

RÉRINTON JOABÉL PIRES DE OLIVEIRA

**TEORES DE CARBOIDRATOS EM ESTACAS LENHOSAS DE
MIRTILEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Valmor João Bianchi

Co-Orientador: Ângela Diniz Campos

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:

Maria Beatriz Vaghetti Vieira – CRB 10/1032

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

O48t Oliveira, Rérinton Joabél Pires de
 Teores de carboidratos em estacas lenhosas de Mirtilheiro /
 Rérinton Joabél Pires de Oliveira ; orientador Valmor João
 Bianchi ; co-orientadora Ângela Diniz Campos. – Pelotas,
 2010. – 56f. ; tab.; gráf. – Dissertação (Mestrado). Programa
 de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de
 Biologia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1. Fisiologia vegetal. 2. Mirtilo. 3. Amido. 4. Açúcares
solúveis. 5. Estacas lenhosas. 6. *Vaccinium ashei* reade.
I. Bianchi, Valmor João. II Campos, Ângela Diniz. III. Título.

CDD: 634.42

Banca examinadora:

Valmor João Bianchi – Universidade Federal de Pelotas (Presidente)

Marcos Antonio Bacarin – Universidade Federal de Pelotas

Eugenia Jacira Bolacel Braga – Universidade Federal de Pelotas

Ilisandra Zanandréa – Embrapa Clima Temperado (Bolsista de Pós-Doutorado)

Agradecimentos

A Deus.

A minha família, pelo amor, apoio e compreensão.

Ao Professor Dr. Valmor João Bianchi pela orientação, apoio e paciência.

A Dr^a Ângela Diniz Campos, pela orientação, confiança e lições de vida.

Ao Programa de Pós Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização de mais esta etapa.

Ao Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, pela disponibilização do material genético, apoio financeiro, de pessoal e de infra-estrutura.

Aos membros da banca examinadora, pelas críticas e sugestões.

Ao Anderson Marafon, Valtair Veríssimo e Rogério Aires pela força no momento mais difícil.

Aos integrantes do Laboratório de Fisiologia Vegetal do CPACT/Embrapa: Renê, Fabiane, Fabiano, Marcelo e Patrícia pela ajuda e convivência.

Ao Instituto Federal Catarinense – Campus Rio do Sul, pela oportunidade concedida.

A todas as pessoas que de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

Oliveira, Rérinton Joabél Pires de **Teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtilheiro**. 2010. 56f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O objetivo do trabalho foi avaliar as alterações no teor de carboidratos em estacas lenhosas de mirtilheiro das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19. Foram analisados os teores de amido e de açúcares solúveis a partir de ramos coletados em quatro épocas diferentes (03/06, 04/07, 24/07 e 11/08/2008) em um primeiro experimento e, posteriormente, avaliou-se o teor de carboidratos em estacas, coletadas nas mesmas épocas citadas, submetidas a condições de enraizamento. Verificou-se que a cv. Powder Blue possui maior reserva amilácea que a cv. Delite e Seleção 19. Estacas lenhosas de mirtilheiro com baixos teores de amido, quando submetidas ao enraizamento, apresentam ressíntese de amido. No fim do período de inverno, ocorre um aumento na concentração de amido nos ramos lenhosos de mirtilheiro. Maior teor de amido nos ramos durante o período de inverno está associado à maior taxa de enraizamento.

Palavras-chave: *Vaccinium ashei* Reade, amido, açúcares solúveis, estacas lenhosas.

Abstract

Oliveira, Rérinton Joabél Pires de **Carbohidrates content in hardwood cuttings of blueberry**. 2010. 56f. Dissertation (Master's) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The aim at this work was to evaluate the alterations on carbohydrates metabolism of hardwood cuttings of blueberries cv. Delite, Powder Blue and Seleção 19. The starch and soluble sugars concentration were evaluated in blueberry branches at four different times in a first experiment (03/06, 04/07, 24/07 and 11/08/2008) and later the metabolism of carbohydrates were evaluated in harvested hardwood cuttings submitted to rooting conditions. It was verified that the cv. Powder Blue has higher starch concentration in the branches than Delite and Seleção 19. Hardwood cuttings of blueberry with low percentage of starch, when subjected to rooting, have resynthesis of starch. At the end of the winter, there is an increase in starch in the branches of woody blueberry. A higher amount of starch in the branches during the winter is associated to a higher rate of rooting.

Keywords: *Vaccinium ashei* Reade; starch; soluble sugar; hardwood cuttings.

Lista de Figuras

- Figura 1** - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 03/06/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....32
- Figura 2** - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 04/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....35
- Figura 3** - Estacas de mirtilo apresentando necrose e escurecimento dos tecidos da base. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....36
- Figura 4** - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 24/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....40
- Figura 5** - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 11/08/08. CPACT/Embrapa, Pelotas-RS, 2009.....44

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Teores de amido e de açúcares solúveis totais em ramos lenhosos de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, em quatro épocas de coleta. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....	24
--	----

Lista de Anexos

ANEXO 1 - Temperaturas médias diárias (°C) durante o período de coleta dos ramos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2008.....	53
ANEXO 2 - Porcentagem de enraizamento, presença de calos e de brotos em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19 submetidas ao processo de enraizamento em quatro épocas de coleta de ramos. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....	54

APÊNDICES

- Apêndice A - Tabela 1** Resumo da análise de variância para os teores de amido e de açúcares solúveis totais em ramos lenhosos de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, em quatro épocas de coleta. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....56
- Apêndice B - Figura 1** Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 03/06/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....56
- Apêndice C - Figura 2** Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 04/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....56
- Apêndice D - Figura 3** Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 24/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....57
- Apêndice E - Figura 4** Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST - em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 11/08/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.....57

Sumário

1- INTRODUÇÃO.....	11
2- REVISÃO DE LITERATURA	13
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3-1- 1º Experimento – Variação no teor de carboidratos em ramos de mirtilheiro coletados em quatro épocas durante o período de outono/inverno.....	19
3-2- 2º Experimento – Metabolismo de carboidratos de estacas de mirtilheiro coletadas em quatro épocas submetidas ao enraizamento.....	20
3-3- Protocolo utilizado para análise de açúcares solúveis e amido.....	21
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4-1- 1º Experimento – Variação no teor de carboidratos em ramos de mirtilheiro coletados em quatro épocas durante o período de outono/inverno.....	23
4-2- 2º Experimento – Avaliação dos teores de carboidratos em estacas de mirtilheiro durante o processo de enraizamento, em quatro épocas do período outono/inverno.....	30
4-2-1- Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 03/06/2008.....	30
4-2-2- Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 04/07/2008.....	33
4-2-3 - Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 24/07/2008.....	39
4.2.4 - Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 11/08/2008.....	41
5- CONCLUSÃO.....	46
6- REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

Devido aos custos altos da micropropagação e aos problemas de segregação genética das sementes, o processo de multiplicação de algumas espécies frutíferas de clima temperado por estaquia é o mais indicado, sendo válido também para a cultura do mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade), pois, de acordo com Fachinello et al. (2005), permite a obtenção de plantas com as mesmas características genéticas da planta-matriz, em curto espaço de tempo, sendo de baixo custo e fácil execução, além de garantir a uniformidade do pomar. No entanto, os resultados obtidos no processo de multiplicação por estaquia do mirtilo são variáveis de acordo com um grande número de fatores internos e externos.

Entre os fatores que afetam o enraizamento, destacam-se o tipo de estaca, a época da coleta, a sanidade do material vegetal, a idade e a condição fisiológica da planta-matriz (FACHINELLO et al., 2005). A concentração de carboidratos no tecido vegetal tem grande influência por fornecerem os esqueletos carbônicos para a formação de várias substâncias orgânicas para o crescimento e desenvolvimento de brotações e de raízes, necessários para a obtenção de mudas de boa qualidade.

Nas frutíferas de clima temperado, ocorre o fenômeno da dormência, que pode ser definido como a suspensão temporária do crescimento visível de estruturas vegetais contendo meristema, sendo que neste período ocorrem alterações contrastantes na dinâmica dos diferentes carboidratos presentes no tecido vegetal (LACOINTE et al., 1993).

No início da entrada em dormência, ocorre a conversão dos açúcares em amido, sendo que este último alcança sua concentração máxima no final do outono, período de início de queda das folhas. Com a chegada do inverno e das baixas temperaturas, ocorre o aumento da atividade das amilases e fosforilases, que atuam degradando o amido para a formação de açúcares solúveis. Após a superação da dormência, ocorre uma nova formação de amido, associado à diminuição nos níveis de açúcares solúveis nos ramos (PREISS; SIVAK, 1996; BONHOMME et al., 2005).

Sabe-se que existe uma relação positiva entre o teor de amido nas estacas e a capacidade de enraizamento. Durante o inverno, devido ao período da dormência das plantas, o conteúdo de amido nos ramos é alto e a sua metabolização fornece energia e esqueletos carbônicos para a iniciação radicular durante o processo de estaquia (ONO et al., 1996). Neste processo, os açúcares solúveis são de vital importância, devido à existência de uma relação direta entre a quantidade destes e a percentagem de enraizamento (ONO et al., 1995).

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo principal de avaliar as modificações nos teores de carboidratos (amido e açúcares solúveis totais) ocorridas nas estacas lenhosas de mirtilheiro, coletadas a campo em diferentes datas durante o período de outono-inverno e quando submetidas a condições de enraizamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O mirtilo, pertencente à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium*, tem porte arbustivo, com genótipos de hábito ereto ou rasteiro, e produz frutos de coloração azul-escura. Os frutos apresentam, em geral, em torno de 1 cm de diâmetro e 1,5 g de peso, podendo ser destinados tanto para o consumo *in natura* quanto para o processamento (ECK; CHILDERS, 1966; KLUGE et al., 1994). É originário das florestas de clima temperado da Europa e América do Norte, onde apresenta grande importância comercial, devido ao seu sabor exótico, valor econômico e propriedades nutracêuticas (ANTUNES, 2008).

Na região do Sul do Brasil, a cultura do mirtilo tem sido alvo de inúmeras pesquisas no sentido de disponibilizá-la como uma nova alternativa nas áreas aptas para a fruticultura, pois apresenta alta rentabilidade com baixa utilização de insumos, disponibilizando assim uma produção limpa, resguardando o ambiente e a segurança alimentar (SANTOS; RASEIRA, 2002).

Mesmo com investimentos na pesquisa da cultura do mirtilo, no Brasil, a produção ainda é irrelevante. A sua multiplicação tem sido um fator limitante na ampliação das áreas de cultivo, pois a propagação por sementes não é viável, devido à segregação genética. A micropropagação e o enraizamento por estacas têm encontrado sérias dificuldades, onerando os custos de produção e reduzindo a disponibilidade de mudas no mercado (MONTEIRO, 2004; RIGON, 2005).

A propagação de várias espécies frutíferas pela estaquia é uma boa prática agrônômica, pois a indução do enraizamento em segmentos

destacados da planta-mãe, submetidos a condições favoráveis, origina uma nova planta. Este método permite a obtenção de muitas plantas com as mesmas características da planta-matriz, com maior uniformidade entre as plantas no pomar, em curto espaço de tempo, com baixo custo e fácil execução (HARTMANN et al., 2002; MURATA et al., 2002; FACHINELLO et al., 2005). Este método de propagação é bastante utilizado comercialmente em frutíferas, a fim de acelerar a produção de mudas (MARTINS et al., 2001).

Muitos fatores internos e externos podem influenciar o enraizamento e as brotações das estacas lenhosas durante o processo de propagação. Destacam-se, como fatores internos, a idade e a condição fisiológica da planta-matriz, o tipo de estaca, o potencial genético (FACHINELLO et al., 2005), a oxidação dos compostos fenólicos e aminoácidos no local da lesão na estaca (CAMPOS, 2005), além do conteúdo de substâncias promotoras do processo de enraizamento como aminoácidos, teor de carboidratos e auxinas (HARTMANN et al., 2002).

Em se tratando do teor de carboidratos, durante o ciclo vegetativo das espécies lenhosas de clima temperado, parte dos fotoassimilados vai sendo armazenada na forma de amido e, com o avanço do outono, os teores desses carboidratos atingem valores máximos. Com a chegada do inverno, estas espécies alteram o metabolismo dos carboidratos, buscando adaptar-se e sobreviver às baixas temperaturas e preparando-se para a retomada do crescimento na primavera, quando ocorre, evidentemente, o aumento das temperaturas (PETRI et al., 1996).

Entre as alterações relacionadas aos carboidratos, que ocorrem no período de inverno, a mais importante é a conversão do amido em açúcares

solúveis, através da ação de enzimas específicas (fosforilases e amilases). Processos de conversão e/ou degradação são induzidos em grande parte pelas variações da temperatura, sendo um mecanismo de fundamental importância para a sobrevivência das espécies frutíferas de clima temperado (SAUTER; KLOTH, 1987; YOSHIOKA et al., 1988; RAKNGAN, 1995; RODRIGUES et al., 2006; VERISSIMO, 2008).

Em um primeiro momento da dormência, açúcares solúveis são convertidos em amido, sendo que este carboidrato atinge sua concentração máxima no final do outono, período de queda das folhas. Com a chegada do inverno e das baixas temperaturas, ocorre o aumento da atividade da amilase, degradando o amido em açúcares novamente (SAUTER; KLOTH, 1987).

O efeito da baixa temperatura sobre a concentração de amido e açúcares durante o período da dormência pode ser explicado, porque a atividade da amilase é induzida sob baixas temperaturas, hidrolisando o amido e, conseqüentemente, aumentando a concentração de açúcares (ELLE; SAUTER, 2000; BONHOMME et al., 2005). A natureza dos açúcares liberados após a exposição dos ramos de *Populus* ao frio permitiu mostrar que é essencialmente a α -amilase a enzima responsável pela hidrólise do amido em moléculas de glicose, em baixas temperaturas (WITT; SAUTER, 1994; WITT et al., 1995; SAUTER et al., 1998).

Neste período de frio, a atividade da enzima que sintetiza a sacarose – a Sacarose-Fosfato-Sintase (SPS) – é máxima e converte as moléculas de glicose em sacarose para a manutenção de um gradiente de açúcares necessário para o não congelamento das células, transformando-se assim em

um fator de aquisição de tolerância ao resfriamento (SCHRADER; SAUTER, 2002).

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

No apoplasto, a sacarose é hidrolisada em glicose e frutose através de uma invertase extra citoplasmática (invertase parietal) (GODT; ROITSCH, 1997) a fim de facilitar o carregamento dos tecidos drenos. Nesses tecidos, os açúcares redutores (glicose e frutose) são utilizados para sustentar a retomada do crescimento.

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 a presença de novas brotações na primavera. Essa nova mobilização, que normalmente ocorre na ausência de baixas temperaturas, é regulada basicamente por outras amilases, como a β -amilase e a fosforilase (GUY et al., 2008). Entre estas duas fases de mobilização, pode ocorrer o inverso, ou seja, os açúcares solúveis reconstituírem-se novamente em grânulos de amido, devido ao suprimento de açúcares solúveis superarem a demanda celular para o crescimento e a respiração, em um processo chamado de ressíntese de amido (PREISS; SIVAK, 1996).

O estudo dessas relações metabólicas que envolvem a interconversão de carboidratos é importante para o entendimento do fluxo e consumo de fotoassimilados e reservas, tanto em plantas inteiras quanto em órgãos destacados, como no caso de estacas lenhosas submetidas ao enraizamento.

Davis e Potter (1981), estudando a fotossíntese e carboidratos correlacionados com a formação de raízes, obtiveram dados consistentes de que o suprimento de fotoassimilados para a base das estacas é importante para o enraizamento. Os autores associaram 50% do enraizamento com o suprimento de fotoassimilados, porém não estabeleceram se há influência direta sobre o enraizamento ou indireta sobre outros fatores.

As auxinas constituem um grupo de fitormônios que podem influenciar significativamente o enraizamento e as brotações, pois estão relacionadas com a divisão celular, estimulando a síntese ou desinibindo a ação de enzimas que atuam sobre as microfibrilas da parede celular, promovendo a plasticidade da membrana (TAIZ; ZEIGER, 2009).

As auxinas são sintetizadas principalmente nos meristemas apicais de caules e folhas, e são transportadas basipetamente via transporte polar para a extremidade basal da planta ou órgão da planta (LJUNG et al., 2002). Este processo é dependente de energia, pela sensibilidade do transporte polar à falta de O₂, ocasionando diminuição de sacarose e, conseqüente, gasto de energia (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Sendo assim, a capacidade de um caule emitir raízes é função da interação de vários fatores, bem como de substâncias translocáveis produzidas nas folhas e gemas, como auxinas (BHATTACHARYA et al., 1985; GASPAR; HOFINGER, 1988), carboidratos, compostos nitrogenados e outros.

A utilização de estacas lenhosas é uma prática amplamente difundida na propagação de espécies frutíferas como o pessegueiro (DUTRA et al., 2002), pereira (MURATA et al., 2002), ameixeira (PASINATO et al., 1998), marmeleiro (RUFATO et al., 2001), amoreira (VILLA et al., 2003) entre outras, e poderá vir a ser utilizada na cultura do mirtilo, visto que, durante o período de dormência, por ocasião da poda, obtém-se grande quantidade de ramos que podem ser utilizados na propagação. A estaquia de ramos lenhosos, retirados por ocasião da poda de inverno, pode maximizar a utilização do material vegetal e não apenas eliminá-lo como subproduto (CAMPOS et al., 2005).

Nesse sentido, o estudo das alterações fisiológicas de estacas lenhosas de mirtilo, provenientes de diferentes fases da dormência e submetidas ao enraizamento, abordando as variações nos teores de carboidratos, é importante para entender de forma mais clara algumas relações entre o metabolismo de compostos de reserva do material vegetal e suas variações em função do genótipo e época de coleta dos ramos, e que poderá ajudar a identificar uma possível melhor época de coleta de material vegetal (ramos) capaz de proporcionar o melhor enraizamento de estacas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no período de março de 2007 a fevereiro de 2009, em casa-de-vegetação e as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima Temperado.

O material vegetal utilizado consistiu em ramos lenhosos das cultivares de mirtilheiro Powder Blue, Delite e Seleção 19 do programa de melhoramento Genético da Embrapa, coletados em plantas com 16 anos de idade, pertencentes à coleção instalada na Embrapa Clima Temperado em Pelotas/RS, onde a altitude média é de 224m e as coordenadas geográficas são de 52°21' Oeste e 31°52' Sul.

2.1 - 1º Experimento – Variação no teor de carboidratos em ramos de mirtilheiro coletados em quatro épocas durante o período de outono/inverno

Para a realização deste primeiro experimento foram coletados oito ramos lenhosos de três plantas matrizes, totalizando 24 ramos, com média de 1,5m de comprimento e 6mm de diâmetro, de cada um dos três genótipos (Powder Blue, Delite e Seleção 19) e em quatro (04) épocas de coleta (03 de junho, 04 de julho, 24 de julho e 11 de agosto de 2008). Em seguida foi retirada uma amostra de aproximadamente 100g dos ramos em cada época de coleta, que foram acondicionadas em ultra freezer para posteriormente realizar as análises de amido e de açúcares solúveis totais.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento, segundo um fatorial 3x4 constando de três

genótipos (Powder Blue, Delite e Seleção 19), com quatro épocas de coleta de ramos (03/06, 04/07, 24/07 e 11/08).

As variáveis avaliadas foram o teor de amido e o de açúcares solúveis totais.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e, quando significativos, à comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o software WinStat, versão 2.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2003).

2.2 - 2º Experimento – Avaliação dos teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtilheiro durante o processo de enraizamento, em quatro épocas do período outono/inverno

Neste segundo experimento, os ramos colhidos em cada época do experimento anterior tiveram suas bases imersas em 2000 ml de água por 24 horas, antes da segmentação. Após este período, procedeu-se o corte em estacas de 15 cm de comprimento. Imergiu-se o terço inferior das estacas em água destilada por 10 minutos. Imediatamente após a imersão, as estacas foram plantadas em caixas de poliestireno expandido de 72 células, contendo substrato comercial Plantmax[®] HT, com profundidade de plantio de um terço do tamanho da estaca. As estacas foram acondicionadas em casa-de-vegetação com temperatura controlada entre 20 e 25°C, regadas três vezes ao dia.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento, cada repetição composta de 6 estacas. Na primeira data de coleta dos ramos, o ensaio consistiu de um esquema fatorial

3x5, havendo três genótipos (Powder Blue, Delite e seleção 19) e cinco avaliações (0, 30, 60, 90 e 120 dias, depois de submetidas ao processo de enraizamento).

Na segunda data de coleta, seguiu-se um esquema fatorial 3x4, havendo três genótipos (Powder Blue, Delite e seleção 19) e quatro avaliações (0, 30, 60 e 90 dias, depois de submetidas ao processo de enraizamento).

Na terceira e quarta data de coleta dos ramos, o ensaio consistiu de um esquema fatorial 3x3, havendo três genótipos (Powder Blue, Delite e Seleção 19) e três avaliações (0, 38 e 68 dias, e 0, 23 e 53 dias depois de submetidas ao processo de enraizamento, respectivamente).

As variáveis avaliadas foram o teor de amido e o de açúcares solúveis totais.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e, quando significativos, à comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o software WinStat, versão 2.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2003).

2.3 - Protocolo utilizado para análise de açúcares solúveis e amido

Após a coleta dos ramos e/ou estacas, o material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar a 60°C, e moído em moinho de facas até a obtenção de uma farinha de granulação bem fina. Em seguida, uma amostra de 100mg de massa seca foi colocada em tubos de polipropileno de 15ml, e foi adicionado 2,5ml de álcool 80%. A mistura foi homogeneizada com a ajuda de um bastão de vidro e centrifugada por 10 minutos na velocidade de 1000g. Ao sobrenadante foi adicionado água até o volume de 10ml. Este material foi acondicionado em frascos com tampa para posteriormente realizar as análises

de açúcares solúveis totais, segundo metodologia preconizada por Horwitz (1975), utilizando a antrona como reagente. As leituras de absorvância foram realizadas a 620nm e os resultados foram expressos em mg glicose g^{-1} MS.

Em um segundo momento, o precipitado foi ressuspensão em 2,5ml de ácido perclórico 30% (v/v), por 30 minutos, sob agitação constante, e centrifugada por 10 minutos em 1000g. O sobrenadante foi coletado e transferido para balão volumétrico, onde foi completado para 10ml e utilizado para a determinação do teor de amido, através de reação com antrona segundo Horwitz, (1975), utilizando-se glicose para calibração da curva padrão. As leituras de absorvância foram realizadas a 620nm e os resultados foram expressos em mg amido g^{-1} MS.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - 1º Experimento – Variação no teor de carboidratos em ramos de mirtilheiro, em quatro épocas durante o período de outono/ inverno

Observaram-se variações significativas nos teores de amido e de açúcares solúveis totais entre as cultivares e épocas de coletas (Tabela 1), apresentando interação significativa entre estes fatores (Apêndice A).

Tabela 1 - Teores de amido e de açúcares solúveis totais em ramos lenhosos de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, em quatro épocas de coleta. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.

Amido (mg amido g⁻¹ MS)			
Data de coleta	Seleção 19	Powder Blue	Delite
03/06	8,25 Bb	10,31 Ab	8,36 Bc
04/07	8,82 Ca	14,12 Aa	11,14 Ba
24/07	9,36 Ba	10,33 Ab	8,84 Bc
11/08	9,48 Ca	14,35 Aa	10,34 Bb

Açúcares Solúveis Totais (mg glicose g⁻¹ MS)			
Data de coleta	Seleção 19	Powder Blue	Delite
03/06	18,82 Cd	30,52 Aa	22,70 Bd
04/07	37,47 Aa	31,87 Ba	36,21Ab
24/07	30,26 Bb	30,54 Ba	39,23 Aa
11/08	20,63 Bc	17,54 Cb	29,35 Ac

*Letras maiúsculas diferentes na horizontal e minúsculas diferentes na vertical diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

A cultivar Powder Blue apresentou maiores teores de amido nos ramos das plantas-matrizes nas quatro épocas de avaliação, em relação às demais cultivares (Tabela 1). Resposta similar foi observada para os açúcares solúveis totais, apenas na primeira época de coleta de ramos, sendo que após a primeira época de coleta a cultivar Delite apresentou valores significativamente maiores para esta variável na terceira e quarta época. Na segunda época foi superior apenas em relação a cultivar Powder Blue.

De modo geral, as concentrações de amido e açúcares estão dentro do esperado. Veríssimo (2008), trabalhando com pereiras européia enxertadas

sobre marmeleiro, encontrou valores médios de amido ($59,25\text{mg amido g}^{-1}\text{ MS}$) e açúcares ($46,32\text{mg glicose g}^{-1}\text{ MS}$) relativamente mais altos, enquanto que Marafon (2008), em pereira japonesa, nas mesmas condições climáticas deste trabalho, verificou teores de amido variando entre 10 e $20\text{mg amido g}^{-1}\text{ MS}$ e de açúcares solúveis totais com valores entre 45 e $55\text{mg glicose g}^{-1}\text{ MS}$. No entanto estes valores inferiores de carboidratos verificados nos ramos de mirtilo podem ser devidos a características dos genótipos.

O maior conteúdo de amido verificado na cultivar Powder Blue, possivelmente esteja relacionado ao fato dessa cultivar estar melhor adaptada a região, sendo resistente a doenças, com plantas produtivas e vigorosas, além de ser o genótipo de maior produtividade (SANTOS; RASEIRA, 2006), o que possibilitou armazenar maior reserva amilácea para enfrentar o período de dormência.

Por outro lado, os maiores teores de açúcares solúveis totais observados na cv. Delite, na terceira época de coleta (Tabela 1), podem estar relacionados ao fato desta cultivar ser mais sensível ao fotoperíodo, temperatura e o metabolismo associado à entrada em dormência, que ocorre mais precocemente em relação às demais cultivares (DOZIER et al., 1989). Na primeira época de coleta, todas as cultivares apresentavam folhas, porém a cv. Delite apresentava ramos e folhas com coloração completamente avermelhadas, ou seja, com teor de clorofilas reduzido, o que, segundo Taiz e Zeiger (2009), é um sinal de início da senescência das folhas.

Sauter et al. (1998) verificou em ramos de Álamo-do-Canada um estreito paralelismo entre a queda da temperatura, a degradação do amido e o aumento no conteúdo de açúcares solúveis; verificou ainda que a atividade da

enzima α -amilase aumentou fortemente com a diminuição da temperatura, e atribuiu à ação desta enzima a degradação do amido sob baixas temperaturas.

A maior disponibilização de açúcares solúveis no período que se seguiu à primeira coleta de ramos é esperada em plantas lenhosas de clima temperado, como resposta a degradação do amido e preparo para suportar períodos de temperaturas mais baixas. Este fato ocorre durante a dormência, quando os tecidos meristemáticos das gemas apresentam baixa capacidade mobilizadora de açúcares solúveis, acompanhado de aumento da hidrólise do amido sob baixas temperaturas pela ação da enzima α -amilase (WEGRZYN et al., 2000) e síntese de sacarose através da sacarose fosfato sintase – SPS – (HUBER; HUBER, 1996; SCHRADER; SAUTER, 2002), como forma de proteção ao frio.

Na segunda época de coleta dos ramos, as plantas das cvs Powder Blue e Delite já estavam privadas de folhas e pôde ser verificado nesta época o maior teor de amido nos ramos da cv Powder Blue e um maior teor de amido e açúcares na cv Delite (Tabela 1), em relação à primeira época de coleta. Este aumento de amido e açúcares ocorre devido à senescência das folhas. Segundo Taiz e Zeiger (2009), durante a senescência a planta recupera parte da energia investida na formação foliar por meio da ação de enzimas hidrolíticas que decompõem proteínas celulares, carboidratos e ácidos nucléicos presentes nas células das folhas. Esta mobilização de reservas ficou bem evidenciada na segunda época nas cultivares Delite e Powder Blue, onde se verificou aumento no teor de amido e açúcares (Tabela 1).

Segundo Buchanan et al. (2000), durante a senescência foliar, a clorofila é convertida a clorofilídeo, em uma reação catalizada pela clorofilase.

O outro produto da ação da clorofilase é o fitol, que se acumula nos lipídeos dos gerontoplastos. Além disso, há evidências de que a via lipídeos-açúcares é ativada durante a senescência das folhas, formando malato, oxaloacetato e piruvato, que são prontamente interconvertidos e representam pontos de entrada de carbono na via glicolítica, podendo ser utilizados tanto no processo respiratório, quanto para síntese de sacarose e/ou amido, dependendo das necessidades fisiológicas da planta.

No entanto, na Seleção 19 se verificou a permanência de parte das folhas durante todo o período em que se realizaram as coletas, o que pode explicar o aumento no teor de amido nos ramos deste genótipo na segunda época de coleta e respectiva manutenção destes teores nas avaliações seguintes.

Na quarta época de coleta dos ramos, pôde ser verificada uma queda nos teores de açúcares solúveis (Tabela 1), acompanhada de um aumento no teor de amido. A redução dos açúcares solúveis totais, registrado nesta última época de coleta de ramos (11/08/2008), coincide com a elevação da temperatura (Anexo 3). Conseqüentemente, com o provável aumento da taxa respiratória e da mobilização destas substâncias para as gemas, que no referido período já se encontravam em início de brotação (estádio de pontas verdes), sendo fortes drenos dessas substâncias energéticas para suportar a brotação até as primeiras folhas iniciarem a produção de fotoassimilados.

De acordo com Marquat et al. (1999), após a superação da dormência, no final do inverno e início da primavera, as gemas tornam-se fortes drenos metabólicos, aumentando a importação de açúcares, os quais são

metabolizados para o fornecimento de energia para a biossíntese de esqueletos carbônicos durante a fase de indução e início da brotação.

Durante o estágio da dormência, aumenta a atividade das enzimas que degradam amido (amilase e fosforilase do amido), convertendo este carboidrato de reserva em açúcares solúveis – glicose, frutose e sacarose (SAUTER; KLOTH, 1987). Esta é uma estratégia de defesa das plantas de clima temperado visando sobreviver ao rigor do inverno, além de preparar-se para a retomada do crescimento na primavera, fase de grande demanda energética. Entretanto, no presente trabalho, não se verificou uma resposta clara desta conversão de substâncias de reserva para as cultivares Powder Blue e Delite, uma vez que se registrou uma variação inconstante na concentração de amido ao longo das épocas de avaliação, podendo estar relacionado às variações de temperatura do inverno do sul do Brasil e/ou a problemas de adaptação destas cultivares às condições climáticas onde estão sendo cultivadas.

Veríssimo (2008), trabalhando com plantas de pereiras, em período semelhante ao deste estudo, verificou as mesmas variações inconstantes nos teores de amido nos ramos. Segundo Schrader & Sauter (2002), a sacarose fosfato sintase (SPS) tem a sua atividade aumentada no outono e início do inverno em paralelo com a queda das temperaturas, no entanto a sacarose sintase (Susy) tem a sua atividade aumentada um pouco mais tarde em relação à SPS. Os autores sugerem que a Susy pode mobilizar a sacarose e fornecer esqueletos carbônicos para diversas rotas, tais como a glicólise e a síntese de amido, pois em muitos tecidos ocorre uma correlação positiva entre o teor de amido e a atividade de Susy (WANG et al., 1993; DÉJARDIN et al., 1997;

NASCIMENTO et al., 2000), podendo esta enzima estar relacionada com a conversão de sacarose em amido, após os açúcares terem superado a demanda celular, durante o período de inverno.

Na cv Seleção 19, embora tenha ocorrido uma redução significativa dos açúcares solúveis a partir da segunda época de avaliação, observou-se manutenção no teor de amido, possivelmente pelo fato deste genótipo manter a grande maioria das folhas durante todo o período de avaliação, sugerindo que se trata de um genótipo com menor sensibilidade às variações de fotoperíodo/temperatura ou com alta exigência em frio para entrar em dormência, que nesse caso não ocorreu, uma vez que no ano de 2008 o número de horas de frio registrado na estação experimental da Embrapa Clima Temperado foi de apenas 276hs. Sendo assim, mesmo havendo demanda por açúcares para passar pelo período de baixas temperaturas, as plantas mantiveram a capacidade de produzir carboidratos para a manutenção do metabolismo da planta e para armazenar na forma de amido.

Embora o teor de açúcares solúveis tenha aumentado em ramos da Seleção 19, durante o período em que se procedeu às coletas até a segunda época de coleta de ramos, esse aumento não foi acompanhado pela redução no teor de amido, contrariando os resultados obtidos por Sauter et al. (1998) em estudos conduzidos com álamo, por Bonhomme et al. (2005) em pessegueiro e por Marafon (2008) em pereira, os quais observaram um estreito paralelismo entre a hidrólise do amido e o aumento no teor de açúcares solúveis totais nos ramos, durante o inverno.

Este aumento dos açúcares sem consumo de amido possivelmente seja uma característica do genótipo, que continuou armazenando fotoassimilados

através da assimilação de CO₂ atmosférico pelas folhas via fotossíntese, resultando em sacarose e amido como produtos finais.

No entanto poderá ter ocorrido em conjunto a conversão de parte dos lipídeos em açúcares via gliconeogênese, que é ativada durante a senescência foliar (BUCCHANAN, 2000), e que continuou durante o período na seleção 19, visto que, embora ela não perdesse totalmente as folhas, ocorria a queda das mesmas com o avanço do período de dormência.

Neste trabalho observou-se uma resposta quanto à interconversão amido-açúcares nos ramos de mirtilheiro das cultivares Powder Blue e Delite, pois com a paralisação visível do crescimento vegetativo, o teor de amido aumentou e o teor de açúcares diminuiu. Durante o inverno ocorreu o contrário, ou seja, os açúcares solúveis atingiram os seus picos de concentração para a aquisição de tolerância ao resfriamento e o teor de amido diminuiu gradativamente nos ramos. Esta resposta não se verificou no metabolismo de carboidratos da Seleção 19, possivelmente associada à oscilação térmica durante o período, que proporcionou ao genótipo acumular reservas na forma de amido mesmo durante o período de inverno.

4.2 2º Experimento – Avaliação dos teores de carboidratos em estacas de mirtilheiro durante o processo de enraizamento, em quatro épocas do período outono/inverno

4-2-1 - Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 03/06/2008

Quando se avaliou as estacas submetidas ao enraizamento em 03/06/2008, observou-se que o teor de amido e açúcares solúveis variou significativamente entre cultivares e entre épocas, apresentando interação entre fatores (Figura 1, Apêndice B).

Na primeira data de coleta dos ramos (03/06/2008), a cultivar Powder Blue apresentou o maior teor de amido em relação às demais cultivares (Figura 1), porém após as estacas serem submetidas ao processo de enraizamento, registrou-se uma redução gradual, apresentando diferença significativa após 60 dias.

A redução no teor de amido não foi acompanhada de aumento gradual no teor de açúcares solúveis, possivelmente pelo fato de as estacas estarem em condição de temperatura que proporcionou o início da brotação das estacas (20 a 25°C). Sendo assim, essa redução do amido e de açúcares solúveis está relacionada à demanda de energia para suportar a brotação e formação de calo na base das estacas que já era expressiva (41% e 16%, respectivamente) aos 60 dias (Anexo 3).

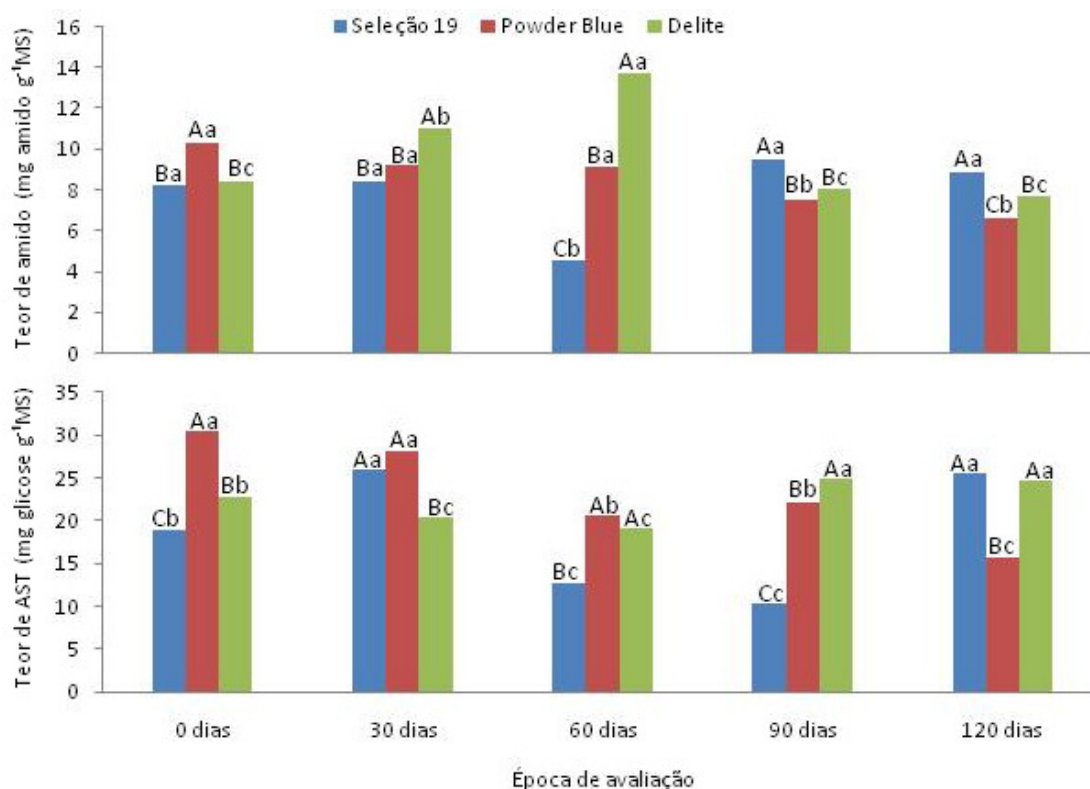


Figura 1 - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 03/06/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na época de avaliação e médias seguidas de mesma letra minúscula entre épocas de avaliação não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Por sua vez, a cv Delite apresentou um aumento no teor de amido até os 60 dias e este aumento foi acompanhado de um consumo de açúcares nestas avaliações. Entretanto, aos 90 dias verificou-se um aumento nos teores de açúcares solúveis, acompanhado de decréscimo no teor de amido, de forma similar ao obtido por Lacoite et al. (1993), os quais verificaram que os teores de amido e de açúcares solúveis totais apresentam um padrão inverso durante a dormência, devido a interconversão entre eles.

A dinâmica nos teores de carboidratos de várias espécies frutíferas de clima temperado é conhecida e bem definida ao longo do ano. No final do outono, o amido alcança sua concentração máxima, mas diminui durante o inverno, quando ocorre a conversão para açúcares solúveis, o que é necessário para a proteção dos tecidos contra as baixas temperaturas. No início da

primavera, o amido volta a aumentar, quando os açúcares são utilizados para a nova síntese do amido ou pela produção de fotoassimilados nos novos brotos da planta que, após exceder a demanda metabólica, é armazenado na forma de amido (SAUTER; KLOTH, 1987).

Quando as estacas da cv Delite foram submetidas a condições de casa-de-vegetação com temperatura controlada (20 a 25 °C), possivelmente ocorreu uma sinalização semelhante àquela observada na primavera, ou seja, com a nova brotação, iniciou a conversão de açúcares em amido.

Por outro lado, em estacas da Seleção 19 verificou-se uma queda significativa nos teores de amido e de açúcares aos 60 dias. Nesta época 25% das estacas estavam com brotos (Anexo 3). Sabe-se que nessas condições as brotações importam o carbono sob a forma de açúcares solúveis e constituem-se em fortes drenos metabólicos para o crescimento e desenvolvimento dos tecidos meristemáticos. No entanto, aos 90 dias verificou-se um acréscimo significativo no teor de amido, em relação aos 60 dias, acompanhado de consumo significativo de açúcares, possivelmente devido à conversão de açúcares em amido, pois 58% das estacas apresentavam brotações e possivelmente já tinham iniciado a produção de fotoassimilados e acumulado o excedente na forma de amido.

Aos 120 dias, embora o teor de amido tenha se mantido constante, registrou-se o maior teor de açúcares solúveis (Figura 1), possivelmente oriundo da fotossíntese, visto que nesta época verificou-se uma porcentagem significativa de estacas brotadas (66%) (Anexo 3).

3.2.2 - Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 04/07/2008

Quando foram avaliadas as estacas submetidas ao enraizamento em 04/07/2008, observou-se que o teor de amido e açúcares solúveis variou consideravelmente, apresentando interação significativa entre os fatores (Figura 2, Apêndice C).

Nesta data de coleta, os ramos das cultivares apresentaram maior teor de açúcares em relação à primeira época de coleta (Tabela 1), no entanto pôde ser verificado no Anexo 2 que esta data foi precedida de baixas temperaturas, o que possibilitou a formação desses açúcares. Este aumento ocorre pela ação das enzimas amilases e fosforilases que hidrolisam o amido em carboidratos mais simples (SAUTER; KLOTH, 1987), sendo a α -amilase a principal enzima envolvida com a resposta ao estresse provocado pelas baixas temperaturas (WEGRZYN et al., 2000). Este processo regulado pela temperatura é um mecanismo fundamental das plantas para resistência ao congelamento dos tecidos.

Quando as estacas das plantas das cvs Powder Blue e Delite foram submetidas ao enraizamento, pôde-se observar que ocorreu manutenção nos teores de amido durante os primeiros 30 dias (Figura 2). Este fato ocorreu devido aos altos teores de açúcares na data da coleta, o que propiciou a reserva energética para a emissão e manutenção das gemas e brotos, não sendo necessária a reserva amilácea.

Neste período verificou-se redução no teor de açúcares acompanhado da emissão de brotações em 83% das estacas de ambas as cultivares (Anexo 3). Este consumo possivelmente tenha ocorrido devido às estacas serem

submetidas às temperaturas mais altas da casa-de-vegetação, que proporcionou a emissão de brotações com gasto de açúcares.

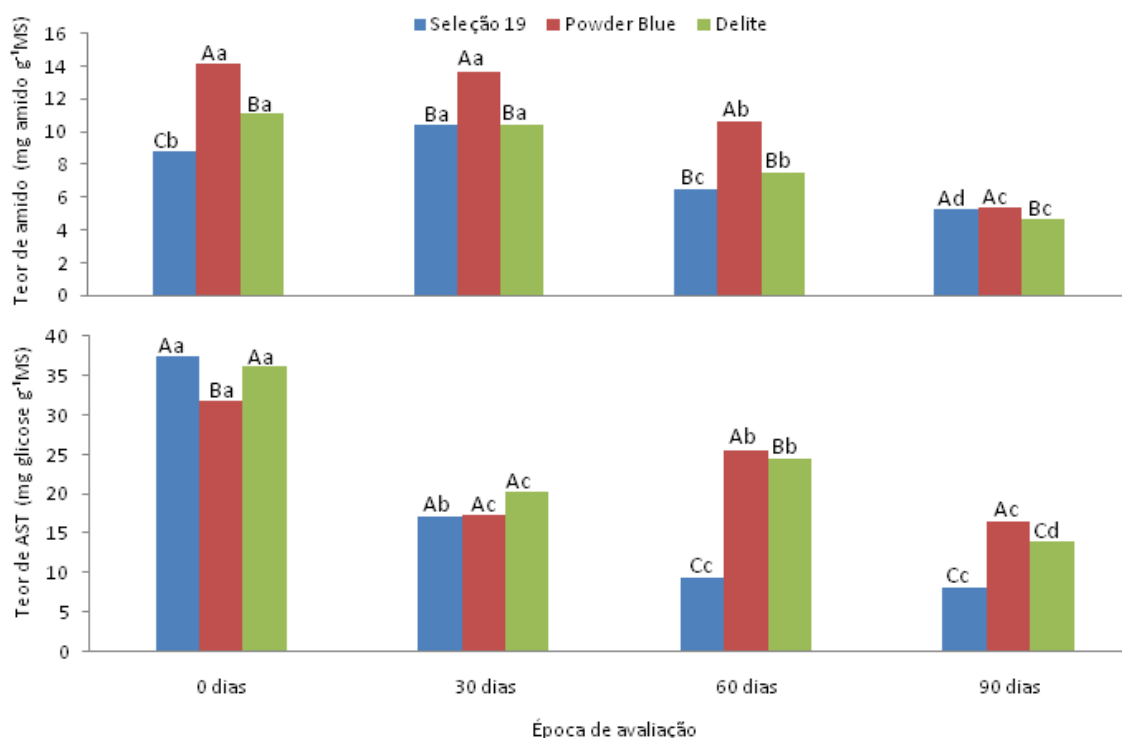


Figura 2 - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 04/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na época de avaliação e médias seguidas de mesma letra minúscula entre épocas de avaliação não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Segundo Taiz e Zeiger (2009), em órgãos nutricionalmente dependentes, os carboidratos são importados na forma de açúcares e utilizados como fonte de energia para o crescimento, ou seja, os açúcares disponíveis no lenho dos ramos e/ou estacas e sob temperatura adequada. As gemas vegetativas são os drenos preferenciais e importam estes açúcares para utilizarem na emissão e manutenção das novas brotações.

A redução no teor de amido foi significativa e mais expressiva a partir dos 60 dias nas estacas das cvs Powder Blue e Delite, acompanhado de acréscimo no teor de açúcares.

Para a seleção 19, verificou-se teor de amido significativamente superior aos 30 dias em relação à data de coleta dos ramos (0 dias), acompanhado de consumo de açúcares. Este acúmulo possivelmente seja oriundo da conversão de açúcares em amido. Entretanto aos 60 dias, tanto os teores de amido quanto de açúcares reduziram significativamente. Possivelmente nesta época as estacas não conseguiram mais absorver água e nutrientes suficientes, devido à necrose (Figura 3) ocorrida na base das mesmas, e necessitaram utilizar as reservas de carboidratos para a sua manutenção.



Figura 3 - Estacas de mirtilo apresentando necrose e escurecimento dos tecidos da base. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.

Nesta época de coleta dos ramos, pôde ser verificada uma grande emissão de brotações nos três genótipos logo aos 30 dias (Anexo 2). Este fato ocorreu devido à superação da dormência das gemas, ocasionado pelas baixas temperaturas no período que precedeu a coleta dos ramos, proporcionando aos genótipos a conversão do amido em açúcares, necessários para sustentar a emissão de novas brotações. Observou-se que houve diferença significativa entre os teores de amido e açúcares desta época de coleta, quando comparada com a primeira época de coleta (Tabela 1), período em que as estacas apresentaram baixo teor de açúcares solúveis acompanhado de pouca ou nenhuma emissão de brotações.

De modo geral neste experimento, observou-se que houve um consumo de amido e açúcares devido ao maior gasto de energia proporcionada pela emissão de novas brotações e manutenção do metabolismo para o desenvolvimento de ramos. Estes resultados estão em conformidade com vários autores, onde afirmam que, para o desenvolvimento de novas células vegetais, isto envolve a degradação do amido, que é hidrolisado, e os açúcares são utilizados como fonte de energia para o desenvolvimento inicial (LACOINTE et al., 1993; JACKSON, 2003; MAUREL et al., 2004; VERÍSSIMO, 2008). Tsipouridis et al. (2006), estudando o balanço de carboidratos correlacionados com a rizogênese em pessegueiros, verificou que as maiores taxas de crescimento das brotações aconteciam nas épocas de teores mais elevados de açúcares solúveis, porém o percentual de enraizamento nestas épocas era baixo.

Estacas oriundas de ramos submetidos a este período de baixas temperaturas, quando submetidas ao enraizamento em temperaturas mais

altas, emitem brotações vigorosas, devido às gemas terem superado a dormência e terem reservas já disponíveis (açúcares). Estas reservas, no momento em que a estaca é submetida ao processo de enraizamento, são distribuídas para toda a parte aérea, mas principalmente para as gemas, onde está ocorrendo intensa divisão celular. Após a superação da dormência, essas gemas, tornam-se os drenos preferenciais de açúcares, em detrimento à formação de raízes, que leva um período de tempo maior, para que a estaca forme um novo ponto meristemático e, conseqüentemente, inicie a emissão de raízes necessárias para absorver água e nutrientes.

De acordo com estes resultados é possível que tenha ocorrido, durante este experimento, um fluxo de açúcares para as gemas. Segundo Gévaudant et al. (2001) e Alves et al. (2007), quando as plantas possuem um alto conteúdo de açúcares nos vasos do xilema, aumenta o potencial osmótico da seiva, gerando uma pressão interna que permite o restabelecimento da condutividade hidráulica dos vasos. Este restabelecimento da condutividade favorece a brotação das estacas sob as condições favoráveis de temperatura e umidade da casa-de-vegetação. Este fluxo de açúcares para a parte aérea possivelmente esteja envolvido na necrose observado na base das estacas, devido a não formação de raízes para a absorção de água e nutrientes.

Por outro lado, a temperatura do substrato é outro fator que possivelmente tenha interferido no metabolismo de carboidratos e no enraizamento, pois a casa-de-vegetação estava regulada para temperaturas entre 20 e 25°C.

Normalmente, durante o dia, a temperatura da água é mais baixa do que a temperatura do ar que está em contato com o terço superior das estacas.

Esse fato pode contribuir para manter um gradiente de temperatura entre o substrato e a temperatura do ar durante o dia, fazendo com que a atividade metabólica da parte superior da estaca seja mais intensa devido à temperatura mais alta, em relação à base da mesma, promovendo o fluxo de açúcares da base para o ápice da estaca favorecendo assim a emissão de brotações, em detrimento ao enraizamento, pois de acordo com Loach (1998) a temperatura ideal do substrato para o enraizamento de estacas lenhosas está entre 15 e 25°C. Segundo Higashi et al.(2000), entre os efeitos ambientais que mais afetam o enraizamento está a temperatura do substrato, conjuntamente com a umidade e a luz.

Ao final deste experimento, não pôde ser registrado de forma efetiva a taxa de enraizamento. No entanto pôde ser verificada uma necrose na base da estaca, ocasionado possivelmente pelo efluxo de açúcares direcionada para o desenvolvimento e brotação das gemas, em detrimento do desenvolvimento de raízes, não havendo nem mesmo a formação de calos. Desta forma a absorção de água ficou comprometida, ocasionando a desidratação das estacas.

3.2.3 - Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 24/07/2008

Nesta terceira época de coleta (24/07/2008), observou-se que o teor de amido e açúcares solúveis variou consideravelmente, apresentando interação significativa entre os fatores (Figura 4; Apêndice D).

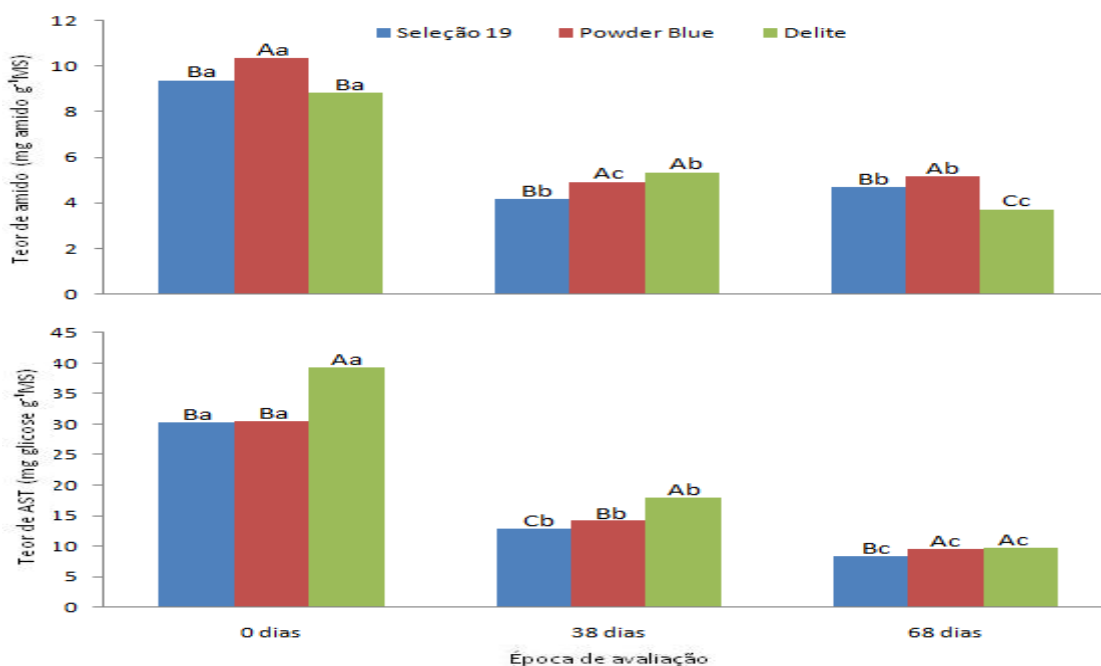


Figura 4 - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 24/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na época de avaliação e médias seguidas de mesma letra minúscula entre épocas de avaliação não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Aos 38 dias, registraram-se valores significativamente inferiores à primeira época de avaliação para as variáveis amido e açúcares solúveis, além da emissão de brotações nas estacas das cvs Delite e Powder Blue na ordem de 25 e 50%, respectivamente, e em 25% das estacas da Seleção 19 (Anexo 3).

Sabe-se que durante o inverno a α -amilase está envolvida no processo de degradação do amido em açúcares. No entanto após a superação da dormência com temperaturas entre 20 e 25°C, que é o caso deste experimento, a β -amilase e a fosforilase são as enzimas responsáveis pela quebra da

molécula do amido (GUY et al., 2008). Possivelmente nesta avaliação, a emissão de brotação tenha determinado a demanda por energia, contribuindo em grande parte pela redução de amido e açúcares solúveis.

Aos 68 dias pôde ser verificada manutenção no consumo de amido e açúcares nas estacas da cv Delite e da Seleção 19 (Figura 4), acompanhado de brotações, na ordem de 83 e 91%, e de calos 16 e 50% respectivamente (Anexo 3). No entanto na cv Powder Blue ocorreu uma conversão de açúcares em amido (Figura 4).

3.2.4 - Avaliação dos teores de amido e de açúcares solúveis em estacas coletadas em 11/08/2008

Nesta última coleta dos ramos de mirtilheiro para o enraizamento (11/08/2008), as avaliações realizadas revelaram variações significativas entre cultivares e entre épocas de avaliação (Figura 5), apresentando interação entre fatores para as variáveis analisadas (Apêndice E).

Observou-se consumo significativo de amido e açúcares aos 23 dias nos três genótipos (Figura 5), utilizado possivelmente para a emissão de brotos, que foi na ordem de 50% para a Seleção 19 e 33% para as demais cultivares (anexo 3). No entanto, aos 53 dias observou-se um acréscimo nos teores de amido e açúcares na cv Delite, sendo que nesta avaliação 75% das estacas haviam emitido brotações e possivelmente já estavam produzindo excedentes de fotoassimilados, que estavam sendo utilizados na síntese de amido e para suportar o início da formação de raízes, pois na avaliação realizada aos 171 dias (após submeter às estacas ao enraizamento), 100% das estacas desse ensaio estavam brotadas e mais de 80% delas apresentavam raízes (anexo 3).

Aos 53 dias, pôde ser verificado que não ocorreu mudança significativa no teor de amido nas cvs Seleção 19 e Powder Blue, porém se verificou consumo significativo de açúcares na Seleção 19, onde 66% das estacas já apresentavam brotações.

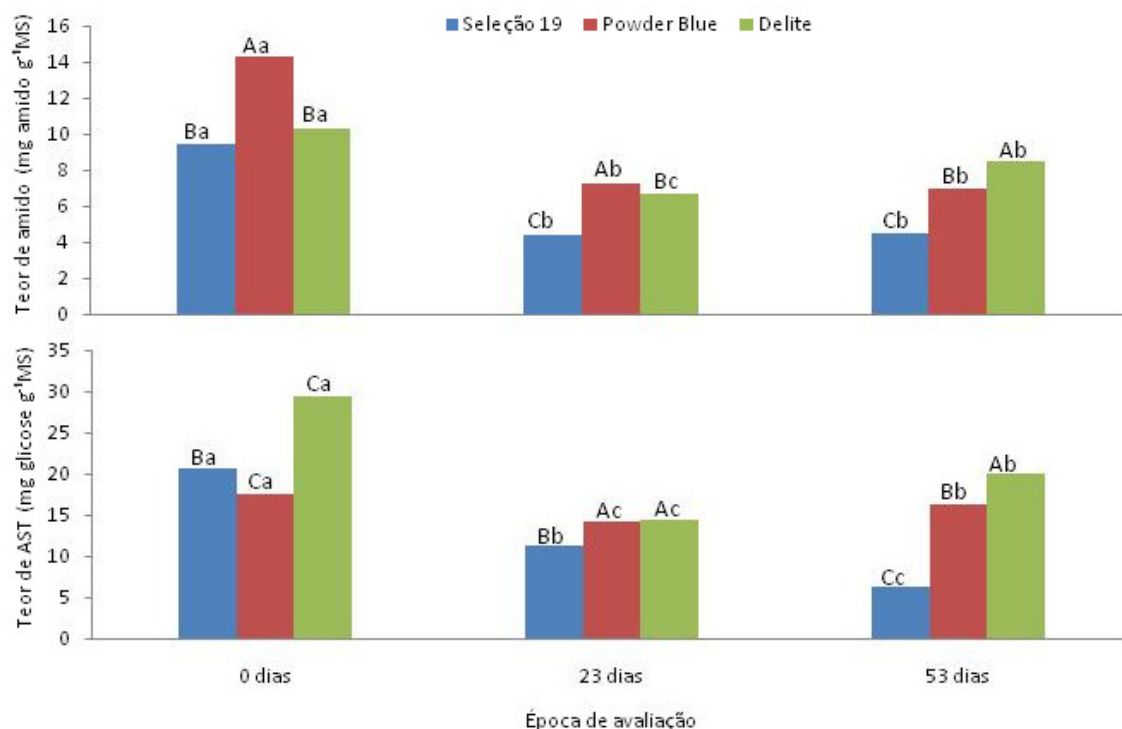


Figura 5 - Variação do teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite, Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 11/08/08. CPACT/Embrapa, Pelotas/RS, 2009.

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na época de avaliação e médias seguidas de mesma letra minúscula entre épocas de avaliação não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Nesta última época de coleta, verificou-se um retardo para a emissão de brotos nas estacas em relação à segunda e terceira épocas de coleta. Esta resposta parece estar intimamente ligada com os teores de açúcares solúveis disponíveis nos ramos na época da coleta (Tabela 1), pois na segunda época de coleta, quando o teor de açúcares nos ramos era maior, pôde ser verificada a emissão de brotações com maior vigor e mais rapidamente que nas demais épocas. Segundo Kraus et al., (2004), o metabolismo de carboidratos está associado aos processos que antecedem a divisão celular, pois estes demandam grande quantidade de energia. Quando os carboidratos estão em uma forma mais disponível, como no caso dos açúcares solúveis, em relação ao amido, ocorre a brotação mais rapidamente, conforme verificado na segunda época de coleta (04/07/2008) em relação à primeira (03/06/2008).

Na primeira época de coleta (03/06/2008), verificou-se que as estacas só foram apresentar brotações significativas aos 90 dias, bem depois se comparado com as demais épocas, levando a sugerir estar intimamente ligado com fato das plantas-matrizes estarem se preparando para entrar no período de inverno. No início do inverno, quando as plantas estão entrando em dormência, o conteúdo de auxinas e de cofatores endógenos que promovem o crescimento estão em baixas concentrações (TSIPOURIDIS et al. 2006).

No entanto, nesta quarta época de coleta, pôde ser verificado que, logo aos 60 dias, em torno de 75% das estacas estavam brotadas (Anexo 3) e possivelmente já possuíam condições de produzir assimilados, tanto para a manutenção das estacas, quanto para acumular reservas na forma de amido. Esta resposta está relacionada à partição de assimilados, uma vez que houve um gasto inicial para início de brotação. A partir do momento em que estas brotações começaram a produzir fotoassimilados, houve a possibilidade de armazenar amido e a disponibilidade de açúcares solúveis para desenvolvimento das raízes, visto que se registraram as melhores taxas de enraizamento ao final da avaliação desse experimento (80 a 100% - Anexo 3).

Durante o processo de enraizamento, a auxina aumenta fortemente a mobilização de nutrientes para a região decapitada, devido ao transporte basípeto (TAIZ; ZEIGER, 2009). O acúmulo de auxina na base da estaca promove a diferenciação celular e conseqüente formação de raízes. Este processo é dependente de energia, portanto, condições que restringem ou suprimem o fornecimento de energia também inibem o transporte basípeto da auxina. Assim, o transporte depende do adequado suprimento de oxigênio,

devido à sensibilidade do transporte polar à falta de O₂, à diminuição de sacarose e a inibidores metabólicos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

De maneira geral pode ser verificado que estacas que apresentam ressíntese de amido são oriundas de ramos que possuem um baixo teor deste carboidrato. Essa ressíntese não foi verificada na cultivar Powder Blue em nenhuma das épocas, no entanto na cultivar Delite ocorreu na primeira época de coleta (Figura 1), e na Seleção 19 na segunda época de coleta (Figura 2). Nessas épocas de coleta, estes genótipos tinham baixo teor de amido nos ramos (Tabela 1). No entanto, quando submetidas ao processo de enraizamento, apresentaram aumento no teor de amido, acompanhado de diminuição no teor de açúcares.

Essa ressíntese possivelmente seja uma “reconstituição” do grânulo de amido, visto que de modo geral, nessas épocas de coleta, os genótipos apresentavam altos teores de açúcares solúveis no lenho, acompanhado de temperaturas mais elevadas da casa-de-vegetação, não havendo mais a necessidade de manutenção dos altos níveis de açúcares para suportar o período de frio, fazendo com que as células convertessem esses açúcares em amido.

De modo geral pode ser verificado que ocorre um consumo de amido e açúcares durante o processo de enraizamento. Estes resultados estão de acordo com Baldini (1988), que verificou resposta similar em videira, também observando que em um primeiro momento, uma ressíntese de amido, seguido de consumo deste nas avaliações seguintes.

Neste trabalho pôde ser verificado que o consumo de reservas, quando ocorre emissão de brotações, é maior. Esta resposta possivelmente esteja

relacionada com a quebra da dormência nas gemas, tornando-se assim drenos preferenciais de carboidratos, e/ou a diferença de temperatura, que possivelmente tenha ocorrido entre a base e o ápice, em decorrência de a temperatura do substrato ser inferior a da parte aérea, o que faz com que ocorra maior transpiração na parte aérea, drenando assim os carboidratos e promovendo o gasto de energia para a emissão de brotações em detrimento da formação de raízes.

5 CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi conduzido concluiu-se que:

A cv. Powder Blue possui maior reserva amilácea que a cv. Delite e a Seleção 19.

Estacas lenhosas de mirtilheiro com baixos teores de amido (inferiores a $10\text{mg amido g}^{-1}\text{ MS}$) e sem brotações, quando submetidas ao enraizamento apresentam ressíntese desse carboidrato, associado à redução de açúcares solúveis totais.

Ocorre um aumento no teor de amido em estacas lenhosas de mirtilheiro submetidas ao processo de enraizamento, após a emissão de brotações.

No final do período de inverno, ocorre um aumento na concentração de amido nos ramos lenhosos de mirtilheiro, acompanhado de uma redução nos teores de açúcares solúveis totais.

Maiores teores de amido nos ramos durante o período de inverno, como verificado na cv Powder Blue, esta associado à maior taxa de enraizamento.

6 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⁺-ATPase in stem xylem of walnut during dormancy and growth resumption. **Tree Physiology**, Victoria, v.27, n.10, p.471-1480, 2007.

ANTUNES, L. E. C. (Ed.). Cultivo do mirtilo *Vaccinium* sp. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 99 p. (Sistema de produção, 8).

BALDINI, E. **Arboricoltura generale**. Bologna: CLUEB, 1988. 360p.

BHATTACHARYA, S.; BHATTACHARYA, N.C.; STRAIN, B.R. Rooting of sweet potato stem cuttings under CO₂ enriched environment and with IAA treatment. **Hortscience**, Alexandria, v. 20, n. 6, p. 1109-1110, 1985.

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.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville, American Society of Plant Physiologists. 2000. 788p.

CAMPOS, A.D; ANTUNES, L.E.C; RODRIGUES, A.C.; UENO, B. Enraizamento de estacas de mirtilo provenientes de ramos lenhosos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 6 p. (**Comunicado técnico, 133**). 2005.

DAVIS, T.D.; POTTER, J.R. Current photosynthate as a limiting factor in adventitious root formation on leafy pea cuttings. **Journal America Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.106, p.278-282, 1981.

DÉJARDIN, A.; ROCHAT, C.; WUILLÉM, S.; BOUTIN, J.P. Contribution of sucrose synthase, ADP-glucose pyrophosphorylase and starch synthase to starch synthesis in developing pea seeds. **Plant Cell and Environment**, Oxford v.20, p.1421-1430, 1997.

DOZIER, Jr., W. A.; KNOWLES, J. W.; CAYLOR, A. W.; POWEL, A. A.; AKRIDGE, R. McGUIRE J. A. Performance of rabbiteye blueberry cultivars in south Alabama. Auburn, Alabama Agricultural Experiment Station, 8 p. (**Office of communications, 598**). 1989.

DUTRA, L.F.; KERSTEN, E.; FACHINELLO, J.C.. Época de coleta, ácido indolbutírico e triptofano no enraizamento de estacas de pessegueiro. **Scientia agricola**, Piracicaba. v.59, n.2, p.327-333. 2002.

ECK, P.; CHILDERS, N.F. **Blueberry culture**. New Brunswick: Rutgers, 1966. 378p.

ELLE, D.; SAUTER, J.J. Seasonal changes of activity of a starch granule bound endoamylase and of a starch phosphorylase in Poplar wood (*Populus x canadensis* Moench robusta) and their possible regulation by temperature and phytohormones. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.156, p.731-740, 2000.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília, Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. 221p.

GASPAR, T.; HOFINGER, M. Auxin metabolism during adventitious rooting. In: DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, v.2, p.117-131, 1988.

GEVAUDANT F.; PETEL G.; GUILLIOT A. Differential expression of four members of the H⁺-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.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7th ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880p.

HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, R.L.V.A; GONÇALVES, A .N. Propagação Vegetativa de Eucalyptus: Princípios básicos e sua evolução no Brasil. IPEF – **Circular Técnica**, n.192, 2000.

HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 12. Ed. Washington: Analytical Chemistry, 1975, 1094p.

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.

JACKSON, J.E. **Biology of Apple and Pears**. Cambridge University Press: New York, 2003. 487p.

KLUGE, R.A.; HOFFMANN, A.; BILHALVA, A.B. Comportamento de frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cv. Powder Blue em armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.24, n.2, p.281-285, 1994.

KRAUS, J.E., KERBAUY, G.B., MONTEIRO, W.R. Aspectos histoquímicos da formação de protocormóides em ápices radiculares de *Catsetum pileatum* cultivados *in vitro*. In: Barros, F.; Kerbauy G. B. (eds.). **Orquidologia Sul Americana: uma compilação científica**. Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, p.85-89, 2004.

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.

LJUNG, K.; BHALERAO, R. P.; SANDBERG, G. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. **The Plant Journal**, Umea, v.29; n.4, p.465-474, 2002.

LOACH, K. Controlling environmental conditions to improve adventitious rooting. In: **Adventitious root formation in cuttings**, Portland: Discorides Press, p.249-273, 1998.

MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. **Sistema para análise estatística para Windows. WinStat**. Versão 2.0. Pelotas: UFPel. 2003.

MARAFON, A.C.M. **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. 2008. 80p.

MARQUAT, C.; VANDAMME, M.; GENDRAUD, M.; PÉTEL, 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, A.B.G.; GRACIANO; F.A.; SILVA; A.V.C. da. Clonagem do jambeiro-rosa (*Syzygium malacensis*) por estaquia de ramos enfolhados. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.365-368, 2001.

MAUREL, K.; LEITE, G.B.; BONHOMME, M.; GUILLIOT, A.; RAGEAU, R.; PÉTEL, G.; SAKR, S. Trophic control of bud break in peach (*Prunus persica*) trees: a possible role of hexoses. **Tree Physiology**, Victoria, n.24, p.579-588, 2004.

MONTEIRO, C. La expansión de la producción de arándanos en Uruguay y su relación el Hemisferio Sur. In: II Simpósio Nacional do Morango. Pelotas. **Anais**. p.233-242. 2004.

MURATA, I.M. BARBOSA, W.; NEVES, C.S.V.J.; FRANCO, J.A.M.; Enraizamento de estacas lenhosas de porta enxertos de pereira sob nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.583-585, 2002.

NASCIMENTO, J.R.O.; CORDENUNSI B.R.; LAJOLO, F.M. Sucrose synthase activity and expression during development and ripening in bananas. **Journal Plant Physiology**, Stanford, v.156: p.605–611, 2000.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. de. Efeitos de auxinas e boro sobre o enraizamento de estacas caulinares de kiwi (*Actinidia chinensis* Pl. cv Matua). **Phyton**, Argentina, v.57, n.2, p.137-147, 1995.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. de. Efeitos da interação de boro e auxinas sintéticas no enraizamento de estacas caulinares de kiwi (*Actinidia chinensis* Planch. cv Hayward). **Biotemas**, Florianópolis, v.9, p.65-80, 1996.

PASINATO, V.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. Enraizamento de estacas lenhosas de cultivares de ameixeira (*Prunus spp.*), em condições de campo. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.55, n.2, p.265-268, 1998.

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, 110p. (**Boletim Técnico n. 75**), 1996.

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, p.63-93, 1996.

RAKNGAN, J. Carbohydrate analysis of Japanese pear trees grown under adverse conditions, In: RAKNGAN, J. **Phenological and physiological study of Japanese pear grown under adverse condition**. Tsukuba, p.61-76, 1995.

RIGON, L. Prazer em Conhecer. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**, Santa Cruz do Sul, p.95, 2005.

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. Source-sink regulation by sugar and stress **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.2, p.198-206, 1999.

RUFATO, L.; MEYER, G.A.; BIANCHI, V.J.; FACHINELLO, J. C. Enraizamento de estacas lenhosas de cultivares de marmeleiro (*Cydonia oblonga*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, p.288-296, 2001.

SANTOS, A.M.; RASEIRA, M.C.B. A cultura do mirtilo. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 23 p. (**Documentos, 96**), 2002.

SANTOS, A.M.; RASEIRA, M.C.B. Cultivo do mirtilo (*Vaccinium spp.*). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 102 p. (**Sistemas de Produção, 8**), 2006.

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**, Jena, v.153, p.739-744, 1998.

SAUTER, J.J.; KLOTH, S. Changes in carbohydrates and ultrastructure in xylem ray cells of *Populus* in response to chilling. **Protoplasma**, Vienna, n.137, p.45-55, 1987.

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 Plant Physiology**, Stuttgart, v.159, p.833-843, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal** (4 ed.) Porto Alegre: Artmed, 2009, 719p.

TSIPOURIDIS, C.; THOMIDIS, T.; S. BLADENOPOULOU, S. Rhizogenesis of GF677, Early Crest, May Crest and Arm King stem cuttings during the year in relation to carbohydrate and natural hormone content. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, n.108, p.200-204, 2006.

VERÍSSIMO, V. **Porta-enxertos para pereira (*Pyrus* sp.): implicações sobre a dormência, biologia floral e conteúdo de carboidratos**. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2008. 136p.

VILLA, F.; PIO, R.; CHALFUN, N.N.J.; GONTIJO, T.C.A.; DUTRA, L.F. Propagação de amoreira-preta utilizando estacas lenhosas. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.27, n.4, p.829-834, 2003.

WANG F.; SANZ A.; BRENNER M.L.; SMITH A.G. Sucrose synthase, starch accumulation, and tomato fruit sink strength. **Plant Physiology**, Stanford, v.101, p.321-327, 1993.

WEBER, H.; BORISJUK, L.; HEIM, U.; WOBUS, U. Seed coat-associated invertases of Fava Bean control both unloading and storage functions: Cloning of cDNAs and cell-type specific expression. **The Plant Cell**, Dordrecht, v.7, p.1835-1846, 1995.

WEGRZYN, T.; REILLY, K.; CIPRIANI, G.; MURPHY, P.; NEWCOMB, R.; GARDNER, R.; MACRAE, E. A novel α -amylase gene is transiently upregulated during low temperature exposure in apple fruit. **European Journal of Biochemistry**, New York, v.267, p.1313-1322, 2000.

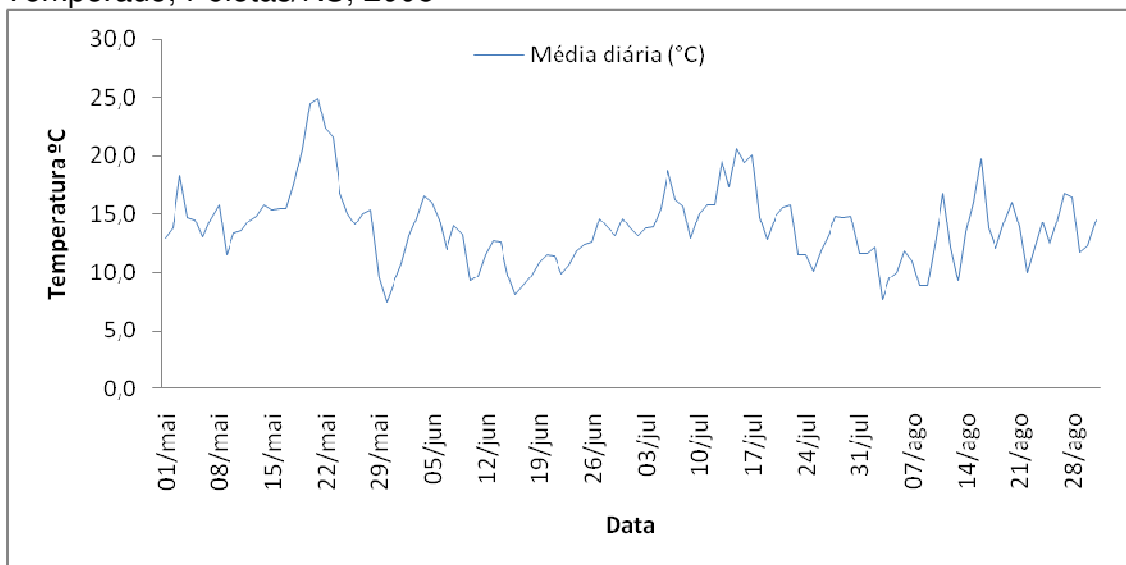
WITT, W.; BUCHHOLZ, A.; SAUTER, J.J. Binding of endoamylase to native starch grains from poplar wood **Journal of Experimental Botany**, London, v.46, n.292, p.1761-1769, 1995.

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, 1994.

YOSHIOKA, H.; NAGAI, K.; AOBA, K.; FUKUMOTO, M. Seasonal changes of carbohydrates metabolism in apple trees. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.36, p.219-227, 1988.

ANEXOS

ANEXO 1- Temperaturas médias diárias (°C) na estação experimental do CPACT/Embrapa, durante o período de coleta dos ramos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2008



APÊNDICES

Apêndice A

Tabela 1 Resumo da análise de variância para os teores de amido e de açúcares solúveis totais em ramos lenhosos de mirtilo das cultivares Delite e Powder Blue e Seleção 19, em quatro épocas de coleta. CPACT/Embrapa, Pelotas-RS, 2009.

Fonte de Variação	GL	QM	
		AST	Amido
Cultivar (1)	2	92,5585*	13,1414*
Época (2)	3	89,9679*	4,6837*
1 x 2	6	94,8243*	16,5887*
Resíduo	24	0,5586	0,2872
CV (%)		3,486	6,134
Média Geral		21,441	8,7378

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

Apêndice B

Figura 1 Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite e Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 03/06/08. CPACT/Embrapa, Pelotas-RS, 2009.

Fonte de Variação	GL	QM	
		AST	Amido
Cultivar (1)	2	92,5459*	13,1991*
Época (2)	4	89,9328*	4,6644*
1 x 2	8	94,8010*	16,5928*
Resíduo	30	0,5622	0,2884
CV (%)		3,4962	6,1436
Média Geral		21,4460	8,7413

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

Apêndice C

Figura 2 Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite e Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 04/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas-RS, 2009.

Fonte de Variação	GL	QM	
		AST	Amido
Cultivar (1)	2	112,1138*	34,2296*
Época (2)	3	82,9304*	82,8506*
1 x 2	6	74,1198*	40,9323*
Resíduo	24	0,7727	0,1419
CV (%)		4,0883	9,0517
Média Geral		21,5015	9,0517

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

Apêndice D

Figura 4 Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite e Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 24/07/08. CPACT/Embrapa, Pelotas-RS, 2009.

Fonte de Variação	GL	QM	
		AST	Amido
Cultivar (1)	2	140,637*	28,1813*
Época (2)	2	17,0333*	68,1531*
1 x 2	4	25,3333*	14,7141*
Resíduo	18	0,3682	0,1908
CV (%)		3,3261	6,8938
Média Geral		18,2450	6,3375

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

Apêndice E

Figura 5 Resumo da análise de variância para os teores de amido e açúcares solúveis totais - AST em estacas lenhosas de mirtilo das cultivares Delite e Powder Blue e Seleção 19, submetidas ao processo de enraizamento em 11/08/08. CPACT/Embrapa, Pelotas-RS, 2009.

Fonte de Variação	GL	QM	
		AST	Amido
Cultivar (1)	2	164,2976*	27,0583*
Época (2)	2	22,7729*	75,4075*
1 x 2	4	52,3682*	59,1147*
Resíduo	18	0,2236	0,7161
CV (%)		2,8278	3,3184
Média Geral		16,7233	8,0643

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