

VARIAÇÕES DO CONTEÚDO DE PROTEÍNAS EM GEMAS E RAMOS COM UM E DOIS ANOS DE IDADE DE MACIEIRA DURANTE A DORMÊNCIA

PROTEIN CONTENT VARIATIONS IN BUDS AND STEMS WITH ONE AND TWO YEAR OLD OF APPLE TREE DURING THE DORMANCY

Ruy Inacio Neiva de Carvalho¹; Flávio Zanette²; Juliana Maurer-Menestrina³

RESUMO

Os eventos bioquímicos e fisiológicos que ocorrem nas gemas e tecidos próximos e que podem estar envolvidos na endodormência em espécies frutíferas de clima temperado não são bem conhecidos tanto em tecidos com um ano de idade quanto em tecidos mais velhos. O objetivo deste trabalho foi avaliar as variações do conteúdo de proteínas em gemas e ramos de um e dois anos de idade, tratados ou não com frio suplementar, de macieira 'Imperial Gala' cultivada em região de insuficiência de frio hibernal em Porto Amazonas, Paraná. Ramos com gemas dormentes foram coletados em sete datas distintas (19/04, 10/05, 31/05, 21/06, 12/07, 02/08 e 23/08), e receberam ou não tratamento com frio suplementar de 1.440 horas a temperatura de 4 a 7° C em geladeira. Gemas e porções de 1 cm de ramos adjacentes às mesmas foram isolados para análise do conteúdo de proteínas em seus tecidos pelo método colorimétrico de Bradford. Concluiu-se que ocorreu redução do conteúdo de proteínas em gemas de um e dois anos de macieira com o desenvolvimento da dormência do mês de abril até agosto e esta redução não foi influenciada pelo tratamento com 1440 horas de frio suplementar. No período de dormência mais intensa ocorreu aumento do conteúdo de proteínas nos ramos adjacentes às gemas de um e dois anos.

Palavras-chave: fisiologia vegetal, bioquímica, *Malus domestica* Borkh.

ABSTRACT

The biochemistry and physiological events occurring in buds and contiguous tissues that might be related to endodormancy in one year old and in older tissues of temperate climate fruit trees are not known. This study was conducted to evaluate the protein content variation in one and two year old buds and stems of apple tree cv. 'Imperial Gala' cultivated in a region containing insufficient chilling in Porto Amazonas, Paraná, Brazil, that were either treated or not treated with supplementary chill. Twigs carrying dormant buds were collected on seven distinct periods throughout the year (April 19th, May 10th, May 31st, June 21st, July 12th, August 2nd and August 28th) and were either treated or not treated with 1,440 hours of chill (4 to 7° C in a refrigerator). Buds and portions of 1 cm of contiguous stems were isolated and its protein content was determined according to the Bradford colorimetric method. A reduction in the protein content of one and two year old buds and stems of apple tree during the dormancy period was observed from April to August. Such reduction was not influenced by the chill treatment with 1,440 hours. An increase in the protein content of stems adjacent to the one and two year old buds was observed during a more intense dormancy period.

Key words: plant physiology, biochemistry, *Malus domestica* Borkh.

INTRODUÇÃO

Uma gema não brotada está em constante correlação com o restante da planta sofrendo maior ou menor influência de regiões mais ou menos próximas a ela, fato que determina seu potencial de brotação. Desta forma, a dormência de gemas pode se estender ao longo do ano passando por três fases: paradormência, endodormência e ecodormência. Na paradormência a ausência de desenvolvimento da gema é resultante da influência de outro órgão ou região do vegetal em crescimento (gemas terminais), sendo esta inibição denominada de longa distância. No entanto, nesta fase ocorrem eventos diversos no interior da gema em repouso como a indução de florescimento de algumas espécies (LANG et al., 1987).

No início do outono, na transição para a endodormência, as gemas terminais já estão cessando o crescimento, mas a capacidade de brotação das gemas laterais não se expressa. Esta inibição ocorre por meio de sinais emitidos a uma distância mais curta, seja pelas folhas próximas ou pelo ramo adjacente à gema, possivelmente pela competição por água e nutrientes, uma vez que a desfolha da planta permite a brotação de algumas gemas (CRABBÉ & BARNOLA, 1996).

A endodormência ocorre nos meses mais frios, em que o não desenvolvimento da gema é resultante de uma série de eventos bioquímicos e fisiológicos que acontecem a níveis meristemáticos ou muito próximos. Nesta etapa, nem uma decapitação ou uma desfolha permite o crescimento das gemas laterais endodormentes que, devido à necessidade de proteção da planta a baixas temperaturas, desenvolvem uma fisiologia especial para garantir a brotação e o florescimento na primavera seguinte (CRABBÉ & BARNOLA, 1996; LANG et al., 1987). Durante a endodormência de gemas da macieira, apesar de a planta não apresentar crescimento visível, as atividades metabólicas essenciais continuam a ocorrer, embora com intensidade reduzida (PETRI et al., 1996). BUBAN et al. (1995) citaram que os primórdios florais da macieira podem apresentar crescimento mesmo nos meses de inverno.

Diversas hipóteses são formuladas à procura do conhecimento a respeito dos fatores envolvidos na entrada, manutenção e saída da endodormência. Como principais teorias encontram-se as que postulam que a dormência pode

Parte da tese do primeiro autor apresentada à Universidade Federal do Paraná para obtenção do título de Doutor em Ciências.

¹* Eng. Agrônomo, Dr., Professor Titular do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Rodovia BR 376, Km 14, CEP 83010-500 - São José dos Pinhais - Paraná. Fone: (41) 3299-4300. ruy.carvalho@puccpr.br

² Eng. Agrônomo, Dr., Professor de Fruticultura do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná. Rua dos Funcionários, 1540, CEP 80035-050. Curitiba - Paraná. Fone: (41) 3350-5650. flazan@ufpr.br

³ Bióloga, Dr., Professora do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Paraná. Jardins das Américas s/n. CP 19.046, CEP 81.531-990, Curitiba - PR. jumaurer@ufpr.br

(Recebido para Publicação em 17/08/2005, Aprovado em 17/03/2006)

R. Bras. Agrociência, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 145-149, abr-jun, 2006

145

estar relacionada com modificações na estrutura celular (LARCHER, 2000); alterações do metabolismo energético na gema, como a atividade de enzimas e a síntese de nucleotídeos (BONHOMME et al., 2000); regulação hormonal (STAFSTROM, 2000); conteúdo e fluxo de carboidratos, suprimento de nutrientes e translocação de reservas a curta distância (CARVALHO, 2001; EREZ, 2000; MARQUAT et al., 1999); e conteúdo de proteínas (TAMURA et al., 1998). Em um sistema produtivo, a endodormência é a fase mais preocupante para os produtores uma vez que a má brotação ou a brotação desuniforme pode comprometer toda produção e a futura condução da planta.

Na ecodormência a ausência de desenvolvimento da gema acontece devido a um fator ambiental e assim que as condições ideais sejam estabelecidas, um novo fluxo de crescimento se restabelece, pois todas as condições intrínsecas à gema lhe são favoráveis e não há nenhum sinal a longa ou curta distância que a impeça de se desenvolver (LANG et al., 1987).

A avaliação da fisiologia da macieira em cada fase da dormência de suas gemas já foi estudada no Brasil por meio do teste biológico conhecido como estacas de nós isolados (HERTER et al., 1992; PUTTI et al., 2003a) e por meio da quantificação do acúmulo de horas de frio (HF) ou unidades de frio (UF) regional para suprir as exigências de uma cultivar para brotação (PUTTI et al., 2003b).

Os testes bioquímicos (testes de nucleotídeos) têm-se desenvolvido baseados na capacidade de síntese de adenosina trifosfato (ATP) por gemas vegetativas (BONHOMME et al., 2000). Outros testes baseiam-se na determinação do conteúdo de carboidratos nas gemas e nos ramos para detecção de um desvio do fluxo de fotoassimilados para os tecidos muito próximos ou adjacentes à zona meristemática, o que permite a elaboração de curvas que mostram sua dinâmica (CARVALHO & ZANETTE, 2004b).

Outros estudos para avaliação da dormência concentram-se na variação do conteúdo de ácidos gordurosos nos fosfolipídeos das membranas celulares das gemas (EREZ, 2000), na quantidade e atividade da ATPase na membrana plasmática das gemas e tecidos adjacentes (AUE et al., 1998; AUE et al., 2000), na intensidade de respiração das gemas durante o outono e inverno (McPHERSON et al., 1997) e na meiose polínica (CITADIN et al., 2002).

As variações do conteúdo de proteínas nas gemas durante o período de repouso já foram estudadas em gemas de pessegueiro (ARORA & WISNIEWSKI, 1999) e pereira (TAMURA et al., 1998), mas há poucas informações específicas para a macieira que relacionem o conteúdo de proteínas nos tecidos e sua dinâmica em função da ocorrência ou não de frio em quantidade e qualidade exigida pela cultura.

Estas variações, uma vez ligadas ao metabolismo da planta, podem ser alteradas de acordo com a idade das gemas avaliadas, porém pouco se estudou a respeito da fisiologia da dormência de gemas mais velhas e sua associação com outros fatores intrínsecos. Gemas de dois ou três anos são importantes no momento da formação da copa ou para renovação de estruturas produtivas de macieiras. Assim o estudo da fisiologia da dormência destas gemas e sua alteração pelas baixas temperaturas geram importantes subsídios para a compreensão do fenômeno e para planejamento de estudos futuros (CARVALHO & ZANETTE, 2004c; ZANETTE et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi a determinação das variações do conteúdo de proteínas em gemas e ramos de um e dois anos de idade, tratados ou não com frio suplementar,

de macieira 'Imperial Gala' cultivada em região de insuficiência de frio hibernal.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado com ramos de macieira da cultivar Imperial Gala coletados no período de abril a agosto de 2000 em pomar com cinco anos de idade conduzido em plantio adensado (4,0 x 1,35 m) na Fazenda Agropecuária Boutin em Porto Amazonas - PR (25,55° latitude Sul, 49,90° de longitude Oeste e 795 m de altitude). O clima do Município de Porto Amazonas, conforme classificação climática de Köepen, é do tipo Cfb – Clima temperado propriamente dito; temperatura média do mês mais frio abaixo de 18° C (mesotérmico), com verões frescos, temperatura média no mês mais quente abaixo de 22° C e sem estação seca definida (FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ, 1984). A quantificação do frio ocorrido na região foi determinada com dados climáticos coletados pelo SIMEPAR (2000), segundo o método do número de horas de frio (HF) abaixo de 7,2° C e pelo método da conversão de temperaturas para unidades de frio (UF) baseado no modelo Carolina do Norte (SHALTOUT & UNRATH, 1983). No ano de 1999 ocorreram 276 HF ou 362 UF e em 2000 ocorreram 386 HF e 211,5 UF.

Os ramos com inserção e disposição espacial oblíqua, com comprimento superior a 30 cm, íntegros e sem sintomas de pragas ou doenças foram coletados no período da manhã em sete datas distintas: 19/04, 10/05, 31/05, 21/06, 12/07, 02/08 e 23/08. Após cada coleta, os ramos receberam ou não tratamento com frio suplementar de 1.440 horas à temperatura de 4 a 7° C em geladeira, tempo superior aos níveis mínimos requeridos pela macieira 'Gala', a qual originou a 'Imperial Gala', que exige até 600 horas de frio para superação da dormência (PETRI et al., 1996).

A coleta das gemas em cada época analisada foi feita com lâmina de bisturi, retirando-se as cinco escamas (catáfilos) mais externas que envolviam a gema. A retirada da gema foi realizada com um corte longitudinal entre a gema e o ramo. Outro corte foi realizado transversalmente no ponto de inserção da mesma com o ramo de forma a destacá-la com facilidade. As gemas destacadas foram imediatamente armazenadas em frascos plásticos de 1,5 mL (Eppendorf) até se obterem dois frascos cheios. Após a coleta, as gemas foram armazenadas a -18° C.

Coletou-se uma porção do ramo de 1,0 cm de comprimento, adjacente à gema, dividido ao meio por um corte longitudinal mantendo-se para análise a metade que possuía no centro da casca uma gema. Esta gema foi eliminada da mesma forma com que foram coletadas as gemas para análise. Coletaram-se 15 g de ramos por amostra. Os ramos coletados foram imediatamente envolvidos em filmes plásticos de PVC e armazenados a -18° C.

As determinações do conteúdo de proteínas foram realizadas no Laboratório de Carboidratos de Exsudatos Vegetais do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná pelo método colorimétrico de Bradford e a leitura foi realizada por espectrofotometria por absorvância a 595 nm. A sensibilidade do método está entre 1 a 100 µg de proteína na amostra (BRADFORD, 1976).

As análises foram feitas com a fração solúvel em álcool (FSA) obtida tratando-se 100 mg de amostra moída com 30 mL de etanol 80 % por 30 minutos a 100° C em banho-maria. Após extração da FSA foram realizados tratamentos com resinas catiônicas e aniônicas para purificação da amostra.

Foram utilizadas alíquotas de 50 µL da FSA para diluição inicial em água destilada (1:1). Em seguida, foram adicionados 5 mL do reativo de Bradford diluído em água destilada (1:3) e filtrado. A mistura foi agitada em agitador (Vortex) por 30 segundos para homogeneização da reação.

As curvas padrões para determinação de proteínas em gemas foram determinadas com soluções de soro de albumina bovina (BSA) contendo de 6 a 100 µg, enquanto para a determinação de proteínas em ramos utilizaram-se soluções padrões contendo de 1 a 30 µg. As curvas de calibração adotadas para a colorimetria foram: $y = 0,0056x + 0,0506$ ($R^2 = 0,94$) para as gemas e $y = 0,0048x$ ($R^2 = 0,95$) para os ramos. Calculou-se o conteúdo de proteínas totais em mg.g^{-1} de matéria seca de material vegetal.

O delineamento experimental adotado foi o de parcelas subdivididas no tempo com o fator principal arranjado em blocos casualizados. O fator principal estudado foi o tratamento com frio com dois níveis e as subparcelas foram representadas pelas datas de coleta de ramos com sete níveis, utilizando-se três repetições. A comparação entre médias de tratamentos foi feita pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de proteínas em gemas de um ano de idade de macieira que receberam ou não frio suplementar apresentou um decréscimo homogêneo no período de abril a maio e pequenas oscilações no período de junho a agosto (Figura 1). Segundo CARVALHO & ZANETTE (2004a), a dormência mais intensa das gemas de macieira 'Imperial Gala' na região estudada ocorreu em julho e o período anterior (abril a junho) correspondeu ao final da paradormência e entrada da endodormência. Desta forma, a entrada na endodormência pode estar associada à redução do conteúdo de proteínas nas gemas seja por degradação ou por exportação. O suplemento de 1.440 horas de frio, suficiente para a saída da dormência de acordo com a exigência da cultivar (PETRI et al., 1996), não alterou o metabolismo natural das proteínas, indicando a independência da degradação ou exportação de proteínas em relação ao frio intenso e contínuo. No período de abril a junho ocorre naturalmente na região a redução do fotoperíodo que é um importante fator ambiental envolvido na entrada na endodormência (RAVEN et al., 2001; SALISBURY & ROSS, 1992). Neste mesmo período, segundo CARVALHO & ZANETTE (2004b), também ocorreu acentuada redução do conteúdo de carboidratos solúveis e pequena redução de carboidratos insolúveis em gemas de macieira que não receberam frio suplementar, porém quando a exigência em frio da cultivar foi suprida houve alteração do seu metabolismo de forma diferenciada. Este fato não ocorreu com o conteúdo de proteínas demonstrando que a dinâmica de variação de carboidratos e proteínas são independentes.

Estudos com gemas florais de pereira mostraram que um significativo acúmulo de proteínas ocorreu nas gemas quando as plantas acumularam 602 unidades de frio, no entanto a partir deste ponto até um acúmulo de 1.410 unidades de frio o conteúdo de proteínas pouco se alterou. Por outro lado, as gemas florais mantidas a temperaturas constantes de $20 \pm 2^\circ \text{C}$ mantiveram constantes os níveis de proteínas (TAMURA et al., 1998).

O acúmulo de proteínas deve estar relacionado com as diferentes espécies frutíferas, tipos de gemas e intensidade de frio ocorrido. Ao mesmo tempo em que uma completa supressão de frio mantiveram inalterados os níveis de

proteínas (TAMURA et al., 1998) e um frio intenso, prolongado e constante fornecido nesta pesquisa provocou redução do conteúdo de proteínas, o acúmulo gradual de unidades de frio como ocorre naturalmente até os níveis requeridos pela cultivar, talvez seja o fator que mais influencie o acúmulo de proteínas.

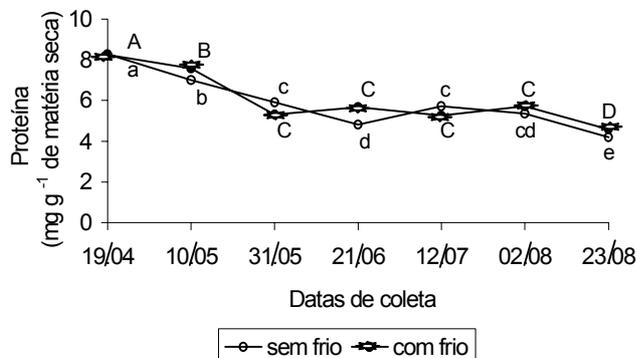


Figura 1 - Conteúdo de proteínas em gemas de um ano de idade de macieira da cultivar 'Imperial Gala' que receberam ou não 1.440 horas de frio suplementar de 4 a 7° C. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Do mês de abril até junho ocorreu redução do nível de proteínas dos ramos de um ano e, em seguida, um acúmulo durante a dormência mais profunda. O tratamento com frio suplementar não alterou esta característica sugerindo novamente que o metabolismo de proteínas não é fortemente influenciado pelo frio (Figura 2).

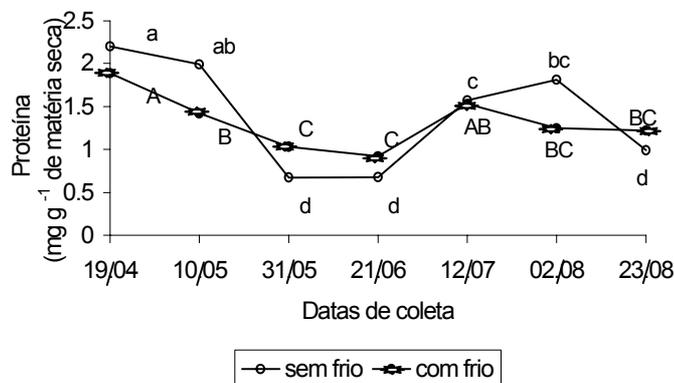


Figura 2 - Conteúdo de proteínas em porções de ramos adjacentes às gemas de um ano de idade de macieira da cultivar 'Imperial Gala' que receberam ou não 1.440 horas de frio suplementar de 4 a 7° C. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Duas etapas parecem poder ser detectadas na dinâmica das proteínas nos tecidos adjacentes às gemas de um ano. Na entrada em endodormência, a possível exportação de proteínas pelas gemas ocorre para tecidos mais distantes das mesmas e a possível degradação ocorre simultaneamente nas regiões próximas à gema. Já, na endodormência mais

profunda a exportação de proteínas ocorreria para tecidos mais próximos à gema e a degradação das mesmas estaria limitada aos tecidos internos da gema, fato que resulta no acúmulo de proteínas nos tecidos adjacentes a ela. Segundo CARVALHO (2001) os monossacarídeos glicose, frutose e sorbitol podem seguir um caminho contrário das proteínas sendo exportados dos ramos para as gemas, possivelmente para aumentar o efeito osmótico e, conseqüentemente, aumentar a resistência às baixas temperaturas (PREISS & SIVAK, 1996).

As variações e os conteúdos de proteínas nas gemas de dois anos assemelharam-se às gemas de um ano (Figura 3). Segundo CARVALHO & ZANETTE (2004c) o período de dormência mais intensa das gemas de dois anos de macieiras 'Imperial Gala' na região foi mais longo que o das gemas de um ano e ocorreu de maio até início de agosto. Este decréscimo homogêneo de proteínas ao longo da dormência de gemas e a não alteração deste comportamento em função do frio suplementar reforça o fato de que as proteínas possuem no início da dormência uma predisposição à degradação ou ao transporte lento. Conseqüentemente, ocorre uma redução gradual de seu conteúdo, provocando a diminuição do metabolismo dos tecidos. As pequenas variações visualizadas nos gráficos podem estar relacionadas à diferente morfologia de gemas de um e dois anos de macieira (CARVALHO, 2001).

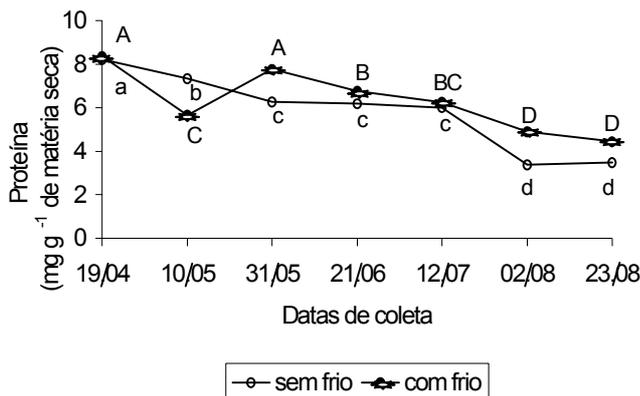


Figura 3 - Conteúdo de proteínas em gemas de dois anos de idade de macieira da cultivar 'Imperial Gala' que receberam ou não 1.440 horas de frio suplementar de 4 a 7° C. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

As variações do conteúdo de proteínas nos ramos adjacentes às gemas de dois anos foram maiores que as variações dos outros tecidos analisados. Na entrada em dormência houve um decréscimo até maio e, em seguida, ocorreu um aumento até antes da fase de dormência mais profunda quando novamente houve um decréscimo (Figura 4). Estas oscilações não foram interferidas pelo tratamento com frio suplementar. Até a fase de dormência profunda, o tratamento com frio provocou pequenas oscilações no conteúdo de proteínas nos ramos. A maior distância destes ramos mais velhos em relação às gemas novas, principais responsáveis por uma boa brotação, sugere o fato de que estas alterações em ramos de dois anos não influenciem diretamente a dormência de gemas mais novas.

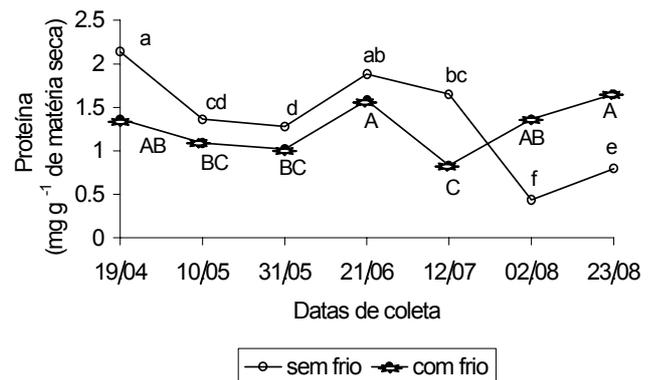


Figura 4 - Conteúdo de proteínas em porções de ramos adjacentes às gemas de dois anos de idade de macieira da cultivar 'Imperial Gala' que receberam ou não 1.440 horas de frio suplementar de 4 a 7° C. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

CONCLUSÕES

O conteúdo de proteínas em gemas de um e dois anos de macieira reduz-se com o desenvolvimento da dormência do mês de abril até agosto e esta redução não é influenciada pelo tratamento com 1.440 horas de frio suplementar.

Na dormência mais intensa ocorre aumento do conteúdo de proteínas nos ramos adjacentes às gemas de um e dois anos.

REFERÊNCIAS

ARORA, R.; WISNIEWSKI, M. Seasonally-regulated proteins in peach (*Prunus persica*): what are they and what do they do? In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT DORMANCY, 2., 1999, Angers, France. **Book of Abstracts**. Angers: Angers University, 1999. p.34.

AUE, H.L.; LECOMTE, I.; PETEL, G. et al. Activity and quantitative analysis of plasmalemma ATPase in buds and bud stands during winter vegetative bud's dormancy in peach-tree. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.465, p.531-537, 1998.

AUE, H.L.; LECOMTE, I.; PETEL, G. Changes in the parameters of the plasmalemma ATPase during peach vegetative bud dormancy. **Biologia Plantarum**, Praga, v.43, n.1, p.25-29, 2000.

BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; GENDRAUD, M. ATP, ADP and NTP contents in vegetative and floral peach buds during winter: are they useful for characterizing the type of dormancy? In: VIÉMONT, J.-D.; CRABBÉ, J. (ed.). **Dormancy in plants: From whole plant behaviour to cellular control**. Cambridge: University Press, 2000. p.245-257.

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

BUBAN, T.; FAUST, M.; POWELL, L.E. et al. New aspects of bud dormancy in apple trees. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.395, p.105-111, 1995.

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**. Curitiba, 2001. 134p. Tese (Doutorado em

Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

CARVALHO, R.I.N.; ZANETTE, F. Dinâmica da dormência de gemas de macieira 'Imperial Gala' durante o outono e inverno em região de baixa ocorrência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.65-68, 2004a.

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, 2004b.

CARVALHO, R.I.N.; ZANETTE, F. Dinâmica da dormência de gemas de dois anos de macieira 'Imperial Gala' em região de baixa ocorrência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.3, p.392-394, 2004c.

CITADIN, I.; RASEIRA, M.C.B.; HERTER, F.G. et al. Estádio da meiose do micrósporo como marcador do final da endodormência em pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.23-28, 2002.

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, USA, 1996. p.83-113.

EREZ, A. Bud dormancy: a suggestion for the control mechanism and its evolution. In: VIÉMONT, J.-D.; CRABBÉ, J. (ed.). **Dormancy in plants: From whole plant behaviour to cellular control**. Cambridge: University Press, 2000. p.23-33.

FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas climáticas do Estado do Paraná**. Londrina: IAPAR, 1984. 45p.

HERTER, F.G.; RAGEAU, R.; BONHOMME, M. et al. Determinação do término da dormência e floração para algumas cultivares de macieira: comparação entre métodos biológico e empírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.14, n.1, p.77-81, 1992.

LANG, G.A.; EARLY, J.D.; MARTIN, G.C. et al. Endo-, para- and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. **Hortscience**, Alexandria, v.22, p.371-178, 1987.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e textos, 2000. 531p.

MARQUAT, C.; VANDAMME, M.; GENDRAUD, M. et al. 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.

McPHERSON, H.G.; SNELGAR, W.P.; MANSON, P.J. et al. Bud respiration and dormancy of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). **Annals of Botany**, London, v.80, n.4, p.411-418, 1997.

PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; SCHUCK, E. et al. **Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado**. Florianópolis: EPAGRI, 1996. 110 p. (Boletim Técnico, 75).

PREISS, J.; SIVAK, M.N. Starch synthesis in sink and sources. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A.A. Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationships. New York: Marcel Dekker, 1996. p.63-96.

PUTTI, G.L.; PETRI, J.L.; MENDEZ, M.E. Efeito da intensidade do frio no tempo e percentagem de gemas brotadas em macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.199-202, 2003a.

PUTTI, G.L.; PETRI, J.L.; MENDEZ, M.E. Temperaturas efetivas para a dormência da macieira (*Malus domestica* Borkh.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.210-212, 2003b.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2001. 906 p.

SALISBURY, F. B.; ROSS C. W. **Plant physiology**. Califórnia:

Wadsworth Publishing Company, 1992. 682p.

SHALTOUT, A.D.; UNRATH, C.R. Effect of some growth regulators and nutritional compounds as substitutes for chilling of Delicious apple leaf and flower buds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.6, p.898-901, 1983.

SIMEPAR. **Instituto Tecnológico SIMEPAR-UFPR**. Estação 25474946 – Lapa. 2000.

STAFSTROM, J.P. Regulation of growth and dormancy in pea axillary buds. In: VIÉMONT, J.-D.; CRABBÉ, J. (ed.). **Dormancy in plants: From whole plant behaviour to cellular control**. Cambridge: University Press, 2000. p.331-346.

TAMURA, F.; TANABE, K.; ITAI, A. et al. Protein changes in the flower buds of japanese pear during breaking of dormancy by chilling or high-temperature treatment. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.123, n.4, p.532-536, 1998.

ZANETTE, F.; CARVALHO, R.I.N.; DRON, C. Effect of low temperature on dormancy intensity in one, two and three year-old-buds of apple tree. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT DORMANCY, 2., 1999, Angers, France. **Short Communications**. Angers: Angers University, 2000. p.13-17.