

LIBERAÇÃO DA DORMÊNCIA E DINÂMICA DE CARBOIDRATOS  
EM GEMAS DE VIDEIRAS NIAGARA ROSADA (*Vitis labrusca* L.) EM  
REGIÃO TROPICAL

**JULIANA COSTA GUIMARÃES**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
JUNHO – 2013

LIBERAÇÃO DA DORMÊNCIA E DINÂMICA DE CARBOIDRATOS  
EM GEMAS DE VIDEIRAS NIAGARA ROSADA (*Vitis labrusca* L.) EM  
REGIÃO TROPICAL

**JULIANA COSTA GUIMARÃES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Ricardo Enrique Bressan-Smith

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
JUNHO – 2013

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 089/2013

Guimarães, Juliana Costa

Liberação da dormência e dinâmica de carboidratos em gemas de videiras Niagara Rosada (*Vitislabrusca* L.) em região tropical / Juliana Costa Guimarães. – 2013.

74 f.

Orientador: Ricardo Enrique Bressan-Smith.

Tese (Doutorado - Produção) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

Bibliografia: f. 59 – 74.

1. Dormência 2. Frio 3. Gemas 4. Açúcares 5. Brotação 6. Uva I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 634.8

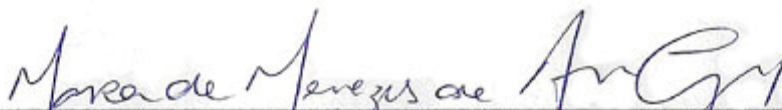
LIBERAÇÃO DA DORMÊNCIA E DINÂMICA DE CARBOIDRATOS  
EM GEMAS DE VIDEIRAS NIAGARA ROSADA (*Vitis labrusca* L.) EM  
REGIÃO TROPICAL

**JULIANA COSTA GUIMARÃES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutora em Produção Vegetal.

Aprovada em 21 de Junho de 2013

Comissão Examinadora:



---

Dra. Mara de Menezes de Assis Gomes (D.Sc. Crescimento e Desenvolvimento  
de Plantas) – UENF/Faetec



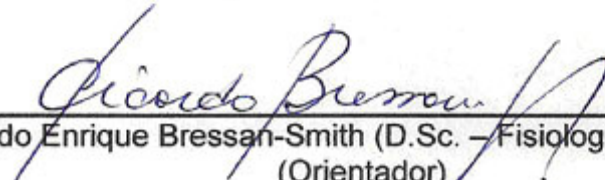
---

Dr. Fábio Afonso M. M. de Assis Figueiredo (D.Sc. Produção Vegetal) - UENF



---

Dr. Reginaldo Teodoro de Souza (D.Sc. Viticultura) Embrapa Uva e Vinho



---

Prof. Ricardo Enrique Bressan-Smith (D.Sc. – Fisiologia Vegetal) – UENF  
(Orientador)

## AGRADECIMENTO

A Deus;

Aos meus pais, Eduardo e Vitória, e ao meu irmão, Eduardo, pelo apoio irrestrito e principalmente pelo incentivo;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), pela oportunidade;

Ao professor Ricardo Bressan-Smith, pela confiança, apoio, oportunidade, orientação e amizade;

Aos professores Eliemar Campostrini e Mara Menezes, pelos ensinamentos e atenção;

Ao Leandro, pela paciência, carinho e incentivo;

A propriedade rural Tabuinha, pela concessão do vinhedo para a realização deste trabalho;

Aos amigos Débora, Gleidson, Mirella, Sarah, Tatiana, Alena, Tiago, Camila, Liane, Fábio, Ana Cristina, Amanda, Bruna, Roberta, pelo convívio, amizade e incentivos;

Ao professor Vanildo e os colegas Ricardo e Lucas, pelo auxílio com o HPLC;

A todos os amigos que participaram direta ou indiretamente desta conquista, Obrigada!

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. HIPÓTESE .....	4
3. OBJETIVOS .....	5
4. REVISÃO DE LITERATURA .....	6
4.1. A cultura da videira .....	6
4.1.1. Panorama geral da viticultura nas regiões norte e noroeste Fluminense. .....	8
4.2. Dormência de gemas.....	9
4.3. Cianamida hidrogenada.....	11
4.4. O que se sabe sobre o mecanismo de quebra de dormência .....	12
4.5. Carboidratos como sinalizadores na indução da brotação .....	14
4.6. Acúmulo de frio nas gemas de videiras .....	18
4.7. Xilema como fonte de açúcares solúveis para as gemas de videiras.....	20
4.8. Índices biometeorológicos .....	21
4.8.1. Graus dias (GD) .....	23
4.8.2. Índice heliotérmico de Huglin (IH).....	24
4.8.3. Índice heliotérmico de Geslin (IHG).....	25
4.8.4. Índice de frio noturno (IF) .....	25
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	27

5.1. Material vegetal e localização.....	27
5.1.1. A cultivar estudada – Niagara Rosada .....	29
5.2. Etapas experimentais .....	29
5.2.1. Experimento 1: Indução de brotação e índices biometeorológicos da videira Niagara Rosada em diferentes épocas de poda na região .....	29
5.2.2. Experimento 2: Dinâmica dos carboidratos necessários para a indução da brotação .....	30
5.3. Metodologias .....	32
5.3.1. Análise da indução da liberação da dormência .....	32
5.3.2. Índices biometeorológicos .....	32
5.3.2.1. Graus dias (GD) .....	33
5.3.2.2. Índice heliotérmico de Huglin (IH).....	33
5.3.2.3. Índice heliotérmico de Geslin (IHG).....	33
5.3.2.4. Índice de Frio Noturno (IF) .....	33
5.3.3. Extração dos carboidratos solúveis (glicose, frutose e sacarose) ..	33
5.3.4. Determinação dos carboidratos solúveis.....	34
5.3.5. Delineamento experimental e análise estatística.....	34
6. RESULTADOS.....	35
6.1. Liberação da dormência no período de repouso vegetativo e os Índices biometeorológicos .....	35
6.2. Liberação da dormência e índices biometeorológicos ao longo de dois anos.....	39
6.3. Ação do fotoperíodo para a liberação da dormência de estacas contendo uma gema .....	42
6.4. Ação do frio para a liberação da dormência de estacas contendo uma gema .....	43
6.5. Carboidratos presentes na seiva da videira.....	47
6.6. Respostas da aplicação de açúcares para a liberação da dormência de estacas contendo uma gema .....	48
7. DISCUSSÃO .....	51
7.1. Experimento 1: Indução de brotação e índices biometeorológicos da videira Niagara Rosada em diferentes épocas de poda na região .....	51
7.2. Experimento 2: Dinâmica dos carboidratos necessários para a indução da brotação .....	53

8. CONCLUSÃO .....	58
9. REFERÊNCIAS.....	59



## RESUMO

GUIMARÃES, Juliana Guimarães, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Junho de 2013. Liberação da dormência e dinâmica de carboidratos em gemas de videiras Niagara Rosada (*Vitis labrusca* L.) em região tropical.

A indução e a saída da dormência são genética e ambientalmente controladas, induzidas por fotoperíodo e temperaturas. A temperatura, que está diretamente ligada à mobilização dos açúcares solúveis, tem grande importância nos estudos de adaptação de fruteiras de clima temperado. A falta de fornecimento de açúcares solúveis para as gemas causaria brotações desuniformes e um desenvolvimento irregular das gemas quando as mesmas não são submetidas a períodos de baixas temperaturas, como em regiões tropicais. A análise de gemas submetidas a diferentes regimes de temperatura pode apontar como se dá a dinâmica de mobilização das reservas dos carboidratos nas gemas de videiras. Com isso, o objetivo deste trabalho foi analisar o papel da sazonalidade climática na liberação da dormência de gemas e investigar a participação dos carboidratos como moduladores do processo de dormência das gemas sob condições de baixas temperaturas. Para isso, estacas com uma gema foram coletadas em diferentes períodos de poda durante o ano e acondicionadas em condições controladas após a aplicação de cianamida hidrogenada (Dormex – 5%) e água (controle), realizado-se os cálculos dos índices biometeorológicos, a

partir de dados de temperatura coletados no campo. Outro grupo de estacas foi incubado até completarem 0, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1000 horas de frio, a 4°C e um terceiro grupo submetido a variações de temperaturas decrescentes (25, 15, 5 e 25°C) e retorno à 25°C. Foi coletada também a seiva do xilema nos períodos de: sete dias antes da poda, durante a poda e 15 e 30 dias após a poda, nos meses de abril e agosto de 2012. Após esses tratamentos foi realizada a indução da liberação da dormência dos ramos em condições controladas para a contagem do número de dias necessários para alcançar 50% de brotação nas gemas e a quantificação dos carboidratos (frutose, glicose e sacarose). As temperaturas e os índices biometeorológicos parecem estar relacionados a liberação da dormência, indicando que quanto maior os valores das temperaturas, maior o número de dias para brotação. A temperatura pela qual estas gemas vinham passando nos meses anteriores à coleta das gemas parece não ter influência sobre a brotação quando colocadas em condições ótimas de crescimento. Isso indicaria que a temperatura nos momentos que antecedem a coleta das gemas é mais importante para a liberação da dormência, em clima tropical, do que as baixas temperaturas ocorridas no período de repouso vegetativo, como em regiões temperadas. As gemas que foram submetidas às baixas temperaturas, seja por acúmulo de horas de frio ou por decréscimos graduais de temperatura, levam a maior velocidade de brotação em condições ótimas de crescimento. A presença dos carboidratos, principalmente glicose, nas gemas da videira Niágara Rosada parecem ter relação com a liberação da dormência, podendo ser um sinal que controla o desenvolvimento da gema.

## ABSTRACT

GUIMARÃES, Juliana Guimarães, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Junho de 2013. Dormancy release and carbohydrate dynamics in grapevine buds of Niagara Rosada variety (*Vitis labrusca* L.) growing in the tropics.

The induction and the release of bud dormancy are genetic and environmentally controlled, and are induced by photoperiod and temperature variations. The temperature, that is closely related to the mobilization of soluble sugars, is supposed to assume great importance in the adaptation of temperate fruit trees to the varying environment. For instance, the lack of soluble sugars supply to the buds cause an irregular bud development when plants are not submitted to low temperature range, such as in tropical regions. The analysis of buds submitted to different temperature regimes could reveal how the mobilization of reserve carbohydrates take place in grapevines buds. Taking this into account, the aim of this study was to assess how seasonality is implied in the release of bud dormancy. In addition, we aimed to investigate the role of carbohydrates as modulators of the bud dormancy under low temperature conditions. Cuttings with one bud were collected at different pruning dates along the year and submitted to controlled conditions after application of hydrogen cyanamide (Dormex – 5%) and water (control). Another group of cuttings were incubated to 0, 100 , 200, 300, 400, 500, 750 and 1000 h at 4°C, and a third group was submitted to decreasing

temperatures (25, 15, 5 and 25 °C) and then returned to 25°C. In another experiment, xylem sap was collected seven days before pruning, during the pruning and 15 and 30 days after pruning, on April and August, 2012. After these treatments, dormancy release was induced under controlled conditions so that this allowed to obtain the number of days required to reach 50% of bud sprouting (BR<sub>50</sub>) and quantification of soluble carbohydrates (fructose, glucose and sucrose). The temperature and biometeorological indexes seem to be related to the dormancy release, indicating that higher temperatures imply in more days to the bud sprouting. The temperature regime in which these buds were submitted in the months prior to the bud collection seems to have no influence on the sprouting when placed under optimal conditions of growth. This might indicate that the temperature previous to the bud collection is more important for the release dormancy in a tropical climate than the low temperatures during the period of vegetative rest, as in temperate regions. Buds submitted to low temperatures, either by accumulation of chilling hours or by gradual temperature decreases, showed a faster sprouting in optimal conditions for growth. The presence of carbohydrates, mainly glucose, in the Niagara Rosada buds, seem to be related to the dormancy release, and might be a signal that controls the bud development.

## 1. INTRODUÇÃO

Tradicionalmente cultivada em regiões de clima temperado, a videira apresenta adaptação à ampla diversidade de climas, o que vem possibilitando a viticultura em diversas regiões.

No Brasil, seu cultivo ocorre desde o extremo Sul, onde se registram temperaturas mais baixas até regiões de clima semiárido encontradas no Vale do São Francisco, no Nordeste do país. No Sudeste, no Estado do Rio de Janeiro, a região norte fluminense apresenta grande potencial para a produção de uvas de mesa e suco (Murakami, 2002; Viana et al., 2006; Pommer et. al., 2009). Apesar de não ser mencionado pelos dados estatísticos do IBGE como região produtora, está iniciando o cultivo de uvas, graças ao empenho de alguns produtores e pesquisadores, que vêm atuando de forma decisiva para o crescimento da viticultura na região norte e noroeste do Estado. O clima tropical dessa região é favorável à viticultura, apresentando luminosidade e temperaturas altas, o que favorece o crescimento e a produção de fotoassimilados, e assim a produção das uvas (Murakami, 2002; Viana et al., 2006; Pommer et al., 2009).

Devido à região ser considerada de clima tropical, representado por temperaturas médias amenas mesmo no inverno, a ausência do frio leva a brotações desuniformes das gemas. Para compensar tal efeito, é necessário a aplicação de substâncias químicas indutoras de brotação e, com isso, superar a dormência das gemas. A cianamida hidrogenada é a mais utilizada e a mais

eficiente substância química indutora, embora seu modo de ação para induzir a brotação ainda não esteja totalmente esclarecido (Perez et al., 2009).

A indução e a saída da dormência são genética e ambientalmente controladas, induzidas por fotoperíodo e temperaturas. Com isso, as modificações fisiológicas, ocorridas nos vegetais durante o período de dormência são produto das modificações das condições climáticas de acordo com as estações do ano. A temperatura, que está diretamente ligada à mobilização dos açúcares solúveis, que têm grande importância nos estudos de adaptação de fruteiras de clima temperado (Rodrigues et al., 2006).

As baixas temperaturas durante o inverno são responsáveis pela indução da degradação do amido, convertendo-o em açúcares solúveis que serão utilizados durante a retomada do crescimento (brotação) das gemas (Bennett, 2002). A falta de fornecimento de açúcares solúveis para as gemas causa brotações desuniformes e um desenvolvimento irregular das gemas quando as mesmas não são submetidas a períodos de baixas temperaturas, como em regiões tropicais. Isso explicaria, em parte, o mecanismo de liberação da dormência, e a análise de gemas submetidas a diferentes regimes de temperatura, apontaria como se dá a dinâmica de mobilização das reservas dos carboidratos nas gemas e ramos de videiras.

Os açúcares solúveis são reconhecidos como importantes moléculas sinalizadoras envolvidas em vários processos no ciclo de vida das plantas, incluindo a dormência (Sheen et al., 1999;. Gibson, 2000; Smeekens, 2000). Segundo Maurel et al. (2004), os açúcares solúveis (principalmente as hexoses) estão envolvidos em eventos iniciais de brotação de pessegueiro, devido ao aumento da concentração de hexoses no tecido meristemático durante a quebra de dormência. Pérez et al., (2009) sugerem que a cianamida hidrogenada pode modificar a disponibilidade de açúcares dentro da gema, induzindo uma cascata de sinalização de açúcares, que poderia regular a transcrição de genes específicos, necessários a liberação da dormência. No entanto, é necessário se estabelecer o papel da glicose e outros açúcares na regulação da liberação da dormência, que pode estar relacionado ao desenvolvimento irregular das gemas.

Diversos pesquisadores têm proposto que a análise química de exsudados do xilema pode indicar que esta seria a principal rota pelo qual os carboidratos são transportados para gemas durante a brotação de fruteiras temperadas

(Sauter, 1980; Glad et al., 1992; Campbell e Strother, 1996; Ameglio et al., 2004; Maurel et al., 2004), podendo elevar os níveis de glicose e outros açúcares nas gemas, após o período de inverno, levando a brotações mais uniformes.

Entender o mecanismo que controla a indução do crescimento das plantas é crucial para resolver muitos problemas na agricultura (Horvath et al., 2003), já que a superação da dormência é a fase mais preocupante para os produtores de fruteiras de clima temperado. Em regiões tropicais, as brotações insuficientes ou irregulares podem comprometer a produção.

## 2. HIPÓTESE

Os açúcares solúveis presentes nas gemas e na seiva do xilema durante o período de liberação da dormência seriam necessários para a brotação. A disponibilidade dos açúcares solúveis para as gemas causaria brotações desuniformes e o desenvolvimento irregular das gemas quando as mesmas não são submetidas a períodos de baixas temperaturas, como em regiões tropicais.



### 3. OBJETIVOS

Analisar o papel da sazonalidade climática na liberação da dormência de gemas.

Investigar a participação dos carboidratos como moduladores do processo de dormência das gemas sob condições de baixas temperaturas.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1. A cultura da videira

A videira é uma das mais importantes espécies frutíferas cultivadas no mundo. É planta sarmentosa da família *Vitaceae*. O gênero *Vitis* é o principal representante desta família, devido à importância econômica da uva (*Vitis vinifera* L.), largamente consumida “in natura” ou empregada como matéria-prima para a fabricação de sucos, vinhos, uvas passas, geleias, etc., bem como para uso ornamental.

O provável centro de origem da videira foi a Groenlândia, onde há 300 milhões de anos, na Era Cenozoica, surgiu a primeira espécie (Giovannini, 1999). Deste centro, as videiras primitivas foram ganhando terras meridionais, segundo dois pontos principais um américo-asiático, outro euro-asiático, de onde se originaram as principais espécies, *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*, respectivamente. (Souza, 1996). Dados históricos sugerem que a introdução da videira no Brasil ocorreu em 1532 por Martim Afonso de Souza, que registrou o transporte das videiras portuguesas para a então Capitania de São Vicente, hoje Estado de São Paulo. A partir deste ponto e por introduções posteriores, a viticultura expandiu-se para outras regiões do país (Protas et al., 2002).

No Brasil, a viticultura como atividade comercial relevante teve início em 1875, com a colonização italiana no Estado do Rio Grande do Sul. No início, a produção de uva e vinho era destinada ao consumo regional, e, posteriormente,

foi expandindo-se gradativamente até atingir o mercado nacional, obtendo o grande impulso de produção na década de 70 com o cultivo da uva Itália (Silveira e Simões, 2004). Desde então, a viticultura tem tido grande incremento na produção, principalmente em regiões onde as condições climáticas são favoráveis.

A viticultura, no Brasil, ocupa uma área de 82.333 hectares, com produção anual de 1.477.710 toneladas, das quais 627.423 são de uva para mesa (IBGE, 2011 e 2013). No ano de 2005, a uva ocupou o 2º lugar entre as frutas brasileiras mais exportadas, apresentando crescimento (102%) em relação ao ano de 2004. Esse crescimento tem sido relacionado, principalmente, à expansão da área de cultivo de uvas apirênicas (Mello, 2007).

Os Estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Pernambuco, Bahia e Minas Gerais são os maiores produtores de uvas do Brasil. O Estado do Rio Grande do Sul, com 51.577 hectares plantados, destaca-se como o grande produtor, produzindo, no ano de 2012, 840.251 toneladas, sendo a maioria para a fabricação de vinho. A produção de uva para o consumo *in natura* em São Paulo ocupa uma área de 10.183 hectares, com produção de 200.902 toneladas. A região do Vale do São Francisco, que compreende os Estados de Pernambuco e Bahia, tem produção de 293.638 toneladas e apresenta uma área plantada de 9.405 hectares (IBGE, 2013).

Os últimos anos se caracterizaram por grandes investimentos na viticultura, notadamente em regiões não tradicionais do país, dada a característica da cultura, em gerar empregos e renda, especialmente para as pequenas propriedades (Mello, 2005). Conforme documento publicado pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil, 1997), a videira cultivada no Nordeste aparece como aquela que proporciona a maior geração de empregos entre as diversas culturas perenes e anuais, atingindo mais de cinco empregos/ha/ano.

De acordo com estimativas de Mello (2012), em 2011, 42,87% da uva produzida no Brasil foi destinada ao consumo *in natura* e 57,13%, à elaboração de vinhos, sucos, destilados e outros derivados.

O cultivo de uvas para o consumo *in natura* adquiriu relevância econômica no cenário internacional quando o avanço nas tecnologias aplicadas à produção tornou possível obter e ofertar um produto de melhor qualidade nos diversos mercados consumidores, favorecendo o incremento constante do consumo

(Llorent, 1992). Além do mais, a maior qualidade do produto muitas vezes foi resultado da implementação de novas cultivares mais adaptadas às regiões de cultivo, logo, com maior produtividade. O desenvolvimento de tecnologias para a produção de uvas sem sementes para regiões tropicais, vem aumentando as exportações brasileiras (Mello, 2007). Portanto, a busca de novas cultivares com características agrônômicas que atendam às demandas da cadeia produtiva da viticultura brasileira é um desafio constante, assim como a busca de novas regiões propícias para a implantação de vinhedos e novas práticas de cultivo, mais adaptadas a essas regiões.

A cultura é considerada de clima temperado, embora apresente adaptabilidade a variadas condições climáticas. Todavia, apresenta uma série de exigências climáticas para expressar seu máximo potencial em rendimento e qualidade dos frutos (Sentelhas, 1998). De maneira geral, as exigências da cultura são atendidas com as seguintes características climáticas: temperatura na faixa de 15-30°C, 1.200 a 1.400 horas de insolação durante o ciclo (Sentelhas, 1998), e 400 a 1 000 mm de precipitação, dependendo do clima e da duração do ciclo (Giovannini, 1999)

#### **4.1.1. Panorama geral da viticultura nas regiões norte e noroeste Fluminense**

O Estado do Rio de Janeiro iniciou o cultivo de uvas, graças ao empenho de alguns produtores e pesquisadores, que vêm atuando de forma decisiva para o crescimento da viticultura principalmente nas regiões norte e noroeste do Estado.

As regiões norte e noroeste do Estado estão localizadas a 21°S de latitude e 41°W de longitude. Apesar de não ser mencionado pelos dados estatísticos do IBGE (2013) como região produtora, a viticultura ocupa uma área aproximada de 11 ha, distribuídos nos municípios de Bom Jesus do Itabapoana (4,5ha), Cardoso Moreira (4ha), Italva (1,25ha), São Fidélis (0,75ha), São José de Ubá (0,5ha) e Cambuci (0,15ha). Dentre as variedades plantadas têm-se a Niagara Rosada, Niagara Branca, Itália, Venus e BRS Clara, sendo estas duas últimas, variedades sem semente.

O cultivo da videira na região tem demonstrado que esta apresenta boa aptidão climática para este tipo de plantio (Pommer et al., 2009), por abundância de água para irrigação, alta radiação solar e temperaturas médias elevadas durante todo o ano, possibilitando a ocorrência de dois ciclos de produção por

ano. Estudos realizados no Norte do Estado do Rio de Janeiro mostraram que a videira nesta região possui ciclo fenológico e necessidade térmica próximos dos encontrados no Noroeste de São Paulo (Murakami, 2002; Viana, 2009). Além disso, está próxima aos grandes centros consumidores, como a região da Grande Vitória, Grande Rio, Região dos Lagos e Serrana do Estado do Rio de Janeiro. Finalmente, pode-se afirmar que a qualidade das uvas de mesa produzidas na região está de acordo com os níveis necessários para comercialização (Guimarães et al., 2006).

Devido à região ser considerada de clima tropical e a não ocorrência de frio intenso para indução de um período hibernal, a planta pode apresentar, após a poda, brotações desuniformes e insuficientes. Assim, faz-se necessário a aplicação após a poda, de substâncias como a cianamida hidrogenada a 5%, por exemplo, para auxiliar na quebra de dormência de gemas, uniformizando as brotações.

#### **4.2. Dormência de gemas**

Dormência é o período de repouso natural de um vegetal durante condições desfavoráveis ao seu crescimento. É um processo fisiológico influenciado pelas condições ambientais pelo qual as fruteiras de clima temperado passam durante o inverno rigoroso.

As fruteiras de clima temperado, como a videira, caracterizam-se pela queda das folhas no final do ciclo reprodutivo e entrada em dormência, como consequência de temperaturas mais frias decorrentes do inverno. Este estado funciona como um mecanismo de defesa da planta para resistir às condições adversas das baixas temperaturas inverniais (Petri et al., 1996), e para alterar o balanço hormonal da planta, resultando em uma drástica redução da atividade metabólica (Lavee, 1973). Em seu habitat natural de clima temperado, após o repouso hibernal (dormência), a videira apresenta uma sucessão de fases que caracterizam o seu desenvolvimento vegetativo (Hidalgo, 1993).

As modificações fisiológicas, enzimáticas e nutricionais, ocorridas nos órgãos vegetais durante o período de dormência, são produtos das modificações das condições climáticas de acordo com as estações do ano. Durante a primavera e verão as plantas crescem e se desenvolvem rapidamente, sendo este

crescimento favorecido por condições adequadas de temperatura, água, luminosidade e fotoperíodo. Já durante o outono-inverno as condições do meio se tornam gradativamente desfavoráveis ao crescimento devido à diminuição da temperatura, da luminosidade e do fotoperíodo, causando retardamento progressivo até a parada completa do crescimento das plantas, ocasionando a dormência, (Pérez e Lira, 2005). Com a chegada da primavera, esta dormência é quebrada iniciando um novo ciclo vegetativo.

Contudo, o início e a homogeneidade da brotação são determinados pelo tempo e intensidade de exposição das plantas a baixas temperaturas (Petri et al., 1996), pois as gemas permanecem dormentes até que tenham acumulado horas de frio suficientes para brotação (Lang, 1994).

A indução e a saída da dormência são genética e ambientalmente controladas. Diante disso, Lang (1987) classificou a dormência de gemas em três estados:

- Paradormência: o crescimento é regulado pelo aumento de reguladores de crescimento de plantas originados fora da gema e estão relacionados com dominância apical;

- Endodormência: o crescimento da gema é reprimido por fatores endógenos e requerem frio para iniciar um novo ciclo de crescimento; é estimulada pelo encurtamento do fotoperíodo e a diminuição das temperaturas;

- Ecodormência: a quebra da dormência está limitada por fatores adversos do ambiente e geralmente ocorre entre o fim do inverno e o início da primavera.

Em regiões de clima tropical, a endodormência é considerada um dos maiores obstáculos para a produção de fruteiras temperadas (Shulman et al., 1983; Erez, 1987). A ausência de período frio em regiões de clima tropical constitui um empecilho, dado que, na maioria dos casos, o inverno pode ser representado por temperaturas médias amenas ou pouco inferiores às médias observadas nos períodos mais quentes do ano. Nestas regiões caracterizadas pela presença de invernos menos rigorosos, a videira pode apresentar brotações desuniformes, requerendo a aplicação de algumas substâncias químicas, para compensar artificialmente a falta de frio e superar a dormência das gemas. Este é o caso observado na região Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro, cujas médias de temperaturas no inverno atingem valores raramente abaixo de 18°C.

Como a endodormência está relacionada principalmente a fatores do ambiente, a sua intensidade pode ser caracterizada por meio da resposta de um fragmento de ramo, contendo uma única gema, em “condições forçadas” (luminosidade, temperatura e umidade controladas), estima-se o tempo médio para que 50% das gemas tenham a dormência quebrada (QD50 – quebra de dormência ou do inglês BR50 – bud-break) (Pouget, 1963; Koussa et al., 1994). Este método vem sendo utilizado com bastante frequência em frutíferas temperadas. Pérez et al. (2007), observaram que podas realizadas próximas do outono apresentavam dormência mais intensa, ou seja, com BR50 maior, que plantas podadas próximas da primavera.

### **4.3. Cianamida hidrogenada**

Muitos compostos apresentam efeito na quebra de dormência como óleo mineral, cianamida hidrogenada, dinitro-o-cresol, cálcio cianamida e thidiazuron. Mas, apenas óleo mineral e cianamida hidrogenada vêm sendo recomendados, como uma das formas mais eficientes para induzir brotações em fruteiras decíduas no Brasil, principalmente em videira (Petri et al., 2002).

A cianamida hidrogenada vem sendo usada na quebra de dormência em vários países. Em 2001, foi estimada a utilização de 112.491 kg na Califórnia e 36.287 kg na Itália (Settimi et al., 2005). Apesar de sua corrente utilização em diversas partes do mundo, pouco se sabe sobre a forma de atuação desta substância na quebra de dormência. Além disso, a substância apresenta alta toxicidade. Nos EUA, a Agência de Proteção Ambiental classifica toxicologicamente esse composto na categoria mais alta (categoria I); e está sob revisão regulatória pelas autoridades da União Europeia (Settimi et al., 2005). Dentre os efeitos adversos à saúde devido ao contato com cianamida hidrogenada têm-se irritações e úlceras nos olhos, pele e vias respiratórias, além de inibir a aldeído desidrogenase, levando a síndrome de acetaldeído (vomito, hiperatividade parassimpática, dispneia hipotensão e desorientação) (Settimi et al., 2005).

A cianamida hidrogenada ( $H_2CN_2$ ) é comercializada com o nome de Dormex® (BASF), uma solução aquosa estabilizada com 52,0% (520 g/L) do ingrediente ativo. O produto é degradado no solo em ureia, nitrato e amônia, comportando-se como um fertilizante nitrogenado, não deixando resíduos no solo

e na planta. Como a ação deste produto não é sistêmica e sim localizada, é necessário que o produto aplicado atinja as gemas das plantas para que se obtenha o efeito esperado, devendo ser usado em pulverização sobre as gemas, em doses que podem variar em função do local, da cultivar, do vigor da planta, do somatório de horas de frio acumulado, da época de poda e do estágio de dormência de gemas.

Quanto aos mecanismos de atuação, estudos realizados por Or et al. (2000) e Keilin et al. (2007) vêm evidenciando a ocorrência de um distúrbio respiratório momentâneo após a aplicação da cianamida hidrogenada. Gemas tratadas com cianamida hidrogenada demonstram um ligeiro aumento nos níveis de  $H_2O_2$  e que pode ocorrer em decorrência da redução da atividade da enzima catalase verificada no mesmo período (Pérez e Lira, 2005).

Buscando alternativas à cianamida hidrogenada que possam ser utilizadas para indução de quebra de dormência, alguns estudos comprovaram a eficiência de outros métodos com menor impacto, para o ambiente e o aplicador, para a quebra de dormência de frutíferas de clima temperado. No entanto, Viana (2009) concluiu que estes indutores devem ser melhor avaliados a respeito dos seus efeitos como indutores de brotação e interação com os diferentes microclimas de cada região.

Uma série de fatores, como concentração dos produtos, épocas de aplicação, estágio das gemas, volume da solução aplicado por planta, somatório das horas de frio acumuladas pela planta e do ingrediente ativo, levam à quebra de dormência, sendo necessários trabalhos para identificar tais fatores para cada local e cultivar (Francisconi et al., 1992)

#### **4.4. O que se sabe sobre o mecanismo de quebra de dormência**

Dentre as modificações mais importantes para resistir às adversidades ambientais, destacam-se aquelas referentes ao conteúdo de carboidratos presentes nos tecidos; hormônios vegetais ligados ao crescimento e à senescência; à presença e à atividade de determinadas enzimas na membrana celular das gemas e dos tecidos adjacentes, e também o pH intracelular. Todavia, é importante destacar que até o momento muito pouco se conhece sobre os eventos bioquímicos e fisiológicos que acontecem durante a dormência, ainda



mais quando o enfoque é dado naqueles eventos específicos como os que marcam o final da dormência.

A liberação da dormência pode começar com a percepção de um sinal através da planta, após a exposição ao frio ou após a aplicação de substâncias para a quebra da dormência.

Quanto aos mecanismos envolvidos na liberação da dormência, evidências demonstram que um ligeiro aumento nos níveis de  $H_2O_2$  precede a quebra de dormência das gemas de videira (Pérez e Lira, 2005). Segundo Nir et al, (1986) e Or et al, (2001), as baixas temperaturas e a cianamida hidrogenada inibem a atividade da catalase e reduzem os níveis de transcritos mRNA da catalase logo após sua aplicação. Inibição da atividade da catalase leva ao estresse oxidativo em diversos sistemas, devido ao aumento do conteúdo de  $H_2O_2$  (Pérez et al., 2008; Prasad, 1996). A esse mecanismo tem sido creditado, principalmente ao peróxido de hidrogênio acumulado, o papel de sinalização no processo de ativação de resposta ao estresse (Mittler, 2002).

Estudos realizados por Or et al. (2000 e 2002) e Keilin et al. (2007) vêm evidenciando a ocorrência de um distúrbio respiratório momentâneo após a aplicação da cianamida hidrogenada. Este distúrbio seria responsável pela ocorrência de estresse oxidativo, que conseqüentemente resultaria na produção e acúmulo de peróxido de hidrogênio, uma vez que a enzima catalase é inibida pela cianamida hidrogenada. Neste período, tem-se observado aumento temporário na relação AMP/ATP (adenosina monofosfato/adenosina trifosfato) e aumento de transcritos das enzimas sacarose sintase, álcool desidrogenase e piruvato descarboxilase (Halaly et al, 2008; Keilin et al., 2007; Or et al., 2000; Pérez e Lira, 2005; Pérez et al. 2008), cujos genes são dos poucos rapidamente expressos sob condições de baixas concentrações de oxigênio (Taiz e Zeiger, 2005; Keilin et al., 2007). Evidências demonstram que o aumento da concentração de transcritos de sacarose sintase e álcool desidrogenase é sinalizado a partir do aumento nos níveis de  $Ca^{2+}$  citosólico (Pang et al., 2007), um dos primeiros eventos que seguem a redução dos níveis de oxigênio (Taiz e Zeiger, 2005).

Este estresse oxidativo causado pelo acúmulo de peróxido de hidrogênio e que leva a um distúrbio respiratório momentâneo, ativa o mecanismo de defesa antioxidante como transcritos das enzimas ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR), tioredoxina h (TrH) e estilbeno sintetase StSy 12 horas após a

aplicação da cianamida hidrogenada (Halaly et al, 2008). E a mitocôndria seria assim, o centro de sensibilidade da liberação da dormência (Pérez e Lira, 2005; Pérez et al., 2008).

Pérez et al. (2009) sugerem que ocorra uma privação de O<sub>2</sub> causado pelo efeito inibitório da aplicação de cianamida hidrogenada na respiração das mitocôndrias, ativando rearranjos metabólicos que levam ao aumento da geração anaeróbica de ATP pela glicólise e fermentação. E que esta alteração mitocondrial poderia refletir na regulação da expressão de genes da alternativa oxidase (AOX). E ainda, a via das pentoses fosfatos (PPP), seria ativada como reflexo da ativação da glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PD).

Este indutor químico (cianamida hidrogenada) é o modelo de estudo quando se fala em eventos iniciais na indução de brotações ou saída da dormência, pois se acredita que ele ative mecanismos comuns aos induzidos naturalmente pelo frio e fotoperíodo. Fornecendo uma definição precisa e clara do tempo real de liberação de dormência (Halaly et al., 2008; Keilin et al., 2007; Or et al., 1999, 2000, 2002; Pérez e Lira, 2005; Pérez et al. 2007, 2008, 2009; Pang et al., 2007). E mais, é comercialmente aplicado em diferentes regiões do mundo e promove brotações uniformes, controladas, sincronizadas e relativamente rápidas.

#### **4.5. Carboidratos como sinalizadores na indução da brotação**

Em climas temperados, com o decorrer do inverno, as plantas entram em dormência, com drástica redução de suas atividades metabólicas. Este mecanismo funciona como uma forma de defesa da planta para resistir às condições adversas das baixas temperaturas invernais. Com a chegada da primavera e de condições favoráveis ao desenvolvimento, a planta, exposta a uma quantidade de frio adequada, tem a sua dormência quebrada e inicia a brotação.

Com a chegada do inverno, ou seja, a redução das temperaturas, as folhas entram em senescência, devido à ativação de várias hidrolases, resultando em degradação de proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos que são translocados das folhas para o floema de ramos, troncos e raízes. Por outro lado, durante o período de repouso, as baixas temperaturas são responsáveis pela indução da degradação do amido em açúcares solúveis. Este aumento dos teores de açúcares solúveis, proteínas e aminoácidos é citado na literatura como importante mecanismo de resistência ao frio (Koster e Lynch, 1992). As principais hidrolases

de amido verificadas sob condições de baixas temperaturas são as alfa-amilases (Berbezy et al., 1997), que convertem amido, principal carboidrato de reserva das plantas, em açúcares solúveis, principalmente sacarose, glicose e frutose.

Sendo assim, em plantas de clima temperado são observadas duas fases de mobilização de amido: uma primeira fase dita outono-hibernal, descrita como um mecanismo de resistência ao frio, e uma segunda fase, na primavera, no momento da retomada do crescimento ativo. Estas duas fases se caracterizam por uma conversão de amido em açúcares solúveis. Entre estas duas fases poderá ocorrer o inverso, ou seja, os açúcares solúveis se reconstituírem em amido (Améglio et al., 2001).

Na videira, várias isoformas de alfa-amilase foram observadas durante a estação de inverno (Berbezy et al., 1997). As isoformas de ponto isoelétrico (pI) elevado (6,5) são predominantes durante a primeira metade do período de inverno (novembro a janeiro – condições de hemisfério norte), enquanto que as isoformas de baixo pI (4,5) são majoritárias de janeiro a abril, fase dita de pré-brotação. Porém, uma diminuição de temperatura de 12°C para 4°C induz a expressão máxima de todas as isoformas e o estímulo de suas atividades.

Mohamed et al. (2010) mostraram que baixas temperaturas causam aumento das hidrólises de amido, sendo a alfa-amilase quase exclusivamente a enzima envolvida na mobilização do amido nas gemas, mas não nos entrenós. Concomitantemente ao acúmulo de hidrolases ocorreu um acúmulo de sacarose, que tem um papel principal no suprimento de açúcares solúveis para as gemas.

A sacarose é a principal forma de açúcar transportada nos vegetais superiores. A enzima que sintetiza a sacarose é a sacarose fosfato sintase (SPS: EC 2.4.1.14) e desempenha um papel principal na mobilização de reservas glicídicas. A SPS participa da conversão de UDP-glicose e frutose 6-P em sacarose 6-P. A expressão desta enzima parece ser estimulada pela glicose e inibida pela presença de sacarose. Na noqueira, durante o inverno, a sacarose é a principal forma de açúcar transportado na seiva do xilema, podendo ser utilizada como marcador potencial da mobilização de açúcares para a reparação da embolia hibernal (ocasionada pelo congelamento) ou para a retomada do crescimento ativo (Améglio et al., 2000).

A sacarose não é absorvida diretamente pelos tecidos drenos, mas é hidrolisada no apoplasto em glicose e frutose, através da ação de invertase ácida e sacarose sintase.

Em condições de frio/anoxia a sacarose sintase (SuSy EC 2.4.1.13) tem sua expressão aumentada, por outro lado, as invertases (EC 3.2.1.26) são fortemente e rapidamente reprimidas. Este fato ocorre em razão da SuSy apresentar grandes vantagens sobre a invertase nestas condições. A SuSy catalisa a clivagem reversível da sacarose em frutose e UDP-glicose, ao contrario das invertases que clivam irreversivelmente a sacarose em hexoses (glicose e frutose) que só podem ser fosforiladas com um gasto de um ATP pela hexoquinase. O fato da SuSy produzir um açúcar fosforilado economiza 1 ATP que em condições de estresse é muito importante para a planta (Buchanan et al., 2000).

Ophir et al., (2009) estudando videiras cv. Perlette tratadas com HC e HS (cianamida hidrogenada e choque térmico, respectivamente) mostraram que há indução de duas isoformas da SuSy, que estão envolvidas na degradação de sacarose e, por outro lado, há a redução de transcritos da sacarose fosfato sintase e trealose 6-P sintase, que catalisam a síntese de sacarose e trealose, respectivamente. A atividade da invertase também foi diminuída.

Em condições de distúrbios respiratórios, como mencionado anteriormente, o processo fermentativo permite a geração de energia de forma alternativa ao processo aeróbico, fazendo com que a glicólise possa continuar a operar. Contudo, a eficiência na produção de energia, conservada na forma de ATP é infinitamente menor que no processo aeróbico. Em decorrência da baixa eficiência de conservação de energia na fermentação, uma maior velocidade do ciclo glicolítico é requerida para sustentar a produção de ATP necessária para a sobrevivência celular. Esta maior velocidade resulta em mudanças nos níveis de metabólitos glicolíticos, maior mobilização de reservas, assim como no aumento na expressão de genes que codificam enzimas da glicólise e fermentação (Halaly, et al., 2008; Ophir et al., 2009).

Or et al., (2000) descreveram uma proteína quinase, a GDBRPK (grape dormancy-breaking-related protein kinase), que seria membro da subfamília das SNF-1 kinases, e que estaria envolvida na percepção do sinal para a quebra de dormência. A proteína SNF-kinase ou 'sucrose non-fermenting' poderia ser

ativada pela privação de sacarose ou pela relação AMP/ATP celular, assim, seria um pseudoreceptor para distúrbios respiratórios.

Pérez et al., (2009) sugerem que HC e  $\text{NaN}_3$  (cianamida hidrogenada e azida sódica) podem modificar a disponibilidade de açúcares dentro da gema, induzindo uma cascata de sinalização de açúcares. E que mais pesquisas têm que ser desenvolvidas para estabelecer o papel da glicose e outros açúcares na regulação da expressão de genes chaves envolvidos na liberação da endodormência.

Dentre os carboidratos, as hexoses (principalmente a glicose) são de maior importância do que sorbitol ou sacarose nos eventos iniciais da quebra de dormência de gema em pessegueiros, de acordo com Maurel et al. (2004). A concentração de hexose nos tecidos meristemáticos correlacionou positivamente com a capacidade de quebra de dormência, sugerindo que hexoses estão envolvidas nos eventos iniciais da brotação indicando uma possível sinalização por uma via hexoquinase-dependente. Esses achados foram confirmados por dados de gemas que foram incapazes de quebrar a dormência porque tinham sido coletadas de árvores privadas de frio, e ainda pela preferência por glicose em regiões meristemáticas (Maurel et al., 2004).

Holzapfel e Smith (2012) observaram que o amido e os açúcares solúveis estavam presentes nos ramos de videira que estavam dormentes em concentrações aproximadamente iguais, mas as concentrações dos açúcares declinam rapidamente após a brotação.

Os carboidratos são a principal fonte de energia para as alterações metabólicas que ocorreram durante o período de dormência e para brotação e floração (Sherson et al., 2003). Além disso, açúcares solúveis também são reconhecidos como importantes moléculas sinalizadoras envolvidas em vários processos no ciclo de vida de plantas, incluindo dormência (Sheen et al, 1999;. Gibson, 2000; Smeekens, 2000).

No entanto, poucos estudos têm abordado a dinâmica dos carboidratos durante a dormência de inverno e em torno da zona meristemática dentro das gemas. A disponibilidade de carboidratos nestas estruturas é, presumivelmente, de grande relevância para o controle da quebra da dormência, do crescimento e do desenvolvimento e podem estar relacionados à necrose de gemas (Bonhomme, 1998; Marquat et al., 1999). Estudos realizados por Sauter (1988)

mostraram que a conversão de amido em açúcares solúveis pode ser induzida mesmo em ramos isolados submetidos à baixa temperatura, o que facilita o estudo destes açúcares mesmo em condições tropicais.

Questiona-se ainda como seria a mobilização das reservas dessas espécies, quando submetidas a condições de clima tropical, pois a maioria das observações fora realizada em vegetais de clima temperado, ou seja, em condições de inverno frio e com baixa flutuação térmica.

#### **4.6. Acúmulo de frio nas gemas de videiras**

Ao final do inverno, com a chegada da primavera e de condições favoráveis ao desenvolvimento, a videira inicia um novo ciclo vegetativo/productivo. Contudo, o início e a homogeneidade da brotação são determinados pelo tempo e pela intensidade de exposição das plantas a baixas temperaturas. Este tempo e a intensidade de frio pra iniciar a brotação é intrínseco de cada variedade, tendo variedades com maior ou menor exigência de frio.

Segundo Dokoozlian (1999), o período de exposição ao frio para a quebra de dormência das gemas de videiras varia entre 50 e 400 horas a temperaturas abaixo de 7°C, dependendo da cultivar. Mohamed et al. (2010) mostraram que tratamentos com 400 h ou mais a 5°C induziram mais de 50 % de quebra de dormência na videira cv. Superior Seedless, sugerindo que a baixa temperatura é um dos principais fatores para a liberação da endodormência. Entretanto, para *Vitis riparia*, estudos indicaram que são necessárias 1500 h de frio para a quebra de dormência (Mathiason et al., 2009).

Para a quebra de dormência a exposição ao frio é de particular importância. As gemas permanecem dormentes até que tenham acumulado horas de frio suficientes (Lang, 1997). Sob condições subtropicais, a falta de frio no inverno tem sido considerada um fator que altera o padrão normal de quebra de dormência em árvores frutíferas, resultando em brotação lenta e deficiente (Saure, 1985). O problema se torna mais complexo nos locais onde os invernos são quentes, já que a produtividade é fortemente condicionada pelo nível de brotação das gemas e, o acúmulo de frio em cada ciclo da cultura é irregular e às vezes até desprezível. Alguns efeitos adversos da baixa exposição ao frio na videira, assim como em outras frutíferas de clima temperado, seriam: atraso na

brotação das gemas, diminuição de ramos por planta e da produtividade, pouca uniformidade e desenvolvimento dos ramos e atraso na maturação das bagas (Petri et al., 1996; Or et al., 2002).

Tradicionalmente, o acúmulo de unidades de frio (do inglês: *chilling units* - *CU*) tem sido utilizado como um indicador de cumprimento de dormência, para estimar datas de brotação e determinar a necessidade de pulverização de promotores químicos para a quebra de dormência (Dokoozlian, 1999). O acúmulo de unidades de frio tem sido utilizado em grande parte por causa da ausência de mudanças visíveis e a falta de marcadores endógenos que permitem a determinação do estágio de dormência de gemas (Arora et al., 2003), levando em consideração apenas a temperatura do ar. No entanto, mesmo que nenhuma alteração seja visível, dormência é um estado ativo fisiológica e bioquimicamente.

Para determinar a quantidade eficiente de frio, as temperaturas são transformadas em unidades de frio. Este método é baseado no acúmulo das horas efetivas de frio durante a temporada de inverno. Uma unidade de frio é igual a uma hora de exposição abaixo de 7,22°C e a contribuição do frio torna-se menos efetiva com a temperatura subindo ou caindo muito abaixo deste limiar (Lorimer e Hill, 2006). Quando a exigência de frio é satisfeita, as gemas tornam-se sensíveis a temperaturas quentes, com a retomada de seu crescimento ativo.

O método para determinar os requisitos de frio para frutas decíduas proposto por Weinberger em 1950 é baseado na premissa de que as gemas devem permanecer um número de horas sob uma temperatura crítica ( $<7$  e  $> 0^{\circ}\text{C}$ ) durante a temporada de inverno (chilling hours ou CH ou horas de frio) para a quebra de dormência adequada na primavera. Desta forma, espécies de baixo ( $< 500$  CH) e alto ( $> 1000$  CH) requerimento de frio são definidas de forma arbitrária (Tao, 2005).

Já o Modelo de Utah (Richardson et al., 1974) supõe que o acúmulo de frio ocorre dentro de uma faixa de temperatura de 2,5 e 12,5°C, fora da qual, o acúmulo é nulo ou negativo. Este modelo, embora tenha dado bons resultados em climas temperados, produz uma grande quantidade de valores negativos em clima subtropical e por isso a sua utilização e aplicabilidade têm sido limitadas (Dennis Junior, 2003). A modificação deste modelo, que consiste em não considerar os valores negativos do modelo de Utah, tem sido chamada de *Positive Chill Units*

(PCU ou Unidades de Frio Positivo) e sua aplicação nas zonas subtropical tem melhorado os resultados obtidos (Linsley-Noakes et al., 1995).

A videira é uma das culturas com maior variabilidade genética e, conseqüentemente, com grande adaptação a uma ampla variedade de climas (Pinto et al., 2007), apesar da pouca exigência em frio em relação a outras plantas decíduas. E a exposição de gemas cortadas a condições artificiais de baixa temperatura provou ser um método útil de simular a resposta das gemas às condições naturais de frio (Dokoozlian, 1999; Dennis Junior, 2003; González-Rossia, et al., 2008), proporcionando mais estudos nesta área.

#### **4.7. Xilema como fonte de açúcares solúveis para as gemas de videiras**

O restabelecimento do crescimento vegetativo e reprodutivo da videira depende da mobilização de uma série de metabólitos, incluindo aminoácidos, nutrientes minerais e carboidratos não estruturais dos órgãos perenes – raízes, tronco e ramos (Zapata et al., 2004). Pesquisadores têm destacado a importância das raízes como a principal fonte de mais de 80% de carboidratos para o restabelecimento das videiras (Bates et al., 2002, Zapata et al., 2004).

Se os carboidratos utilizados para a brotação das gemas são armazenados longe da gema, eles têm de ser transportados para ela. Todavia, a circulação do floema é bloqueada durante o inverno (Aloni et al., 1991), de modo que o fornecimento de carboidratos para as gemas dependerá do transporte na seiva do xilema (Sauter 1980, Ameglio et al., 2000).

O xilema está relacionado com a mobilização e translocação dos carboidratos (Campbell e Strother, 1996). A mobilização de açúcares, a partir das reservas de amido, via xilema, visa aumentar a quantidade de açúcares solúveis potencialmente utilizáveis para o metabolismo celular (Améglio et al., 2001).

A composição da seiva do xilema muda principalmente no inverno e início da primavera, especialmente em relação aos carboidratos (Sauter 1980, Ameglio et al., 2004, Maurel et al., 2004). No pêssego, Maurel et al. (2004) encontraram uma concentração decrescente de sacarose e sorbitol durante o inverno e um aumento de glicose e frutose, pouco antes da brotação. Estes carboidratos poderiam ser a fonte de energia para a retomada de crescimento após o inverno.



A mobilização de reservas de carboidratos (principalmente amido) que na primavera é facilitada pela degradação enzimática do amido em açúcares solúveis, pode ser observada pelos fluxos de glicose, sacarose e frutose no xilema, com predominância de glicose (Campbell e Strother, 1996). Brotações em desenvolvimento são exclusivamente dependentes da oferta de mobilização de reservas de carboidratos até que as primeiras folhas em uma brotação tornem-se fotossinteticamente ativas (Kliewer, 1990).

A mobilização de nutrientes no xilema até a gema parece ser essencial para apoiar as fases iniciais do crescimento e desenvolvimento das novas brotações (Glad et al., 1992). As videiras exsudam grandes quantidades de fluido do xilema durante a poda, conhecido popularmente como “choro da videira”. Este “choro” é resultado de uma pressão hidrostática positiva produzida nas raízes (Marangoni et al., 1986). Espécies de *Vitis* são capazes de gerar pressão hidrostática suficiente para restaurar vasos cheios de ar do xilema a grandes alturas (Sperry et al., 1987). Glad et al. (1992) relataram que a cv. Chardonnay pode perder mais de 1,5 L de seiva do xilema após a poda no fim do inverno ou início da primavera. Segundo estes mesmos autores, os principais compostos orgânicos encontrados na seiva do xilema são os aminoácidos (5500  $\mu\text{M}$ ) e ácidos orgânicos (3500  $\mu\text{M}$ , principalmente malato, citrato e tartarato), enquanto que a concentração de carboidratos solúveis (glicose, sacarose, frutose) é de 500  $\mu\text{M}$ . Os teores de glicose são predominantes entre os carboidratos e o conteúdo médio de sacarose é muito baixo (inferior a 40  $\mu\text{M}$ ).

#### **4.8. Índices biometeorológicos**

O comportamento fenológico da videira e as suas exigências climáticas são importantes parâmetros que o viticultor pode utilizar para o conhecimento antecipado das prováveis datas de colheita, indicando o potencial climático da região para produção e permitindo o planejamento das atividades agrícolas.

O estudo simultâneo de dados meteorológicos com o desenvolvimento das plantas é realizado por meio de índices, que são equações/modelos matemáticos nos quais dados meteorológicos traduzem a possibilidade rentável de sucesso de uma cultura. Os cálculos tendem a expressar o desenvolvimento da cultura pelos aspectos qualitativos e quantitativos, ou mostram as datas limites de plantio e

colheita. Índices biometeorológicos promovem informações que possibilitam tanto o planejamento da safra (poda, colheita e escalonamento da produção), como o acompanhamento da videira, permitindo estimar-se a provável data de colheita (Sentelhas, 1998).

Os índices biometeorológicos permitem estimar a duração dos estágios de desenvolvimento das videiras, uma vez que consideram a influência dos fatores climáticos. Dentre os diversos fatores externos que influenciam no crescimento e no desenvolvimento das plantas, Costacurta & Roselli (1980) e Hidalgo (1993) afirmam que as exigências climáticas da videira são definidas principalmente pela temperatura, luminosidade, umidade atmosférica e disponibilidade hídrica.

Os primeiros estudos relacionando clima-vegetal consideravam somente a temperatura do ar como fator de desenvolvimento vegetal. Assim, originou o conceito de unidades térmicas ou graus dia. Pesquisadores como Lana e Arbor (1951), Arnold (1959), Holmes e Robertson (1959), Allison (1963), Mederski et al. (1973), entre muitos outros, desenvolveram e aplicaram este índice. Porém, somente a temperatura do ar, isoladamente, não explica todo o processo de desenvolvimento de um vegetal e por isso sugeriu-se a introdução de outros elementos meteorológicos nos modelos já existentes, de modo a aperfeiçoá-los.

Diversos índices biometeorológicos foram estabelecidos para a videira, na maioria dos casos orientados para regiões vitícolas do hemisfério norte, onde a temperatura é o principal fator envolvido na adaptação das cultivares (Huglin, 1986, Hidalgo, 1993). Atualmente, vários são os índices com aplicação na viticultura, embora pouco ainda seja conhecido quanto às suas aplicabilidades e limitações (Sentelhas1998).

Em regiões caracterizadas por invernos menos rigorosos e de curta duração, como observados em regiões tropicais, a videira apresenta brotações deficientes e desuniformes, e um passo importante seria o conhecimento das variáveis meteorológicas dessa região, de modo entender como se correlacionam com o desenvolvimento da videira, principalmente durante a indução da brotação.

Estes índices são calculados durante diferentes períodos do ciclo vegetativo da videira. E são importantes para a caracterização das potencialidades climáticas de uma região, sendo fortemente ligados ao potencial qualitativo e às características da uva e dos produtos vinícolas.

#### 4.8.1. Graus dias (GD)

Réaumur, em 1735, foi o primeiro a sugerir que “o somatório da temperatura média, para uma fase do desenvolvimento das plantas é constante para uma dada espécie vegetal” (Villa Nova et al., 1972).

O índice térmico, também conhecido como graus dia (GD) é a soma das temperaturas acima da temperatura de base (de 10 °C) verificadas durante o período de vegetação ativa (Winkler, 1965), e foi um dos primeiros índices usados para a videira. Esse índice pressupõe que, para o crescimento e desenvolvimento, os vegetais requerem uma quantidade constante de energia expressa em termos da temperatura do ar (constante térmica), sendo que o acúmulo dessa energia acontece somente acima de certa temperatura-base, abaixo da qual a planta não se desenvolve (Sentelhas, 1998).

A duração dos diferentes subperíodos da videira geralmente é condicionada pela disponibilidade térmica da região de cultivo (Pouget, 1963, Mandeli, 1984). Em função disso, a caracterização das exigências térmicas da videira através do conceito de graus dia tem sido usada para avaliar a duração do ciclo, a produção e a qualidade do produto, apesar de suas limitações (Hidalgo, 1980).

A adoção desses índices pelo viticultor possibilita o planejamento da colheita, com a estimativa das épocas mais adequadas para se realizar as práticas culturais (Pedro Júnior et al., 1993). Entre os vários índices biometeorológicos com aplicação na viticultura, Sentelhas (1998) afirma que o índice térmico, quer seja pela simplicidade, quer pela confiabilidade que apresenta, tem sido o mais utilizado na viticultura tropical.

Viana (2009) estudando a brotação de gemas de videiras em diferentes períodos do ano observou que o somatório de dias apresenta diferenças para os ciclos estudados, indicando a particularidade de cada época. Além disso, Almeida (1972) considera que as regiões com maiores somas térmicas, em menor espaço de tempo, devem ser indicadas para o cultivo de uva de mesa.

#### 4.8.2. Índice heliotérmico de Huglin (IH)

Segundo Tonietto e Carbonneau (1999), o Índice Heliotérmico de Huglin leva em conta o comprimento do dia para altitudes elevadas e mostra boa relação com o potencial teor de açúcar da uva.

Huglin (1978) desenvolveu o índice heliotérmico (IH) com o objetivo de melhorar a validade da utilização da soma térmica em videira. Empregando este índice, Huglin observou que para algumas videiras obtinha-se uma nítida melhoria da correlação entre a soma da temperatura ativa e taxa de açúcares nos frutos. Com base no princípio de que a temperatura noturna não tem nenhum efeito na atividade fotossintética, este índice leva em consideração somente o somatório da temperatura ativa durante o período diurno, quando há atividade fotossintética.

O índice é estabelecido a partir das médias mensais multiplicadas pelo número de dias do mês considerado. De maneira geral, assume-se que o limite inferior de possibilidades de cultivo da videira ocorre aproximadamente para  $IH = 1500$ . Até  $IH = 2400$  todas as variedades encontram condições suficientes, e as dificuldades que possam apresentar correspondem a outros motivos, tais como regime hídrico, etc. (Hidalgo, 1993).

O componente “hélio” é devido ao coeficiente multiplicador ( $k$ ), o qual expressa o comprimento do dia em relação à latitude. Seguem abaixo os valores de  $k$  de acordo com as latitudes:

latitudes entre  $40^{\circ}01'$  a  $42^{\circ}00'$ ,  $k = 1,02$ ;

latitudes entre  $42^{\circ}01'$  a  $44^{\circ}00'$ ,  $k = 1,03$ ;

latitudes entre  $44^{\circ}01'$  a  $46^{\circ}00'$ ,  $k = 1,04$ ;

latitudes entre  $46^{\circ}01'$  a  $48^{\circ}00'$ ,  $k = 1,05$ ;

latitudes entre  $48^{\circ}01'$  a  $50^{\circ}00'$ ,  $k = 1,06$ ;

latitudes menores de  $40^{\circ}$ ,  $K = 1$ .

Atualmente, este índice é frequentemente usado pela sua confiabilidade para obtenção de descritores de zonas aptas ao cultivo de videiras, especialmente videiras destinadas à produção de vinhos (Conceição e Tonietto 2005).

Conceição e Tonietto (2005) classificam as regiões vitícolas em seis classes de acordo com os valores do IH:

$I_{H+3} = IH > 3000$ , região vitícola 'muito quente';

$I_{H+2} = 2400 < IH < 3000$ , região vitícola 'quente';

$I_{H+1} = 2100 < IH < 2400$ , região vitícola 'temperada quente';

$I_{H-1} = 1800 < IH < 2100$ , região vitícola 'temperada';

$I_{H-2} = 1500 < IH < 1800$ , região vitícola 'fria';

$I_{H-3} = IH < 1500$ , região vitícola 'muito fria', abaixo do limite inferior heliotérmico para videiras.

Mandelli (2002) estudando a Niagara Branca na região de Bento Gonçalves-RS determinou valor do IH de 3033 desde o início da brotação até o final da queda das folhas. Conceição e Tonietto (2005), estudando o potencial de uvas para elaboração de vinhos (*Vitis vinifera*) na região norte de Minas Gerais, encontraram valores do IH variando entre 1865 a 2319 para o ciclo.

#### **4.8.3. Índice heliotérmico de Geslin (IHG)**

Geslin (1944), ao trabalhar com a cultura de trigo, na França, estabeleceu uma metodologia de caracterização bioclimática (exigência térmica e de fotoperíodo) com base em um índice heliotérmico.

O índice heliotérmico de Geslin é calculado por um somatório em um período, do produto da temperatura média do ar e do fotoperíodo. Esse índice é bastante utilizado em culturas anuais. Diversos autores (Cunha et al., 1997 e 1999, Sentelhas e Ungaro 1998, Viana, 2009) desenvolveram trabalhos utilizando-o para caracterização bioclimática para estimar a duração das fases fenológicas das culturas de centeio, girassol e videira.

O fotoperíodo e a temperatura destacam-se como determinantes na indução e a saída da dormência da videira (Pérez e Lira, 2005). Assim, este índice deve ser melhor estudado para a compreensão das melhores épocas de brotação na videira nas regiões tropicais.

#### **4.8.4. Índice de frio noturno (IF)**

O IF informa as condições térmicas relativas ao frio noturno, durante o período de maturação da uva. Este índice é calculado especificamente para o

período da colheita, sendo no hemisfério norte calculado a partir das médias das temperaturas mínimas do ar em °C do mês de setembro, enquanto que no hemisfério Sul é utilizado o mês de março.

De acordo com os valores do IF, Conceição e Tonietto (2005) classificam as regiões vitícolas em quatro classes:

- ✓  $IF_{-2} = IF > 18$ , região vitícola 'de noites quentes';
- ✓  $IF_{-1} = 14 < IF \leq 18$ , região vitícola 'de noites temperadas';
- ✓  $IF_{+1} = 12 < IF < 14$ , região vitícola 'de noites frias';
- ✓  $IF_{+2} = IF < 12$ , região vitícola 'de noites muito frias'.

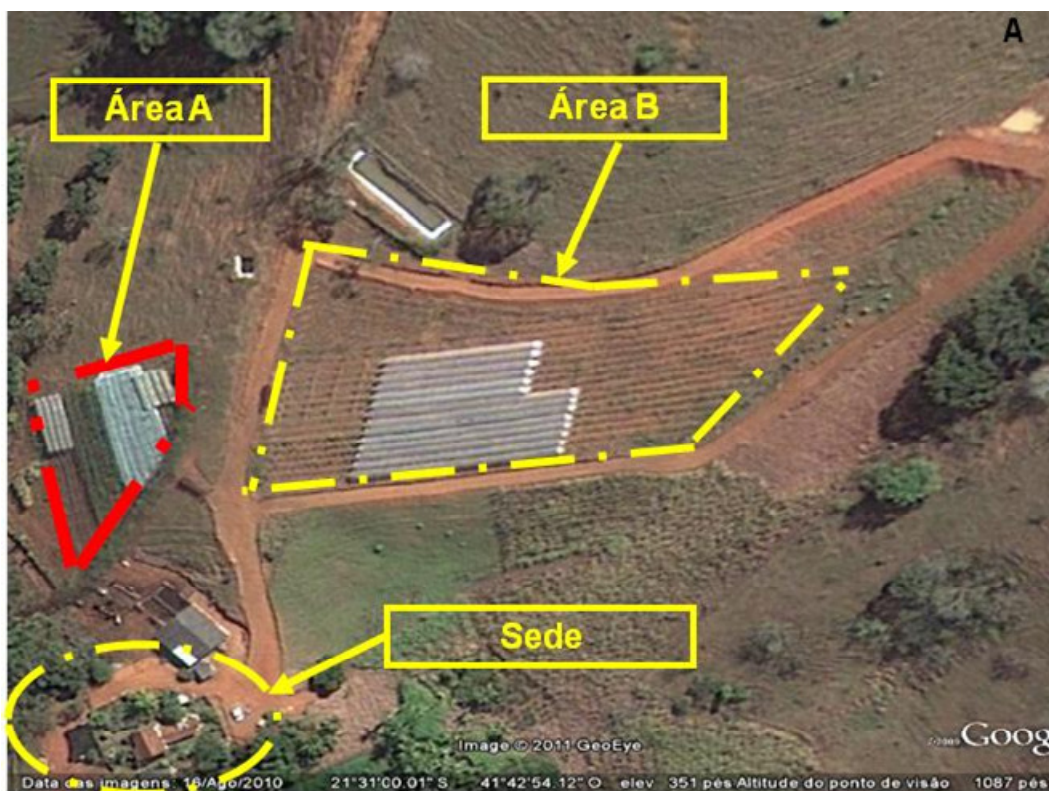
Pommer et al. (2009) e Viana et al. (2009) aplicando IF na região norte do Estado do Rio de Janeiro, verificaram que as temperaturas noturnas da região são elevadas, possibilitando a produção de uvas com colheitas em mais de uma ocasião por ano e em épocas diferentes, do mesmo modo observado por Conceição e Tonietto (2005) para a região norte de Minas Gerais.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Material vegetal e localização

Os experimentos foram realizados com plantas do vinhedo da propriedade rural Tabuinha, situada no 3º distrito do município de São Fidélis, RJ. A área experimental se encontra na latitude de 21º30'58"S e longitude de 41º42'49,6"W (Fig. 1). A região, segundo Köppen (Ometto, 1981), é classificada como tropical chuvosa, clima de bosque (Am), variando a temperatura média mensal, entre 18,5°C, no mês mais frio e 30,7°C, no mês mais quente durante o período de julho de 2009 a dezembro de 2012 (Fig. 3). A precipitação média anual é de 1023 mm, com chuvas concentradas nos meses de novembro a janeiro.

As avaliações foram realizadas em plantas da variedade Niagara Rosada conforme figura 1A: **Área A** – plantadas em junho de 2006 sob o porta-enxerto IAC 572, conduzidas em latada, espaçadas a 2,5 m entre linhas e 2 m entre plantas e irrigadas por meio de dois gotejadores por planta, espaçados a 0,50 m do caule; **Área B** – plantadas em janeiro de 2010 sob o porta-enxerto IAC 766, conduzidas em latada, espaçadas a 2,7 m entre linhas e 2 m entre plantas e irrigadas por meio de um gotejador por planta, próximo ao caule.



**Fig. 1:** Vista aérea da área experimental. **A:** vista aérea, créditos Google Maps. **B:** vista frontal, da área experimental ampliada.



Foram realizadas podas mistas ao longo do ano (mantendo esporões com duas gemas, na poda curta, e varas com 6 a 8 gemas, na poda longa). Os ramos retirados da poda foram levados imediatamente para o Laboratório de Fisiologia Vegetal na UENF onde foram realizados os tratamentos, que serão descritos a diante.

### **5.1.1. A cultivar estudada – Niagara Rosada**

Essa cultivar é resultado de uma mutação somática natural da ‘Niagara Branca’ (*Vitis labrusca* x *Vitis vinifera*), que surgiu no município de Louveira, SP, em 1933 (Sousa, 1996).

Uva rústica, de fácil cultivo, tolerante às doenças e pragas, muito produtiva e apreciada pelos consumidores brasileiros. Os cachos aparecem opostos a partir da 3ª ou 4ª gema do ramo produtivo, apresentam baixa resistência ao transporte e armazenamento, sendo compactos e variando de pequenos a médios. As bagas possuem coloração rosada, de sabor foxado, com polpa que se desprende facilmente da casca. É a cultivar mais plantada no Brasil.

## **5.2. Etapas experimentais**

### **5.2.1. Experimento 1: Indução de brotação e índices biometeorológicos da videira Niagara Rosada em diferentes épocas de poda na região**

Para avaliar a indução da brotação em diferentes épocas do ano e sua relação com os índices biometeorológicos: graus dias (GD), índice heliotérmico de Huglin (IH), índice de frio noturno (IF) e índice heliotérmico de Geslin (IHG), ramos da videira Niagara Rosada foram coletados quando as plantas estavam em período vegetativo, logo após a colheita dos cachos, até a poda, no ano de 2010. Os ramos foram coletados aproximadamente a cada 8 dias e foram levados ao laboratório onde foram separados em dois grupos de 30 gemas, sendo tratados com água (controle) e com cianamida hidrogenada 5% (Dormex®) para a indução da liberação da dormência das gemas (Fig. 2A).

A indução da brotação foi avaliada ainda, ao longo de dois anos nas diferentes épocas de poda realizadas no vinhedo, nos anos de 2010 e 2012. Os fragmentos de ramos contendo uma gema foram separados em dois grupos com três repetições de 16 gemas cada, onde foram tratados com água (controle) e

com cianamida hidrogenada 5% (Dormex<sup>®</sup>) para a indução da liberação da dormência e realizado o cálculo dos os índices biometeorológicos.

### **Ação do fotoperíodo para a liberação da dormência de estacas contendo uma gema**

Para observar a ação do fotoperíodo sob a indução da liberação da dormência, fragmentos de ramos contendo uma gema coletados na poda de agosto de 2012 foram separados em três grupos de dois tratamentos cada, sendo tratados com água (controle) e com cianamida hidrogenada 5% (Dormex<sup>®</sup>), tendo cada tratamento três repetições de 16 gemas. Esses três grupos foram acomodados em bandejas contendo água, suspensos por placa de isopor, onde foram colocados em câmaras tipo BOD a  $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob 8, 12 ou 16 horas de iluminação, cada grupo, com aproximadamente 80  $\mu\text{mol}$  de luz para a indução da liberação da dormência das gemas (Fig. 2A).

### **5.2.2. Experimento 2: Dinâmica dos carboidratos necessários para a indução da brotação**

O estudo da conversão dos carboidratos necessários para a indução da brotação foi realizado a partir de quatro experimentos que seguem:

1. A indução da brotação das gemas foi estudada, em resposta ao acúmulo de frio e à interconversão dos carboidratos. Ramos da videira Niagara Rosada foram coletados durante a poda de agosto e outubro de 2011 e janeiro e julho de 2012, e levados ao laboratório onde ficaram armazenados até completarem 0, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1000 horas de frio a  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Para isso, cerca de 50 fragmentos contendo uma gema foram colocados em papel de germinação úmidos e acomodados em sacos de polipropileno (fig. 2B), para cada tratamento, como descrito por Vergara e Pérez (2010);

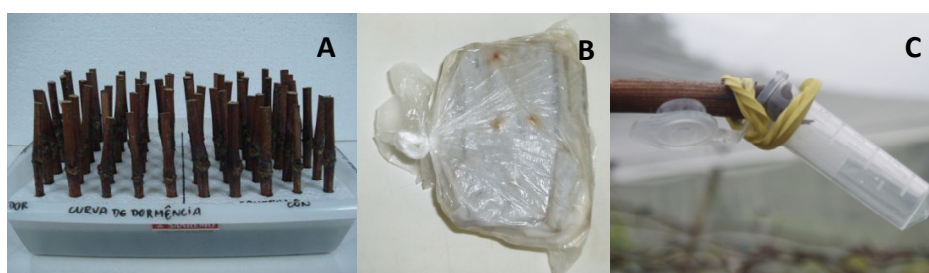
2. Para a observação das alterações no metabolismo dos carboidratos das gemas durante as mudanças de temperaturas que levam a indução e quebra de dormência, outro grupo de fragmentos de ramos foi submetido a variações de temperaturas. Os ramos coletados durante as podas de março e julho de 2012 foram cortados em fragmentos contendo uma gema e colocados (cerca de 50

fragmentos, por tratamento de temperatura) em papel de germinação úmido, e acomodados em sacos de polipropileno (Fig. 2B), onde foram expostos às temperaturas decrescentes (25, 15 e 5°C), seguidas de temperatura ambiente (25°C), por aproximadamente sete dias cada temperatura.

Após o período de incubação de ambos os grupos de experimentos 1 e 2, com baixas temperaturas, foi realizada a indução da liberação da dormência das gemas (três repetições de 16 gemas cada tratamento de temperatura) e avaliado o conteúdo de carboidratos (glicose, frutose, sacarose e carboidratos totais),

3. Para o estudo do transporte de açúcares dos tecidos foi realizada a análise da composição da seiva do xilema quanto ao conteúdo de carboidratos presentes, nos períodos compreendidos em: sete dias antes da poda, durante a poda e 15 e 30 dias após a poda, nos meses de abril e agosto de 2012. Para isso, o exsudado da seiva do xilema (conhecido popularmente como choro da videira) de 2 ramos por plantas, sendo 8 plantas, foi coletado em tubos tipo ependorffs (Fig. 2C) aproximadamente às sete horas da manhã, colocados em freezer a -20°C para o congelamento dos mesmos e levado ao laboratório, em isopor com gelo, para a análise do conteúdo de carboidratos (glicose, frutose, sacarose e carboidratos totais) de amostras compostas de 3 seivas;

4. O efeito da aplicação de açúcares para a liberação da dormência foi analisado a partir da imersão da base dos fragmentos de ramos contendo uma gema, coletados durante a poda de fevereiro, março, abril e agosto de 2012, em solução contendo açúcares solúveis (glicose 250  $\mu$ M, frutose 250  $\mu$ M, sacarose 250  $\mu$ M e uma solução mix dos três açúcares, Glad et al., 1992). Estes foram deixados em câmaras de crescimento para a indução da liberação da dormência das gemas e a análise do conteúdo dos carboidratos nas gemas foi realizada após três dias do tratamento. As soluções que estavam nas bandejas foram trocadas a cada 4 dias.



**Figura 2:** **A:** fragmentos contendo uma gema acomodados em bandeja, suspensos por placa de isopor. **B:** fragmentos contendo uma gema colocados em

papel de germinação úmidos e acomodados em sacos de polipropileno; **C**: coleta da seiva do xilema no campo.

### **5.3. Metodologias**

#### **5.3.1. Análise da indução da liberação da dormência**

Os ramos coletados durante a poda foram cortados em fragmentos de aproximadamente 10 cm, contendo uma gema (aqui também mencionados como estacas) e foram acomodados em bandejas contendo água, suspensos por placa de isopor, onde receberam os tratamentos, sendo, três blocos de 16 unidades cada tratamento. Estas bandejas foram colocadas em condições ótimas de crescimento em câmara tipo BOD a  $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e 16h de iluminação, com aproximadamente  $80 \mu\text{mol}$  de luz.

As gemas foram avaliadas individualmente a cada dois dias, até um período máximo de 60 dias. Foram feitas observações do número de gemas que iniciaram a brotação onde estas deveriam apresentar a ponta verde (PV - aparecimento de modificações na coloração da gema, ficando esta com o ápice esverdeado).

Com a contagem das gemas que iniciaram a brotação a cada 2 dias, em condições ótimas de crescimento (luminosidade e temperatura) estima-se o tempo médio para que 50% das gemas tratadas tenham a dormência quebrada (detecção do estágio PV), um índice denominado  $\text{BR}_{50}$  (Koussa et al., 1994). A resposta à quebra de dormência em uma única gema cortada, em condições ótimas é um indicador comum usado para descrever a profundidade de dormência em videiras (Koussa et al., 1994).

#### **5.3.2. Índices biometeorológicos**

O cálculo dos índices biometeorológicos foi realizado a partir de dados climáticos obtidos por meio de sensores automáticos Dataloger WatchDog instalados na área de produção.

### 5.3.2.1. Graus dias (GD)

O somatório de graus dias foi calculado utilizando-se as equações de Villa Nova et al. (1972):

$$GD = \sum (T_m - T_b) + (T_M - T_m)/2$$

em que: GD: graus dias; TM: temperatura máxima diária (°C); Tm: temperatura mínima diária (°C) e Tb: temperatura base (10°C).

### 5.3.2.2. Índice heliotérmico de Huglin (IH)

O índice heliotérmico de Huglin (IH) foi calculado segundo a fórmula proposta por Huglin (1978):

$$IH = \sum \{[(T_{med} - T_b) + (T_M - T_b)]/2\} \times k$$

em que: Tmed: temperatura média (°C); Tb: temperatura base (10°C); TM: temperatura máxima (°C) e k: coeficiente multiplicador (1).

### 5.3.2.3. Índice heliotérmico de Geslin (IHG)

O índice heliotérmico de Geslin (IHG) foi calculado segundo a fórmula proposta por Geslin (1944):

$$IHG = (1/100) \times \sum (T_{med} \times n)$$

em que: Tmed: a temperatura média (°C) e n o fotoperíodo médio (horas) do período considerado.

### 5.3.2.4. Índice de Frio Noturno (IF)

O índice de Frio Noturno (IF) foi calculado segundo a fórmula proposta por Tonietto e Carbonneau (1999):

$$IF = T_n$$

em que: Tn é a média das temperaturas mínimas do período em questão.

## 5.3.3. Extração dos carboidratos solúveis (glicose, frutose e sacarose)

A extração de carboidratos solúveis foi realizada a partir das gemas coletadas e congeladas após cada tratamento. Estas foram pesadas (0,05 g), maceradas com nitrogênio líquido e adicionando 500 µL de Etanol 80% em tubos tipo ependorffs. Em seguida, o macerado foi homogeneizado em vortex e por inversão de tubos, e levados para banho a 70 °C por 90 minutos. Decorrido esse tempo, foi centrifugado a 13.600 g por 10 minutos, armazenando-se o

sobrenadante, onde se encontraram os açúcares solúveis. Ao precipitado foram adicionados 500 µL de etanol 80% e após homogeneização as amostras no vortex foram novamente centrifugadas nas mesmas condições descritas acima. O sobrenadante foi acrescentado ao tubo da primeira centrifugação e foram filtrados em filtro de seringa com membrana de celulose de 0.2 µm. Este material foi congelado com nitrogênio líquido e mantido a -20 °C até a determinação dos açúcares.

A seiva do xilema foi somente filtrada e congelada a -20 °C para a posterior determinação.

#### **5.3.4. Determinação dos carboidratos solúveis**

A determinação dos carboidratos solúveis (glicose, frutose e sacarose) foi realizada por meio do aparelho de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) no Laboratório de Biotecnologia – LBT, utilizando a coluna Prevail Carbohydrate ES, com o detector ELSD–LTII (Evaporative Light Scattering Detector), com o programa CLASS-VP (Shimadzu), em uma corrida de 25 min, utilizando como padrões dos carboidratos os padrões da Sigma Aldrich.

#### **5.3.5. Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, sob arranjo fatorial, com três repetições, sendo cada grupo de 16 fragmentos contendo uma gema, considerado uma repetição, composto para cada experimento pelos fatores período do ano e tratamento das gemas.

Os dados foram analisados pelo programa Assistat (UFCG) e realizado o teste de comparação entre médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizada a correlação de Pearson para definir as relações entre os dados de brotação e os índices biometeorológicos e ainda entre as brotações e as temperaturas, pelo programa SAS.

A análise de regressão foi realizada para os dados dos índices biometeorológicos e para o BR50 do tratamento de acúmulo de horas de frio.

## 6. RESULTADOS

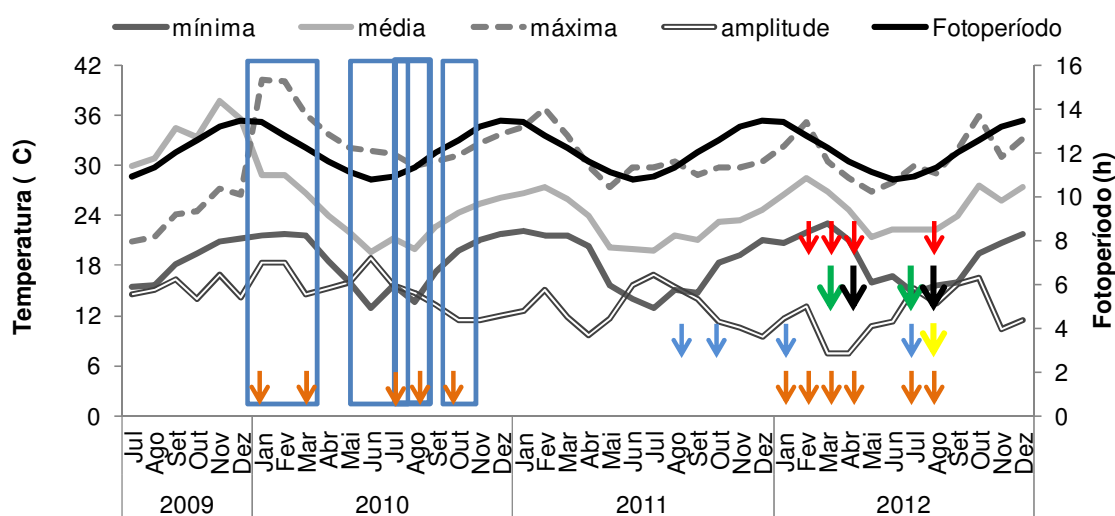
### 6.1. Liberação da dormência no período de repouso vegetativo e os Índices biometeorológicos

A liberação da dormência das gemas de videira Niagara Rosada coletadas logo após a colheita dos cachos até a poda dos ramos, foi observada sob condições ótimas (luz e temperaturas), em laboratório, com e sem a aplicação da cianamida hidrogenada (Dormex<sup>®</sup>), um indutor de brotação comercial (Fig. 4).

Foi observado que gemas tratadas com dormex<sup>®</sup> atingiram 50% da brotação (BR50) com cerca de 10 dias após o tratamento, independente do período avaliado, entretanto, gemas não tratadas (controle), levaram, no mínimo, 23 dias para atingirem a mesma porcentagem de brotação.

No período de janeiro/março, as gemas controles levaram até 68 dias para atingirem o BR50 (Fig. 4A). Este número de dias necessários para BR50 decresce para o período de maio/julho (até 40 dias, Fig. 4B), chegando a valores inferiores a 30 dias no período de julho/agosto (Fig. 4C). No período de agosto/outubro (Fig. 4D), as gemas controles retornam o número de dias para valores acima de 30 dias para atingir 50% de brotação.

Não foram observadas diferenças entre o número de dias necessários para atingir 50 % de brotação dentro de cada ciclo colheita-poda estudado, exceto para o período de janeiro/março, onde os controles dos dias 1/fev e 16/mar levaram 40 dias, enquanto o restante do período ficou próximo dos 70 dias.



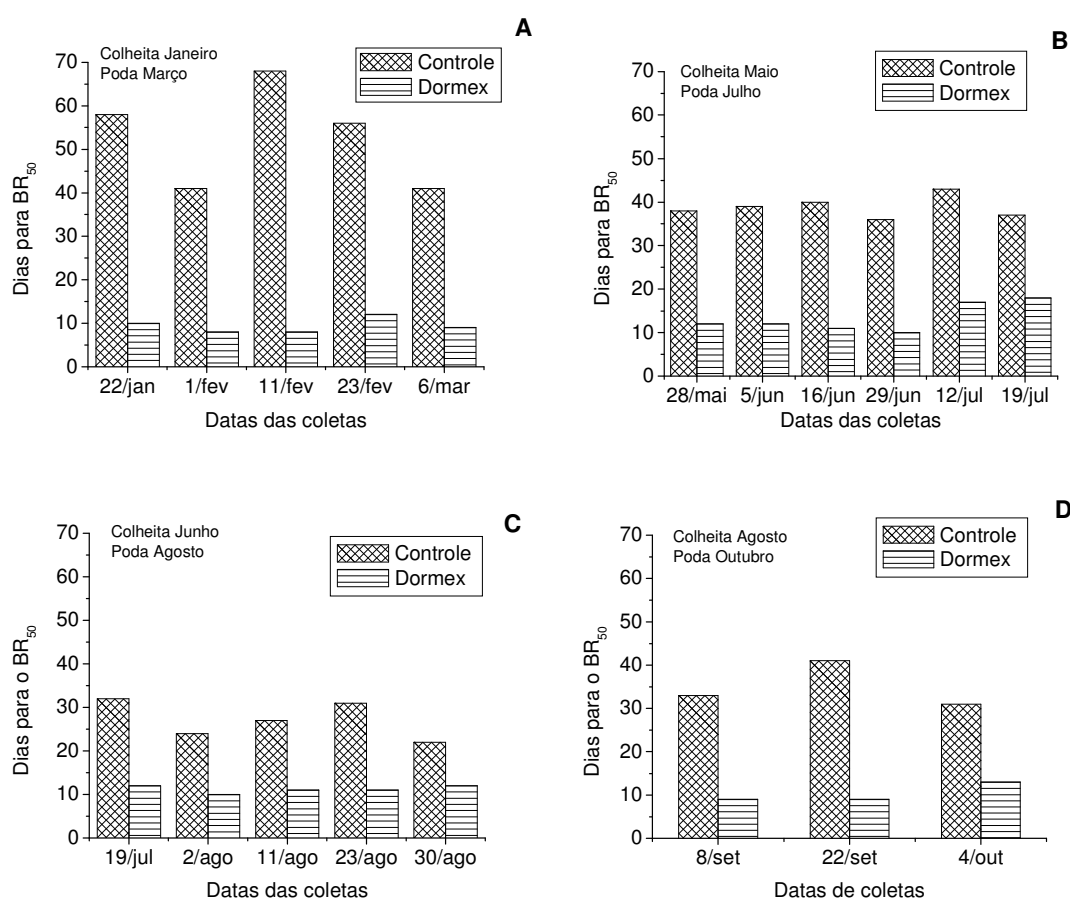
**Figura 3:** Médias mensais das temperaturas mínima, média, máxima e amplitude térmica registradas na propriedade rural 'Tabuinha' em São Fidélis, RJ, ano de 2009/2012, e fotoperíodo do 15º dia de cada mês em estudo, tomando como base a latitude de 22º S (obtido em <http://ce.esalq.usp.br/aulas/lce306/fotoperiodo.html>). Retângulo azul: experimento de coletas de ramos da colheita-poda. Setas laranjas: experimento de liberação de dormência ao longo de dois anos. Seta amarela: experimento fotoperíodo. Setas azuis: experimento de horas de frio. Setas verdes: experimento de decréscimo gradual de temperatura. Setas pretas: experimento da seiva do xilema. Setas vermelhas: experimento de fragmentos de ramos em soluções de açúcares.

A redução do número de dias para atingir o BR50, nos diferentes períodos do ano, para as gemas controles, acompanhou a redução das temperaturas (Fig. 3). Os valores mais baixos de temperaturas mínimas, médias e máximas ocorreram no período de julho/agosto, com temperaturas mínimas chegando a 13°C em junho e agosto, e as médias em torno de 20°C, tornando as gemas mais aptas a brotarem no final de julho e em agosto, apesar da pouca duração e intensidade do frio.

O período de janeiro/março, que teve maiores números de dias para atingir o BR50 nas gemas controles, foi o que apresentou maiores temperaturas, com máximas atingindo 40°C em janeiro e fevereiro. Ambos os períodos apresentaram valores de amplitude térmicas similares, aproximadamente 18°C. Observando os



meses que antecederam a coleta das gemas, período de outubro a dezembro de 2009, as temperaturas mínimas apresentam valores acima de 20°C.



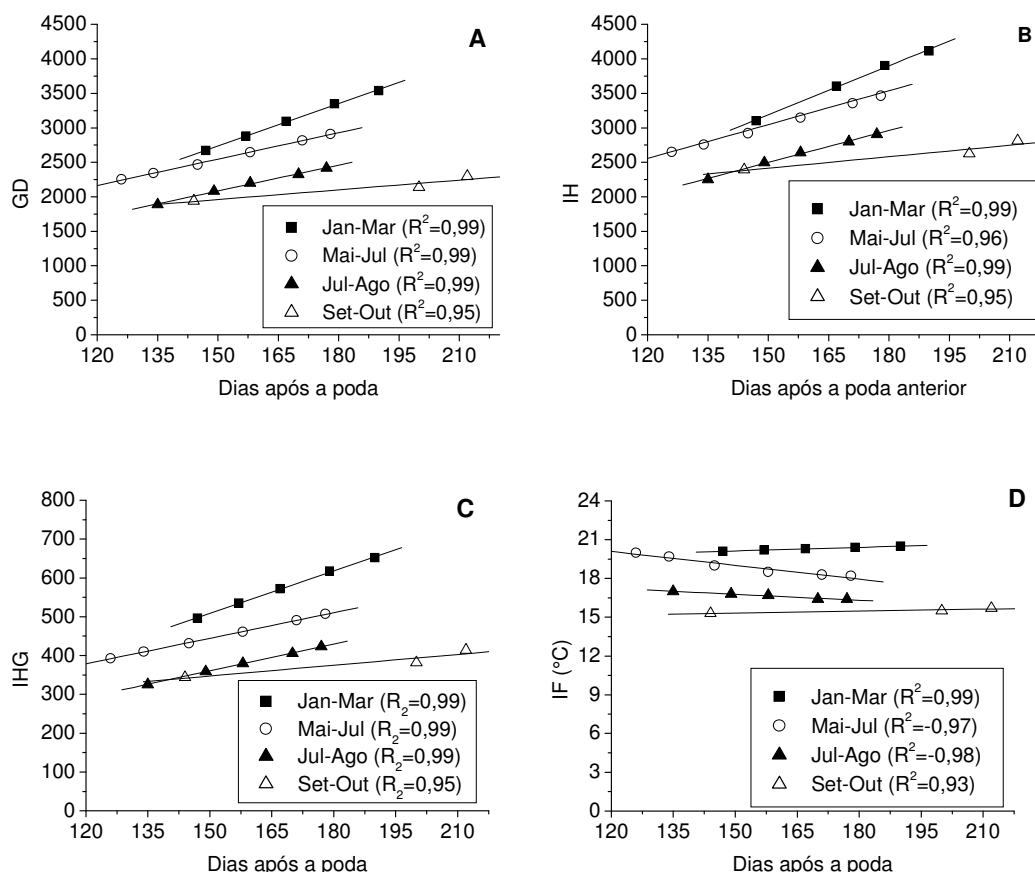
**Figura 4:** Dias necessários para as gemas da videira Niagara Rosada, atingirem 50% de brotação (BR<sub>50</sub>) submetidas a condições ótimas em laboratório, em diferentes datas de coletas do ano de 2010. As avaliações foram realizadas por períodos de aproximadamente 8 dias após a colheita dos cachos, e se seguiram até a poda.

A soma térmica utilizada nos índices biometeorológicos (Fig. 5) foi crescente para os períodos de colheita-poda avaliados devido às datas de coletas diferenciarem em aproximadamente 8 dias, elevando os somatórios.

No geral, as somas térmicas foram mais elevadas para os períodos de janeiro-março e maio/julho. Nos períodos de janeiro-março observou-se que o acúmulo de graus dias (GD, Fig. 5A) esteve entre 2670 a 3540, e os períodos de julho/agosto e setembro outubro, que apresentaram valores menores, com cerca de 1900 a 2400.

Sendo uma modificação do GD, o índice heliotérmico de Huglin (IH) e o índice heliotérmico de Geslin (IHG) levam em consideração o comprimento do dia em relação à latitude. Assim, os valores IH ficaram acima de 3000, para janeiro/março e o final do período de maio/julho e os períodos restantes ficaram abaixo deste valor (Fig. 5B). Já o IHG apresentou valores de 500 a 650 para janeiro/março e valores entre 320 a 420 nos períodos de julho/agosto e setembro/outubro (Fig. 5C).

O IF (Fig. 5D) mostrou valores de 20°C para os períodos de janeiro/março e um decréscimo de 20 para 18°C em maio/julho. Nos períodos de julho/agosto e setembro/outubro observou-se valores abaixo de 18°C, ficando em torno de 16 e 15°C, respectivamente.



**Figura 5: A:** somatório de graus dias (GD), **B:** índice heliotérmico de Huglin (IH), **C:** índice heliotérmico de Geslin (IHG) e **D:** índice de frio noturno (IF), em diferentes épocas de coletas de gemas da videira Niagara Rosada. As avaliações foram realizadas por períodos de aproximadamente 8 dias após a colheita, e se seguiram até a poda. Os valores dos índices são referentes ao somatório dos índices a partir da data da poda do ciclo anterior até a data da coleta. Os valores de GD, IH e IHG são crescentes devido à diferença no número de dias nas diferentes datas dentro dos períodos do ano.

Os valores da correlação de Pearson ( $r$ ) mostrados na Tabela 1 indicam que quanto maior os valores dos índices biometeorológicos e das temperaturas, maior o número de dias para o BR50, ou seja, acima de 25 dias para BR50. Contudo, valores mais reduzidos dos mesmos, não apresentaram relação significativa com o menor tempo para BR50, de até 25 dias.

**Tabela 1.** Coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) entre o número de dias para a brotação sem aplicação de indutores e os índices biometeorológicos e a temperatura (mínima, média, máxima e amplitude).

Período	GD	IH	IHG	IF	Min	Med	Max	Ampl
Até 25 dias para brotação	-0,860 <sup>ns</sup>	-0,725 <sup>ns</sup>	-0,444 <sup>ns</sup>	-0,559 <sup>ns</sup>	-0,521 <sup>ns</sup>	-0,210 <sup>ns</sup>	0,411 <sup>ns</sup>	-0,659 <sup>ns</sup>
Acima de 25 dias para a brotação	0,495*	0,469*	0,539*	0,586*	0,573*	0,678*	0,768*	0,481*

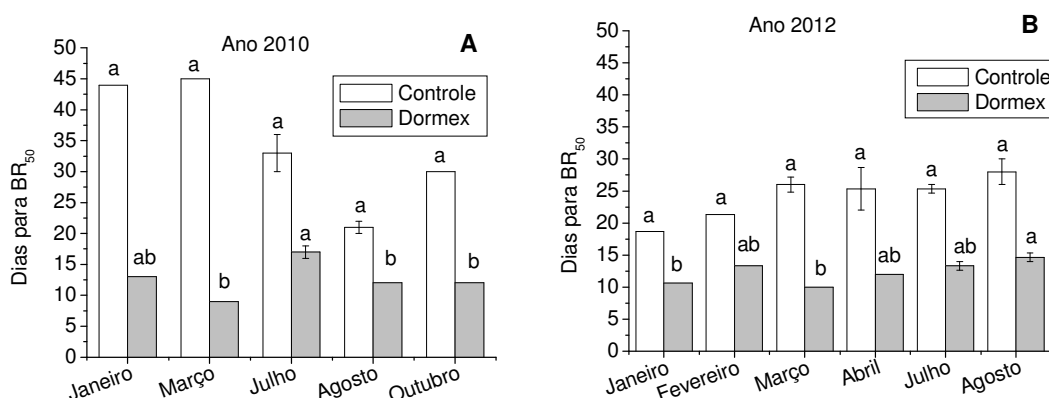
\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

## 6.2. Liberação da dormência e índices biometeorológicos ao longo de dois anos

Assim como observado na figura 4, nos anos de 2010 e 2012, na Figura 6 as gemas atingiram 50% de brotação com o tratamento com dormex<sup>®</sup>, em torno de 11 dias, com exceção para o mês de julho/2010 que levou 17 dias para a brotação e agosto/2012 que levou cerca de 15 dias.

No ano de 2010, as gemas controles levaram mais tempo para atingir os 50% de brotação, em média 34 dias, enquanto as gemas do ano de 2012 levavam 25 dias em média. No ano de 2010, os meses de janeiro e março foram os que mais contribuíram para estes valores, chegando a 44 dias para a brotação de 50% das gemas. Este elevado número de dias para brotar foi coincidente com as maiores temperaturas do ano, de pouco mais de 40 °C (Fig. 3), fazendo com que a amplitude ficasse em 18°C, que como mostrado na correlação de Pearson (Tabela 1) tem grande influência nas brotações.

Os meses de agosto de 2010 e janeiro e fevereiro de 2012 levaram, aproximadamente 20 dias para a brotação. Neste mesmo período, observou-se uma amplitude térmica de 12 – 15°C, com temperaturas máximas de 30 a 35°C.



**Figura 6:** Média do número de dias necessários para as gemas da videira Niagara Rosada submetidas a condições ótimas em laboratório, atingirem 50% de brotação (BR<sub>50</sub>) nas diferentes datas de poda. **A:** podas realizadas no ano de 2010 e **B:** podas realizadas no ano de 2012. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre os tratamentos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

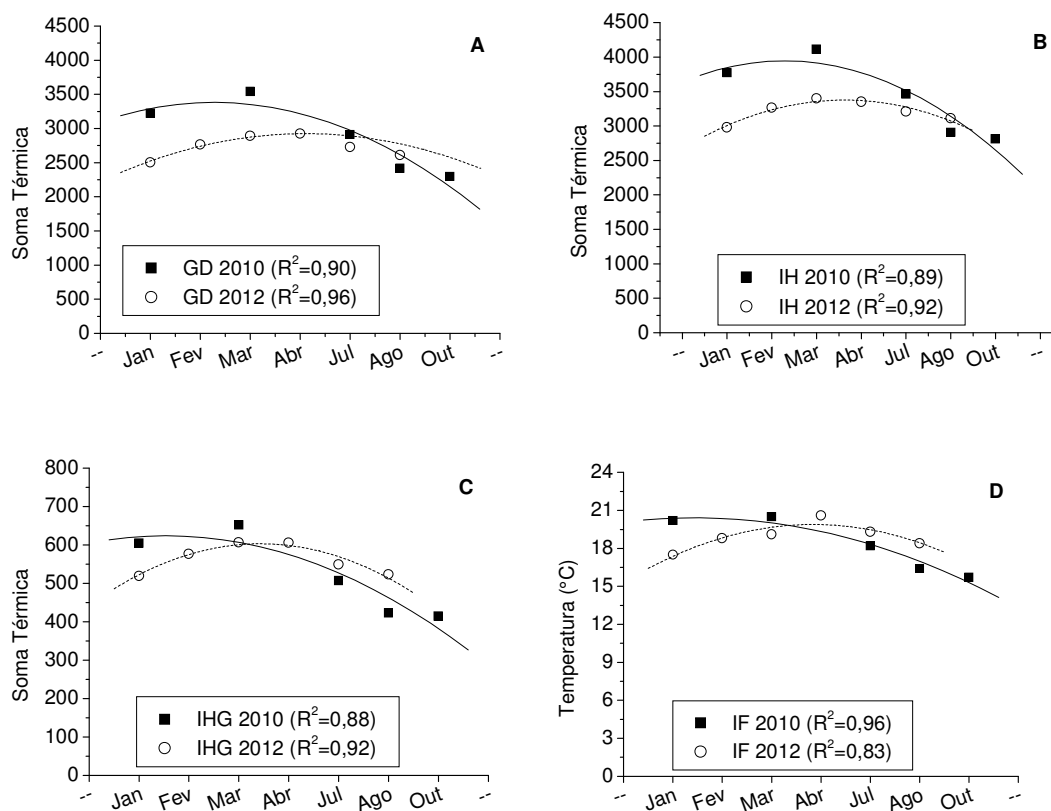
Observando os índices biometeorológicos (Fig. 7), nota-se que a tendência dos dados dos somatórios foi semelhante ao ocorrido para os dias de brotação, independente do ano.

No ano de 2010, nos meses de janeiro e março, observou-se valores superiores em todos os índices calculados e os meses de agosto e outubro os menores valores. Entretanto, nos dois anos de observação, foi visto que os valores mais elevados são encontrados próximos ao período de outono-inverno (março - julho), decrescendo quando vamos para o início de 2012 e para o fim dos anos analisados.

O índice graus dias apresentou soma térmica em torno de 3300 para janeiro e março de 2010, enquanto o restante do período de 2010 e o ano de 2012 cerca de 2300 a 2900 (Fig. 7A).

Os meses de janeiro e março de 2010 mostraram ainda maiores valores do IH, de aproximadamente 4000, enquanto agosto e outubro do mesmo ano e janeiro e agosto/2012, valores de até 3000. Os outros meses apresentaram IH de cerca de 3300 (Fig. 7B).

Na Figura 7C o IHG ficou com valores de 400-600 para os dois anos avaliados. E o IF (Fig. 7D) apresentou valores de até 18°C para os meses de julho a outubro de 2010 e janeiro e agosto de 2012, ficando os restantes dos meses acima deste valor.



**Figura 7:** Cálculo dos índices biometeorológicos em diferentes épocas de poda da videira Niagara Rosada nos anos de 2010 e 2012. **A:** graus dias (GD), **B:** índice heliotérmico de Hugin (IH), **C:** índice heliotérmico de Geslin (IHG) e **D:** índice de frio noturno (IF).

Na correlação de Pearson (Tabela 2), apenas a temperatura mínima mostrou relação significativa para os meses que antecederam a poda no ano de 2010, mostrando que esta nos 3 meses anteriores à poda, pode ter contribuído para as brotações neste ano.

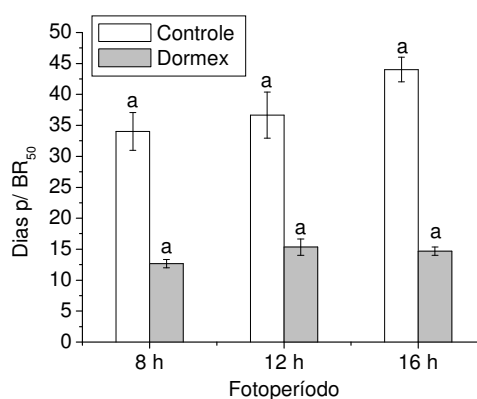
**Tabela 2.** Coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) entre o número de dias para a brotação sem aplicação de indutores e a temperatura (mínima, média, máxima e amplitude) dos meses anteriores à coleta dos ramos (2 e 3 meses).

	Período	Min	Med	Max	Ampl
3 meses	Brotações 2010	0,926*	0,850 <sup>ns</sup>	0,610 <sup>ns</sup>	0,328 <sup>ns</sup>
	Brotações 2012	-0,418 <sup>ns</sup>	-0,296 <sup>ns</sup>	-0,381 <sup>ns</sup>	0,383 <sup>ns</sup>
2 meses	Brotações 2010	0,386 <sup>ns</sup>	0,838 <sup>ns</sup>	0,806 <sup>ns</sup>	0,423 <sup>ns</sup>
	Brotações 2012	-0,438 <sup>ns</sup>	-0,444 <sup>ns</sup>	-0,488 <sup>ns</sup>	0,202 <sup>ns</sup>

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

### 6.3. Ação do fotoperíodo para a liberação da dormência de estacas contendo uma gema

Para observar a ação do fotoperíodo, sob condições ótimas de crescimento, sob a liberação de dormência de gemas das videiras Niagara Rosada, um grupo de fragmento contendo uma gema foi submetido a 8, 12 e 16h de luz, no entanto, não foi observada diferença estatística para os fotoperíodos analisados (Fig. 8).



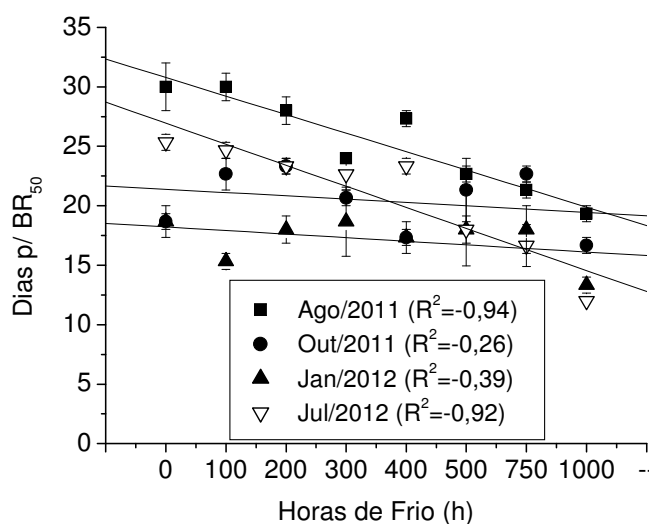
**Figura 8:** Dias necessários para as gemas da videira Niagara Rosada submetidas a 8, 12 e 16h de fotoperíodo, sob condições ótimas em laboratório, atingirem 50% de brotação (BR<sub>50</sub>). Poda: agosto de 2012. Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

#### 6.4. Ação do frio para a liberação da dormência de estacas contendo uma gema

Visto que o fotoperíodo não está influenciando as brotações em condições ótimas, fragmentos de ramos contendo uma gema foram submetidos a horas de frio a 4°C.

No geral, o número de dias para que as gemas submetidas a horas de frio atinjam 50% de brotação (Fig. 9), decresceu com o avanço do número de horas de frio. Este decréscimo foi mais pronunciado para as gemas coletadas no período de inverno, que alcançaram cerca de 35 e 52% de redução para os meses de agosto/2011 e julho/2012 respectivamente, entre o tempo zero e 1000 horas de frio. Porém, esses dois períodos de inverno iniciam os tratamentos com número de dias mais elevados do que os períodos de janeiro/2012 e outubro/2011.

No período de janeiro, as gemas tratadas levaram em média 17 dias para brotar, em condições ótimas, independente do tratamento de frio. Assim como ocorreu para janeiro, no período de outubro o número de dias para BR50 não variou no geral entre os tratamentos de horas de frio, mostrando menor número de dias para 50% de brotação após 400 e 1000h de frio.



**Figura 9:** Dias necessários para as gemas da videira Niagara Rosada atingirem 50% de brotação (BR<sub>50</sub>), sob o tratamento de 4 ± 1°C até completarem 0, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1000 horas de frio.

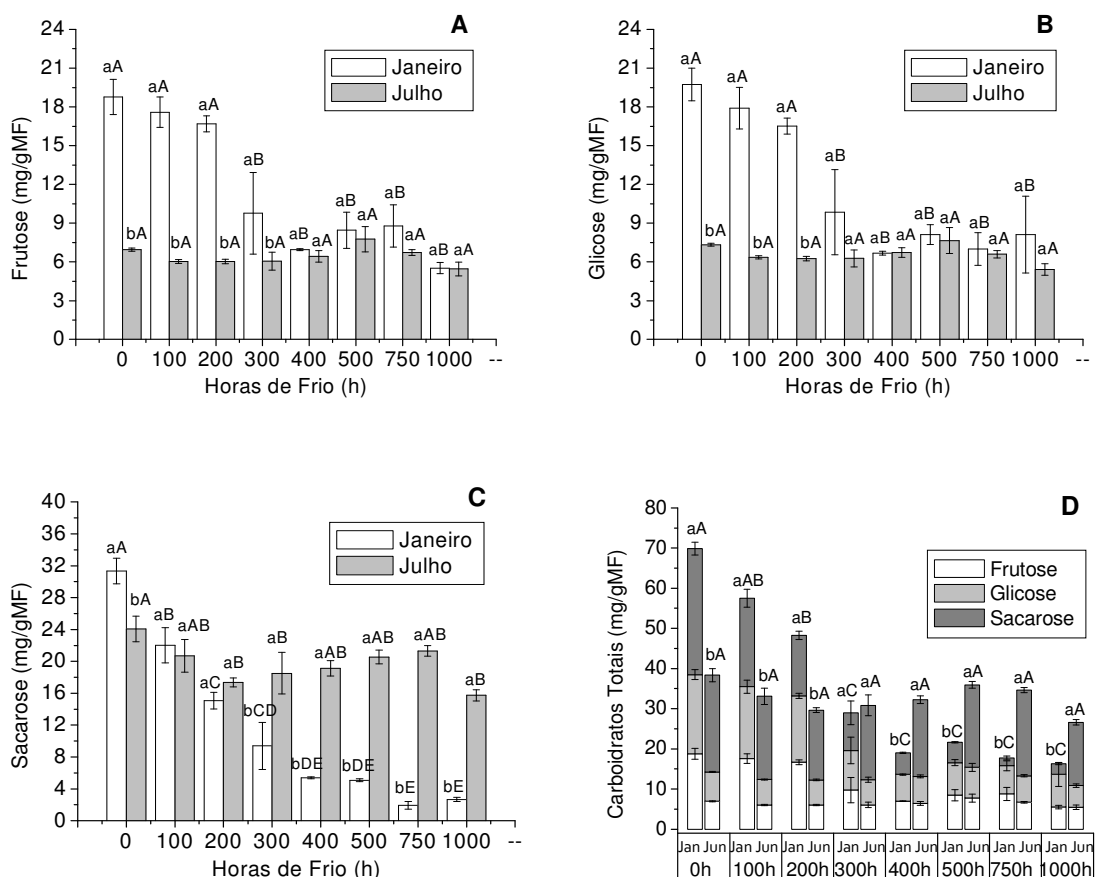
O efeito do frio na concentração dos carboidratos presentes nas gemas submetidos a horas de frio a 4°C é sumarizado na Figura 10. No verão, os níveis dos carboidratos decrescem com as horas de frio, chegando a 70 - 90% menos carboidratos, quando comparado o controle com 1000h de frio, nos diferentes tipos de carboidratos. O mesmo não ocorre no período de inverno onde os níveis dos carboidratos são próximos, independente dos carboidratos e das horas de frio analisados.

A sacarose foi o carboidrato encontrado em maior quantidade (Fig.10C), com valores 67% mais elevados quando comparados aos açúcares redutores, do período de inverno e também no tempo zero do verão. Mas, atingiu valores bem reduzidos ao final das horas de frio no verão.

Os açúcares redutores, a frutose e a glicose (Fig.10A e B), presentes nas gemas de janeiro, no início dos tratamentos, mostraram valores de 19 mg/gMF, enquanto o período de julho, permaneceu em cerca de 7 mg/gMF, por todo o tratamento, valor também atingido pela frutose e glicose no final do tratamento de janeiro.

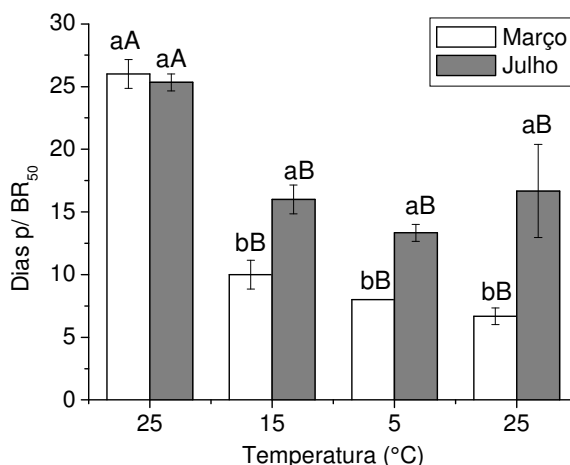
Essas respostas dos carboidratos se resumem na Figura 10D, dos carboidratos totais, que evidenciam o decréscimo do conteúdo dos carboidratos nas gemas coletadas no verão, com o acúmulo das horas de frio e a estabilidade do período de inverno, sendo que a sacarose é o carboidrato que mais contribui para os valores.





**Figura 10:** Quantificação dos carboidratos presentes nas gemas da videira Niagara Rosada incubados a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  até completarem 0, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1000 horas de frio, coletadas no período de janeiro e julho de 2012. **A:** frutose, **B:** glicose, **C:** sacarose e **D:** carboidratos totais. Médias seguidas de mesma letra minúscula para o período e maiúscula para o tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para evidenciar o efeito da temperatura nas gemas, um grupo foi submetido a decréscimos graduais na temperatura (Fig. 11), que ocasionou uma redução no número de dias para o BR50, chegando a  $5^\circ\text{C}$ , com 8 dias em março e 13 dias em julho. Ao final do tratamento, o mês de março mostrou valores de BR50 de apenas 7 dias e o mês de julho com 17 dias. Ambos os períodos mostraram ao início do tratamento, valores de 25 dias para atingir 50% de brotação.

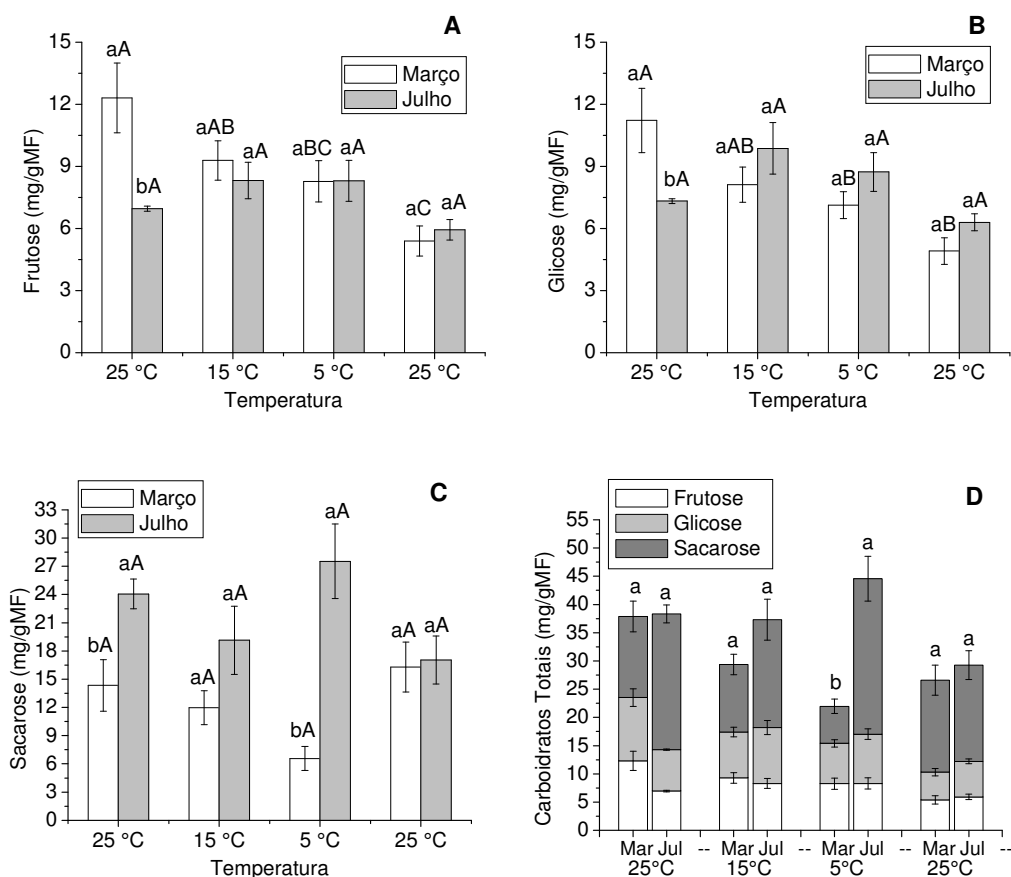


**Figura 11:** Efeito da temperatura no número de dias necessários para as gemas da videira Niagara Rosada atingirem 50% de brotação (BR<sub>50</sub>) nas podas de março e julho de 2012. As gemas foram submetidas a 25, 15, 5 e 25°C, por sete dias em cada temperatura, e colocadas em condições ótimas de crescimento para a avaliação da brotação sem a aplicação de indutores de brotação. Médias seguidas de mesma letra minúscula para o período e maiúscula para o tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Confirmando o efeito das horas de frio artificial nos carboidratos disponíveis nas gemas, a mudança gradual de temperatura ocasionou um decréscimo no conteúdo dos carboidratos redutores para o período de março (Fig. 12A e B), que não foi tão acentuada como nas horas de frio. No período de inverno o conteúdo dos carboidratos não apresentou diferenças significativas entre as diferentes temperaturas.

As gemas submetidas ao decréscimo da temperatura não mostraram diferenças em relação ao conteúdo de sacarose (Fig. 12C), mas este foi o carboidrato encontrado em maior quantidade, principalmente para o período de inverno, que teve média de 21 mg/gMF.

A Figura 12D mostra que o conteúdo dos carboidratos totais foi similar para os dois períodos do ano e para as diferentes temperaturas, exceto para março no tratamento de 5°C, que teve os valores mais reduzidos dos carboidratos totais, principalmente devido à redução do conteúdo de sacarose, quando comparado aos outros tratamentos.



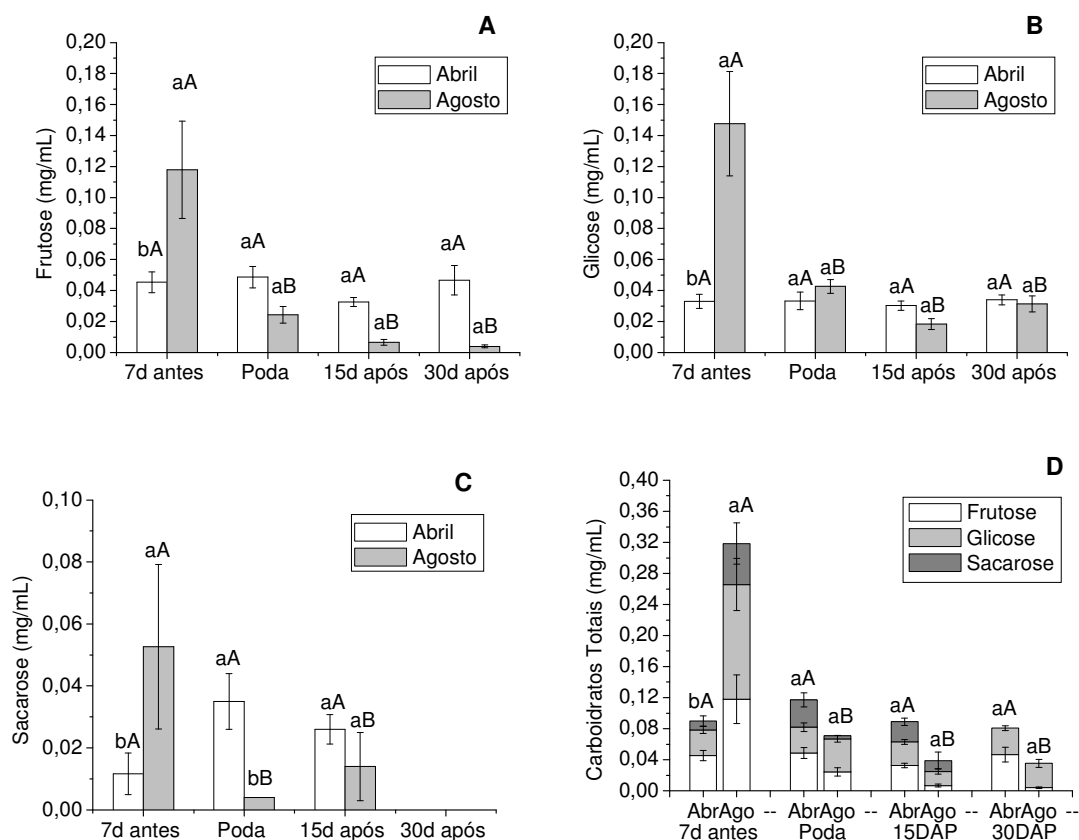
**Figura 12:** Quantificação dos carboidratos presentes nas gemas da videira Niagara Rosada submetidas a 25, 15, 5 e 25°C, por sete dias em cada temperatura e que foram coletadas no período de março e julho de 2012. **A:** frutose, **B:** glicose, **C:** sacarose e **D:** carboidratos totais. Médias seguidas de mesma letra minúscula para o período e maiúscula para o tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

### 6.5. Carboidratos presentes na seiva da videira

Para verificar o padrão de disponibilidade dos açúcares nas gemas no campo, foi coletada a seiva do xilema dos ramos para a análise dos carboidratos (Fig. 13) em diferentes épocas: 7 dias antes da poda, no momento da poda, 15 dias após a poda (brotação) e 30 dias após a poda (início do florescimento).

Antes da poda, o conteúdo dos carboidratos, frutose, glicose e sacarose, foram 60% maiores para o período de agosto, sendo a sacarose o carboidrato em menor quantidade em ambos os períodos e não encontrado após os 30 dias da poda, para os dois períodos analisados (Fig. 13C). A frutose e a glicose

decreceram com o passar dos dias, para o período de agosto, mas não mostraram diferenças para o período de abril (Fig. 13A e B).



**Figura 13:** Quantificação de açúcares na seiva da videira Niagara Rosada, coletada no campo, nos períodos de 7 dias antes da poda, na poda, 15 dias após a poda (DAP) e 30 dias após a poda, nos meses de abril e agosto de 2012. **A:** frutose, **B:** glicose, **C:** sacarose e **D:** carboidratos totais. Médias seguidas de mesma letra minúscula para o período e maiúscula para o tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## 6.6. Respostas da aplicação de açúcares para a liberação da dormência de estacas contendo uma gema

A quantificação dos carboidratos mostrou-se distinta nas diferentes épocas do ano. Para analisar se houve influência dos carboidratos nas brotações, fragmentos de ramos contendo uma gema foram colocados em diferentes soluções de açúcar (Tabela 3).

Os tratamentos com as soluções de açúcares nas gemas não diferiram dos controles no tempo de brotação, exceto para o tratamento com sacarose do mês

de agosto, que apresentou redução de cerca de 36% e o tratamento com dormex<sup>®</sup>.

Dentre os períodos do ano, nas estacas tratadas com os açúcares, glicose, frutose, sacarose e mix, os meses de abril e agosto, foram os que apresentaram menor número de dias para atingir 50% de brotação, sendo em média 15% menor.

**Tabela 3:** Dias necessários para as gemas da videira Niagara Rosada atingirem 50% de brotação (BR<sub>50</sub>) nas diferentes épocas de poda de 2012 (fevereiro, março, abril e agosto). As gemas da videira foram colocadas em condições ótimas de brotação, em bandejas de polipropileno contendo as soluções de açúcar (Controle - água, Dormex<sup>®</sup>, Glicose, Frutose, Sacarose e Mix de açúcares). O dormex<sup>®</sup> foi aplicado nas gemas a 5%, e estas foram colocadas em bandejas com água.

	<b>Fevereiro</b>	<b>Março</b>	<b>Abril</b>	<b>Agosto</b>
<b>Controle</b>	23 bA	33 aA	25 bA	28 abA
<b>Dormex</b>	15 aB	12 aB	12 aB	14 aC
<b>Glicose</b>	28 aA	28 aA	20 bA	24 abAB
<b>Frutose</b>	28 abA	32 aA	22 bA	24 bAB
<b>Sacarose</b>	28 abA	29 aA	22 bcA	18 cBC
<b>Mix</b>	28 abA	34 aA	25 bA	24 bAB

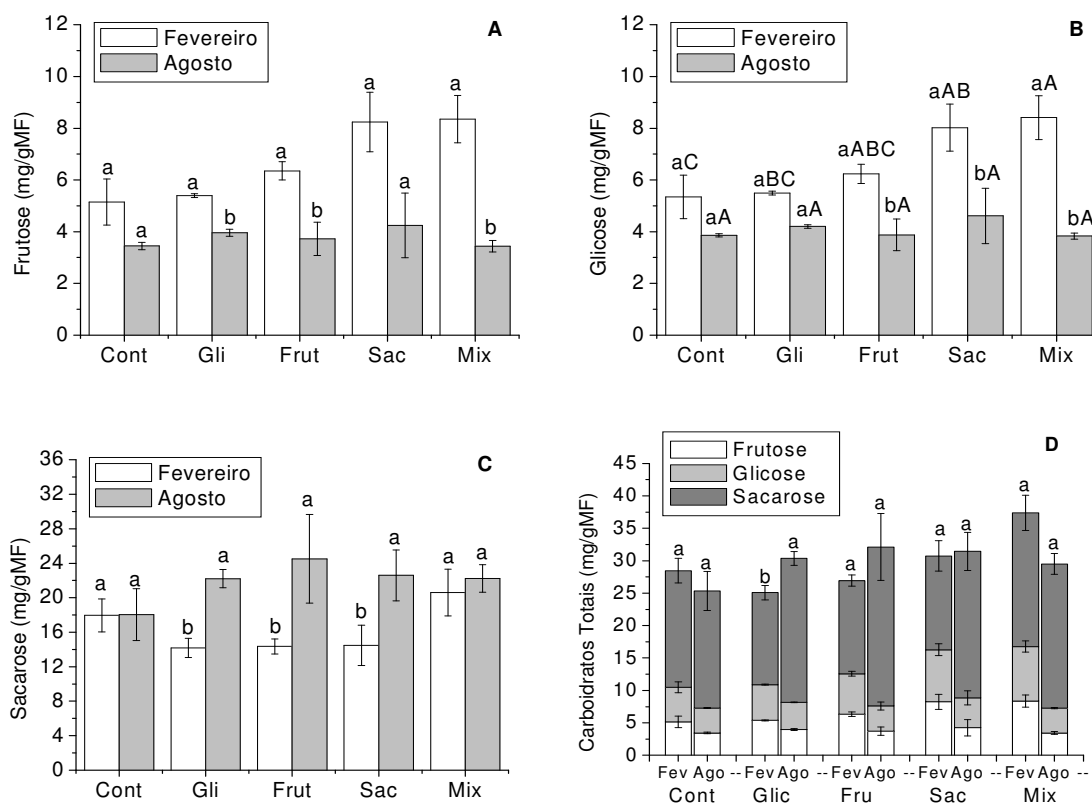
Médias seguidas de mesma letra minúscula para linha e maiúscula para coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A análise do conteúdo de carboidratos das gemas que estavam em soluções de açúcares (Fig. 14) não demonstrou diferenças significativas para o conteúdo de cada carboidrato, exceto para o conteúdo de glicose nos tratamentos com sacarose e mix, que mostraram valores mais elevados.

Dentre os carboidratos analisados a sacarose obteve os maiores valores, em média de 16 mg/gMF para fevereiro e 21 mg/gMF em agosto.

O conteúdo dos carboidratos redutores (Fig. 14A e B), que estiveram em solução de glicose, frutose, sacarose e mix foi maior para o mês de fevereiro, em média 25, 39, 45 e 56%, respectivamente. E ainda, os tratamentos com glicose, frutose e sacarose mostraram menores valores no mesmo período para o conteúdo da sacarose (Fig. 14C).

Não foram observadas diferenças significativas para o conteúdo de carboidratos totais (Fig. 14D).



**Figura 14:** Quantificação dos carboidratos em gema de videiras Niagara Rosada, coletadas no período de fevereiro e agosto de 2012, colocados em condições forçadas de brotação, em bandejas de polipropileno contendo as soluções de açúcar (Controle - água, Glicose, Frutose, Sacarose e Mix de açúcares). **A:** frutose, **B:** glicose, **C:** sacarose e **D:** carboidratos totais. Médias seguidas de mesma letra minúscula para o período e maiúscula para o tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## 7. DISCUSSÃO

### **7.1. Experimento 1: Indução de brotação e índices biometeorológicos da videira Niagara Rosada em diferentes épocas de poda na região**

Em regiões tropicais a falta de baixas temperaturas durante o inverno para a indução e liberação da dormência das gemas da videira leva a brotações desuniformes, fazendo-se necessário a utilização da cianamida hidrogenada (Dormex<sup>®</sup>), que é um indutor de brotação, para uniformização das brotações (Shulman et al., 1983; Erez, 1987).

A liberação da dormência das gemas tratadas com dormex<sup>®</sup>, colocadas sob condições ótimas de crescimento (luz e temperaturas), atingiu 50% da brotação com cerca de 10 dias após o tratamento, entretanto, gemas não tratadas (controle), levaram o dobro do tempo para atingir os 50% de brotação, independente do período fenológico (colheita-poda) ou da época do ano (Fig. 4 e 6). Isso confirma que a aplicação do dormex<sup>®</sup> para a liberação da dormência em climas tropicais leva a brotações rápidas e uniformes, em condições ótimas de crescimento como descrito por diversos autores (Halaly et al., 2008; Keilin et al., 2007; Or et al., 1999, 2000, 2002; Pérez e Lira, 2005; Pérez et al., 2007, 2008, 2009; Pang et al., 2007).

As brotações logo após a colheita (Fig. 4), sob condições ótimas de crescimento, pouco diferiram do período de poda, indicando que as plantas de Niagara Rosada, na região, são capazes de brotar mesmo sem o período de

repouso vegetativo, podendo iniciar novo ciclo vegetativo logo após a colheita dos frutos, no entanto, a produção será influenciada pelas reservas acumuladas pela planta.

Em condições de campo, a liberação da dormência poderá ser influenciada por fatores ambientais como fotoperíodo, disponibilidade de nutrientes, déficit hídrico e temperatura (Lavee e May, 1997). A temperatura observada no campo pode ter influenciado as brotações das gemas controles mesmo em condições ótimas de crescimento (Fig. 4 e 6). A redução do número de dias para atingir 50% de brotação, nos diferentes períodos do ano ocorreu paralelamente à redução das temperaturas (Fig. 3) evidenciando que o clima, e principalmente a condição de inverno pelo qual essas gemas estavam passando, no campo, influenciaram as brotações das gemas mesmo em condições forçadas e com a aplicação do dormex<sup>®</sup>, onde as coletas de julho de 2010 e junho e agosto de 2012 (Fig. 6) levaram cerca de 50% mais dias para a brotação. Isso foi observado por Viana (2009), que encontrou uma variação de 20 dias entre o menor ciclo de produção (iniciado em janeiro e fevereiro) e o maior (iniciado em abril), mostrando que as baixas temperaturas observadas nos períodos de desenvolvimento ocorridos durante os períodos de outono-inverno (poda de abril e julho) podem ter alterado o metabolismo das plantas.

A temperatura parece estar relacionada com a liberação da dormência, pois quanto maior o BR50 maiores as temperaturas (Tabela 1). Mas, a temperatura pela qual estas gemas vinham passando, nos meses anteriores à coleta das gemas, parece não ter influência sobre a brotação quando colocadas em condições ótimas de crescimento, como mostrou a correlação na Tabela 2. Isso leva a crer que a temperatura nos momentos que antecedem a coleta das gemas é mais importante para a liberação da dormência, em clima tropical, do que as baixas temperaturas ocorridas no período de repouso vegetativo, como em regiões temperadas. Pérez et al., (2007) indicam que as flutuações de temperatura ocorridas em regiões quentes deixam as plantas mais sensíveis às temperatura prejudicando as brotações.

Assim como a temperatura, os índices biometeorológicos também se correlacionaram positivamente com a brotação. Os índices biometeorológicos foram utilizados para compreender como as variáveis meteorológicas dessa região se correlacionam com o desenvolvimento da videira, principalmente



durante a indução da brotação, sendo eles: graus dias (GD), índice heliotérmico de Huglin (IH), índice heliotérmico de Geslin (IHG) e índice de frio noturno (IF), que foram avaliados em diferentes períodos do ano, desde a poda de formação do ramo, no ciclo anterior até a poda do período em estudo e ainda para os dois anos avaliados.

O maior número de dias para BR50 foi correlacionado aos maiores valores dos índices biometeorológicos, o que explica o maior BR50 para o verão/2010, que apresentou valores elevados de todos os índices. Como o acúmulo de GD, IH e IHG levam em conta a soma térmica, as temperaturas muito altas podem atrapalhar a brotação como sugere Pouget (1963) prevenindo o aparecimento da dormência ou substituindo o efeito do resfriamento pela ativação de uma via ainda não descrita ou levando a inativação de enzimas (Kliewer, 1990).

Segundo Conceição e Tonietto (2005), os valores de IH e IF obtidos (Fig. 5B e D e 7B e D), classificam a região, de forma geral, em região vitícola 'muito quente' e 'de noites quentes', no período de janeiro a julho ( $IH_{+3} = IH > 3000$ ,  $IF_{-2} = IF > 18$ ) e região vitícola 'quente' e 'de noites temperadas', de julho a outubro ( $IH_{+2} = 2400 < IH < 3000$ ,  $IF_{-1} = 14 < IF \leq 18$ ). Essa classificação vitícola considerando a região sempre quente durante todo o ano, leva a crer que as variações nas brotações observadas ao longo do ano, podem ser influenciadas pelas temperaturas noturnas, no momento das brotações.

## **7.2. Experimento 2: Dinâmica dos carboidratos necessários para a indução da brotação**

O fotoperíodo curto e as baixas temperaturas são os principais estímulos ambientais que induzem a dormência das gemas, e o acúmulo de horas de frio e a elevação do fotoperíodo estão relacionados à saída da dormência. Como o fotoperíodo parece não estar influenciando as brotações em condições ótimas de crescimento (Fig. 8), o frio parece estar exercendo um papel importante na brotação das gemas de videira.

Quando o acúmulo de horas de frio artificial foi imposto nas gemas coletadas em diferentes épocas do ano, o BR50 foi decrescente com o aumento

das horas de frio, principalmente para as gemas coletadas no período de inverno (Fig. 9), mostrando a ação do frio para saída da dormência.

Surpreendentemente, o conteúdo dos carboidratos presentes nas gemas (Fig. 10) foi decrescente com o aumento das horas de frio para as gemas coletadas no período de verão. Este decréscimo no período de verão provavelmente se deve ao metabolismo mais elevado das plantas neste período do ano, comparado ao período do inverno, onde o crescimento das plantas é mais reduzido (Keller e Tarara, 2010). Estudos de Murakami et al. (2002) encontraram menor taxa de crescimento de ramos em videira Itália, na região norte fluminense principalmente atribuída a temperaturas mais baixas no período de crescimento de ramos.

O conteúdo decrescente dos carboidratos presentes nas gemas coletadas no período de verão indica que a taxa respiratória das gemas pode ser mais elevada neste período do ano, principalmente para manter a viabilidade dessas gemas sob as baixas temperaturas (Winkler e Williams, 1945), como sugerem Pérez et al. (2007), que observaram uma maior capacidade respiratória das gemas da videira Thompson Seedless cultivada em região subtropical do que em região temperada.

Apesar do decréscimo dos carboidratos com o acúmulo de horas de frio, o conteúdo destes (frutose, glicose, sacarose e carboidratos totais, Fig. 10) foi mais elevado para o período de verão, até as 300h de frio, período este que apresentou menor tempo para a brotação (Fig. 9). Isto indica que quantidades elevadas de carboidratos são exigidas nas gemas após o período de frio para que ocorra a brotação de forma uniforme (Citadin et al., 2009; Mohamed et al., 2010; Holzapfel e Smith, 2012), podendo não funcionar apenas como nutrientes para sustentar o crescimento, mas também como um sinal que controla o desenvolvimento da gema (Maurel et al., 2004; Mohamed et al., 2012), quando estas retornam às condições favoráveis de crescimento.

A partir de 400h de frio, os carboidratos redutores não apresentam mais diferenças significativas entre os meses analisados. Porém, a sacarose (Fig. 10C), continua a decrescer com o acúmulo de horas de frio, para o período de verão, o que sugere o contínuo consumo dos carboidratos pela respiração das gemas. Neste mesmo período, o número de dias para a brotação do inverno se assemelha ao verão, juntamente com uma pequena variação do conteúdo de

sacarose, chegando às 1000h de frio com valores mais reduzidos de sacarose e do BR50, o que ocasiona um aumento na proporção dos carboidratos redutores em relação à sacarose, que pode estar influenciando a brotação das gemas (Holzapfel e Smith, 2012).

Para evidenciar o efeito das baixas temperaturas nas gemas, foi imposto um decréscimo gradual da temperatura nas gemas coletadas em duas épocas do ano. Assim como o acúmulo das horas de frio, o decréscimo gradual da temperatura mostrou decréscimo no número de dias para 50% de brotação, sendo mais pronunciado para as gemas coletadas em março (Fig. 11).

Como a temperatura imposta decrescia gradualmente, o conteúdo dos carboidratos redutores foi mais elevado na primeira temperatura aplicada, de 25°C, para o período de março (Fig. 12A e B). Esta quantidade elevada de carboidratos redutores em um primeiro momento parece ter sinalizado para o restante do período, para a liberação da brotação, principalmente após a passagem pelas temperaturas mais reduzidas.

O decréscimo dos carboidratos redutores com o decréscimo da temperatura indicam, a maior taxa respiratória das gemas coletadas em março (verão), como observado no experimento de acúmulo de horas de frio (Winkler e Williams, 1945; Pérez et al., 2007). Esse padrão de resposta dos carboidratos ao decréscimo de temperatura sugere que os carboidratos redutores seriam os principais responsáveis pela saída da dormência de gemas (Maurel et al., 2004).

A sacarose foi o carboidrato encontrado em maior quantidade nas gemas (Weyand e Schultz, 2006) em ambos os tratamentos com baixas temperaturas. Na análise da seiva do xilema, a glicose e a frutose foram os carboidratos em maiores quantidades (4 vezes mais, Fig. 13) durante o período de poda – brotação (Glad et al., 1992). Durante a liberação da dormência (15d após a poda) ocorre um decréscimo dos carboidratos na seiva do xilema das videiras para as coletas de agosto (Campbell et al., 1996; Maurel et al., 2004). Isso leva a crer que, assim como ocorreu nos tratamentos de baixas temperaturas em laboratório, os níveis mais elevados de carboidratos redutores durante a liberação da dormência fazem com que esta ocorra de maneira mais uniforme e mais rápida.

Parece que os carboidratos redutores, glicose e frutose, são mobilizados a partir de tecidos de armazenamento nas raízes e são transportados no xilema para as partes apicais da planta, onde são utilizadas na brotação (Campbell e

Strother, 1996; Zapata et al., 2004). No entanto, o declínio das concentrações de frutose e sacarose do xilema a praticamente zero depois da brotação, no período de agosto, poderia ser um reflexo do decréscimo das reservas de carboidratos na raiz ou diminuição da demanda dos ramos que se tornam fotossinteticamente ativos (Campbel e Strother, 1996). Já para abril, o maior suprimento de carboidratos para os ramos pode ser ocasionado pela maior atividade metabólica das videiras nos períodos mais quentes do ano como mencionado anteriormente.

Este padrão de resposta dos carboidratos na seiva está de acordo com os dados de carboidratos totais (Fig. 13D), onde os maiores valores durante a poda e brotação foram encontrados para o período de abril, confirmando a ideia de que a presença dos carboidratos é necessária para uma maior taxa de brotação.

Os carboidratos disponíveis na seiva do xilema juntamente com os carboidratos quantificados nas gemas indicam que as maiores taxas de brotação se devem, pelo menos em parte, ao conteúdo de glicose e frutose disponível no período de verão. Para tentar confirmar estes achados, fragmentos de ramos contendo uma gema foram colocados em solução de açúcares (Tabela 3). Tais soluções reduziram o BR50 no período de outono-inverno, e apresentaram os menores valores de carboidratos redutores e maiores de sacarose (Fig. 14), divergindo dos tratamentos com baixas temperaturas, onde há maior concentração de carboidratos redutores e menor BR50. Apenas o conteúdo de glicose mostrou diferenças estatísticas entre os tratamentos com as soluções dos açúcares, sugerindo que este carboidrato pode estar relacionado à liberação da dormência.

Diante destes resultados pode-se considerar que as hexoses são de grande importância em eventos iniciais de brotação (Maurel et al., 2004), principalmente pelo aporte de glicose para os tecidos meristemáticos que se correlacionam com a quebra da dormência. O maior aporte de glicose necessário no período de saída da dormência poderia estar relacionado ao aumento da atividade da glicólise e fermentação para elevação da geração anaeróbica de ATP, devido ao distúrbio respiratório momentâneo que ocorre nos eventos iniciais na indução de brotações (Pérez et al., 2009; Or et al., 2000 e 2002; Keilin et al., 2007). Assim, os carboidratos redutores seriam de grande importância como moléculas energéticas, mas também como sinalizadoras, principalmente a glicose, por ser o carboidrato envolvido na maioria dos tratamentos realizados nas

gemas que brotaram mais eficientemente (Hamman et al., 1996; Jones et al., 1999).

## 8. CONCLUSÃO

- ✓ A temperatura está relacionada à liberação da dormência. Quanto maiores as temperaturas e os índices biometeorológicos maior o BR50. No entanto, a temperatura que mais influencia a brotação é aquela pela qual as gemas estão passando no momento da poda-brotação, em região tropical.
- ✓ As gemas de videira Niagara Rosada submetidas a baixas temperaturas, seja por acúmulo de horas de frio ou decréscimos graduais de temperaturas, levam a maior velocidade de brotação em condições ótimas de crescimento.
- ✓ A presença dos carboidratos, principalmente glicose, nas gemas da videira Niagara Rosada submetidas a baixas temperaturas, parece ter relação com a liberação da dormência, sendo um modulador do desenvolvimento da gema em direção à brotação.

## 9. REFERÊNCIAS

- Allison, J.C.S. (1963) Use of the day-degree summation technique for specifying flowering times of maize varieties at different localities in Southern Africa. *Rhodesian Journal of Agricultural Research*, 1:22-28.
- Almeida, J.L.F. (1972) Possibilidades de produção de uvas de mesa em Moçâmedes e em Roçadas. Nova Lisboa: Instituto de Investigação Agronômica de Angola, p. 19.
- Aloni, R., Raviv, A., Peterson, C.A. (1991) The role of auxin in the removal of dormancy callose and resumption of phloem activity in *Vitis vinifera*. *Canadian Journal of Botany*, 69:1825-1832.
- Ameglio, T., Guilliot, A., Lacoïnte, A., Julien, J.L., Alves, G., Valentin, V., Petel, G. (2000) Water relations in winter: effect on budbreak of walnut tree. In: Viemont, J.D., Crabbe, J. (Ed.). *Dormancy in plants, from whole plant behaviour to cellular control*. Oxon (UK): CABI, 2000. p. 109-120.

- Améglio, T.; Ewers, F.W.; Cochard, H.; Martignac, M.; Vandame, M.; Bodet, C.; Cruiziat, P. (2001) Winter stem pressures in walnut trees: effects of carbohydrates, cooling and freezing. *Tree Physiology*. v.21, p.384-394.
- Ameglio, T., Decourteix, M., Alves, G., Valentin, V., Sakr, S., Julien, J.L., Petel, G., Guillot, A., Lacoite, A. (2004) Temperature effects on xylem sap osmolarity in walnut trees: evidence for a vitalistic model of winter embolism repair. *Tree Physiol.* 24:785–793.
- Arnold, C.Y. (1959) The determination and significance of the base temperature in a linear heat unit system. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science, Virginia*, 74:430-445.
- Arora, R.L., Rowland, L.J., Tanino, K. (2003) Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. *HortScience* 38 911–921.
- Bates, T.R., R.M. Dunst, P. Joy. (2002) Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in ‘Concord’ grapevine roots. *HortScience* 37:313–316.
- Bennett, J.S., (2002) Relationships between Carbohydrate Supply and Reserves and the Reproductive Growth of Grapevines (*Vitis vinifera* L.) Lincoln University. p. 204
- Berbezy, P., Legendre, L., Maujean, A. (1997) Alpha-amylase isoform pattern changes during the winter season in the winter-resting stem inter-nodes of *Vitis vinifera*. *Plant Physiology Biochemistry, Paris*, v. 35 n. 9, p. 685-691,
- Bonhomme M. (1998) Physiologie des bourgeons végétatifs et foraux de pêcher dans deux situations thermiques contrastées pendant la dormance: capacité de croissance, force de puits et répartition des glucides. PhD thesis, Blaise Pascal University, France.



- Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones R. (2000) Biochemistry & molecular biology of plants. Rockville, American Society of Plant Physiologists. 1367p.
- Brasil (1997) Ministério da Agricultura e de Abastecimento. Secretaria Executiva. *Programa de apoio e desenvolvimento da fruticultura irrigada do Nordeste*. Brasília: Embrapa – SPI, 148p.
- Campbell, J.A., Strother, S. (1996) Seasonal variation in pH, carbohydrate and nitrogen of xylem exudate of *Vitis vinifera*. Aust. J. Plant Physiol., 23, 115-118.
- Citadin, I., Guilliot, A., Bonhomme, M., Rageau, M. (2009) Atividade de enzimas relacionadas com a mobilização de carboidratos durante a dormência da noqueira (*Juglans Regia*). Revista Brasileira Fruticultura. v. 31, n. 2, 305-313.
- Conceição, M.A.F.; Tonietto, J. (2005) Climatic potential for wine grape production in the tropical north region of Minas Gerais State, Brazil. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 37:404-407.
- Cunha, R.G. da; Scheeren, P.L.; Rodrigues, O.; Del Duca, L.J.A.; Fiorini, C.M.; Silva, C.F.L. e. (1997) Revista Brasileira de Agrometeorologia, Santa Maria, 5:195-198.
- Cunha, R.G. da; Silva, M.S. e; Árias, G.; Dalmago, G.A. (1999) Caracterização bioclimática de cevadas brasileiras, Revista Brasileira de Agrometeorologia, Santa Maria, 7:201-206.
- Dennis Junior, (2003) F.G. Problems in standardizing methods for evaluating the chilling requirements for the breaking of dormancy in buds of woody plants. HortScience, Alexandria, v. 38, n. 3, p. 347-350.
- Dokoozlian, N.K. 1999. Chilling temperature and duration interact on the budbreak of Perlette grapevines cuttings. HortScience 34, 1–3.

- Erez, A. (1987) Chemical control of bud break. Hort Science 22: 1240–1243.
- Francisconi, A. H. D., Marodin, G. A. B., Gallois, E.S.P. (1992) Efeito do Óleo Mineral, Cianamida Hidrogenada e Thidiazuron na quebra de dormência e produção de Pereira (*Pyrus comunis*, L.) cv. Packham's Triumph. Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas, v.14, n. 1, p. 161 - 166.
- Fuwa, H. (1954) A new method for micro determination of amylase activity by the use of amylase as the substrate. J. Biochem. 41, 583–603.
- Geslin, H. (1944) Étude des lois de croissance d'une plante en fonction des facteurs du climat (température et radiation solaire) contribution a l'étude du climat du blé. Paris: Université de Paris, p.116.
- Gibson S.I. (2000) Plant sugar-response pathways. Part of a complex regulatory web. Plant Physiology 124, 1532-1539.
- Giovannini, E. (1999) *Produção de uvas para vinho, suco e mesa*. Porto Alegre: Renascença, 364p.
- Guimarães, J.C., Moreno, D., Viana, L.H., Ribeiro, L.S., Bressan-Smith, R. (2006) Qualidade de uva de mesa produzida no norte do Estado do Rio de Janeiro. In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, Cabo Frio. 2006. v.1. p.1– 1.
- Guimarães, J.C., Souza, G.S., Dantas, D.J., Stofel, C.B., Viana, L.H., Bressan-Smith, R. (2011) Indução de brotação e índices biometeorológicos da videira Niagara Rosada em diferentes épocas de poda na região Norte-Fluminense. In: XIII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, Búzios, 2011.
- Glad, C., Regnard, J. L., Querou, Y., Brun, O., Morot-Gaudry, J. F. (1992). Flux and chemical composition of xylem exudates from Chardonnay grapevines: temporal evolution and effect of recut. American Journal of Enology and Viticulture 43,275-282.

- González-Rossia, D., Reig, C., DAVIS, V., Gariglio, N., Agustí, M., (2008) Changes on carbohydrates and nitrogen content in the bark tissues induced by artificial chilling and its relationship with dormancy budbreak in *Prunus* sp. *Sci. Hortic.* 118, 275–281.
- Halaly, T., Pang, X., Batikoff, T., Crane, O., Keren, A., Venkateswari, J., Ogrodovitch, A., Sadka, A., Lavee, S., Or, E. (2008) Similar mechanisms might be triggered by alternative external stimuli that induces dormancy release in grape buds. *Planta* 228:79–88
- Hamman, R. A.Jr., Dami, I.-E., Walsh, T. M., Stushnoff, C. (1996) Seasonal Carbohydrate changes and cold hardiness of Chardonnay and Riesling grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture.* 47, 31-36.
- Hidalgo, L. (1980) Caracterización macrofísica del ecosistema medio-planta en los viñedos españoles. *In: Comunicaciones I.N.I.A. Producción Vegetal*, 29. Madrid: Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. p. 225.
- Hidalgo, L. (1993) *Tratado de viticultura general.* Madrid: Mundi-prensa. p. 983
- Holmes, R.M.; Robertson, G.W. (1959) Heat units and crop growth. Ottawa: Canada Department of Agriculture, p. 35.
- Holzappel, B.P., Smith, P.S. (2012) Developmental stage and climatic factors impact more on carbohydrate reserve dynamics of shiraz than cultural practice. *Am. J. Enol. Vitic.* 63:3, 333-342.
- Horvath, D.P., Anderson, J.V., Chao, W.S., Foley, M.E. (2003) Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. *Trends in Plant Science* 8, 534–540.
- Huglin, P. (1978) Nouveau mode d'évaluation des possibilités héliothermiques

d'un milieu vitícola. In: SYMPOSIUM INTERNATIONAL SUR L'ECOLOGIE DE LA VIGNE, 1978, Contança. Ministère de l'Agricultura et de l'Industrie Alimentaire, p. 89-98.

Huglin, P. (1986) Biologie et ecologie de la vigne. Paris: Payot Lausanne, p. 372.

Hunter, J.J., Skrivan, R., Ruffner, H.P. (1994) Diurnal and seasonal physiological changes in leaves of *Vitis vinifera* L.: CO<sub>2</sub> assimilation rates, sugar levels and sucrolytic enzyme activity. *Vitis*, v.33, p.189-195.

IBGE (2011) SIDRA - Sistema IBGE de Recuperação Automática - Banco de dados agregados;

<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=t&o=2&i=P> em março 2011.

IBGE (2013) SIDRA - Sistema IBGE de Recuperação Automática - Banco de dados agregados;

<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1618&z=t&o=1&i=P> em maio de 2013.

Jones, K.S., Paroschy, J., Mckersie, B.D., Bowley, S.R. (1999) Carbohydrate Composition and freezing tolerance of canes and buds in *Vitis vinifera*, *Journal of Plant Physiology*, v.155:1, 101-106.

Keilin, T., Pang, X., Venkateswari, J., Halaly, T., Crane, O., Keren, A., Grodovitch, A., Ophir, R., Volpin, H., Galbraith, D., Or, E. (2007) Digital expression profiling of a grape-bud EST collection leads to new insight into molecular events during grape-bud dormancy release. *Plant Science* 173:446–457.

Keller, M., Tarara, J.M. (2010) Warm spring temperatures induce persistent season-long changes in shoot development in grapevines. *Annals of Botany*, 106 (1), 131-141.

- Kliwer, W.M. (1990) *Fisiologia da videira: como produz açúcar uma videira?* Tradução de Celso V. Pommer e Ilene R. S. Passos. Campinas, Instituto Agrônomo, Documentos IAC – 20, 20p.
- Koster, K.L., Lynch, D.V., (1992) Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of Puma Rye. *Plant Physiol.* 98, 108-113.
- Koussa T, Broquedis M, Bouard J (1994) Changes of abscisic acid level during the development of grape latent buds, particularly in the phase of dormancy break. *Vitis* 33, 63–67.
- Koussa, T., Rifai, L.A., Cherrad, M. (2005) Annual variations of alpha-amylase and invertase activities in buds and internodes of grapevines and their relation with carbohydrates and abscisic acid content. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 39, 129–136.
- Lana, E.P.; Arbor, E.S. (1951) The value of the degree-hour summation system for estimating planting schedule and harvest with sweet corn in Iowa, Iowa Academy of Science Journal, Cedar, 26:99-109.
- Lang, G. A. (1987) Dormancy a new universal terminology. *Hortic Sci*, 22:817-20
- Lang G.A. (1994) Dormancy the missing links: molecular studies and environmental interactions. *Hort. Sci.* 29: 1255–1263.
- Lavee, S. (1973) Dormancy and break in warm climates; consideration of growth regulator involvement. *Acta Horticulturae*, 34:255-264.
- Lavee, S., May, P. (1997) Dormancy of grapevine buds - facts and speculation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3: 31– 46.

- Linsley-Noakes GC, Louw M, Allan P (1995) Estimating daily positive Utah chill units using daily maximum and minimum temperatures. *Journal South African Society Horticultural Science* 5, 19–22.
- Llorent, A. (1992) Nuevas variedades de uva de mesa: su comportamiento y manejo cultural. *Anales Jornadas Latinoamericanas de Viticultura y Enología*. "Uvas y vinos del V Centenario", Uruguay, v. 1, p. 1-9.
- Lorimer, S. e Hill, S. (2006) Chill Units of Stone Fruit. *Agriculture Notes*. State of Victoria, Department of Primary Industries. AG1094, p. 2.
- Mandelli, F. (1984) Comportamento fenológico das principais cultivares de *Vitis vinifera* L. para a região de Bento Gonçalves, RS. p. 152. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Mandelli, F. (2002) Relações entre variáveis meteorológicas, fenologia e qualidade da uva na "serra gaúcha". p. 196. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Mathiason, K.H.D., Grimplet, J., Venkateswari, J., Galbraith, D.W., Or, E., Fennell, A. (2009) Transcript profiling in *Vitis riparia* during chilling requirement fulfillment reveals coordination of gene expression patterns with optimized bud break. *Funct. Integr. Genomics* 9(1): 81-96
- Marangoni, B., Vitagliano, C., Peterlunger, E. (1986) The effect of defoliation on the composition of xylem sap from Cabernet franc grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 37:259-62.
- Marquat, C., Vandamme, M., Gendraud, M., Pétel, G. (1999) Dormancy in vegetative bud of peach: relation between carbohydrate absorption potentials

- and carbohydrate concentration in the bud during dormancy and its release. *Scientia Horticulturae* 79, 151-162.
- Maurel, K., Leite, G.B., Bonhomme, M., Guilliot, A., Rageau, R., Pétel, G., (2004) Trophic control of bud break in peach (*Prunus persica*) trees: a possible role of hexoses. *Tree Physiology* 24, 579–588.
- Mederski, H.J.; Miller, M.E.; Weaver, C.R. (1973) Accumulated heat unit for classifying corn hybrid maturity. *Agronomy Journal*, Madison, 65 :743-747.
- Mello, L.M.R. (2005) Produção e comercialização de uvas e vinhos: Panorama 2004. EMBRAPA, Artigo técnico; <http://www.cnpuv.embrapa.br/> em junho de 2007.
- Mello, L.M.R. (2007) Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2006. EMBRAPA, Artigo técnico; <http://www.cnpuv.embrapa.br/> em março de 2008.
- Mello, L.M.R. (2012) Vitivinicultura brasileira: Panorama 2011. EMBRAPA, Artigo técnico; <http://www.cnpuv.embrapa.br/> em maio de 2013.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *TRENDS in Plant in Science*, 9:405-410.
- Mohamed, H.B., Vadel, A.M., Geuns, J.M.C., Khemira, H. (2010) Biochemical changes in dormant grapevine shoot tissues in response to chilling: Possible role in dormancy release. *Scientia Horticulturae* 124: 440–447.
- Mohamed, H.B., Vadel, A.M., Geuns, J.M.C., Khemira, H. (2012) Carbohydrate changes during dormancy release in Superior Seedless grapevine cuttings following hydrogen cyanamide treatment. *Scientia Horticulturae*. 140:1, 19-25.

- Murakami, K.R.N. (2002) *Caracterização fenológica da videira cv. Itália (Vitis vinifera L.) sob diferentes épocas de poda na região Norte do Estado do Rio de Janeiro*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 56p.
- Nir, G., Shulman, Y., Fanberstein, L., Lavee, S. (1986). Changes in the activity of catalase (EC 1.11.1.6) in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. *Plant Physiol.* 81:1140-1142.
- Ophir, R., Pang, X., Halaly, T., Venkateswari, J., Lavee, S., Galbraith, D., Or, E., (2009) Gene expression profiling of grape bud response to two alternative dormancy release stimuli expose possible links between impaired mitochondrial activity, hypoxia, ethylene-ABA interplay and cell enlargement. *Plant Mol. Biol.* 71, 403–423.
- Or, E., Nir, G., Vilozy, I. (1999) Timing of hydrogen cyanamide application to grapevine buds. *Vitis* 38:1–6
- Or, E., Vilozy, I., Eyal, Y., Ogradovitch, A. (2000) The transduction of the signal for grape bud dormancy breaking induced by hydrogen cyanamide may involve the SNF-like protein kinase GDBRPK. *Plant Molecular Biology* 43:483-489.
- Or, E., Vilozy, I., Eyal, Y., Ogradovitch, A. (2001) Dormancy in grape buds: isolation and characterization of catalase cDNA and analysis of its expression following chemical induction of bud dormancy release. *Plant Sci* 162:121–30.
- Or, E., Vilozy, I., Fennell, A., Eyal, Y., Ogradovitch, A. (2002) Dormancy in grape buds: isolation and characterization of catalase cDNA and analysis of its expression following chemical induction of bud dormancy release. *Plant Science* 162 121–130



- Pang, X., Halay, T., Crane, O., Kellin, T., Keren, A., Ogradovitch, A., Galbraith, D., Or, E. (2007) Involvement of calcium signalling in dormancy release of grape buds. *J Exp Bot* 58:3249–3262
- Pérez, F. J., Lira, W. (2005) Possible role of catalase in post-dormancy bud break of grapevines. *Journal of Plant Physiology* 162:301-308
- Pérez, F. J., Rubio, S. e Ormeño-Núñez, J. (2007) Is erratic bud-break in grapevines grown in warm winter areas related to disturbances in mitochondrial respiratory capacity and oxidative metabolism? *Functional Plant Biology*, 34:624-632
- Pérez, F.J., Vergara, R., Rubio, S., (2008) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is involved in the dormancy-breaking effect of hydrogen cyanamide in grapevine buds. *Plant Growth Regul.* 55, 149–155.
- Pérez, F.J., Vergara, R., Or, E., (2009) On the mechanism of dormancy release in grapevine buds: a comparative study between hydrogen cyanamide and sodium azide. *Plant Growth Regul.* 59, 145–152.
- Petri, J. L., Palladini, L. A., Schuck, E., Ducroquet, J. H. J., Matos, C. S., Pola, A. C. (1996) Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado. Florianópolis, Epagri, 110p.
- Petri, J. L., Palladini, L. A., Póla, A. C. (2002) Dormência e indução da brotação da macieira. Manual da cultura da macieira, GED/EPAGRI: Florianópolis-SC, 261-298.
- Pinto, M.; Lira, V.; Ugalde, H.; Pérez, F. (2007) Fisiología de la latencia de las yemas de vid: hipótesis actuales. Santiago: Universidad de Chile. 16p. Disponível em:

<<http://agronomia.uchile.cl/extension/serviciosyproductos/gie/publicaciones>>. em: dezembro de 2007.

Pouget, R. (1963) Recherches physiologiques sur le repôs végétatif de la vigne (*Vitis vinifera* L) : la dormance et le mécanism de sa disparition. Annales d`Amélioration des Plantes 13, no hors série 1.

Pommer, C.V. (2003) Uva: Tecnologia de produção, colheita, mercado. 1° ed. Cinco Continentes, Porto Alegre, Brazil.

Pommer, C. V., Mendes, L.S., Viana, L.H., Bressan-Smith, R.E. (2009) Potencial climático para a produção de uvas em Campos dos Goytacazes, região Norte Fluminense. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 31, n. 4, p. 1076-1083.

Prasad, T.A. (1996) Mechanism of chilling induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedlings: changes in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids and proteases activities. Plant Journal, 10:1017-1026.

Protas, J.F.S., Camargo, U.A., Mello, L.M.R. (2002) *A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas*. EMBRAPA Uva e Vinho, Artigo Técnico.

Richardson, E.A., Seeley, S.D., Walker, D.R., (1974) A model for estimating the completion of rest for *Redhaven* and *Elberta* peach trees. Hort Science 9 (4), 331–332.

Rinne, P. L. H., Kaikuranta, P. M., Van Der Schoot, C. (2001) The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy. The Plant Journal, 26: 249–264.

Rodrigues, A.C., Herter, F.G., Veríssimo, V., Campos, A.D., Leite, G.B., Silva, J.B. (2006) Balanço de carboidratos em gemas florais de dois genótipos de Pereira

- sob condição de inverno ameno. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 28, n. 1, p. 1-4.
- Sauter, J.J. (1980) Seasonal variation of sucrose content in the xylem sap of *Salix*. Z. Pflanzenphysiol. 98:377–391.
- Sauter J.J. (1988) Temperature-induced changes in starch and sugars in the stem of *Populus x Canadensis* “robusta”. Journal of Plant Physiology, Jena, v.132, p.608-612.
- Saure, M.C., 1985. Dormancy release in deciduous fruit trees. Hort. Rev. 7, 239–299.
- Sherson, S.M., Alford, H.L., Forbes, S.M., Wallace, G., Smith, S.M. (2003) Roles of cell-wall invertases and monosaccharide transporters in the growth and development of *Arabidopsis*. Journal of Experimental Botany 54, 525-531.
- Sentelhas, C.P. (1998) *Aspectos climáticos para a viticultura tropical*. Informe Agropecuário/Viticultura Tropical, Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 9-14.
- Sentelhas, P.C., Ungaro, M.R.G. (1998) Índices bioclimáticos para a cultura de girassol. Scientia Agricola, Piracicaba, 55:73-78.
- Settimi, L., Davanzo, F., Faraoni, L., Miceli, G., Richmond, D., Calvert, G. M. (2005) Update: hydrogen cyanamide-related illnesses-Italy, 2002-2004. Morbidity and Mortality Weekly Report, 54:405-408.
- Sheen J, Zhou L, Jang JC. (1999) Sugars as signaling molecules. Current Opinion in Plant Biology 2, 410-418.
- Shulman, Y., Nir, G., Fanberstein, L., Lavee, S. (1983) The effect of cyanamide on the release from dormancy of grapevine buds. Sci Hortic, 19:97-104.

- Silveira, R.E.S., Simões, M.P. (2004) *Desafios da vitivinicultura brasileira*. Boletim técnico. BNDES, Setorial, Rio de Janeiro, n. 19, p. 67-90.
- Smeeckens S. (2000) Sugar-induced signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51, 49-81.
- Sousa, J.S.I. (1996) *Uvas para o Brasil*. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 791p.
- Souza, C.R., Maroco, J.P., Dos Santos, T.P., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., Pereira, J.S., Chaves, M.M. (2005) Grape berry metabolism in field-grown grapevines exposed to different irrigation strategies. *Vitis*, v.44, n.3, p.103-109.
- Sperry, J. S., Holbrook, N. M., Zimmermann, M. H., Tyree, M. T. (1987) Spring filling of xylem vessels in wild grapevine. *Plant Physiol.* 83:414-17.
- Taiz ,L. e Zeiger, E. (2005) *Fisiologia vegetal*. Ed. ARTEMED. Porto Alegre, Brasil.
- Thipyapong, P., Melkonian, J., Wolfe, D. W., Steffens, J.C. (2004) Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. *Plant Science*, 167:693-703.
- Tao, R. (2005) Studies of the gene expression of dormant buds of Japanese apricot (*Prunus mume*). p. 48-53. ACIAT Technical Report Nº 61. In George, A and U. Boonprakoh (eds.). Production technologies for lowchill temperate fruits. Reports from the 2<sup>nd</sup> International Workshop, Chiang Mai, Thailand. 19-23 April 2004. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Canberra, Australia.
- Tonietto, J. e Carbonneau, A. (1999) Análise mundial do clima das regiões vitícolas e de sua influência sobre a tipicidade dos vinhos: a posição da viticultura brasileira comparada a 100 regiões em 30 países. *In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia*, Bento Gonçalves. Embrapa Uva e Vinho, p.75-90.

- Vergara, R., Pérez, F.J. (2010) Similarities between natural and chemically induced bud-endodormancy release in grapevine *Vitis vinifera* L. *Scientia Horticulturae* 125:4 p.648–653.
- Viana, LH, Moreno, D, Guimarães, J C, Ribeiro, LS, Bottini, R, Bressan-Smith, R. (2006) Efeito de GA3 em uva de mesa “Itália”, produzidas na região Norte Fluminense. In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, Cabo Frio. 2006. v.1 p.1 – 1.
- Viana, L.H. (2009) *Fenologia e quebra de dormência da videira niagara rosada cultivada na região norte fluminense em diferentes épocas de poda*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 73p.
- Villa Nova, N.A.; Pedro Júnior, M.J.; Pereira, A.R.; Ometto, J.C. (1972) Estimativa de graus-dia acumulados acima de qualquer temperatura base em função das temperaturas máxima e mínima. *Ciência da Terra*, São Paulo, (30): 1-8.
- Wample, R.L., Spayd, S.E., Evans, R.G., Stevens, R.G. (1993) Nitrogen Fertilization of White Riesling grapes in Washington: Nitrogen seasonal effects on bud cold hardiness and carbohydrate reserves. *American Journal of Enology and Viticulture*. 44, 159-167.
- Weyand, K.M., Schultz, H.R. (2006) Long-term Dynamics of nitrogen and carbohydrate reserves in woody parts of minimally and severely pruned Riesling vines in a cool climate. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 172-182.
- Winkler, A.J., Williams, W.O. (1945) Starch and sugars of *Vitis vinifera*. *Plant Physiology* 20: 412-432.
- Winkler, A. J. (1965) *General viticulture*. Berkeley: University of California, p. 633.

Zapata, C., Deléens, E., Chaillou, S., Magné, C. (2004) Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.) Journal of Plant Physiology 161:1031–1040.