dos tratamentos, os ramos foram transferidos para a casa de vegetação sob condições favoráveis de temperatura e fotoperíodo. Os tecidos coletados consistiram em amostras de lenho e gemas, que foram coletados três dias após o término dos tratamentos térmicos, na fase de indução à brotação. Após a

coleta e separação dos tecidos, as amostras foram colocadas em tubos criogênicos, submersas em nitrogênio líquido ( $N_2$ ) e armazenadas em ultrafreezer ( $-70^\circ C$ ).

Foram utilizados 200 mg de massa seca (MS) para a determinação dos carboidratos. As amostras foram colocadas em tubos de centrifuga, adicionando-se 5 mL de etanol a 80%, agitando-se em agitador magnético e incubando-se em banho-maria a  $85^\circ C$  durante 5 minutos. Após, procedeu-se a centrifugação a 6.000 rpm por 10 minutos, coletando-se o sobrenadante em balão volumétrico de 50 mL. O precipitado foi novamente ressuspensão em 5 mL de etanol a 80% e centrifugado novamente, coletando-se o sobrenadante e completando-se para 50 mL em balão.

Foram utilizadas alíquotas de 200  $\mu L$  deste sobrenadante para a quantificação dos açúcares solúveis totais (AST) pelo método de antrona (DISCHE, 1962). As leituras de absorvância foram efetuadas a 620 nm e os resultados foram expressos em  $mg\ g^{-1}$  MS. A quantificação dos açúcares redutores (AR) foi realizada com alíquotas de 750  $\mu L$  do sobrenadante, pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959). As leituras das densidades ópticas foram efetuadas a 540 nm e os resultados foram expressos em  $mg\ g^{-1}$  MS.

O precipitado foi utilizado na determinação do amido a partir da metodologia desenvolvida por McCready et al. (1950). Nos tubos de centrifuga, o 'pellet' seco, com aproximadamente 200 mg, foi ressuspensão em 3,33 mL de ácido perclórico 30% ( $HClO_4$  30%) e agitado regularmente por 30 minutos em vórtex. Em seguida adicionou-se 6,66 mL de água destilada e procedeu-se a centrifugação a 6.000 rpm por 10 minutos. Coletou-se o sobrenadante em balão volumétrico de 50 mL. Repetiu-se o mesmo procedimento outra vez, coletando-se os dois sobrenadantes no mesmo balão e completando-se o seu volume para 50 mL com água deionizada.

A determinação do amido foi realizada através da reação com antrona, utilizando-se 200  $\mu L$  do sobrenadante anterior e completando o volume para 1 mL com água destilada. Em seguida, adicionou-se 2 mL de solução de antrona e  $H_2SO_4$ , mantendo os tubos de ensaio em banho de gelo. Após esta etapa, os tubos foram fervidos por 3 minutos a  $100^\circ C$  e, então, resfriados em banho de gelo (DISCHE, 1962). As leituras de absorvância foram realizadas a 620 nm e os resultados foram expressos em  $mg\ g^{-1}$  MS.

A extração das enzimas foi efetuada a partir da maceração de 150 mg de tecido fresco em nitrogênio líquido ( $N_2$ ) com auxílio de grau e pistilo, dentro de uma bandeja contendo água e gelo ( $4^\circ C$ ). Ao pulverizado resultante da maceração foram

adicionados 1200  $\mu\text{L}$  de tampão HEPES 50 mM pH 7.0, contendo DTT 10 mM,  $\text{MgCl}_2$  5 mM e EDTA 1 mM dentro de tubos eppendorf. Após serem bem misturadas, as amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm (18.890 g) por 15 min à 4°C em microcentrifuga refrigerada e o sobrenadante foi recuperado para a determinação da atividade da sacarose-fosfato sintase (SPS).

A extração da invertase ácida da parede celular (IAP) foi efetuada através de diálise ácida do precipitado resultante da extração das enzimas solúveis (SPS). O precipitado foi previamente lavado duas vezes com 800  $\mu\text{L}$  de tampão de extração e novamente centrifugado à 13.000 rpm ( ) durante 5 min. Este precipitado foi então ressuspensão em 500  $\mu\text{L}$  de tampão invertase, pH 5,0 + NaCl 1 M (diálise ácida) em tubos 'eppendorf', permanecendo por 18-24 horas a 4°C na geladeira. Após, os tubos foram centrifugados à 13.000 rpm (18.890 g), a 4°C por 15 min e recuperou-se a alíquota do sobrenadante para a determinação da invertase ácida da parede (IAP).

A atividade da IAP (EC 3.2.1.26) foi determinada segundo as metodologias de Roitsch et al. (1995) e Yamaki e Ishikawa (1986). O meio de incubação foi composto por 70 mM de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  e 40 mM citrato pH 5.0 e 50 mM de sacarose. As testemunhas foram fervidas por 5 min a 100°C. A reação enzimática se desenvolveu durante 30 min a 30 °C e paralisada por fervura a 100°C durante 5 min. A leitura da absorbância foi efetuada a 520 nm e a atividade da enzima expressa em nmol de glicose por minuto por grama de massa fresca ( $\text{nmol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$ ) (NELSON, 1944).

A atividade da SPS (EC 2.4.1.14) foi determinada segundo as metodologias de Schrader e Sauter (2002) e Hauch e Magel (1998). A atividade da enzima foi determinada em condições não limitantes de substrato, em um meio de incubação 100 mM HEPES/NaOH pH 7.5 contendo 25 mM  $\text{MgCl}_2$ , 25 mM de glicose-6-fosfato (G6P), 5 mM de frutose-6-fosfato (F6P) e 20 mM de uridina difosfato glicose (UDP-glicose). A Uridina difosfato (UDP) é o produto formado durante a síntese de sacarose, sendo mensurada indiretamente pelo NADH consumido através da reação multi-enzimática catalisada pelo complexo piruvato cinase/lactato desidrogenase (450U PK/450U LDH), utilizando-se 100 mM Tris/HCl pH 7.5, 10 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.8 mM de fosfoenol piruvato (PEP) e 0.3 mM de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) na forma reduzida. O extrato enzimático utilizado nas amostras testemunhas foi previamente fervido à 100°C por 4 minutos para a desnaturação das enzimas. A reação enzimática se desenvolveu durante 40 min a 30 °C, sendo paralisada por fervura à 100 °C por 4 min. A leitura da absorbância do NADH foi efetuada a 340 nm

em cubeta de quartzo e a atividade da enzima foi expressa em nmol de NADH consumido por minuto por grama de massa fresca ( $\text{nmol NADH min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$ ).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições, em esquema fatorial duplo 2x4, com dois níveis do fator tecido (gema e lenho) e quatro níveis do fator condição térmica (tratamentos T1, T2, T3 e T4).

#### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu interação significativa entre os fatores: tecido e condição térmica, para as concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e de amido ( $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca) e para a atividade da invertase ácida da parede (IAP) e da sacarose-fosfato sintase (SPS) ( $\text{nmol min}^{-1} \text{g}^{-1}$  de massa fresca) (Tabela 2.1).

**Tabela 4.1** Resumo da análise de variância para as concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e amido e a atividade da IAP e da SPS, Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

Fonte de Variação	GL	QM				
		AST	AR	Amido	IAP	SPS
Tecido (T)	1	4220,60*	1586,18*	758,58*	92851,53*	97207,28*
Condição térmica (C)	3	1144,29*	59,75*	36,58*	60054,05*	21396,11*
T x C	3	120,73*	24,26*	94,38*	31079,48*	5352,53*
Resíduo	16	2,99	0,08	0,44	230,53	26,81
CV (%)		2,76	2,27	3,49	8,92	4,64
Média Geral		62,69	12,49	19,06	170,17	111,40

\* significativo pelo teste F a 0,1% de probabilidade de erro.

As concentrações de AST, AR e amido foram significativamente superiores nas gemas em T2 e T3 do que em T1 e T4. O T2 apresentou as maiores concentrações de AST e AR nos tecidos na fase de indução à brotação. A concentração de AST foi significativamente superior nas gemas dos T3 em relação aos T1 e T4 (Figura 2.2).

O acúmulo de AST nos tecidos que receberam frio suplementar (T2 e T3) na fase de indução à brotação seria ocasionada pela exposição dos ramos ao frio durante o período de hibernar. As quantidades de AST nas gemas dos T2 e T3 foram significativamente superiores aos T1 e T4 demonstrando que, de fato, o

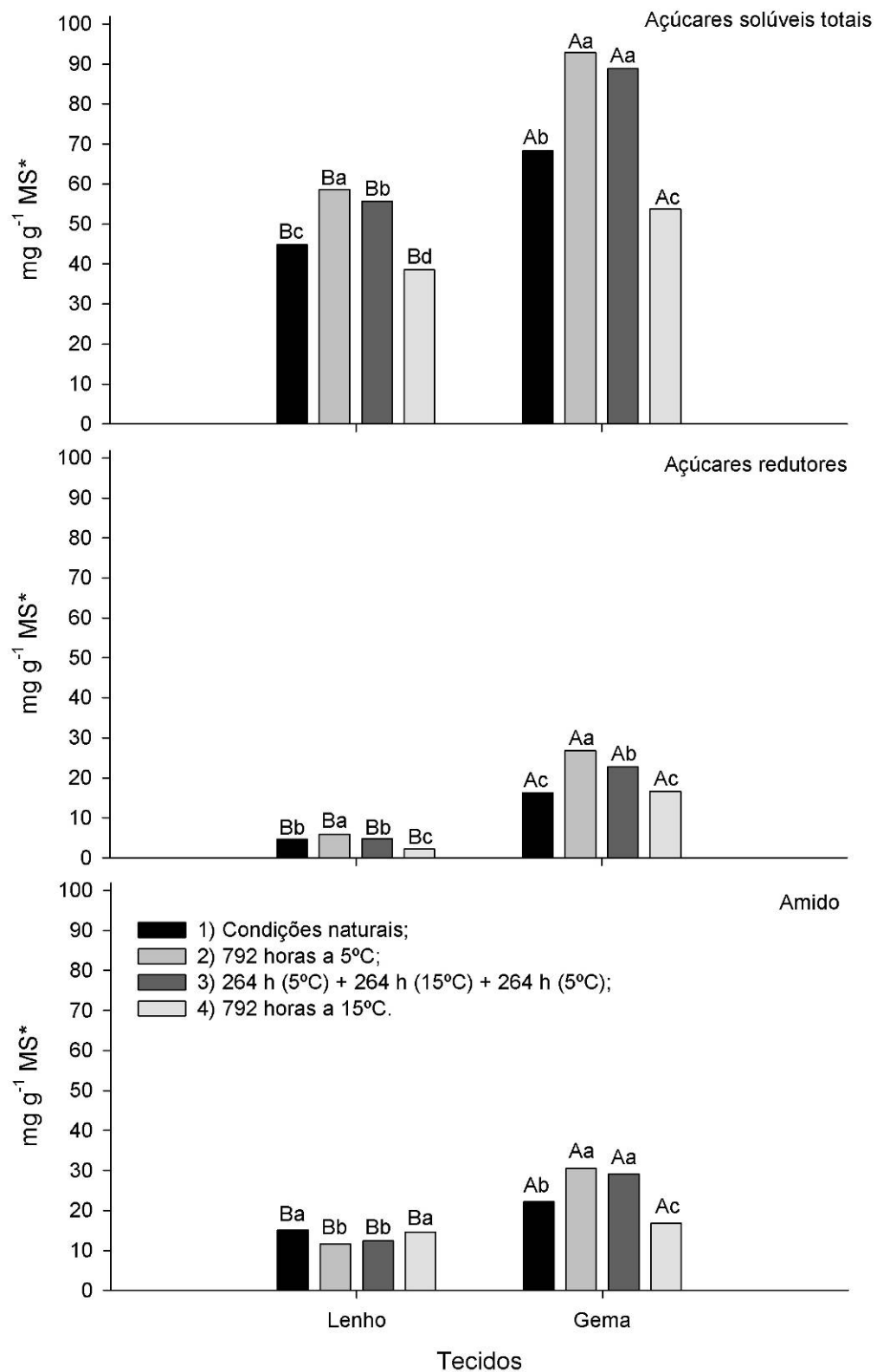
acúmulo de açúcares é maior nos ramos submetidos ao frio do que naqueles que não recebem ou recebem pouco frio durante o inverno. Da mesma forma, o maior conteúdo de AR nas gemas do T2, representa que houve acúmulo de hexoses nos tecidos das plantas submetidas ao frio, principalmente, nas gemas. Isto possibilitou a ressíntese de amido nas gemas, que foi constatada nos T2 e T3 e não foi observada nas gemas das plantas sob privação de frio ou condições naturais (Figura 2.2).

A concentração de amido foi maior no lenho (xilema) nos tratamentos T1 e T4 em relação aos T2 e T3. O maior conteúdo de amido no lenho dos ramos que não receberam frio suficiente no inverno (T1 e T4) é reflexo da ausência não indução das enzimas amidolíticas durante o inverno. Por outro lado, o menor conteúdo de amido verificado no lenho dos ramos submetidos ao frio (T2 e T3) pode ter sido ocasionado pela sua hidrólise, induzida pelas baixas temperaturas do inverno (Figura 2.2).

Sauter et al. (1998) verificaram um estreito paralelismo entre a queda de temperatura, a degradação do amido e o aumento no conteúdo de açúcares solúveis totais em ramos de álamo (*Populus* sp.). A natureza dos açúcares liberados após a exposição dos ramos ao frio demonstrou que é essencialmente a alfa-amilase a enzima responsável pela hidrólise do amido sob baixas temperaturas. O contato da enzima com o grânulo de amido aumentaria fortemente e de maneira linear com a diminuição da temperatura nas células do parênquima do xilema dos ramos.

A insuficiente exposição ao frio dos ramos mantidos sob privação e em condições naturais poderia explicar o maior conteúdo de amido no lenho e o menor conteúdo nas gemas destas plantas. Além disso, a concentração de hexoses também foi baixa nas gemas na falta de frio, pois não houve indução da degradação das reservas de amido nem aumento nos açúcares solúveis totais.

Durante a dormência, os tecidos meristemáticos das gemas apresentam baixa capacidade mobilizadora de açúcares solúveis, aumentando a hidrólise do amido e a síntese de sacarose como forma de proteção ao frio. Entretanto, após a superação da endodormência, as gemas se tornariam drenos metabólicos preferenciais, aumentando a importação de açúcares, por meio de transporte ativo, os quais são metabolizados para o fornecimento de energia e a biossíntese de precursores carbônicos durante a fase de indução à brotação (MARQUAT et al., 1999).



Médias seguidas de mesma letra minúscula em um mesmo tecido e médias seguidas de mesma letra maiúscula em uma mesma condição térmica não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.  
 \* Matéria Seca (MS);

**Figura 4.2** Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e de amido ( $\text{mg g}^{-1}$  MS) em tecidos de pereira cv. Housui na fase de indução à brotação. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

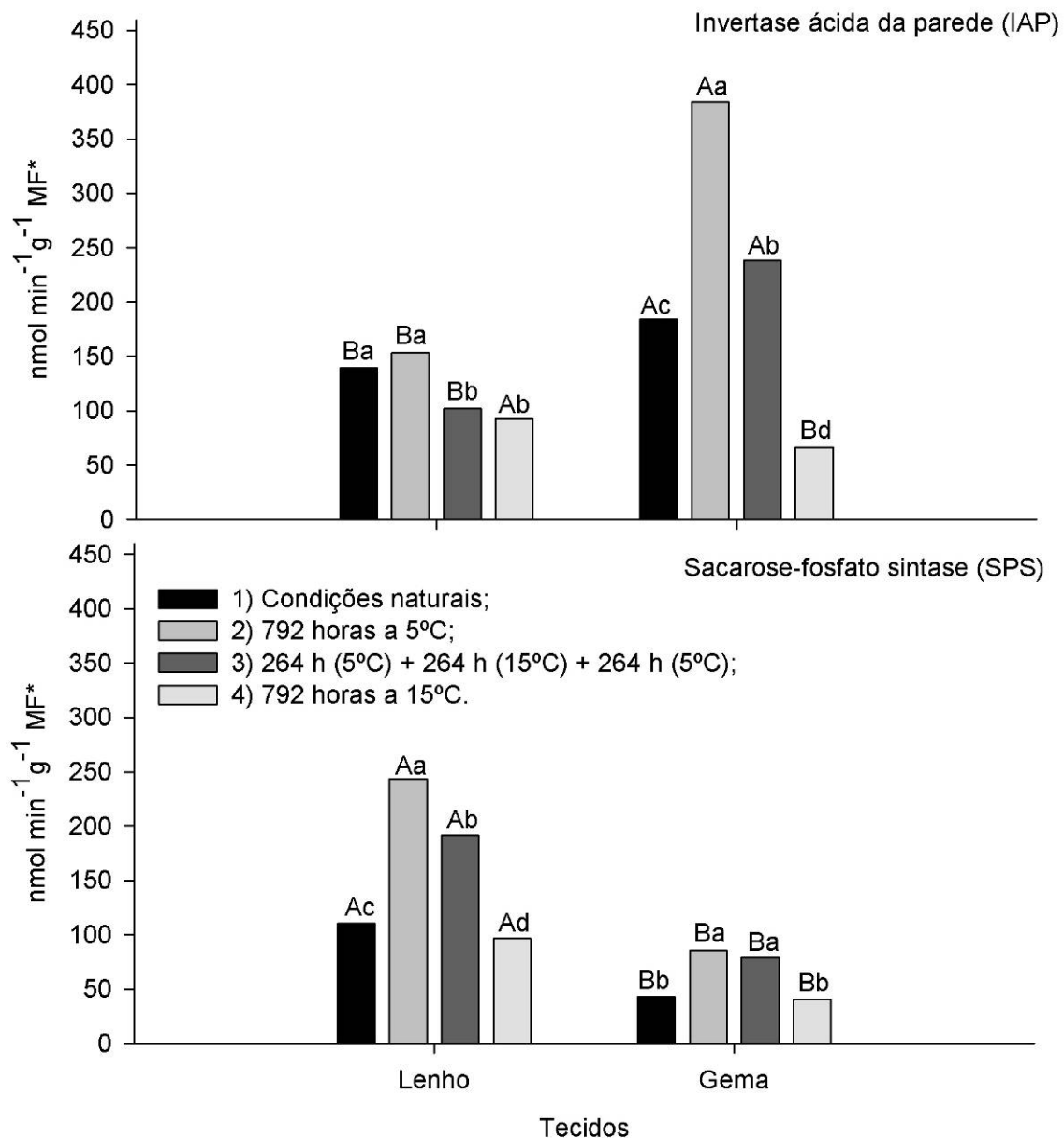
O aumento na concentração de hexoses nas gemas pode estar associado com a diminuição dos conteúdos de sorbitol, sacarose e amido nos tecidos de reserva, para a sustentação dos processos de floração e brotação (BONHOMME et al., 2005). Leite et al. (2004) verificaram que, ramos de pessegueiro mantidos sob condições naturais, com satisfação plena do requerimento em frio, apresentam aumentos nos conteúdos de hexoses e amido nas gemas. Por outro lado, nas plantas mantidas sob privação de frio hibernal não ocorre um suficiente acúmulo destes carboidratos nas gemas, impedindo o seu desenvolvimento normal.

Rakngan et al. (1996) verificaram que, plantas que receberam frio suficiente durante a dormência apresentaram brotação antecipada em relação às plantas com baixo acúmulo de frio. A ocorrência de dias quentes intermitentes durante a dormência da pereira japonesa, com temperaturas superiores à 27°C, retardaram ainda mais a saída da dormência do que as leves elevações das temperaturas (2 a 3°C) ao longo do inverno (HONJO et al., 2002).

Enquanto a atividade da SPS foi significativamente superior no lenho que nas gemas em todos os tratamentos e a atividade da IAP teve um comportamento inverso, sendo significativamente superior nas gemas que no lenho em todos os tratamentos, exceto no T4, em que ela foi superior no lenho. A atividade da IAP nas gemas foi significativamente superior no T2 em relação aos demais, seguida pelo T3, que por sua vez, foi significativamente superior aos T1 e T4 (Figura 2.3).

A atividade da IAP é inversamente relacionada à concentração de sacarose, porém, positivamente correlacionada com as concentrações de glicose e frutose nos tecidos vegetais. Durante o inverno, o amido que é degradado pelas amilases por ação das baixas temperaturas é metabolizado em sacarose pelas SPS e SS, que é exportada para as gemas, onde é hidrolizada em glicose e frutose.

Os aumentos na atividade da IAP nas gemas e da SPS no lenho das plantas submetidas ao frio (T2 e T3) devem estar relacionados aos aumentos nos conteúdos de hexoses (AR) e de amido nas gemas e dos AST no lenho. O tratamento com alternância de temperaturas (T3) diferiu pouco do tratamento com frio contínuo (T2) quanto às concentrações de carboidratos e a atividade das enzimas IAP e SPS. O T2 foi significativamente superior ao T3 apenas no conteúdo de AR das gemas. Quanto à atividade das enzimas, houve diferença significativa entre T2 e T3 para a atividade da IAP nos dois tecidos e para a SPS no lenho (Figuras 2.3).



Médias seguidas de mesma letra minúscula em um mesmo tecido e médias seguidas de mesma letra maiúsculas em uma mesma condição térmica não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. \* Massa Fresca (MF);

**Figura 4.3** Atividade da invertase ácida da parede (IAP) e da sacarose-fosfato sintase (SPS) em tecidos ( $\text{nmol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) de pereira cv. Housui na fase de indução à brotação. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

A atividade da SPS no lenho foi significativamente superior no T2 em relação aos demais tratamentos. A atividade da SPS no lenho do T3 foi superior aos T1 e T4. Nas gemas, a atividade da SPS foi significativamente superior nos tratamentos 2 e 3 em relação aos tratamentos 1 e 4 (Figura 2.3).



A baixa atividade da SPS observado o lenho dos tratamentos T1 e T4, demonstra a limitada capacidade de exportação de sacarose deste tecido. Da mesma forma, nos mesmos tratamentos, observou-se uma baixa atividade da IAP nas gemas, o que caracteriza a baixa capacidade de importação de sacarose. Sendo assim, estes dois fatores conjugados caracterizam uma fraca capacidade de mobilização de reservas dos tecidos fonte (lenho) para os tecidos dreno (gemas), causando um bloqueio nos processos vitais de crescimento e desenvolvimento dos tecidos meristemáticos das gemas, acarretando na necrose dos primórdios florais. Ito et al. (2002) afirmaram que a capacidade de importação de açúcares solúveis durante a fase de formação das gemas florais de pereira dependeria da ativação e da atividade das enzimas do metabolismo da sacarose e do sorbitol. Dessa forma, a SPS e a IAP podem servir como marcadores da superação da endodormência e da mobilização de glicídios na fase de indução à brotação.

A conversão do amido em açúcares solúveis foi induzida nas células de armazenamento do parênquima do xilema, em ramos isolados de álamo (*Populus*) submetidos à baixa temperatura (SAUTER, 1988a). A não indução da degradação do amido nos ramos seria, possivelmente, provocada pela falta de frio durante o inverno, devido ao aumento na demanda de carbono para a manutenção da respiração basal e da atividade metabólica das gemas. Os açúcares solúveis teriam papel fundamental tanto na fase de aclimação ao frio, na proteção dos tecidos contra as baixas temperaturas, bem como, na fase da retomada de crescimento das gemas, no fornecimento de energia e precursores biossintéticos durante a brotação.

A capacidade de formação de sacarose e de sua exportação através do apoplasto é maior à medida que se aproxima da fase de brotação e, coincide com o aumento da atividade das enzimas amidolíticas. Assim, o amido que é degradado nos ramos é rapidamente convertido em sacarose pela ação da SPS. A sacarose é exportada das células do parênquima para os vasos do xilema e transportada junto com a água para as gemas, onde ela é absorvida diretamente ou então hidrolisada ainda no apoplasto, o que favorece a sua importação (YOSHIOKA et al., 1988).

Nos tecidos de reserva, como no lenho, a SPS sintetiza a sacarose, que é exportada através dos vasos do xilema para as gemas. Hauch e Magel (1998) afirmaram que a redução no conteúdo de amido nas células do parênquima do xilema em ramos de *Robinia*, está associada com o aumento da atividade da SPS durante o inverno, indicando a conversão do amido em sacarose.

Quando a sacarose é translocada para tecidos não-fotossintetizantes é rapidamente convertida em frutose e glicose por enzimas invertases. Nestes órgãos, a frutose e a glicose podem ser utilizadas de três formas: a) na respiração, para a formação de ATP e outros compostos importantes; b) ser armazenados no vacúolo para posterior uso na respiração, e c) a glicose pode ser convertida em amido, servindo como reserva para uso em situações onde há pouca atividade fotossintética da parte aérea (ROITSCH, 1999). A sacarose sintetizada nas células do parênquima pode ser exportada para a seiva xilemática através de co-transportadores  $H^+$ -sacarose presentes nas células de transferência do xilema. Decourteix et al. (2008) afirmaram que os co-transportadores de sacarose (JrSUT1) têm maior importância do que co-transportadores de hexoses (JrHT1 e JrHT2) nas células de transferência no parênquima do xilema em ramos de noqueira (*Juglans regia*).

A menor atividade da SPS nos ramos com menor acúmulo de frio pode ser interpretada como uma menor capacidade de exportação de sacarose, pelo fato de ocorrer um aumento no consumo local de açúcares, para atender à demanda da retomada metabólica interna dos tecidos em condições de falta de frio hibernal.

Além de servirem como fonte de energia e como precursores carbônicos, as hexoses também atuam como moléculas de sinalização (SMEEKENS, 2000). Maurel et al. (2004b) verificaram que, as hexoses exercem um efeito inibitório na atividade dos co-transportadores  $H^+$ -sorbitol e  $H^+$ -sacarose em gemas florais de pessegueiro. A presença de glicose afetou negativamente a absorção de sorbitol e sacarose em 70% e 53%, respectivamente. Por outro lado, a absorção de glicose por parte destas gemas não foi afetada pela presença de sacarose ou de sorbitol.

Os resultados das determinações das concentrações de carboidratos e das atividades das enzimas IAP e SPS nos tecidos concordam com as observações fenológicas feitas nos ramos que permaneceram na casa de vegetação (Anexos).

#### **4.4 CONCLUSÕES**

Ocorreram alterações no metabolismo de açúcares solúveis dos tecidos fonte (lenho) para os drenos (gemas) nas plantas com deficiente acúmulo em frio durante o inverno, as quais apresentaram baixos conteúdos de açúcares solúveis e baixas atividades enzimáticas em seus tecidos. A ausência de frio impediu a degradação do

amido no lenho, provocando uma baixa capacidade de síntese e exportação de sacarose. Conseqüentemente, a importação de sacarose também sofre redução nas gemas, ocasionando um consumo local de açúcares solúveis que vai provocar o esgotamento das reservas de carboidratos na fase de indução à brotação. A falta de frio associada com a ocorrência de altas temperaturas dias durante o inverno teria provocado aumentos na atividade respiratória e na demanda energética dos tecidos meristemáticos das gemas que culminaram com a necrose dos primórdios florais.

## DISCUSSÃO GERAL

As pesquisas realizadas nesta tese tiveram por objetivo determinar as causas e os fatores envolvidos com o abortamento floral em pereira japonesa, com ênfase nos fatores ecofisiológicos. Ficou constatado que a insuficiência em frio durante o inverno altera o metabolismo de carboidratos e a dinâmica do conteúdo de água nos tecidos na fase de reativação do crescimento das gemas. As plantas com baixo acúmulo de frio apresentaram baixos conteúdos de carboidratos e baixas atividades enzimáticas em seus tecidos na fase de indução à brotação. Possivelmente, as altas temperaturas que ocorreram durante o período de inverno, aumentaram a atividade respiratória das gemas, provocando aumento no consumo local de açúcares e o esgotamento das reservas de carboidratos. O bloqueio na capacidade de mobilizar carboidratos pode ser notadamente observado pelas baixas atividades da SPS do lenho e da IAP das gemas das plantas submetidas a privação de frio no inverno.

O movimento da água nos tecidos das plantas lenhosas de clima temperado é muito importante, pois, além de servir como veículo de transporte para os açúcares, a água está intimamente ligada ao processo de mobilização das reservas de amido nos tecidos de reserva. O aumento no conteúdo de água nas gemas após a superação da dormência é preponderante para a reativação do metabolismo e a retomada do crescimento das gemas. A reidratação das gemas somente ocorreria quando o requerimento em frio da planta fosse satisfeito durante a endodormência.

O aumento no potencial osmótico da seiva do xilema, ocasionado pelo efluxo de açúcares solúveis derivados da hidrólise do amido no lenho possibilita a atração da água para dentro dos vasos, permitindo a movimentação da seiva. A deficiência no suprimento de açúcares para as gemas estaria associada com a pequena mobilização de reservas e com a baixa capacidade de hidratação destas gemas.

As futuras pesquisas em relação ao abortamento floral poderiam abordar aspectos como: metabolismo do sorbitol, microcalorimetria das gemas, microscopia óptica e práticas de manejo para melhoria do equilíbrio reprodutivo/vegetativo. Há necessidade de padronização da metodologia dos ramos enxertados para realização de experimentos em condições controladas com fruteiras de clima temperado.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, G.; DECOURTEIX, M.; FLEURAT-LESSARD, P.; SAKR, S.; BONHOMME, M.; AMÉGLIO, T.; LACOINTE, A.; JULIEN, J.; PETEL, G.; GUILLIOT, A. Spatial activity and expression of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in stem xylem of walnut during dormancy and growth resumption **Tree Physiology**, Victoria, v.27, n.10, p. 471-1480, 2007.
- ALVES, G.; AMÉGLIO, T.; GUILLIOT, A.; FLEURAT-LESSARD, P.; LACOINTE, A.; SAKR, S.; PETEL, G.; JULIEN, J. Winter variation in xylem sap pH of walnut trees: involvement of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase of vessel-associated cells **Tree Physiology**, Victoria, v. 24, n.1, p. 99-105, 2004.
- ALVES, G., J.J. SAUTER, J.L. JULIEN, P. FLEURAT-LESSARD, T. AMÉGLIO, A. GUILLIOT, G. PETEL; LACOINTE, A. Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase, succinate and isocitrate dehydrogenase activities of vessel-associated cells in walnut trees. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 158, p.:1263–1271, 2001.
- AMÉGLIO, T.; DECOURTEIX, M. ALVES, G.; GUILLIOT, A.; JULIEN, J.L.; LACOINTE, A.; PÉTEL, G.; SAKR, S. VALENTIN, V. Temperature effects on xylem sap osmolarity in walnut trees: evidence for a vitalistic model of winter embolism **Tree Physiology**, Victoria, v. 24, p.785–793, 2004.
- AMÉGLIO, T.; EWERS, F.W.; COCHARD, H.; MARTIGNAC, M.; VANDAME, M.; BODET, C.; CRUZIAT, P. Winter stem xylem pressure in walnut trees: effects of carbohydrates, cooling and freezing **Tree Physiology**, Victoria, v.21, p.387–394, 2001.
- AMÉGLIO, T.; CRUZIAT, P. Alternance tension/pression de la sève dans l'ê xylème chez le Noyer pendant l'hiver: rôle des températures. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, Paris, v. 315, p. 429-435, 1992.

- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, Editora Gazeta Santa Cruz Ltda, Santa Cruz do Sul, 136p. 2007.
- ARMAS-REYES, R.; CÁRDENAS-SOLORIO, E.; RODRÍGUEZ-ALCÁZAR, J. Conexión vascular y otros factores que influyen en la caída de yemas florales de chacabano **Revista Chapingo**, Chapingo, Serie Horticultura, v.12, p.33-39, 2006.
- ARRUDA, J.J.P.; CAMELATTO, D. Abortamento de gemas florais de cinco cultivares de pereira (*Pyrus sp.*) em dois locais do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 635-638, 1999.
- BARTOLINI, S.; GIORGINELLI, F. Observations on the development of vascular connections in two apricot cultivars **Advances in Horticultural Science**, Firenze, v. 8, p. 97-100, 1994.
- BECK, E. ;ZIEGLER, P. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 95-117, 1989.
- BERBEZY P., LEGENDRE L., MAUJEAN A. Alpha-amylase isoform pattern changes during the winter season in the winter-resting stem inter-nodes of *Vitis vinifera* **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 35 n. 9, p. 685-691, 1997.
- BIELESKI, R.L. Sugar alcohols In: LOEWUS, F.A., TANNER, W. (Eds.) **Plant Carbohydrates**. I. Intracellular Carbohydrates. Heidelberg, Springer-Verlag, p. 158–192, 1982.
- BONNEMAIN, J. L. Transport et distribution des produits de la photosynthèse. Coste S. **Photosynthèse et production végétale**, Gauthier-Villars, p. 171-194, 1978.
- BONNEMAIN J. L., FROMARD L. Physiologie comparée des cellules compagnes du phloème et des cellules associées aux vaisseaux. **Bulletin de la Société Botanique Française**, Paris, v. 134, p. 27-37, 1987.
- BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; GENDRAUD, M.; LACOINTE, A. Influences of cold deprivation during dormancy on carbohydrate contents of vegetative and floral primordia and nearby structures of peach buds (*Prunus persica* L. Batch) **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 105, p. 223-240, 2005.
- BONICEL, A., HADDAD G., GAGNAIRE J. Seasonal variations of starch and major soluble sugars in the different organs of young poplars. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 25 n. 4, p. 451-459, 1987.
- BUCKHOUT, T. J.; TUBBE, A. Structure, mechanisms of catalysis, and regulation of sugar transporters in plants In: SAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. **Photoassimilate**

- distribution in plants and crops: source-sink relationships.** New York: Marcel Dekker, p.229-260, 1996.
- CABRERA, D. Perspectivas para o cultivo da pereira europeias no Brasil In: Seminário Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado, VIII, 2008, São Joaquim, **Anais...**, São Joaquim: EPAGRI, p. 81-87, 2008.
- CARVALHO, R.I.N. **Dinâmica da dormência e do conteúdo de carboidratos e proteínas em gemas vegetativas e ramos de um e dois anos de macieira com ou sem frio suplementar.** 2001. 134f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- CARVALHO, R.I.N.; ZANETTE, F. Conteúdo de carboidratos em gemas e ramos de macieira durante o outono e inverno em região de baixa ocorrência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.202-205, 2004.
- CENTELLAS-QUEZADA, A.; NAKASU, B.H. Classificação botânica, origem e evolução In: CENTELLAS-QUEZADA, A.; NAKASU, B.H.; HERTER, F.G. **Pêra: Produção.** (Pelotas: Embrapa Clima Temperado); Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 105p. (Frutas do Brasil, 46).
- CITADIN, I. Implication des composés hydrocarbonés et de leur métabolisme dans les capacités de débourrement des bourgeons de noyer (*Juglans regia*). **Rapport de Physiologie e Biochimie végétal**, Université Blaise Pascal (Clermont-Ferrand II) 2004, 34 p.
- COTTIGNIES, A. Potentiel osmotique et potentiel hydrique du bourgeon terminal de frêne, au cours du cycle annuel. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, Paris, v. 310, p. 211-216, 1990.
- CRABBÉ, J.; BARNOLA, P.A. New conceptual approach to bud dormancy in woody plants In: LANG, G.A. (ed.) **Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology** CAB International, New York, p. 83-113, 1996.
- CZANINSKI, Y. Généralité et diversité des cellules associées aux vaisseaux (cellule de contact) **Bulletin de la Société Botanique de France**, Paris, v.134, p.19-26, 1987.
- DECOURTEIX, M.; ALVES, G.; BRUNEL, N.; LEMOINE, R.; GUILLIOT, A.; RAGEAU, R.; AMÉGLIO, T.; PÉTEL, G.; SACK, S. JrSUT1, a putative xylem sucrose transporter, could mediate sucrose influx into xylem parenchyma cells and be upregulated by freeze-thaw cycles over the autumn-winter period in walnut tree (*Juglans regia*) **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 29, p. 36-47, 2006.



- DECOURTEIX, M.; ALVES, G.; BONHOMME, M.; PEUCH, M.; BAAZIZ, K.B.; BRUNEL, N.; GUILLIOT, A.; REGEAU, R.; AMÉGLIO, T.; PÉTEL, G.; SACK, S. Sucrose (JrSUT1) and hexose (JrHT1 and JrHT2) transporters in walnut xylem parenchyma cells: their potential role in early events of growth resumption **Tree Physiology**, Victoria, v. 28, p. 215-224, 2008.
- DISCHE, Z. General colors reactions In: WHISTLER, R.L.; WOLFRAM, M.L. **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 477-520.
- DO OH; S.; KLINAC, D. Relationship between incidence of floral bud death and temperature fluctuation during winter in japanese pear (*Pyrus pyrifolia* cv. Housui) under New Zealand climate conditions **Journal of Korean Society for the Horticultural Science**, Taejon, v. 44, n. 2, p. 162-166, 2003.
- EREZ, A.; FAUST, M.; LINE, M.J. Changes in water status in peach buds on induction, development and release from dormancy **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.73, n.2-3, p. 111-123, 1998.
- ESCHRICH, W. Phloem unloading of photoassimilates In: BAKER, D. A.; MILBURN, J. A. (eds) **Transport of Photoassimilates** Longman Scientific e Technical, Essex, p. 206-263, 1989.
- EHNESS, R.; ROITSCH, T. Co-ordinated induction of mRNAs for extracellular invertase and a glucose transporter in *Chenopodium rubrum* by cytokinins **The Plant Journal**, Hestington, v. 11, p. 539–548, 1997.
- ESSIAMAH, S.K.; ESCHRICH, W. Changes of starch content in the storage tissues of deciduous trees during winter and spring IAWA (International Association of Wood Anatomists) **IAWA Bulletin new series**, Madison, v. 6, p. 97–106, 1985.
- ESSIAMAH, S.K.; ESCHRICH, W. Water uptake in deciduous trees during winter and role of conducting tissues in spring reactivation IAWA (International Association of Wood Anatomists) **IAWA Bulletin new series**, Madison, v. 7, p. 1- 38, 1986.
- FAORO, I.D. Morfologia e fisiologia In: EPAGRI **Nashi, a pêra japonesa**. Florianópolis: Epagri/Jica, p. 67-94, 2001.
- FAUST, M. **Physiology of temperate zone fruit tress**. New York: J. Wiley, 1989, 338p.
- FAUST, M.; LIU, D.; LINE, M.J.; STUTE, G.W. Conversion of bound to free water in endodormant buds of apple is an incremental process **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 395, p. 113-118, 1995.

- FAUST, M.; LIU, D.; LINE, M.J.; MILLARD, M.M.; STUTE, G.W. Bound versus free water in dormant apple buds - A theory for endodormancy **Hortscience**, Alexandria, v.26, n.7, p. 887-890, 1991.
- FROMARD, L.; BABIN, V.; FLEURAT-LESSART, P.; FROMONT, J.C.; SERRANO, R.; BONNEIMAIN, J.L. Control of vascular sap pH by the vessel-associated cells in woody species **Plant Physiology**, Bethesda, v. 108, p. 913-918, 1995.
- GENDRAUD, M.; PÉTEL, G. Modifications in intercellular communications, cellular characteristics and change in morphogenetic potentialities of Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.). In: MILLET, B.; GREPPIN, H. (eds.) **Intra- and extracellular communications in plants: reception, transmission, storage and expression of messages** INRA, Paris, p.171-175, 1990.
- GEVAUDANT F, PETEL G, GUILLIOT A. Differential expression of four members of the H<sup>+</sup>-ATPase gene family during dormancy of vegetative bud of peach trees **Planta**, New York, v. 212, p. 619-626, 2001.
- GODT D.E.; ROITSCH, T. Regulation and tissue-specific distribution of mRNAs for three extracellular invertase isoenzymes of Tomato suggests an important function in establishing and maintaining sink metabolism **Plant Physiology**, Bethesda, v. 115, p. 273-282, 1997.
- GUY, C.; KAPLAN, F.; KOPKA, J.; SELBIG, J. HINCHA, D.K. Metabolomics of temperature stress – A Review **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.132, p.220-235, 2008.
- HAUAGGE, R.; CUMMINS, J.N. Pome fruit genetic pool for production in warm climates In: EREZ, A. (ed.) **Temperate fruit crops in warm climates**, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 462 p., p. 267-304, 2000.
- HAUCH, S.; MAGEL, E. Extractable activities and protein content of sucrose-phosphate synthase, sucrose synthase and neutral invertase in trunk tissues of *Robinia pseudoacacia* L. are related to cambial wood production and heartwood formation. **Planta**, New York, v.207, p.266-274, 1998.
- HERTER, F.G.; CAMELATTO, D.; TREVISAN, R.; VERISSIMO, V.; GARDIN, J.P. The effects of spur pruning and defoliation in the autumn on the flower bud abortion of pear tree cv. Nijisseiki in Pelotas, RS, Brazil **Acta Horticulturae**, Wellington, n.587, p. 369-374, 2002.

- HERTER, F.G.; RASEIRA, M.C.B.; NAKASU, B. H. Época de abortamento de gemas florais em pereira e sua relação com a temperatura ambiente em Pelotas - RS **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, p. 308-314, 1994.
- HO, L. C. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 39, p. 355-378, 1988.
- HONJO, H.; KOBAYASHI, M.; WATANABE, M.; FUKUI, R. Effect of intermittent periods on bud break and carbohydrate content of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) in different endodormancy stages **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 587 p. 397-403, 2002.
- HUBBARD, N.L.O.; PHARR, M.D.O.; HUBER, S.C. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 82, p. 191-196, 1991.
- HUBER, S.C.; HUBER, J.L. Role and regulation of sucrose phosphate synthase in higher plants **Annual Review of Plant Physiology e Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 431-444, 1996.
- IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS **Câmbio estimula importação de pêra** – Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/news/> Acesso em: 06/11/2007.
- ITO, A; HAYAMA, H.; KASHIMURA, Y. Sugar metabolism in buds during flower bud formation: comparison of two Japanese pear [*Pyrus pyrifolia* Nak.] cultivars possessing different flowering habits **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 96, p. 163-175, 2002.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Mercado Interno e Externo In: CENTELLAS-QUEZADA, A.; NAKASU, B.H.; HERTER, F.G. **Pêra: Produção** (Pelotas: Embrapa Clima Temperado); Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 105p. (Frutas do Brasil, 46).
- KINGSTON, C. M.; KLINAC, D. J.; VAN EPENHUIJEN, C. W. Floral bud disorders of nashi (*Pyrus serotina*) grown in New Zealand **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v.18, p.157-159, 1990.
- KLINAC, D. C.; GEDDES, B. Incidence and severity of the floral bud disorder 'budjump', on nashi (*Pyrus serotina*) grown in the Waikato region of New Zealand **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 23, n.2, p.185-190, 1995.

- LACOINTE, A., KAJJI, A., DAUDET, F. A., ARCHER, P., FROSSARD, J. S. Mobilization of carbon reserves in young walnut trees **Acta Botanica Gallica**, Chatenay Malabry, v. 140, n. 4, p. 435-441, 1993.
- LACOINTE, A.; AMEGLIO, T.; DAUDET, F.A.; FROSSARD, J.S. SAINT-JOANIS B.; VANDAME, M. ADAM, B.; BODET, C.; CROCOMBETTE, M.; PLOQUIN, S.; DELÉENS, E.; LELARGE, C.; SONG, G. C. Short and long term carbon allocation in young walnut with two branches grown in different light environments:  $^{13}\text{C}$  and  $^{14}\text{C}$  double tracing **Acta Horticulturae**, Wellington, v. 544, p. 219-227, 2001.
- LALONDE, S.; WIPF, D.; FROMMER, W. B. Transport mechanisms for organic forms of carbon and nitrogen between source and sink **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.55, p.341-372, 2004.
- LANG, G.A.; EARLY, J.D.; MARTIN, G.C.; DARNELL, R.L. Endo, para and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. **Hortscience**, Alexandria, v. 22, p. 371- 378, 1987.
- LEGAVE, J.M., GARCIA, G., MARCO, F. Some descriptive aspects of drops process of flower buds, or young flowers observed on apricot tree in south of France **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 121, p. 75–83, 1982.
- LEITE, G. B. Evolution des états des bourgeons et de leur hétérogénéité le long du rameau d'un an de pêcher sous différents régimes de températures après l'installation de l'endodormance. 2004. 159 p. **Thèse** (Doctorat) - Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand.
- LEITE, G.B.; BONHOMME, M.; GUILLIOT, A.; SAKR, S.; LACOINTE, A.; PÉTEL, G.; RAGEAU, R.; MAUREL, K.; RODRIGUEZ, A.C. Influence of lack of chilling on bud-break patterns and evolution of sugar contents in buds and stem tissues along the one-years-old shoot, **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 662, p. 61 -69, 2004.
- LIU, D.; FAUST, M.; MILLARD, M.M.; LINE, M.J.; STUTTE, G.W. States of water in summer-dormant apple buds determined by proton magnetic resonance imaging **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 118, p. 632-637, 1993.
- LO BIANCO, R.; RIEGER, M.; SUNG, S.S. Effect of drought on sorbitol and sucrose metabolism in sinks and sources of peach **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.108, p. 71–78, 2000.

- LOESCHER, W.H.; McCAMANT, T.; KELLER, J.D. Carbohydrate reserves, translocation and storage in woody plant roots **HortScience**, Alexandria, v. 25, p.274-281, 1990.
- LOESCHER, W.H.; EVERARD, J.D. Sugar alcohol metabolism in sinks and sources In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A.A. **Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationships**. New York: Marcel Dekker, p.185-207, 1996.
- MARODIN, G.; KOLLER, O.C.; BENDER R.J.; CAMELATTO, D. Index of Bud Abortion of 'Packham's Triumph' Pear Trees in the Production Areas of the Rio Grande do Sul State and Santa Catarina State **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 800, p. 215-220, 2008.
- MARODIN, G. A. B. Época e intensidade de abortamento de gemas florais em pereira (*Pyrus communis*) cv. 'Packham's Triumph' em ambiente com distintas condições climáticas, 1998, 191 p. **Tese** (Doutorado), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- MARQUAT, C.; VANDAMME, M.; GENDRAUD, M.; PETEL, G. Dormancy in vegetative buds of peach: relation between carbohydrate absorption potentials and carbohydrate concentration in the bud during dormancy and its release. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.79, p. 151-162, 1999.
- MARTINS, C.R.; HERTER, F.G.; OLIVEIRA, M.F.; COUTINHO, E.F.; HAERTER, J.A. Variação da temperatura e de local, durante a endodormência no abortamento de gemas florais de pereira (*Pyrus* sp). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p.474-477, 2000.
- MAUGET, J. C.; RAGEAU, R. Bud dormancy and adaptation of apple tree to mild climates **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 232, p. 101-108, 1988.
- MAUGET, J.C. Dormance des bourgeons chez les arbres fruitiers de climat tempéré. In: LE GUYADER H. (ed.) **Le développement des végétaux. Aspects théoriques et synthétiques** Masson, Paris, p.133-150, 1987.
- MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; LUU, D.; SANTONI, V. Plant Aquaporins: Membrane Channels with Multiple Integrated Functions **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 595–624, 2008.
- MAUREL, K.; LEITE, G.B.; BONHOMME, M.; GUILLIOT, A.; REGEAU, R.; PÉTEL, G.; SAKR, S. Trofic control of bud break in peach trees (*Prunus persica*): a possible role of hexoses **Tree Physiology**, Victoria, v. 24, p. 579-588, 2004a.

- MAUREL, K., SAKR, S.; GERBE, F.; GUILLIOT, A.; BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; PETEL, G. Sorbitol uptake is regulated by glucose through the hexokinase pathway in vegetative peach tree bud. **Journal of Experimental Botany**, London, v.55, p. 879-888, 2004b.
- McCREADY, R.M.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V. OWENS, H.H. Determination of starch and amylose in vegetables **Analytical Chemistry**, Washington, v. 22, p. 1156-1158, 1950.
- McQUEEN, J.C.; MINCHIN, P.E.H. Brief look at sorbitol in 1-year-old shoots of apple (*Malus domestica*) **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 33, p. 81–87, 2005.
- McQUEEN, J.C.; MINCHIN, P.E.H.; SILVESTER, W.B. Changes in non-structural carbohydrate concentration in 1-year-old shoots of 'Braeburn' apple (*Malus domestica*) over two consecutive years **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 32, p. 319–323, 2004.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, p. 426, 1959.
- MOONEY, P.; KLINAC, D. KILLEN, W.J.; GEDDES, B. Time or pruning effects on Budjump of the Nashi pear **Orchardist of New Zealand**, Wellington, v. 65, n. 5, p.19-21, 1992.
- MONTESINOS, E.; VILARDELL, P. La necrosis de yemas de flor en el peral. Una enfermedad de etiología compleja y difícil control. **Fruticultura Profesional: Peral II**, Barcelona, n.78, p.88-93, 1996.
- NAKASU, B.H.; FAORO, I.D. Cultivares. *In*: CENTELLAS-QUEZADA, A.; NAKASU, B.H.; HERTER, F.G. **Pêra: Produção**. (Pelotas: Embrapa Clima Temperado); Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 105p. (Frutas do Brasil, 46).
- NAKASU, B.H.; HERTER, F.G.; LEITE, D.L.; RASEIRA, M.C.B. Pear flower bud abortion in southern Brazil **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 395, p. 185-192, 1995.
- NELSON, N A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.153, p. 375-379, 1944.
- PETRI, J. L. Problemática da cultura da pereira no Brasil *In*: Reunião Técnica da Cultura da Pereira, II, 2008 Lages. **Resumos...** Lages: UDESC, 2008, p. 17-19.

- PETRI, J. L.; HERTER, F. Nashi Pear (*Pyrus pyrifolia*) dormancy under mild temperate climate conditions **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 589, p. 353-361, 2002.
- PETRI, J. L.; PALLADINI, L. A.; SCHUCK, E.; DUCROQUET, J. P.; MATOS, C. S.; POLA, A. C. Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado Florianópolis: EPAGRI, 1996, 110 p. (Boletim Técnico n. 75).
- PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; YASUNOBU, Y. Studies on the causes of floral abortion on japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) in southern Brazil Proc. IS on Asian Pears **Acta Horticulturae**, Wellington, n. 587, p. 375-380, 2002.
- PREISS, J.; SIVAK, M.N. Starch synthesis in sink and sources In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A.A. (eds.) **Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationships**. New York: Marcel Dekker, 1996 p. 63-93.
- QUICK, W.P.; SCHAFFER, A.A. Sucrose metabolism in sources and sinks In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A.A. **Photoassimilate production and distribution in plants and crops: source-sink relationships**, New York, Marcel-Dekker Inc., p. 115-156, 1996.
- RAKNGAN, J.; GEMMA, H.; IWAHORI, S. Phenology and carbohydrate metabolism of Japanese pear trees grown under continuously high temperatures **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokio, v.65, p.55-65, 1996.
- RODRIGUES, A.C.; HERTER, F.G.; VERÍSSIMO, V.; CAMPOS, A.D.; LEITE, G. B.; SILVA, J.B. Balanço de carboidratos em gemas florais de dois genótipos de pereira sob condições de inverno ameno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.1, p.1-7, 2006.
- ROITSCH, T.; BITTNER, M.; GODT, D. E. Induction of apoplastic invertase of *Chenopodium rubrum* by D-glucose and a glucose analog and tissue-specific expression suggest a role in sink-source regulation **Plant Physiology**, Bethesda, v.108, p.285-294, 1995.
- ROITSCH, T. Source-sink regulation by sugar and stress **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 2, p.198-206, 1999.
- ROITSCH, T.; BALIBREA, M. E.; HOFMANN, M.; PROELS, R.; SINHA, A. K. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein **Journal of Experimental Botany**, London, v. 54, n. 382, p. 513 - 524, 2003.
- SAKR, S.; ALVES, G.; MORILLON, R.; MAUREL, K.; DECOURTEIX, M.; GUILLIOT, A.; FLEURAT-LESSARD, P.; JULIEN, J.; CHRISPEELS, M. J. Plasma Membrane

- Aquaporins Are Involved in Winter Embolism Recovery in Walnut Tree **Plant Physiology**, Bethesda, v. 133, p. 630–641, 2003.
- SAMISH, R.M. Dormancy in plants woody plants **Annual Review Plant Physiology**, n. 5, p. 183-203, 1954.
- SAUTER, J.J. Efflux and reabsorption of sugars in the xylem II: Seasonal changes in sucrose uptake in *Salix*. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 111, p. 429–440, 1983.
- SAUTER J. J., AMBROSIUS T. Changes in the partitioning of carbohydrates in the wood during bud break in *Betula pendula* **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 124, p. 31-43, 1986.
- SAUTER, J.J.; KLOTH, S. Changes in carbohydrates and ultrastructure in xylem ray cells of *Populus* in response to chilling **Protoplasma**, New York, v.137, p. 45-55, 1987.
- SAUTER, J.J. Temperature-induced changes in starch and sugars in the stem of *Populus x canadensis* 'robusta' **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 132, p. 608-612, 1988a.
- SAUTER, J.J. Seasonal changes in the efflux of sugars from parenchyma cells into the apoplast in poplar stems (*Populus x canadensis* "robusta") **Trees**, New York, v.2, n.4, p. 242-249. 1988b.
- SAUTER, J.J.; ELLE, D.; WITT, W.A starch granule bound endoamylase and its possible role during cold acclimation of parenchyma cells in poplar wood (*Populus x canadensis* Moench robusta) **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.153 p. 739-744, 1998.
- SCHRADER S.; SAUTER, J. J. Seasonal changes of sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase activities in poplar wood (*Populus x Canadensis* Moench <robusta>) and their possible role in carbohydrate metabolism **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.159 p.833-843, 2002.
- SELLI, R.; MONTALDI, P.; BAIESE, G. Cascola delle gemme a fiore di pesche, nectarine e percoche **Rivista di Frutticoltura**, Bologna, n.8, p.43-49, 1985.
- SMEEKENS, S. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 49–81, 2000.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal** (3 ed.) Porto Alegre: Artmed, 2006, 719p.
- WGRZYN, T.; REILLY, K.; CIPRIANI, G.; MURPHY, P.; NEWCOMB, R.; GARDNER, R.; MACRAE, E. A novel  $\alpha$ -amylase gene is transiently upregulated



- during low temperature exposure in apple fruit **European Journal of Biochemistry**, New York, v.267, p.1313-1322, 2000.
- WESTWOOD, M.N. **The Temperate Zone Pomology: physiology and culture** San Francisco, Timber Press, 1993, 428 p.
- WILLIAMS, M.W., RAESE, J.T. Sorbitol in tracheal sap of apple as related to temperature. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 30, 49-52, 1974.
- WITT, W.; SAUTER, J.J. Enzymes of starch metabolism in poplar wood during fall and winter **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.143 p.625-631, 1994a.
- WITT, W.; SAUTER, J.J. Starch metabolism in poplar wood ray cells during spring mobilization and summer deposition **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.92, p.9-16, 1994b.
- WITT, W.; BUCHHOLZ, A.; SAUTER, J.J. Binding of endoamylase to native starch grains from poplar wood **Journal of Experimental Botany**, London, v. 46, n.292, p. 1761-1769, 1995.
- VERÍSSIMO, V.; HERTER, F.G.; RODRIGUES, A.C.; GARDIN, J.P.P.; SILVA, J.B. Caracterização de gemas florais de pereira (*Pyrus* sp.) relacionada ao abortamento floral **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.193-197, 2004.
- YAMAKI, S., ISHIKAWA, K. Roles of sorbitol related enzymes and invertase in the seasonal alteration of sugar metabolism in apple tissue **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v.111, p. 134–137, 1986.
- YOSHIOKA, H.; NAGAL, K.; AOBA, K.; FUKUMOTO, M. Seasonal changes of carbohydrates metabolism in apple trees **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.36, p. 219-227, 1988.
- ZHOU, R.; CHENG, L.; DANDEKAR, A. M. Down-regulation of sorbitol dehydrogenase and up-regulation of sucrose synthase in shoot tips of the transgenic apple trees with decreased sorbitol synthesis **Journal of Experimental Botany**, London, v. 57, n. 14, p. 3647–3657, 2006.
- ZIMMERMANN, M. H.; BROWN, C. L. **Trees: structure and function**. Springer-Verlag: New-York. 1971.

## **ANEXOS**



**Anexo A** Floração de ramos enxertados de pereira 'Housui' aos 21 dias após o término dos tratamentos térmicos: T1) Condições naturais; T2) 800h (5°C); T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300 h (5°C); T4) 800h (15°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.



**Anexo B** Floração de ramos enxertados de pereira 'Housui', aos 23 dias após o término dos tratamentos térmicos: T1) Condições naturais; T2) 800h (5°C); T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300h (5°C) e T4) 800h (15°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.



**Anexo C** Floração dos ramos enxertados de pereira 'Housui' aos 25 dias após o término dos tratamentos térmicos: T1) Condições naturais; T2) 800h (5°C); T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300h (5°C) e T4) 800h (15°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.



**Anexo D** Floração e brotação dos ramos enxertados de pereira 'Housui' aos 31 dias após término dos tratamentos térmicos: T2) 800 h (5°C) e T3) 300h (5°C) + 200h (15°C) + 300h (5°C). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2007.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)