

## **Alterações morfo-fisiológicas em tecidos de pessegueiro e relação com a morte precoce de plantas**





Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Clima Temperado  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ISSN 1981-5980

Dezembro, 2007

versão  
**ON LINE**

# *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 56*

## Alterações morfo- fisiológicas em tecidos de pessegueiro e relação com a morte precoce de plantas

*Flavio Gilberto Herter  
Anderson Carlos Marafon*

Pelotas, RS  
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado  
Endereço: BR 392, CEP 96001-970 km 78  
Caixa Postal 403 - Pelotas, RS  
Fone: (53) 3275 8199  
Fax: (53) 3275 8219 - 3275 8221  
Home page: [www.cpact.embrapa.br](http://www.cpact.embrapa.br)  
E-mail: [sac@cpact.embrapa.br](mailto:sac@cpact.embrapa.br)

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Walkyria Bueno Scivittaro  
Secretária-Executiva: Joseane M. Lopes Garcia  
Membros: Cláudio Alberto Souza da Silva, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Isabel Helena Verneti Azambuja, Luís Antônio Suita de Castro, Sadi Macedo Sapper, Regina das Graças V. dos Santos  
Suplentes: Daniela Lopes Leite e Luís Eduardo Corrêa Antunes

Revisor de texto: Sadi Macedo Sapper  
Normalização bibliográfica: Regina das Graças Vasconcelos dos Santos  
Editoração eletrônica e capa: Oscar Castro  
Arte de capa: Miguel Ângelo (estagiário)

1ª edição  
1ª impressão 2007: 100 exemplares

Todos os direitos reservados  
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

---

Herter, Flávio Gilberto.

ALTERAÇÕES MORFO-FISIOLÓGICAS EM TECIDOS DE PESSEGUEIRO E  
RELAÇÃO COM A MORTE PRECOCE DE PLANTAS / Flávio Gilberto Herter,  
Anderson Carlos Marafon. Pelotas: Embrapa Clima Temperado: 2007.

46 p. -- (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e  
Desenvolvimento, 56).

ISSN 1678-2518

Pêssego - Carboidrato - Morfologia - Síndrome - Conexão vascular. I.  
Marafon, Anderson Carlos. II.Título. III.Série.

---

CDD 634.25

---

# Sumário

Resumo .....	5
Abstract .....	7
1. Introdução .....	9
2. Material e Métodos .....	11
2.1. Determinação do Amido e dos Açúcares Solúveis ..	17
2.2. Determinação da Atividade da Peroxidase (PO) .....	18
2.3. Avaliação da Conexão Vascular .....	18
2.4. Outras avaliações .....	19
3. Resultados e Discussão .....	19
3.1. Amido .....	19
3.2. Carboidratos Solúveis .....	20
3.3. Atividade da Peroxidase (PO) .....	27
3.4. Conexão Vascular .....	29

3.5. Identificação Isoenzimática dos Porta-enxertos .....	31
3.6. Análise de Nematóides do Solo .....	32
Conclusões .....	34
Considerações Finais .....	34
Referências Bibliográficas .....	35
Apêndices .....	39
Anexos .....	43

# Alterações morfo-fisiológicas em tecidos de pessegueiro e relação com a morte precoce de plantas<sup>1</sup>

---

*Flavio Gilberto Herter  
Anderson Carlos Marafon*

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi quantificar alguns dos principais compostos metabólicos e identificar possíveis distúrbios em nível de conexão vascular durante o repouso das plantas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch.) cv. Jubileu e relacioná-los com a síndrome da morte precoce do pessegueiro. Os tecidos utilizados para as análises foram gemas, base de gemas e ramos, coletados em plantas produtivas de dois pomares situados no município de Pelotas, RS, ambos com três anos de implantação, um deles com e outro sem histórico de morte precoce de plantas, no período de junho a agosto de 2003. As análises consistiram na determinação de carboidratos e da atividade da peroxidase, segundo um

---

<sup>1</sup>Trabalho apresentado pelo aluno Anderson Carlos Marafon para a conclusão da dissertação de mestrado em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Pelotas.

delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 fatores e 3 repetições. Fator (A): Pomar; fator (B): quatro épocas de coleta do material (11/06, 11/07, 29/07, 05/08) Fator (C): tipo de tecido (gema e base da gema). As determinações do amido e da atividade da peroxidase foram realizadas por espectrofotometria, dos açúcares solúveis (sacarose, sorbitol, frutose e glicose) por cromatografia gasosa e a conexão vascular foi avaliada através de cortes longitudinais e de observações em microscópio estereoscópio. Também foram realizadas análises complementares como a identificação dos porta-enxertos e a análise dos nematóides do solo, que revelou índices populacionais mais elevados, principalmente do nematóide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & DeGrisse) no pomar com sintomas de morte precoce. Em relação à conexão vascular, as plantas debilitadas pela síndrome apresentam alterações na intensidade de coloração e um escurecimento do lenho e dos tecidos da gema. Também pôde ser comprovado que a atividade da peroxidase nos ramos e gemas das plantas debilitadas pela síndrome foi superior em relação às plantas sadias durante todo o período de avaliação. As concentrações de amido nos tecidos das plantas debilitadas pela morte precoce foram inferiores aos das plantas sadias durante o período de pré-florescimento, possivelmente devido ao consumo das reservas de carboidratos. Durante a dormência, a base das gemas das plantas afetadas apresentou teores mais elevados de açúcares solúveis totais, entretanto, no período de pré-florescimento, as gemas destas plantas apresentaram teores inferiores devido principalmente à degradação da sacarose e do sorbitol, consumidos para a fornecimento de energia. A base das gemas constitui-se numa importante fonte de reservas de açúcares para a retomada de crescimento das gemas.

Termos para indexação: *Prunus persica*, morte precoce, declínio, carboidratos.

# Morphological and physiological changes in plant tissues in relation with peach tree short life

---

## Abstract

*The objective of this study was to quantify some of the main metabolic compounds and identify possible disturbances at vascular bundle connections during the rest period of peach trees (*Prunus persica* (L.) Batsch.) cv. Jubileu and to study their relationships with the syndrome of the peach tree short life (PTSL). The tissues analyzed were: floral buds, floral bud stands (cushions) and twigs, collected from two bearing peach tree orchards of tree-year-old, one of them with occurrence of PTSL, whereas the other one hasn't had any record of PTSL, both located at the rural area of Pelotas, RS. The analyses performed were determination of carbohydrate levels in floral buds and underlying tissues (bud stands), determination of peroxidase activity in tissues of floral buds and twigs, in samples collected in the following dates: June, 11<sup>th</sup> ; July, 11<sup>th</sup> , July, 29<sup>th</sup>, August, 5<sup>th</sup> in 2003. The samples were collected under a split plot on a completely randomized design having as factor A, orchard, as factor B, the date of sampling and as factor C, the kind of tissue (bud and bud stands or twigs). The determinations of starch and peroxidase activity were performed by spectrophotometry, while soluble sugars (sucrose, sorbitol, fructose and glucose) by GLC and vascular bundle connection by stereoscopic microscope. As complementar data were performed rootstock characterization through iso-enzymes separation*



by electrophoresis, and also was surveyed the nematodes founded in the soil of both orchards. A wide genetic diversity of rootstocks was observed. Regarding to nematode, it was found high population indexes, mainly of the ring-nematode (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & Degrise), in the orchard that has had records of PTSL. The vascular bundle connections had modified color intensity of the coloring agent using. Regarding to peroxidase activity there were higher activity for all the sampling date in both tissues of the trees analyzed in the orchard that had record of occurrence of PTSL. The starch content in the tissues at the later date were lower in the trees of the orchard which PTSL compared to those trees of the healthy orchard. At the initial part of the rest period (June, 11<sup>th</sup>), the total soluble sugars levels were higher in the 'bud cushion' of the trees of the PTSL occurring orchard than those of the orchard without occurrence of PTSL, whereas that total soluble sugar levels were lower in the floral bud tissues at the before blooming period (August, 5<sup>th</sup>), since there were marked reduction in the content of both, sucrose and sorbitol. The 'bud cushion' was an important source of carbohydrate during the rest period.

*Index terms: Prunus persica, peach tree short life, carbohydrates*

## 1. Introdução

A morte precoce do pessegueiro constitui-se em uma das principais causas de perdas de plantas no Rio Grande do Sul e é bastante semelhante ao Peach Tree Short Life – PTSL, observado em quatro estados dos Estados Unidos da América (Geórgia, Alabama, Carolina do Sul e Carolina do Norte).

A exemplo do que ocorre na região produtora do sudeste americano, a morte precoce do pessegueiro é uma síndrome que se caracteriza por um colapso da planta durante a floração, ou no início da brotação, após drástica redução da temperatura. A brotação e a floração das plantas afetadas são anormais, podendo ocorrer brotações tardias na parte interna da copa e nos ramos mais grossos. Plantas que no ciclo anterior não apresentavam nenhum sintoma do distúrbio iniciam o ciclo com desenvolvimento normal e repentinamente, ocorre a morte total ou parcial de alguns ramos da copa, permanecendo vivo o porta-enxerto. Ao final da dormência, a paralisação do crescimento é evidenciada pelos baixos índices de brotação e floração nas plantas com sintomas de morte precoce, quando comparados às plantas saudáveis. Além disso, as plantas afetadas apresentam escurecimento dos tecidos da parte interna do lenho e durante a poda, exalam forte odor alcoólico, característico de fermentação.

A síndrome é conseqüência de uma série de fatores desencadeantes que predispõe ou enfraquecem a planta, associados às oscilações bruscas da temperatura no período de quebra da dormência. Dentre os fatores predisponentes temos: deficiência nutricional ou toxidez em razão do excesso de nutrientes; solos ácidos ( $\text{pH} < 6,0$ ); solos encharcados ou com deficiência hídrica; ferimentos nas raízes decorrentes de práticas

culturais; podas prematuras; uso de porta-enxerto suscetível ao nematóide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & DeGrise). Em estudos realizados na década de 90, na região Sul do Estado do Rio Grande do Sul, foi constatada correlação positiva entre a morte precoce do pessegueiro e populações do nematóide-anelado. Em plantas entre 2 e 13 anos, que apresentam os sintomas que caracterizam a síndrome, a morte atingiu índices de até 60%, inviabilizando a continuidade da exploração econômica (Fortes e Osório, 2003).

A antecipação da quebra da dormência resultante de alteração no balanço de hormônios, com a elevação do nível de ácido indolacético (AIA), predispõe as plantas aos danos causados pelo frio, com possíveis danos ao câmbio vascular (George e Carter, 1976).

Nos Estados Unidos, o nematóide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & DeGrise) foi indicado como o fator primário em casos de Peach Tree Short Life – PTSL (Wehunt et al., 1980). Em decorrência de sua intensa atividade alimentar no outono, este nematóide estimula a atividade do AIA (ácido indolacético) e interfere na dormência, aumentando a suscetibilidade da planta ao frio. Os teores de AIA são inversamente correlacionados à resistência do pessegueiro ao frio (Nyczepir e Lewis, 1980).

Nas plantas lenhosas de clima temperado, os carboidratos totais atingem seus níveis máximos nos ramos durante o outono, no período da queda das folhas, diminuindo durante o período de inverno para a aclimação ao frio e decrescendo de forma acentuada no início da primavera, quando estes carboidratos são consumidos pela respiração e para a constituição de novos tecidos (Kramer e Kozlowsky, 1979).

A dormência e a quebra da dormência do pessegueiro parecem estar relacionadas com a distância entre os tecidos das gemas e os seus tecidos adjacentes, os quais apresentam maior potencial de absorção de nutrientes durante a dormência e

menor durante o período de quebra da dormência, quando o potencial das gemas torna-se maior, possibilitando assim a brotação das mesmas. A atividade da enzima ATPase da membrana plasmática exerce um papel fundamental nesta absorção de nutrientes em ambos os tecidos (Aue et al., 1999).

O objetivo deste trabalho foi quantificar alguns dos principais compostos metabólicos e identificar possíveis distúrbios na conexão vascular em ramos e gemas de pessegueiro cultivar Jubileu, durante o período de repouso vegetativo e avaliar seu envolvimento com a síndrome da morte precoce do pessegueiro (SMPP).

## 2. Materiais e Métodos

A pesquisa foi conduzida em dois pomares de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) cultivar Jubileu, com três anos de idade, em Pelotas, RS. O pomar sem sintomas da síndrome da morte precoce do pessegueiro – SMPP, encontra-se situado nas proximidades da Estação Experimental da Cascata da Embrapa Clima Temperado e o pomar com sintomas da SMPP à cerca de 20 Km do anterior, na Colônia Santa Helena. Segundo a classificação climática de Köppen, Pelotas tem o clima do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical com precipitação uniforme e bem distribuída e temperaturas do mês mais frio entre  $-3$  e  $18$  °C.

Os tecidos vegetais utilizados para as análises consistiram basicamente de gemas, base de gemas e ramos, os quais foram coletados nos dois pomares em quatro datas (11/06, 11/07, 29/07 e 05/08) durante a fase de dormência, no inverno de 2003. O material vegetal foi acondicionado em caixa de isopor com gelo e transportado até o laboratório, onde foi congelado em nitrogênio líquido e armazenado em ultrafreezer ( $-70$ °C) para posterior análise.

As amostras foram liofilizadas e moídas para a determinação do amido e dos açúcares solúveis totais (sacarose, sorbitol,

frutose, glicose) nos tecidos das gemas e da base de gemas. A atividade da peroxidase foi determinada a partir da matéria fresca nas gemas e nos ramos. A avaliação da conexão vascular foi realizada por meio de cortes longitudinais dos ramos e da observação em microscópio estereoscópio.

Para a determinação da atividade da peroxidase, do amido e dos açúcares solúveis, foram conduzidos dois experimentos separadamente, um para cada tipo de tecido, de acordo com delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial AxB, sendo o fator A: pomar (com e sem sintomas da SMPP) e o fator B: datas de coletas (11/06, 11/07, 29/07 e 05/08) com três repetições. As variáveis analisadas foram a atividade da peroxidase e as concentrações de amido, sacarose, sorbitol, glicose, frutose e açúcares solúveis totais. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade, empregando-se o programa estatístico SANEST (Zonta et al., 1991).

## 2.1. Determinação do amido e dos açúcares solúveis

### 2.1.1. *Preparo das amostras*

Do material vegetal seco (liofilizado) e moído, pesou-se 500 mg para cada amostra e incubou-se a 80-85 °C por 5 min, em 5 mL de etanol 80% para extração dos açúcares. Misturou-se o conteúdo nos tubos de ensaio, centrifugou-se por 10 min a 6000 g e guardou-se o sobrenadante. Após, ressuspendeu-se o precipitado em 10 mL de etanol 80% e misturou-se, repetindo-se o processo de centrifugação, juntando-se ao sobrenadante da primeira centrifugação. Esse sobrenadante foi utilizado para a determinação dos açúcares solúveis, sendo o precipitado guardado para análises de amido.

Posteriormente evaporou-se o sobrenadante a 45 °C, em rotavapor R-114, até não existir mais álcool. Após, transferiu-se para o conteúdo para um béquer e completou-se com  $\pm 20$  mL de água deionizada. Filtraram-se as amostras em colunas

contendo resinas: coluna superior: resina IR 120 (catiônica H<sup>+</sup>) para eliminar aminoácidos e coluna inferior: resina IR 400 (aniônica OH<sup>-</sup>) para eliminar os ácidos orgânicos.

Obs.: Utilizaram-se tubos de ensaio furados, para o processo de filtragem nas resinas, sobre os quais se colocou um funil com papel filtro qualitativo. Tamparam-se os furos com fibra de vidro e colocaram-se as resinas, tendo o cuidado de eliminar todas as bolhas de ar com pisseta contendo água deionizada.

No processo de filtragem nas resinas, colheram-se as amostras em balão volumétrico até completar o volume de 50 mL, utilizando-se água deionizada, colocada com uma pisseta no funil sobre o tubo da coluna superior. Nos 50 mL das amostras filtradas, para precipitar as proteínas, colocou-se 5 mL de ZnSO<sub>4</sub> 0,5N (5%) e 5 mL de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,33N (5%). Esperou-se a decantação e, após, filtrou-se o sobrenadante com papel filtro qualitativo. A função do Zn e Ba é a de remover as proteínas das amostras.

Pipetou-se 20 mL do sobrenadante e colocou-se em cadinho de porcelana. Secou-se em chapa quente a 240-270 °C, até que quase todo o sobrenadante tivesse evaporado. Apenas uma pequena quantidade restante no cadinho foi passada para vidros de injeção. Adicionou-se 1 ml de pentaerythritol (1 mg mL<sup>-1</sup>, açúcar padrão interno do cromatógrafo), retornando para a chapa quente (200 °C), até a completa secagem, tendo cuidado para não queimar os açúcares. Após, conservou-se em local seco (dessecador com sílica gel).

Após a secagem, na preparação das amostras para a injeção, colocaram-se os vidros de injeção sobre a chapa quente (200°C) dentro de uma capela (câmara de exaustão), acrescentando-se 1 mL de pyridine, para solubilização da amostra, 200 µL de hexamethyldisilazane (HMDS) e 100 µL de trimethylchlorosilane (TMCS), para a metilação. Após começar a borbulhar, deixou-se ± 1 min, até formar um precipitado branco, e então, aguardou-se cerca de 30 min até esfriar e decantar, estando pronta desta

forma a amostra a para injeção no gás-cromatógrafo (GC).

### *2.1.2- Determinação do amido*

A quantidade de amido nas gemas e base das gemas foi determinada no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Instituto de Botânica da Universidade Federal de Pelotas a partir da metodologia desenvolvida por McCready et al. (1950).

As amostras com aproximadamente 500 mg de matéria seca liofilizada foram incubadas por 5 min a 80-85 °C em 5 mL de etanol 80 % e centrifugada por 10 min a 6000 g, reservando-se o sobrenadante. Após, ressuspendeu-se o precipitado em 10 mL de etanol 80 %, incubando-se e voltando a repetir-se o processo de centrifugação.

O precipitado obtido da centrifugação de cada amostra do material vegetal liofilizado foi usado na determinação do amido. O sobrenadante desta centrifugação foi usado na determinação dos açúcares solúveis.

Após extraídos os carboidratos solúveis, adicionou-se ao resíduo 5 mL de ácido perclórico 30% ( $\text{HClO}_4$  30%) nos resíduos com aproximadamente 500 mg de matéria seca liofilizada e esperou-se 30 min agitando em vórtex. Em seguida, adicionou-se 10 mL de água destilada.

Procedeu-se a primeira centrifugação a 3000 g por 10 min e coletou-se o sobrenadante em balão volumétrico de 50 mL. Novamente, adicionaram-se outros 5 mL de ácido perclórico 30% ( $\text{HClO}_4$  30%), aguardou-se 30 min agitando em vórtex e colocou-se 10 mL de água destilada. Também se procedeu a centrifugação a 3000 g por 10 min e coletou-se este sobrenadante, o qual foi adicionado ao anterior. Completou-se o volume do balão para 50 ml e congelou-se o extrato obtido em freezer.

Para as análises, foram pipetados 100  $\mu\text{L}$  de extrato e 900  $\mu\text{L}$  de água destilada para cada amostra em tubos de ensaio com

tampa rosqueável. Os tubos receberam um banho de gelo por 5 min e em seguida adicionou-se 5 mL do reativo de antrona 0,1 % em cada tubo, agitou-se em vórtex, tamparam-se os tubos e levaram-se os mesmos para um banho maria (fervente) durante 10 min. Após o banho maria retornou-se com os tubos para o gelo e aguardou-se até os mesmos atingirem a temperatura ambiente. Finalmente, efetuaram-se as leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 620 nm.

Para a obtenção da curva padrão, foram pipetados 0, 25, 50, 75, 100 e 150  $\mu\text{L}$  de solução de glicose 0,1 % em tubos de ensaio com tampa rosqueável. Completaram-se os volumes dos tubos para 1 mL, levando-os para o banho de gelo por 5 min. Adicionou-se 5 mL do reativo de antrona em cada tubo de ensaio, agitou-se em vórtex, tampou-se os tubos e deixou-se os mesmos por 10 min em banho Maria (fervente). Do mesmo modo que as amostras, após o banho maria retornou-se com os tubos para o gelo e aguardou-se até os mesmos atingirem a temperatura ambiente. Efetuaram-se as leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 620 nm e anotaram-se os valores de absorbância (A) correspondentes a cada tubo de ensaio para a obtenção da equação correspondente a curva padrão de glicose 0,1%. Os valores foram obtidos e expressos em %.

### *2.1.3 - Determinação dos açúcares solúveis*

A metodologia para análises expressas das concentrações dos açúcares solúveis (frutose, a-glicose, b-glicose, sorbitol, sacarose), em  $\text{mg g}^{-1}$  MS liofilizada, em tecidos vegetais de frutíferas, foi padronizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima Temperado, a partir da adaptação da metodologia adotada por Rakngan (1995).

O cromatográfico a gás utilizado para as análises dos açúcares, modelo Shimadzu GC-14B, Series GAS CHROMATOGRAPH e a coluna do tipo Packed Column J. K. de 3,2 mm de diâmetro por 2 m de comprimento, empacotado com Silicone SE-52 Uniport



HP 80/100 mesh. A temperatura de trabalho da coluna foi de 160 °C; de 200°C para o detector (tipo de detector FID: Detector de Ionização de Chama, ideal para análise de carboidratos); e de 200°C para o injetor. Utilizou-se a velocidade do gás de arraste (nitrogênio) de 5 m min<sup>-1</sup>. O programa inicial de temperatura do forno foi de 160 °C, subindo a 250 °C nos primeiros 18 min de análise, finalizando em 32 min a leitura.

Após a injeção da amostra, registrou-se o tempo de retenção de cada açúcar, sendo padrão interno pentaerythritol 5'55", frutose 11'29", a-glicose 12'6", sorbitol 13'61", b-glicose 14'19" e sacarose 30'27".

### Injeção no cromatógrafo e Leitura

Após proceder às etapas para ligar o cromatógrafo a gás, injetou-se 2 µL do amostra de uma só vez no aparelho e procedeu-se a leitura. Após cada amostra injetada, lavou-se a microsseringa com acetona por cinco vezes. Os resultados das análises foram impressos através de impressora conectada ao cromatógrafo.

### Obtenção dos resultados

A concentração de cada açúcar, com base na área correspondente ao açúcar padrão interno (pentaerythritol), foi registrada pelo integrador. As concentrações foram ajustadas ao peso e ao volume de diluição de cada amostra, de acordo com a seguinte fórmula:  $[Ca] = (2,5[Cc]/M) 1000$ , sendo [Ca] a concentração do açúcar expresso em mg g<sup>-1</sup> MS, 2,5 o fator de diluição usado no preparo da amostra, [Cc] a concentração do açúcar calculada pelo cromatógrafo em mg e M a massa da mostra em mg e 1000 o fator de correção.

## 2.2 - Determinação da Atividade da Peroxidase (PO)

A determinação da atividade da peroxidase foi realizada no

Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima Temperado, de acordo com a metodologia descrita por Campos e Silveira (2003).

No preparo de cada amostra, utilizou-se 0,6 g de tecido fresco congelado, os quais foram macerados em gral e homogeneizados com 20 mL de tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0) contendo 1 mg de Polivinilpirrolidona-10 (PVP 10). Em seguida, as amostras foram filtradas a vácuo com algodão e centrifugadas durante 20 min à 4000 g com refrigeração (4° C).

O extrato enzimático bruto foi acondicionado em gelo e, posteriormente, usado como fonte enzimática para peroxidase. Toda vidraria utilizada na manipulação do extrato foi previamente colocada em freezer a - 18 °C, por pelo menos 4 horas.

Para a análise da peroxidase propriamente dita, adicionou-se 2,5 mL de tampão citrato (pH 5,0) contendo fosfato de sódio dibásico 0,2 M e ácido cítrico 0,1 M; 1,5 mL de extrato enzimático acondicionado em gelo; e 0,25 mL de guaiacol a 0,5%, sendo misturados em vórtex. Em seguida, adicionou-se 0,25 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3 % e, novamente, misturou-se em vórtex. Esta mistura foi incubada a 30 °C por 15 min. Após a incubação, os tubos foram colocados em banho de gelo e adicionados 0,25 mL de metabissulfato de sódio a 2% para paralisar a reação. Após agitação, os tubos foram deixados em repouso por 10 min e então se realizou a leitura de absorvância em 450 nm, em espectrofômetro. Como controle para a reação enzimática utilizou-se água destilada.

A atividade da enzima foi expressa em unidade enzimática por minuto por grama de matéria fresca (UE min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> MF). Uma unidade da enzima é definida como a quantidade de extrato enzimático que acusou um aumento na absorvância de 0,001 unidade por minuto.

### 2.3. Avaliação da conexão vascular

A continuidade dos feixes vasculares entre os ramos e as gemas foi observada em microscópio estereoscópio no Laboratório de Imunologia e Microscopia Eletrônica da Embrapa Clima Temperado, com o objetivo de se verificar o processo de vascularização e a existência de alguma obstrução ou anomalia na conexão entre os feixes vasculares.

Para o acompanhamento da conexão vascular, foram utilizados 10 ramos médios de aproximadamente 20 cm, coletados nos dois pomares em duas datas (11/07 e 21/07/2003).

Os ramos foram trazidos ao laboratório em caixa de isopor com gelo e colocados em béquer de 2 litros com 300 mL de solução corante de azosulfamida 0,1 %. Dentro do béquer, as bases dos ramos foram cortadas de modo que permanecessem imersas no corante, evitando o processo de cavitação, caracterizado pela entrada de ar e formação de bolhas nos feixes vasculares provocando embolia e interrompendo o fluxo de água nos vasos. Estes ramos foram mantidos no béquer e levados para a câmara fitotron durante 7 dias, à temperatura de  $23 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (adaptado de Bartolini e Giorgelli, 1994).

Para verificar a penetração do corante nos feixes vasculares dos ramos, os mesmos foram seccionados longitudinalmente e fotografados em microscópio estereoscópio.

## 2.4. Outras avaliações

### *2.4.1. Identificação Isoenzimática dos porta-enxertos*

As amostras para a identificação isoenzimática dos porta-enxertos foram obtidas a partir de coleta de brotações novas nos porta-enxertos dos dois pomares no início do experimento, as quais foram avaliadas através de eletroforese no Laboratório de Eletroforese da Embrapa Clima Temperado.

### *2.4.2. Análise dos nematóides do solo*

As amostras de solo foram coletadas nos dois pomares no início do experimento e analisadas no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Amido

Houve diferenças significativas ( $P < 0.05$ ) nos teores de amido (%) entre os pomares para os tecidos das gemas em pelo menos uma data de coleta. Para os tecidos da base das gemas não ocorreu interação significativa entre os fatores.

Em 29/07/2003, as gemas das plantas do pomar com sintomas da SMPP atingiram teores máximos de amido (%), os quais foram significativamente superiores aos do pomar sem sintomas da SMPP. Porém, em 05/08/2003, os tecidos das gemas acusaram teores de amido (%) significativamente superiores nas plantas do pomar sem sintomas da SMPP, devido a redução dos teores de amido nas plantas do pomar com sintomas da SMPP e ao concomitante aumento destes teores nas plantas sem sintomas da SMPP (Figura 1).

Possivelmente tenha ocorrido um elevado consumo de açúcares solúveis para o fornecimento de energia durante o inverno, que teria conduzido ao exaurimento das reservas de amido nos tecidos das plantas com sintomas da SMPP. Este esgotamento de reservas no final do período de dormência pode ter sido ocasionado por uma antecipação na retomada de crescimento das gemas em função do desencadeamento da SMPP, vindo a resultar em baixos potenciais de brotação e floração das plantas afetadas, conforme fotografias dos pomares em plena floração, registradas em 15/08/2003 (Apêndices 1 e 2).

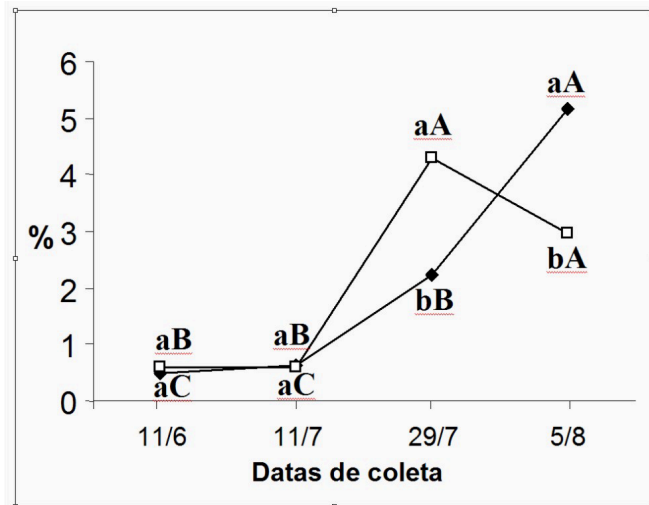


Figura 1. Teor de amido (%) em gemas de pessegueiro cv. Jubileu, em dois pomares, com (—□—) e sem (—◆—) sintomas da SMPP, durante o período de dormência em 2003. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, no sentido vertical, ou maiúsculas, no sentido horizontal, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

O amido é degradado pela ação de fosforilases e amilases. Quando são necessárias grandes quantidades de glicose, esta degradação ocorre essencialmente por intermédio das amilases. Tal degradação tem importância na resistência ao frio, sendo que esse processo de transformação é fortemente controlado pelas temperaturas (Sauter & Kloth, 1987).

## 3.2. Carboidratos solúveis

### 3.2.1. Açúcares solúveis totais

Houve diferenças significativas ( $P<0,05$ ) nas concentrações de açúcares solúveis totais entre pomares para os tecidos das

gemas em pelo menos uma data de coleta Para o tecido da base das gemas não ocorreu interação significativa entre fatores, sendo que a média entre locais foi significativamente superior no pomar sem sintomas da SMPP.

A concentração de açúcares solúveis totais ( $\text{mg g}^{-1}$  MS liofilizada) nas gemas das plantas do pomar com sintomas da SMPP sofreu um incremento a partir da primeira data de coleta (11/06/2003) e atingiu valores máximos em 11/07/2003. Já no pomar sem sintomas da SMPP, o incremento ocorre mais tardiamente, na data de coleta de 29/07/2003 (Figura 2).

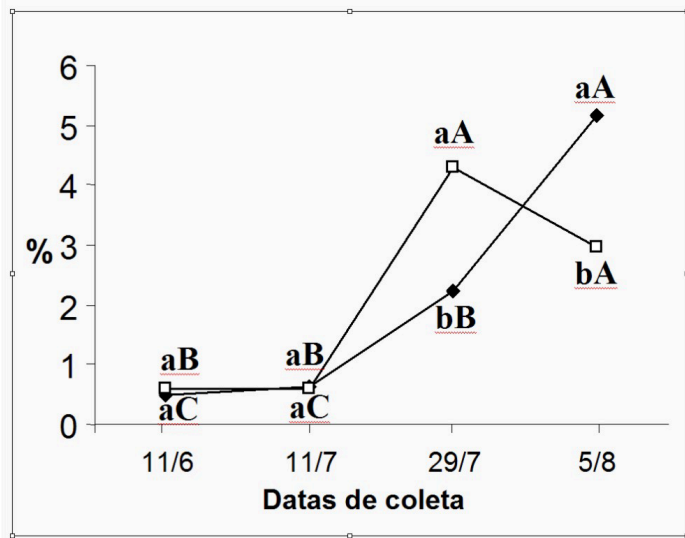


Figura 2. Concentração de açúcares solúveis totais ( $\text{mg.g}^{-1}$  MS liofilizada) em gemas de pessegueiro cv. Jubileu, em dois pomares, com (—□—) e sem (—◆—) sintomas da SMPP, durante o período de dormência em 2003. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, no sentido vertical, ou das mesmas letras maiúsculas, no sentido horizontal, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

Os tecidos das gemas das plantas debilitadas pela morte precoce apresentaram teores significativamente inferiores de açúcares solúveis totais no período de pré-florescimento (29/07/2003), devido principalmente à degradação da sacarose e do sorbitol, para a retomada do crescimento das gemas e/ou a reconstituição dos tecidos injuriados pelo frio.

O aumento da demanda energética das gemas pelos açúcares solúveis para a retomada de crescimento ocorreu primeiramente nas plantas debilitadas pela síndrome. De tal modo que as gemas das plantas com sintomas da SMPP consumiram suas reservas de açúcares solúveis antecipadamente em relação às plantas sadias e acabaram por esgotá-las no período de pré-florescimento, não ocorrendo acumulação de amido suficiente para propiciar uma brotação regular e uniforme destas plantas.

A orientação do fluxo e o uso dos carboidratos pelas gemas variam conforme a fase ou estágio de desenvolvimento do pessegueiro. Durante a fase de dormência, a gema tem baixa capacidade mobilizadora para assimilados e nutrientes minerais, aumentando a hidrólise do amido e a síntese de sacarose como forma de proteção contra o frio. Entretanto, no período de quebra da dormência, a gema torna-se um dreno metabólico preferencial, acumulando reservas (sorbitol e amido), por meio de transporte ativo, as quais são metabolizadas, induzindo o rompimento da gema ( Marquat et al. ,1999).

### *3.2.2 - Sacarose*

Houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de sacarose entre os pomares para os tecidos das gemas em pelo menos uma data de coleta. Para o tecido da base das gemas não ocorreu interação significativa entre fatores, sendo que a média entre locais foi significativamente superior no pomar sem sintomas da SMPP.

As gemas das plantas com sintomas da SMPP obtiveram concentrações de sacarose ( $\text{mg g}^{-1}$  MS liofilizada) significativamente superiores em 11/07/2003, enquanto as gemas das plantas sem sintomas apresentaram concentrações significativamente superiores em 29/07/2003, no período de pré-florescimento, que antecede a saída da dormência (Figura 3).

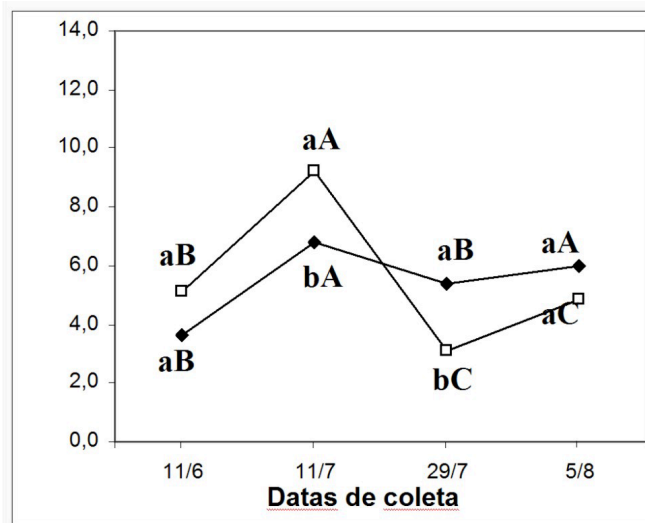


Figura 3. Concentração de sacarose ( $\text{mg.g}^{-1}$  MS liofilizada) em gemas de pessegueiro cv. Jubileu, de dois pomares, com (□) e sem (◆) sintomas da SMPP, durante o período de dormência em 2003. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, no sentido vertical, ou das mesmas letras maiúsculas, no sentido horizontal, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).



Em pessegueiro, a sacarose e o sorbitol como açúcar dominante se alternam ao longo do período de repouso, porém na endodormência a sacarose tem maior concentração e o ramo adjacente à gema constitui uma zona de reserva importante (Bonhomme, 1998).

Em plantas da família *Rosaceae*, a sacarose é encontrada na seiva do floema, porém o sorbitol aparece em maior quantidade. Apenas traços de outros carboidratos são encontrados no fluido floemático, entre eles, rafinose, estaquiase e mio-inositol (Salisbury e Ross, 1991).

### 3.2.3 - Sorbitol

Houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de sorbitol entre os pomares para os tecidos das gemas em pelo menos uma data de coleta. Para o tecido da base das gemas não ocorreu interação significativa entre fatores, sendo que a comparação das médias entre locais não foi significativa.

A concentração de sorbitol ( $\text{mg g}^{-1}$  MS liofilizada) foi significativamente superior nas gemas das plantas sem sintomas em 11/06, 29/07 e 05/08/2003, demonstrando que houve maior acúmulo de sorbitol nos tecidos destas plantas, principalmente na saída da dormência (Figura 4).

As plantas com sintomas da SMPP apresentaram menor acúmulo de sorbitol a partir de 11/07/2003 em relação aquelas sem sintomas, demonstrando uma maior demanda dos tecidos para o fornecimento de energia e o ajustamento osmótico das células em função do frio.

Em resposta ao estresse por baixas temperaturas, o sorbitol pode ser acumulado, desempenhando a função de regulador osmótico e de protetor de enzimas contra a desnaturação. A função de proteção da célula pode ocorrer sem haver o acúmulo do sorbitol, ocorrendo apenas a passagem deste açúcar, do vacúolo, principal local de acúmulo, para o citoplasma da célula (Loescher e Everard, 1996).

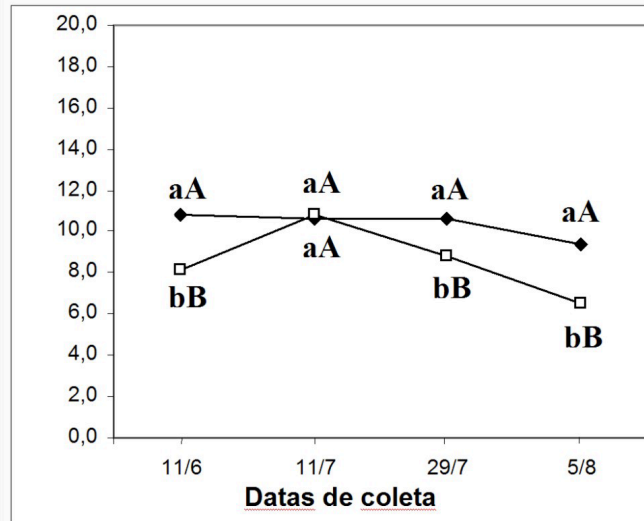


Figura 4. Concentração de sorbitol ( $\text{mg.g}^{-1}$  MS liofilizada) em gemas de pessegueiro cv. Jubileu, em dois pomares, com (—□—) e sem (—◆—) sintomas da SMPP, durante o período de dormência em 2003. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, no sentido vertical, ou das mesmas letras maiúsculas, no sentido horizontal, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

O sorbitol é um carboidrato de transporte importante, sendo sua principal função proteger os tecidos contra a desidratação, a salinidade e frio caracterizando-se também como um carboidrato de reserva. O ajustamento osmótico seria uma consequência do reduzido crescimento dos tecidos durante uma condição de estresse. Como as gemas constituem-se em tecidos drenos de fotoassimilados, a sua capacidade de sintetizar sorbitol é pequena ou nula, como acontece com as raízes ou o lenho da planta (Grant e Rees, 1981).

### 3.2.4 - Frutose

Houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as concentrações de frutose dos dois pomares para a base das gemas em pelo menos uma data de coleta. Para as gemas não ocorreu interação significativa entre fatores, sendo que a comparação das médias entre locais não foi significativa.

Em relação à concentração de frutose ( $\text{mg g}^{-1}$  MS liofilizada), verificou-se que, na data de coleta de 11/06, o tecido da base das gemas das plantas com sintomas da SMPP apresentou valores significativamente superiores aos do pomar sadio (Figura 5).

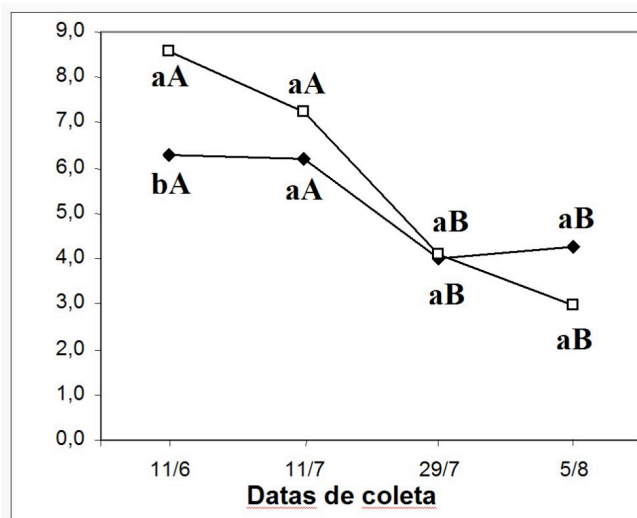


Figura 5. Concentração de frutose ( $\text{mg.g}^{-1}$  MS liofilizada) em tecidos da base das gemas de pessegueiro cv. Jubileu em quatro datas durante o período de repouso no inverno 2003, em dois pomares, com (—□—) e sem (—◆—) sintomas da SMPP. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, no sentido vertical, ou das mesmas letras maiúsculas, no sentido horizontal, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3.2.5 - Glicose

Houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de glicose entre os pomares para a base das gemas em pelo menos uma data de coleta. Para as gemas não ocorreu interação significativa entre fatores, sendo que a média entre locais foi significativamente superior no pomar sem sintomas da SMPP.

A concentração de glicose ( $\text{mg g}^{-1}$  MS liofilizada) foi significativamente superior no pomar sem sintomas em 11/06 e 29/07/2003 para as gemas e em 11/06 e 11/07 para a base das gemas (Figura 6).

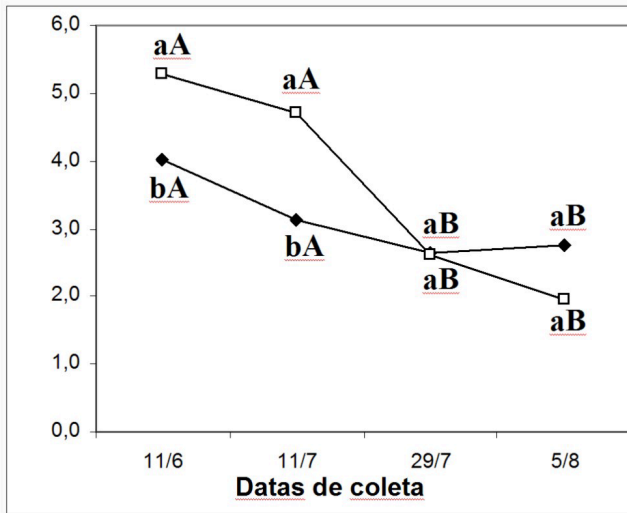


Figura 6. Concentração de glicose ( $\text{mg.g}^{-1}$  MS liofilizada) na base das gemas de pessegueiro cv. Jubileu, em dois pomares, com (—□—) e sem (—◆—) sintomas da SMPP durante o período de dormência em 2003. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, no sentido vertical, ou das mesmas letras maiúsculas, no sentido horizontal, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

### 3.3. Atividade da peroxidase (PO)

Houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre pomares para a atividade da peroxidase nos tecidos dos ramos em pelo menos uma data de coleta em 2003. Para os tecidos das gemas não ocorreu interação significativa entre fatores, sendo que a média entre locais foi significativamente superior no pomar com sintomas da SMPP.

Os ramos das plantas do pomar com sintomas da SMPP, apresentaram atividade da peroxidase ( $\text{UE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MF}$ ) significativamente superior em todas as datas de coleta em relação às plantas sem sintomas da SMPP (Figura 7).

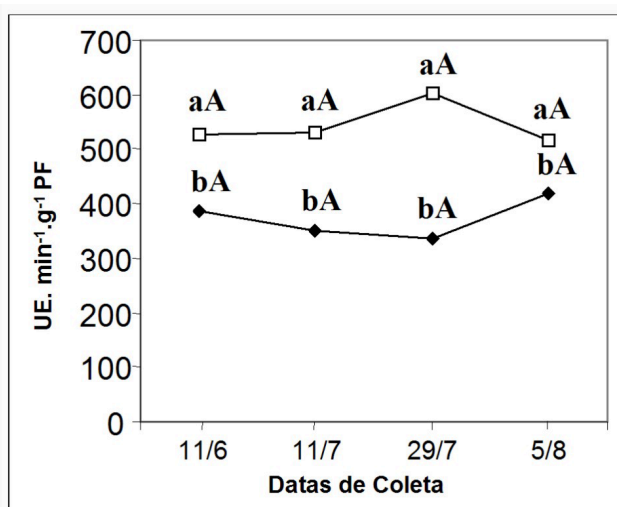


Figura 7. Atividade da peroxidase ( $\text{UE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{PF}$ ) em ramos de pessegueiro cv. Jubileu, em dois pomares, com ( $\square$ ) e sem ( $\blacklozenge$ ) sintomas da SMPP, durante o período de dormência em 2003. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, no sentido vertical, ou das mesmas letras maiúsculas, no sentido horizontal, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

Possivelmente, a elevada atividade da peroxidase nos tecidos das plantas afetadas pela SMPP estaria ocorrendo devido ao estado de estresse fisiológico ocasionado pelo desencadeamento da síndrome. A atividade da peroxidase é freqüentemente aumentada em resposta a estresses, sendo uma das principais funções da enzima a proteção celular contra reações oxidativas observadas em diversos tecidos das plantas (Siegel, 1993).

As catalases e as peroxidases aumentam abruptamente durante os primeiros estágios de aclimação ao frio, sugerindo que a catalase está envolvida na remoção de  $H_2O_2$ , sendo produzida durante as reações de síntese de proteínas, organelas e ATP, enquanto as peroxidases contribuem para a formação de  $H_2O_2$  requerida para a lignificação da parede celular. A peroxidase também está envolvida com a destruição da auxina natural, condição essencial para reduzir a atividade celular e de crescimento da planta (Citadin, 2001).

O aumento na atividade enzimática da peroxidase e dos níveis de  $H_2O_2$  observados por Citadin (2001) sugere uma resposta adaptativa das células ao frio ou às condições adversas de inverno. Assim, a peroxidase pode estar relacionada com a tolerância ao frio, através da redução do estresse oxidativo causado pelas baixas temperaturas durante o período de repouso, devido a problemas com oxidação.

As peroxidases atuam na degradação das auxinas, devido ao fato de estas se apresentarem sob muitas formas moleculares, participando de diferentes reações bioquímicas dentro da planta (Dencheva e Klisurka, 1982).

### 3.4. Conexão vascular

A observação das gemas e dos seus tecidos adjacentes em microscópio estereoscópio, por meio de cortes longitudinais dos ramos no período de pré-florescimento revelou uma conexão vascular bem definida entre o ramo e a gema nas plantas sem sintomas da SMPP. Isto permitiu que estes tecidos se organizassem adequadamente, de forma a direcionar a condução de água, nutrientes e reservas para suprir o crescimento e o desenvolvimento normal da gema na fase final do desenvolvimento floral.

As fotografias dos ramos seccionados, obtidas através do microscópio estereoscópio, indicaram uma maior intensidade de coloração e um escurecimento do lenho nos tecidos do ramo e das gemas das plantas com sintomas da SMPP (Figuras 8b e 8d) quando comparadas com aquelas sem sintomas da síndrome (Figuras 8a e 8c). Plantas em senescência, afetadas pela morte precoce, apresentam o tecido escurecido abaixo da casca, escurecimento que atinge a região interna do lenho (Campos et al., 1998).

A observação dos cortes longitudinais dos ramos mostrou que o corante azosulfamida é transportado para o interior do primórdio floral no período final da dormência, período este, correspondente ao aumento no aporte nutricional da gema para a sua brotação. Estudos conduzidos por Bartolini e Giorganelli (1994) demonstraram que os elementos de vaso do xilema nos ramos de pessegueiro (*Prunus* sp.) não formam um conduto contínuo com o primórdio da gema até o estágio de pré-florescimento.

A observação da conexão vascular entre os ramos e as gemas durante a dormência através do microscópio estereoscópio, demonstrou que o processo de vascularização é essencial para garantir a retomada de crescimento das gemas. A estruturação e, conseqüentemente, o desenvolvimento dos tecidos das gemas só ocorre se as condições intrínsecas e extrínsecas da planta forem apropriadas. Na ausência destas condições favoráveis à brotação, esta pré-estruturação dos tecidos

permanece inalterada, induzindo irregularidades nas brotações.

Fotos: Anderson Carlos Marafon

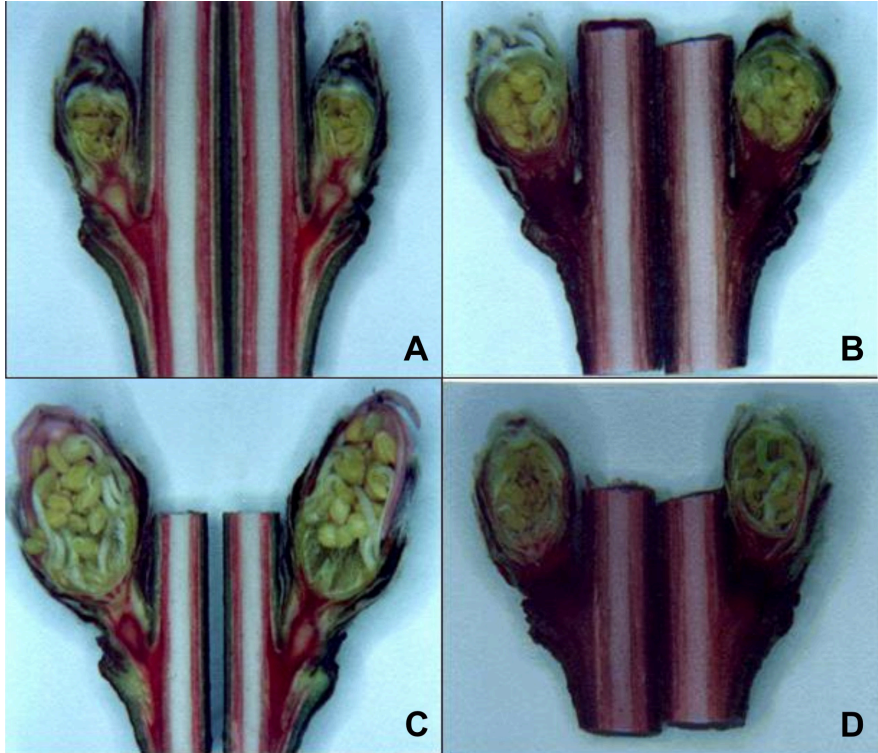


Figura 8. Cortes longitudinais dos ramos com azosulfamide 0,1%: (a) Pomar sem sintomas da SMPP em 11/07; (b) Pomar com sintomas da SMPP em 11/07; (c) Pomar sem sintomas da SMPP em 21/07, e (d) Pomar com sintomas da SMPP em 21/07. Embrapa Clima Temperado, 2003.



### 3.5. Identificação isoenzimática dos porta-enxertos

A identificação isoenzimática dos porta-enxertos revelou grande heterogeneidade de porta-enxertos tanto para o pomar com sintomas como para o pomar sem sintomas da SMPP (Figura 9).

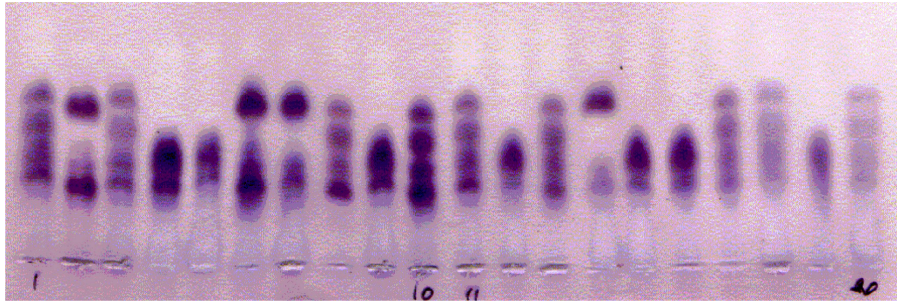


Figura 9. Padrões eletroforéticos da malato desidrogenase (MDH) em folhas de porta-enxertos de pessegueiro (*Prunus* sp.) cv. Jubileu com sintomas da SMPP (padrões 1-10) e sem sintomas da SMPP (padrões 11-20). Laboratório de Eletroforese - Embrapa Clima Temperado, 2003.

Nos dois pomares, observou-se a existência de variação genética entre os porta-enxertos, possivelmente por serem oriundos de caroços da indústria de conserva, o que tornou difícil atribuir a presença da SMPP à maior ou menor tolerância destes porta-enxertos ao nematóide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & DeGrise).

### 3.6 - Análise de nematóides do solo

A análise de nematóides do solo revelou maiores populações do nematóide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & DeGrise) no pomar com sintomas da SMPP, contribuindo com algumas hipóteses que apontam este nematóide como fator desencadeante da síndrome da morte precoce do pessegueiro.

O *M. xenoplax* alimenta-se das raízes da planta como um

ectoparasita, em todas as fases da sua vida, induzindo alterações celulares nos locais de alimentação. Este nematóide também pode permanecer no mesmo local parasitando por até oito dias. O ciclo de vida varia de quatro a oito semanas, dependendo da temperatura, umidade, pH, tipo de solo e planta hospedeira. A principal medida de controle para o nematóide-anelado está na produção ou aquisição de mudas livres de nematóides parasitas e no plantio em áreas isentas destes patógenos (Fortes e Osório, 2003).

A análise nematológica do solo registrou as seguintes médias populacionais para o nematóide-anelado: 48 nematóides/100cm<sup>-3</sup> de solo no pomar sem sintomas da SMPP (Anexo 1) e 156,6 nematóides/100cm<sup>-3</sup> de solo no pomar com sintomas da SMPP (Anexo 2).

Em trabalhos realizados nos Estados Unidos, o limiar de dano econômico para a cultura do pessegueiro é de 50 *Mesocriconema xenoplax* por 100 cm<sup>-3</sup> de solo. Mantidas as populações abaixo desse nível, o prolongamento da vida dos pessegueiros e a manutenção da produtividade ficam assegurados. As estratégias de controle são, principalmente, a rotação de culturas e o plantio de pessegueiro sobre porta-enxertos tolerantes como o 'Lovel' e o 'Flordaguard', visto que atualmente não existem cultivares resistentes à este nematóide.

A alta atividade metabólica no sistema radicular de cultivares suscetíveis, devido a distúrbios fisiológicos provocados pela infestação do *M. xenoplax*, implica na translocação das reservas de carboidratos dos ramos para as raízes, o que é observado em cultivares suscetíveis ao *Peach Tree Short Life – PTSL*, como a 'Nemaguard' e não é observado em cultivares tolerantes como a 'Guardian' (Olien et al., 1995).

Nyczepyr e Lewis (1980) constataram uma redução na concentração de AIA (ácido indolacético) em raízes de porta-enxertos de *Prunus* cv. Nemaguard, considerada suscetível ao *M. xenoplax*, além de grandes flutuações nos níveis desse

regulador de crescimento nos ramos, o que possivelmente interferiria na dormência e aumentaria a suscetibilidade ao frio.

## 4. Conclusões

Os teores de amido nas gemas das plantas com sintomas da SMPP são reduzidos abruptamente no período de pré-florescimento, indicando a antecipação na mobilização destas reservas deste carboidrato para o fornecimento de energia e a saída da dormência.

Ocorre redução na concentração de açúcares solúveis totais nos tecidos das gemas das plantas com sintomas da SMPP no período de pré-florescimento, devido, principalmente, à degradação da sacarose e do sorbitol para a retomada do crescimento das gemas.

A atividade da peroxidase nos ramos das plantas afetadas pela SMPP ao longo do período de repouso indicaria uma condição de estresse fisiológico que estaria repercutindo no baixo potencial de brotação e floração das gemas.

Nas plantas com sintomas da SMPP foram verificadas alterações na conexão vascular, como a falta de continuidade dos feixes vasculares, a maior intensidade de coloração e o escurecimento acentuado do lenho.

## 5. Considerações Finais

Esta pesquisa buscou elucidar alguns dos principais aspectos fisiológicos envolvidos com a síndrome da morte precoce de plantas de pessegueiro. Para tanto, efetuaram-se observações da conexão vascular, a determinação da atividade da peroxidase e das concentrações de amido e açúcares solúveis dos tecidos, a análise nematológica do solo e a identificação isoenzimática dos porta-enxertos.

Ficou evidenciada pela análise nematológica do solo, a influência do nematóide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & DeGrise) no desencadeamento da síndrome da morte precoce. Além disso, a identificação dos porta-enxertos apresentou uma grande variabilidade genética em ambos os pomares, o que dificultou a identificação de cultivares mais tolerantes aos fitonematóides, principalmente ao nematóide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & DeGrise).

O estado de estresse fisiológico das plantas com sintomas da SMPP foi confirmado pela maior atividade da peroxidase nos ramos e nas gemas, pelo esgotamento de reservas de amido e açúcares solúveis totais nas gemas e base das gemas e pelas alterações na conexão vascular entre ramos e gemas durante o período de pré-florescimento.

## 6. Referências

AUE, H.; LECONTE, I.; GENDRAUD, M; PÉTEL, G. Change in plasma membrane ATPase activity during dormancy release of vegetative peach-tree buds *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 106, n. 1, p. 41–46, 1999.

BARTOLINI, S.; GIORGINELLI, F. Observations on development of vascular connections in two apricot cultivars. *Horticultural Science*, Alexandria, v. 8, p. 97-100, 1994.

BONHOMME, M. *Physiologie des bourgeons végétatifs et floraux de Pêcher dans deux situations thermiques contrastées pendant la dormance: capacité de croissance, force de puits et repartition des glucides.* 1998. 547 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand, 1998.

CAMPOS, A.D.; CARNEIRO, R.M.D.G.; FINARDI, N.L.; FORTES, J.F. Morte precoce de plantas In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M.C. (Eds.) *A Cultura do pessegueiro*. Pelotas: Embrapa CPECT; Brasília, DF: Embrapa – SPI, 1998, cap. 11, p. 280 - 296.

CAMPOS, A.D.; SILVEIRA, E.M.L. Metodologia para a determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas (Embrapa Clima Temperado: Comunicado Técnico 87) Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003, 3 p.

CITADIN, I. Necessidade de frio, herdabilidade da necessidade de calor e marcadores bioquímicos relacionados com o final da endodormência em pessegueiro. 2001. 76 p Tese (Doutorado em Fruticultura de Clima Temperado) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2001.

DENCHEVA, A.; KLISURKA, D. Interaction between peroxidases and IAA-oxidase in the course of growth and differentiation of the plant cells. *Physiologie Végétale*, Paris, v. 20, n. 3, p. 385-387, 1982.

FLORE, J.A.; LAYNE, D.R. Prunus. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A.A. Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationships. New York, Marcel Dekker, Inc, p. 825-849, 1996.

FORTES, J.F.; OSÓRIO, V.A. Pêssego: Fitossanidade (Pelotas: Embrapa Clima Temperado); Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 53 p. (Frutas do Brasil, 50)

GEORGE, L.J.; CARTER, J.R. Effect of soil fumigation and pruning date on the indolacetic acid content of peach trees in a short life site. *Hortscience*, Alexandria, v. 11, n. 6, p. 594-596, 1976.

GRANT, C.R.; REES, T. Sorbitol metabolism by apple seedlings *Phytochemistry*, Elmsford, v. 20, p. 1505-1511, 1981.

KRAMER, P.J.; KOZLOWSKY, T.T. *Physiology of wood plants* London: Academic Press, p. 258-274, 1979.

LOESCHER, W.H.; EVERARD, J.D. Sugar alcohol metabolism in sinks and sources. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink

relationships. New York: Marcel Dekker, Inc, 1996. p. 185-207.

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.

McCREADY, R.M.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V. OWENS, H.H. Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 22, p.1156-58, 1950.

NYCZEPIR, A.P.; LEWIS, S. A. The influence of *Macrosposytania xenoplax* rastri on indol-3-acetic acid (IAA) and abscisic acid (ABA) in peach. *Journal of Nematology*, St. Paul, v. 12, n. 4, p. 234, 1980.

OLIEN, W.C.; GRAHAM, C.J.; HARDIN, M.E.; BRIDGES Jr., W.C. Peach rootstock differences in ring nematode tolerance related to effects on tree dry weight, carbohydrate and prunasin contents. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 94, p. 117-123, 1995.

RAKNGAN, J. Carbohydrate analysis of Japanese pear trees grown under adverse conditions. Phenological and physiological study of Japanese pear grown under adverse condition. Tsukuba: 1995. cap. 3, p. 61-63.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. *Plant Physiology* Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1991, 682 p.

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

SIEGEL, B.Z. Plant peroxidases – an organismic perspective – review. *Plant Growth Regulation*, Nova York, v. 12, p. 303-312, 1993.

WEHUNT, E.H.; HORTON, B.D.; PRINCE, V.E. Effects of nematicides, lime and herbicide on peach tree (*Prunus persicae*) short life in Georgia. *Journal of Nematology*, St. Paul, v. 12, n. 3, p. 183-189, 1980.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. Manual do SANEST: Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores. Pelotas: UFPel, 1991. 102 p

## APÊNDICE







**Apêndice 1. Fotografia do Pomar sem sintomas da SMPP, em plena floração (15/08). Embrapa Clima Temperado, 2003.**



**Apêndice 2. Fotografia do Pomar com sintomas da SMPP, em plena floração (15/08). Embrapa Clima Temperado, 2003.**



## ANEXOS



## Anexo 1. Resultados da análise de nematóides no pomar sem sintomas da SMPP.

Gêneros	N° de nematóides 100 cm <sup>-3</sup> solo - POMAR SEM SMPP						
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
<i>Meloidogyne</i>	7	8	21	23	23	-	-
<i>Helicotylenchus</i>	16	36	60	33	35	28	16
<i>Pratylenchus</i>	-	-	4	-	-	-	5
<i>Tylenchus</i>	-	8	15	16	-	15	4
<i>Mesocriconema</i>	73	35	21	21	63	75	-
<i>Xiphinema</i>	-	-	-	4	-	-	-
<i>Hoplolaimus</i>	-	-	-	4	-	-	-

Fonte: Laboratório de Nematologia – Embrapa Clima Temperado, Pelotas, R.S.

## Anexo 2. Resultados da análise de nematóides no pomar com sintomas da SMPP.

Gêneros	N° de nematóides 100 cm <sup>-3</sup> solo - POMAR COM SMPP						
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
<i>Meloidogyne</i>	-	-	-	13	7	-	17
<i>Helicotylenchus</i>	8	3	-	-	17	-	5
<i>Pratylenchus</i>	-	25	9	3	4	-	-
<i>Tylenchus</i>	-	-	8	7	-	-	-
<i>Mesocriconema</i>	37	269	137	177	79	-	241
<i>Xiphinema</i>	9	-	45	-	-	-	-
<i>Hoplolaimus</i>	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Laboratório de Nematologia – Embrapa Clima Temperado, Pelotas, R.S.

Anexo 3. Horas de frio (-7,2 °C) acumulado no período de 01/01/2003 a 15/05/2003.

Período	01/01 a 11/06	12/06 a 11/07	12/07 a 29/07	30/07 a 05/08
Σ Horas de frio	55	115	183	184

Fonte: Estação Agrometeorológica da Cascata / Laboratório de Agrometeorologia – Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

