

SUBSTÂNCIAS DE RESERVA NA QUEBRA DE DORMÊNCIA DE  
GEMAS DE *Vitis labruscana* L. VAR. NIAGARA ROSADA EM  
CICLOS DE FOTOPERÍODO DE DIAS CURTOS E LONGOS

**RODRIGO RICHARD RABELLO FONSECA LUCAS**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
MARÇO – 2021



SUBSTÂNCIAS DE RESERVA NA QUEBRA DE DORMÊNCIA DE  
GEMAS DE *Vitis labruscana* L. VAR. NIAGARA ROSADA EM  
CICLOS DE FOTOPERÍODO DE DIAS CURTOS E LONGOS

**RODRIGO RICHARD RABELLO FONSECA LUCAS**

Dissertação 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  
Mestre em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Bressan-Smith

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
MARÇO – 2021

**FICHA CATALOGRÁFICA**

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

L933 Lucas, Rodrigo Richard Rabello Fonseca.

SUBSTÂNCIAS DE RESERVA NA QUEBRA DE DORMÊNCIA DE GEMAS DE *VITIS LABRUSCANA* L. VAR. NIAGARA ROSADA EM CICLOS DE FOTOPERÍODO DE DIAS CURTOS E LONGOS / Rodrigo Richard Rabello Fonseca Lucas. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2021.

60 f. : il.

Bibliografia: 39 - 47.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2021.

Orientador: Ricardo Enrique Bressan Smith.

1. videira. 2. endodormência. 3. meristema. 4. luz. 5. desenvolvimento. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

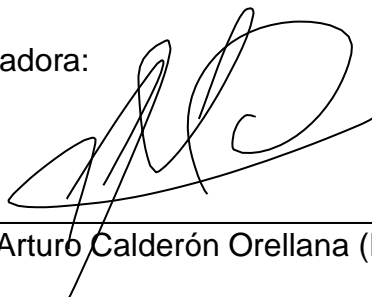
SUBSTÂNCIAS DE RESERVA NA QUEBRA DE DORMÊNCIA DE  
GEMAS DE *Vitis labruscana* L. VAR. NIAGARA ROSADA EM  
CICLOS DE FOTOPERÍODO DE DIAS CURTOS E LONGOS

**RODRIGO RICHARD RABELLO FONSECA LUCAS**

Dissertação 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 Mestre em Produção Vegetal.

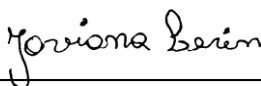
Aprovada em 04 de março de 2021

Comissão Examinadora:



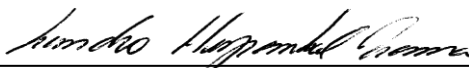
---

Prof. Arturo Calderón Orellana (PhD., Plant Sciences)



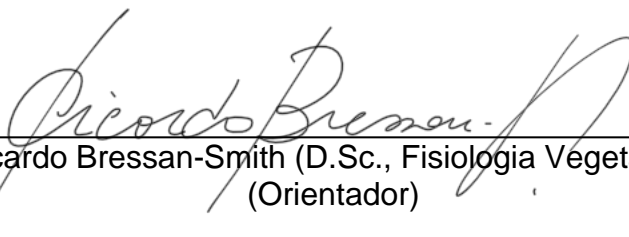
---

Joviana Lerin, (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF



---

Leandro Hespanhol Viana (D.Sc., Fisiologia Vegetal) – UENF



---

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

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de deixar meus agradecimentos aos meus pais Eduardo e Marion por todo apoio nesta caminhada, por me darem todo carinho, apoio, educação e o acesso à formação que me permitiu chegar onde estou, a eles meu eterno amor e obrigado!

Ao meu filho Arthur por ser a razão que me faz seguir em frente, me impulsionando em busca de fazer jus à benção que é ser seu pai;

Ao meu orientador Ricardo Bressan, por todo o apoio teórico, profissional e amizade construída pela nossa convivência durante a realização desta dissertação;

Aos colegas do LMGV pelas discussões acerca dos assuntos que permeiam os assuntos abordados neste trabalho, em especial Tamires Ribeiro, Luan Cordeiro e Luan Baritiello pelas risadas e apoio nas horas difíceis;

À mestra Renata Amélia Pegoral e à professora Maura da Cunha, pela colaboração na realização dos experimentos de histoquímica e apoio teórico na realização do projeto;

Ao núcleo de Biologia Vegetal do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT), do Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela estrutura que permitiu a realização dos experimentos de histoquímica, que puderam tornar este trabalho mais completo do ponto de vista anatômico;

A banca examinadora pelas contundentes observações que puderam tornar esta pesquisa mais robusta e nos padrões da ciência internacional;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pelo apoio financeiro por meio da disponibilidade de bolsa de estudo e pela estrutura física que permitiu a realização da pesquisa;

A FAPERJ pelos recursos que nos permitiram ter equipamentos e insumos para realização da pesquisa;

Ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de enriquecer meu currículo e minha vivência acadêmico/profissional durante congressos, seminários e disciplinas.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 - Origem e classificação botânica da videira.....	4
2.2 - Distribuição geográfica e viticultura no mundo .....	5
2.3 - Fenologia da videira .....	6
2.4 – Morfologia e anatomia da videira .....	7
2.5 – Dormência de Gemas .....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 - Caracterização da área experimental e material vegetal.....	13
3.2 – Análise histoquímica das gemas de <i>Vitis labruscana</i> .....	14
3.3 - Análise quantitativa de proteínas solúveis totais .....	16



3.4 - Análise quantitativa de açúcares solúveis .....	17
3.5 - Análise quantitativa de alfa-amilase .....	17
3.6 – Análise Estatística.....	18
4. RESULTADOS.....	19
4.1 - Histoquímica das gemas de <i>Vitis labruscana</i> .....	19
4.2 – Dados de $\Delta$ BR50: comparação entre os ciclos FDL e FDC.....	24
4.3 – Conteúdo proteico: comparação entre os ciclos FDL e FDC .....	26
4.4 – Perfil de açúcares solúveis em gemas de <i>Vitis labruscana</i> var. Niagara Rosada em ciclo de FDL.....	28
4.5 – Atividade da enzima alfa-amilase: comparação entre os ciclos FDL e FDC .....	29
5. DISCUSSÃO .....	32
5.1 – Dados de BR50 dos ciclos FDL e FDC revelam diferenças expressivas....	32
5.2 – Análises histoquímicas revelam a dinâmica das reservas presentes no tecido da gema durante o processo de quebra de dormência.....	34
5.3 – O perfil de atividade de alfa-amilase indica importância do consumo do amido e formação de açúcares solúveis no desenvolvimento inicial das gemas .....	36
6. RESUMO E CONCLUSÕES .....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

## RESUMO

LUCAS, Rodrigo Richard Rabello Fonseca, M. Sc ; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2021. Substâncias de reserva na quebra de dormência de gemas de *Vitis labruscana* L. var. Niagara Rosada em ciclos de fotoperíodo curto e longo. Orientador: Prof. Ricardo Enrique Bressan-Smith.

Endodormência é uma estratégia que as plantas utilizam como forma de sobrevivência a condições ambientais desfavoráveis como baixas temperaturas e baixa exposição solar diária, gerando um isolamento metabólico e impedindo o contato externo da planta-mãe. O período de repouso é conservado em todas as variedades de *Vitis*, entretanto desuniformidade de brotação em regiões tropicais é comum, pois não atendem ao acúmulo de horas de resfriamento necessários à quebra de dormência. O trabalho teve como objetivo determinar as reservas internas em gemas de videira durante a quebra de dormência em ciclos de fotoperíodo de dias curtos (FDC) e dias longos (FDL) durante um ciclo anual de produção das plantas e determinar se as gemas são induzidas à dormência nas condições presentes de fotoperíodo, associando as concentrações das moléculas ao desenvolvimento da gema. Foram utilizadas plantas de Niagara Rosada (*Vitis labruscana*) neste estudo. Os períodos de poda compreenderam os meses de abril para FDC e outubro para FDL. Para localizar e determinar a presença ou ausência de reservas na gema, utilizaram histoquímica e microscopia óptica. Para

quantificação das concentrações das reservas, utilizaram ensaios bioquímicos de quantificação de concentração como proteínas solúveis, açúcares solúveis, e atividade enzimática de hidrólise do amido para avaliar o consumo de amido. Foi observado que no ciclo de FDL a gema dispunha de altas concentrações iniciais seguido de um leve consumo, mantendo certos níveis de cada reserva aos estádios finais da quebra de dormência, enquanto que no ciclo de FDC foi vista uma resposta de elevação das reservas ao longo do desenvolvimento. Neste estudo, o período de poda influenciou o desenvolvimento das gemas, levando a uma resposta similar de indução de endodormência no período de abril e no período de outubro a uma resposta de liberação da endodormência. A provável presença de endodormência nas plantas em latitudes baixas, mesmo na ausência de sinais indutores, como baixas temperaturas é um dos marcos deste trabalho, também a caracterização de períodos de poda produtivos, e períodos a se evitar realização de poda.

Palavras-chave: videira, endodormência, meristema, luz, desenvolvimento.

## ABSTRACT

Lucas, Rodrigo Richard Rabello Fonseca; M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March, 2021. Reserves substances in *Vitis labruscana* L. cv. Niagara Rosada budburst in short and long photoperiod cycles. Advisor: Prof. Ricardo Enrique Bressan-Smith.

Endodormancy is a strategy used by plants to cope with unfavorable conditions such as low temperatures and low daily light exposure, leading to metabolic isolation and plant-bud connection loss. The rest period is a conserved characteristic across *Vitis* varieties, although budbreak disparity is common in tropical regions, as they lack physiological requirements such as photoperiod and temperature, necessary for budbreak. In this work, we aimed to determine grapevine bud reserves during budburst in different photoperiod throughout a year. In addition, we aimed to determine whether buds are induced to endodormancy in such photoperiod conditions, associating the reserve presence to the axillary bud development. Were selected *Vitis labruscana* cv. Niagara Rosada plants for this study. The pruning periods were in April for SDP and in October for LDP. To determine the presence of bud reserves, we carried out histochemical experiments and optical microscopy. We performed biochemical assays to quantify reserves such as soluble proteins, soluble sugars, and starch hydrolysis based on enzymatic activity to predict starch consumption. We observed that buds exhibited high concentrations of reserves initially, followed by a slight consumption under LDP, maintaining certain levels of each group of molecules at the end of budburst. In the

SDP, we observed an elevated concentration of reserves throughout the entire development of budburst. In this study, the pruning period influenced the bud development, leading to an endodormancy-like behavior at SDP. The presence of endodormancy in low latitude plants, even with low dormancy signals is the highlight of this work.

Keywords: grapevine, endodormancy, meristem, light, development.

## 1. INTRODUÇÃO

A dormência de gemas é um processo fisiológico pelo qual as plantas mudam seu metabolismo e a anatomia do tecido como forma de sobrevivência a condições ambientais desfavoráveis. Em gemas de videira, a redução de fotoperíodo e temperatura foram descritas como fatores responsáveis pela dormência (Kühn et al., 2009; Grant et al., 2013a).

Em gemas laterais de videira, a dormência é constituída de paradormência (quando o meristema apical reprime o crescimento dos meristemas laterais); ecodormência (período de dormência causado por fatores ambientais restritivos) e endodormência (dormência causada por fatores metabólicos da planta) (Horvath et al., 2003).

A entrada em dormência é caracterizada pelo processo de isolamento metabólico do tecido da gema, concomitantemente à expressão de beta-glucanos, que causam o fechamento de plasmodesmata (Rinne et al., 2011a) Além disso, o acúmulo de reservas energéticas como triacilgliceróis e amido também tem sido postulado como presente nas gemas (Fennel et al., 2015a).

O fotoperíodo é um fator importante para processos fisiológicos das plantas. Por meio da percepção do ciclo circadiano, elas conseguem detectar a duração do dia e da noite e com isso disparar eventos bioquímicos ao longo do dia, como abertura/fechamento estomático, até entre estações durante o ano como

floração e dormência (Song et al., 2013). A dormência de gemas é iniciada, sobretudo, pela queda de fotoperíodo que se inicia no verão e tem seu menor valor no início do inverno (Rinne et al., 2011b; Díaz-Vivancos, 2018a).

A dependência da entrada e saída da dormência pelo fotoperíodo deve ser caracterizada para cada planta e variedade, pois a variação do mesmo ao longo do ano pode gerar uma resistência maior à brotação das videiras, que são lianas e dependem de alta irradiação solar para crescer. As regiões tropicais apresentam fotoperíodo desde 12h/12h (luz/escuro e vice-versa) em latitudes próximas a 0°, até 10h/14h (luz/escuro e vice-versa) em latitude de 30°S. No norte do estado do Rio de Janeiro, especificamente a 21,5°S, o regime de fotoperíodo varia de 10,7 h/13,3 h (luz/escuro e vice-versa), há indícios da relação entrada/saída de dormência em *V. vinifera* e *V. labruscana* cultivadas nesta latitude (Lemos, 2018a; Dantas et al., 2020a), porém mais estudos associando temperatura e luz no processo de dormência da videira precisam ser realizados.

Análises de BR50, que é o número de dias necessários a brotação de 50% das gemas de uma planta, em dois ciclos de produção ao longo do ano em baixa latitude (21,5°S), indicaram a ocorrência de endodormência nas videiras *Vitis vinifera* L. var. Chardonnay e *Vitis labruscana* var. Niagara Rosada apenas no ciclo com redução de fotoperíodo (Lemos, 2018b). Em condições artificiais de fotoperíodo, foi visto que gemas de *V. vinifera*, sob regime de 10h de incidência luminosa, induziram uma espécie de quiescência por engrossamento de parede celular e redução de variáveis de crescimento, como número de nós por vara e formação de periderme. Tais resultados parecem associar a redução do fotoperíodo à indução da endodormência, entretanto mais detalhes ainda precisam ser elucidados (Dantas et al., 2020b).

Na viticultura tropical, a quebra de dormência é um empecilho para os produtores, pois não há uma brotação uniforme dos vinhedos, o que causa perdas de produção (Ophir et al., 2009). Entre os componentes fisiológicos relatados como associados à quebra de dormência, há fitormônios como o ácido abscísico, etileno, auxinas, citocininas e giberelinas (Noriega e Pérez, 2017; Shi et al., 2018; Zheng et al., 2018a; Zheng et al., 2018b). Entre os métodos de quebra de dormência artificiais, o mais utilizado é a aplicação da cianamida hidrogenada (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)

(Vergara e Pérez., 2010). Este composto acelera os efeitos de pré-quebra de dormência como estresse subletal, hipoxia e produção de espécies reativas de oxigênio (Meitha et al., 2018a). Diversos grupos de pesquisa procuram entender a fisiologia relacionada à quebra de dormência com intuito de melhorar a produtividade e diminuir os riscos da aplicação da cianamida hidrogenada, que é um análogo do cianeto, um bloqueador da cadeia respiratória (Pérez e Lira, 2005a).

A dinâmica do metabolismo dos carboidratos durante a entrada na dormência foi avaliada utilizando ferramentas de biologia molecular, sendo revelado aumento na expressão gênica de rafinose e trealose, dentre outros açúcares (Fennel et al., 2015b). Um relato das mudanças bioquímicas ocorridas após aplicação de indutor de brotação em *V. vinifera* L. mostra alterações significativas no conteúdo de açúcares solúveis durante a quebra da dormência, o que sugere que o aumento da concentração dos açúcares solúveis está relacionado à quebra de dormência (Mohamed et al., 2012).

No trabalho de De Deus (2018a), foi concluído que o tecido da gema de *Vitis labruscana* não apresenta uma conexão vascular com o xilema entre o início da brotação até o estado de primeira folha formada (EL7), porém o apoplasto foi apontado como funcional e sugerido como possível transportador de açúcares simples e fitormônios (Signorelli et al., 2020a). O amido é um polissacarídeo incapaz de ser transportado, mas é possível que este seja formado na gema, anteriormente à entrada em dormência para servir de combustível para início da quebra de dormência.

Neste trabalho os objetivos foram determinar as reservas internas em gemas de videira durante a quebra de dormência em ciclos de fotoperíodo longo e curto durante dois ciclos de produção e determinar se as gemas são induzidas naturalmente à endodormência, associando as concentrações das moléculas ao desenvolvimento da gema.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 - Origem e classificação botânica da videira

A videira apresenta sua origem paleontológica, na região que atualmente pertence à Groenlândia. Registros fósseis estudados apontam sua origem a 300 mil anos, na era Cenozoica. A videira é uma espécie pertencente ao grupo Cormófitas, que são plantas com raiz, folha e autotróficas; a divisão Spermatophyta (plantas que apresentam flores e sementes); a subdivisão Angiospermae (plantas com sementes dentro do fruto), a classe das Eudicotiledôneas (plantas com dois cotilédones formados durante a embriogênese); a ordem das Rhamnales (plantas lenhosas com ciclo de estames situados dentro das pétalas), que consiste de três famílias: Vitaceae; Rhamnaceae e Leeaceae. A família das Vitaceae a qual pertence a videira, são caracterizadas pela presença de estruturas de apoio chamadas 'gavinhas' e inflorescências opostas às folhas (Alvarenga et al., 1998).

Há um total de 14 gêneros descritos até o momento de Vitaceae, dentre eles incluem-se as *Vitis*, *Cissus* e *Muscadinia*. O gênero *Vitis* se destaca dos outros por apresentar pétalas que se mantêm agrupadas no topo e se separam na base em uma estrutura chamada de 'caliptra' ou 'capacete'. No gênero *Vitis* há 70 espécies descritas até o momento, incluindo as espécies *V. vinifera*; *V. labrusca*; *V. aestivalis*; *V. riparia*, e outras espécies, sendo as duas primeiras as mais usadas

na viticultura moderna, que são integrantes do subgênero *Euvitis* (Giovannini, 2008; Iland et al., 2011).

## 2.2 - Distribuição geográfica e viticultura no mundo

A cultura da videira tem grande distribuição geográfica, com as principais áreas de cultivo situadas entre as latitudes 50° N até 30° S, mas podendo ser encontradas em regiões tropicais próximas ao equador (latitudes próximas a 0°). A videira está entre as principais espécies frutíferas em cultivo no mundo e oferece produtos de grande procura como vinhos, espumantes, bebidas destiladas, sucos e outros produtos derivados (Camargo et al., 2011).

Segundo dados da Organização Internacional de Vinhos e Uvas (do inglês *International Organisation of Vine and Wine*, IOV), o cultivo da uva ocupa cerca de 7,4 milhões de hectares da superfície global tendo cinco países como principais produtores: China com 11,7 milhões de toneladas; Itália com 8,6; EUA com 6,9; Espanha com 6,9 e França com 6,2 milhões de toneladas. As uvas são uma das culturas mais produzidas no mundo com aproximadamente 75 milhões de toneladas produzidas todos os anos, em 100 países diferentes. Aproximadamente 57% das uvas são usadas na produção de vinho, 36% são consumidas "*in natura*" e 7% são consumidas secas em passas. A tecnologia e mão de obra empregadas na viticultura, tornam esta cultura a de maior valor de produção no mundo entre as frutíferas, outro dado relevante é que em 2014 a uva foi a segunda cultura com maior produção no mundo de aproximadamente 70 milhões de toneladas (FAO-OIV, 2016; OIV, 2019).

O Brasil, no ano de 2018, apresentou uma área de colheita de 74.475 ha e teve uma produção de 1.591.986 t e um rendimento médio de 21.377 kg ha<sup>-1</sup>, tendo valor de produção de aproximadamente 26 bilhões de reais (IBGE, 2019a). O país apresenta uma alta diversidade ambiental e climática que possibilitam a existência de polos de viticultura temperada, com um período hibernal das videiras, polos em áreas subtropicais com dois ciclos anuais e polos tropicais onde podas sucessivas são permitidas com a realização de múltiplos ciclos de produção no ano. No estado do Rio de Janeiro houve uma produção de 117 t no ano de 2018, com produção concentrada na região norte e noroeste Fluminense nas cidades de São José de

Ubá, Cambuci, São Fidélis, Cardoso Moreira e Bom Jesus do Itabapoana (IBGE, 2019b).

### 2.3 - Fenologia da videira

A classificação fenológica da videira do trabalho de Galet (1983) citado por Pedro Júnior et al. (1993) caracteriza a planta por ciclos vegetativos alternados com períodos de repouso. Os ciclos são divididos em duas fases: I) vegetativo: Tem início com a saída de seiva após a poda e segue até a queda das folhas que também apresenta subdivisões: a) crescimento: período que consiste entre a brotação e a cessação do aumento de biomassa dos ramos; b) reprodutivo: abrange a floração e a maturação dos frutos; c) amadurecimento dos tecidos: engloba o interrompimento do crescimento até a lignificação dos ramos; II) repouso: corresponde ao intervalo entre dois ciclos vegetativos. Há uma sucessão dos mesmos, pois há uma interdependência entre si, de forma que o comportamento de um influencia no outro.

Nos ambientes tropicais a fase de repouso costuma se dar pela redução de irrigação de forma controlada, para promover o acúmulo de reservas, dessa forma reproduzindo o período hibernar das regiões temperadas (Leão e Maia, 1998).

Propostas foram feitas para descrever os estádios de desenvolvimento da videira, o que resultou em diversas escalas fenológicas, tendo a primeira sido postulada por Baggioini em 1952, que utilizou letras para caracterizar as principais fases. A mais utilizada foi elaborada pelos pesquisadores Eichhorn e Lorenz em 1977 onde dividiram os ciclos em 24 pontos fenológicos. No trabalho de Coombe, em 1995, esta escala recebeu modificações que permitiram prover detalhes sobre os estádios intermediários (Lorenz et al., 1995).

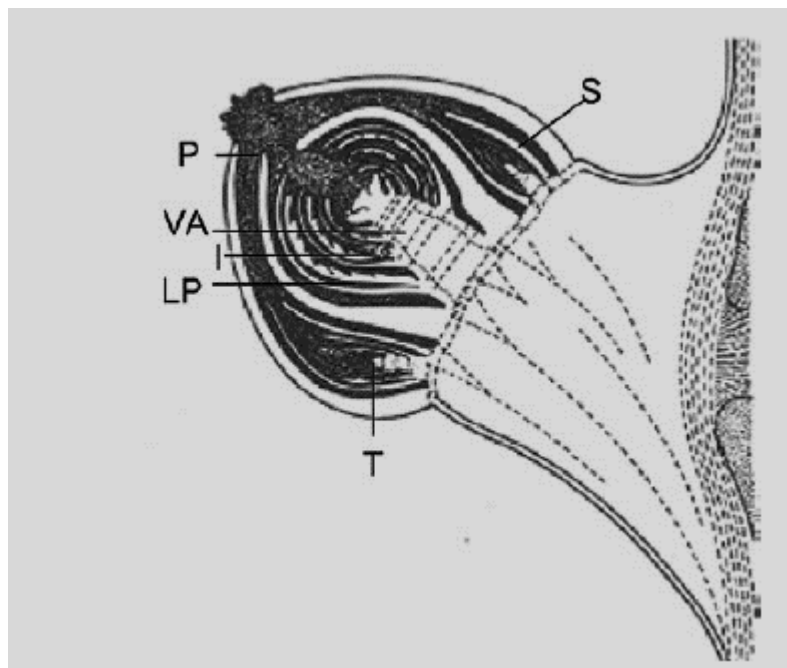
Alguns índices biometeorológicos são utilizados para determinar o tempo de cada estágio fenológico da videira, dentre eles tem o Índice heliotérmico Geslin (do inglês, *Heliothermal Geslin Index*, HGI), desenvolvido por Huglin (1978), que divide os estádios por fotoperíodo e temperatura sobre o vinhedo. Esta adição da participação do fator fotoperíodo no desenvolvimento das videiras permitiu a correção para diferentes latitudes, e dessa forma houve uma melhor correlação entre a quantidade de soma térmica com o conteúdo polissacarídico dos frutos. O

índice de frio noturno (IF) é um índice desenvolvido para avaliar a temperatura mínima em correlação ao tempo de maturação das bagas, servindo de indicador das características de metabólitos secundários (polifenóis, cor e aroma) em uvas e vinhos. O índice de seca (IS) caracteriza a disponibilidade hídrica no solo em relação à demanda hídrica da cultura, fornecendo o perfil da colheita e qualidade do vinho (Tonietto e Carbonneau, 2004). A escala de Graus Dias (do inglês, *Degree Days*, DD) que avalia a temperatura média do período em razão da temperatura base (temperatura necessária para paralização do crescimento), é amplamente utilizada na cultura da videira. Este índice foi criado por M. A. Amerine e A. J. Winkler em 1944, ao comparar diferentes regiões produtoras de uva, fazendo somatório das temperaturas médias diárias e mostrando diferentes necessidades das variedades para completar os ciclos produtivos (Amerine e Winkler, 1944).

## **2.4 – Morfologia e anatomia da videira**

A videira é uma planta perene, que forma arbustos, composta é dividida nas seguintes partes: raízes, tronco, ramos, gemas, folhas, flores, gavinhas, frutos e sementes. As raízes atingem até 1,50 m de profundidade durante sua formação advinda de estacas. As raízes são responsáveis pelo armazenamento de carboidratos de reserva, que são acumuladas para o desenvolvimento da planta no início de um novo ciclo produtivo (Winkler et al., 1997).

A parte aérea é composta pelo tronco (estrutura principal de sustentação das estruturas acima da superfície), ramos (estrutura resultante de um processo de brotação das gemas, responsável pela sustentação das folhas e frutos) e gemas. O ápice caulinar ou gema apical, é uma estrutura responsável pelo crescimento em altura do caule e também pela formação dos primórdios foliares e gemas axilares, que são localizadas nas axilas das folhas. Os nós são as estruturas que definem o crescimento de folhas e gemas axilares (Gerrath, 1992). As gemas laterais de videira são estruturas complexas, pois são constituídas de dois tipos de gemas, as gemas laterais e gemas latentes ou compostas. A gema lateral é formada na axila da folha e dá origem à brotação lateral que também pode ser chamada de neto, este é infértil e não produz cachos (Pommer, 2003). A gema composta é um conjunto de três gemas, sendo uma primária e outras duas secundárias menores, cobertas de pelos e brácteas (primórdios foliares) como pode ser visto na Figura 1.



**Figura 1:** Representação de uma gema em pré-quebra de dormência. Legenda: P- gema primária, S – gema secundária, T – gema terciária, LP – primórdio foliar (do inglês *leaf primordium*) e VA – ápice vegetativo (do inglês *vegetative axis*). Adaptado de Sartorius, (1937).

Cada componente da gema pode apresentar primórdios foliares e primórdios de inflorescência ou gavinhas, entretanto as gemas só podem ser consideradas férteis se apresentarem primórdios de inflorescência, caso haja ausência de estruturas florais as mesmas são denominadas inférteis ou vegetativas (Buttrose, 1974; Morrison, 1991; Leão e Silva, 2003).

Durante o período de inverno, nas regiões temperadas, as gemas primárias que são a maior fonte de produtividade, podem acabar sendo mortas devido às baixas temperaturas, entretanto se a parte basal ainda estiver viva ao final do inverno a mesma ainda sim pode gerar um novo ramo, porém o mesmo não será mais frutífero como uma gema sem danos. Na ausência de gemas primárias vivas, as gemas secundárias, que apresentam produção menor, porém relevante, assumem o crescimento. As terciárias têm produção irrisória, porém são importantes para a sobrevivência em longo prazo da videira (Zabadal et al., 2007).

## 2.5 – Dormência de Gemas

A dormência das gemas é uma característica adaptativa das plantas que as permitem sobreviver a condições desfavoráveis como temperaturas próximas de 0°C e baixa exposição solar (Rios et al., 2014). A dormência de plantas em clima temperado é dividida em três estádios fenológicos: paradormência, que é mais associada à dormência causada por fatores de dominância, como, por exemplo repressão pelo meristema apical da planta; ecodormência, que é a dormência causada por fatores ambientais, e a endodormência, que é controlada geneticamente por fatores intrínsecos ao tecido da gema (Lang, 1987).

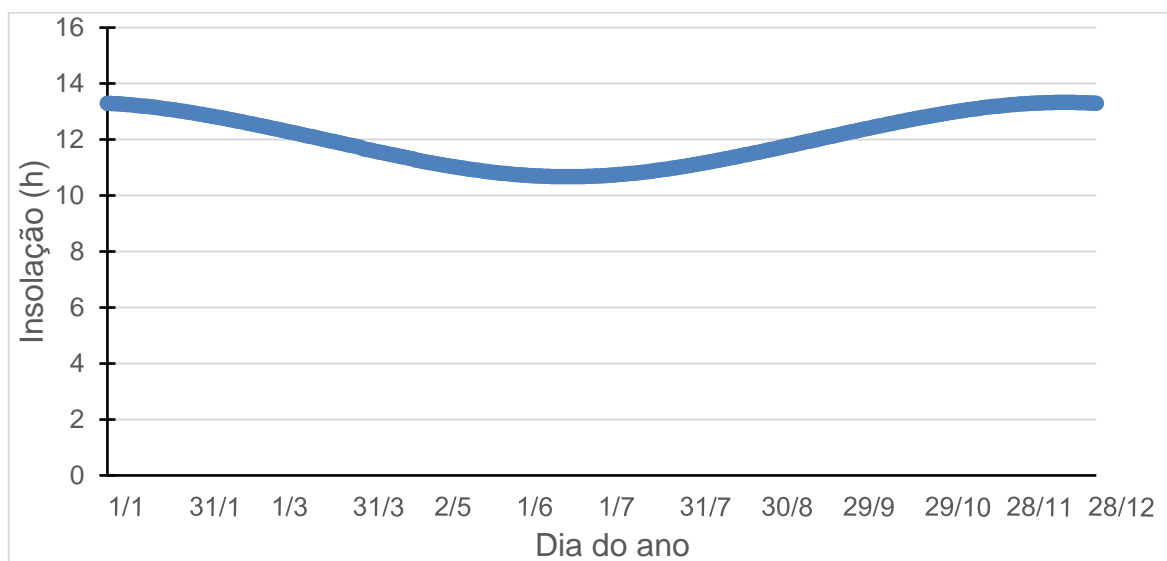
A gema apical mantém o papel importante de manter a paradormência por meio da produção de sinais repressores do desenvolvimento das gemas laterais durante o crescimento vegetativo, pela produção e transporte de fitormônios como a auxina (Friend et al., 2011). No caso da paradormência, evidências apontam a ação das giberelinas agindo como promovedores de degradação de caloses nos meristemas axilares das gemas em resposta à perda do meristema apical em *Populus tremula* (Rinne et al., 2016a).

Ao longo de um ciclo as gemas recém-formadas apresentam clorofila na sua epiderme, em certo período do ano as gemas têm suas clorofilas de epiderme degradadas e no lugar se formam lignina e compostos fenólicos na parede celular, o que causa uma mudança de cor e de estrutura que forma a gema de inverno. Estas mudanças morfológicas são induzidas principalmente pela redução das temperaturas e do fotoperíodo (Pérez e Lira, 2005b).

Durante a endodormência, a planta não apresenta crescimento visível, mas rotas metabólicas primárias continuam em níveis basais. A respiração é uma das funções fisiológicas que tem sua atividade reduzida durante a endodormência, sendo o ácido abscísico apontado como provável inibidor de genes relacionados à respiração vista em *V. vinifera* (Petri et al., 1996; Parada et al., 2016). Durante a endodormência, a planta não responde a sinais de crescimento promovidos externamente; a planta apenas retoma crescimento após receber estímulos de quebra de dormência que inclui períodos prolongados de exposição a baixas temperaturas e também pelo fotoperíodo, como visto em diferentes genótipos de

*Vitis sp* (Grant et al., 2013b). Sendo a dormência quebrada, a planta exibe ecodormência, que representa um período de transição entre baixas temperaturas e temperaturas elevadas, que levam ao aumento do metabolismo e reativação do crescimento.

O fotoperíodo é por definição a quantidade de horas de luz durante um dia. As plantas desenvolveram sistemas metabólicos como fitormônios e moléculas fotosinalizadoras para perceber a presença de luz e se adaptaram a respostas de luz e de escuro, e a esse conjunto denomina-se ritmo circadiano (Pittendrigh e Minis, 1964). Na linha do Equador a duração do dia é muito próxima da noite ao longo do ano, conforme se afasta em direção aos polos os dias se tornam maiores no verão e curtos no inverno. A figura 11 mostra a variação de fotoperíodo existente na latitude 21,5°S, em Campos dos Goytacazes, RJ.



**Figura 2:** Duração de horas de sol ao longo do ano na latitude 21,5°S. A quantidade de horas de luz foi calculada diariamente no período de um ano.

Uma discussão sobre o conceito do processo de dormência de gemas levou à divisão entre estado quiescente e estado dormente, em contraste à classificação anterior de para-, eco- e endodormência. O estado dormente é caracterizado por heterocromatização do DNA, com o núcleo oxidado, desidratado e sob hipoxia, além de baixas concentrações de óxido nítrico e açúcares livres e

com a expressão de fatores de fechamento da plasmodesmata, como os  $\beta$ -glucanos (Rinne et al., 2011c; Dantas et al., 2020c). A quiescência é caracterizada como um estado onde apenas alguns pontos do genoma estão heterocromatizados e apenas alguns conjuntos de genes estão livres, porém não há transcrição dos mesmos. Esta transição entre dormiente e quiescente é acompanhada do afrouxamento da plasmodesmata (Considine e Considine, 2016).

O comportamento de quiescência foi observado em fotoperíodos neutros em videiras cultivadas em climas tropicais, que reduziu a expressão de fatores como PHYA (do inglês, *Phytormone A*) e FT (do inglês, *Flowering Locus T*), e aumentou a expressão de PHYB (do inglês, *Phytormone B*). Em condições controladas para fotoperíodos curtos as gemas se comportaram em estado de dormência, o que é evidenciado pelo aumento da espessura da parede celular das células de gemas, sugerindo que o fator temperatura não é determinante na dormência das mesmas (Dantas et al., 2020d).

Em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa, os aspectos de transporte de água e relações de fotoperíodo e dormência de gemas foram explorados. Houve análise da formação de conexão xilemática entre a gema e o caule durante a brotação e concluiu-se que esta conexão só é formada com a formação da primeira folha, o que sugere não haver um transporte de moléculas energéticas para o tecido da gema durante a quebra de dormência (de Deus, 2018b).

O trabalho de Lemos (2018c) analisou o efeito do fotoperíodo na indução de dormência em diferentes genótipos na latitude 21,5°S. Se observou que períodos onde o fotoperíodo diminuiu, houve relação com a entrada em dormência das gemas. Além disso, se concluiu que essa resposta fisiológica de entrada em dormência é visualmente percebida por meio dos sinais de indução à dormência como formação de periderme, queda do meristema apical e cessação do crescimento dos ramos, encontrando respostas de indução distintas entre as variedades Chardonnay (*V. vinifera*) e Niagara Rosada (*V. labruscana*).

As reservas energéticas também são fatores que parecem afetar a quebra da dormência de gemas em espécies perenes. Em cerejeira-doce (*Prunus avium*)



foi sugerido o aumento no conteúdo de amido durante a dormência de gemas florais, sobretudo nos primórdios foliares, como um comportamento de endodormência desta espécie (Fadon et al., 2018a). Outro relato na mesma espécie mostrou que altas concentrações de amido nos tecidos lenhosos foram associadas à dormência e, conseqüentemente, o aumento de hexoses foi relacionado ao processo de quebra de dormência, atuando como marcadores deste fenômeno (Fernandez et al., 2019). Em *Prunus persica* (pêssego), foi demonstrada a presença de grãos de amido em gemas florais, sugerindo que o amido tem influência no processo de quebra de dormência e floração nesta espécie (Díaz-Vivancos et al., 2018b).

Em *V. vinifera* var. Thompson Seedless, comparações entre porta-enxertos mostraram que os mesmos também contribuem ao perfil de quebra de dormência, onde os mesmos podem alterar a concentração de reservas na parte aérea e também de enzimas associadas ao metabolismo de carboidratos como amilases e peroxidases (Jogaiah et al., 2014).

Abordagens genômicas apontam que a transcrição gênica de enzimas de formação de amido é suprimida durante a quebra de dormência. Ao ponto que as enzimas de quebra de açúcares como frutoquinase e hexoquinase são promovidas durante a quebra de dormência. Este comportamento se manteve conservado em diferentes espécies de videira (*V. amurensis*, *V. riparia* e *V. vinifera*), o que sugere a quebra de energia estocada em polissacarídeos durante o inverno para resumo do crescimento (Kovaleski e Londo, 2019a).

Em álamo híbrido (*Populus tremula* x *P. tremuloides*), cujas gemas axilares apresentam acumulação de corpos lipídicos durante sua formação e que a transcrição e biossíntese de giberelinas é promovida após a decapitação do meristema apical (quebra da paradormência), parece sugerir a importância de lipídios na formação da gema. Há alta expressão de membros da família GH-17 de genes, que são responsáveis pela tradução de glucanases, que degradam caloses especialmente no meristema axilar (Rinne et al., 2016b).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Caracterização da área experimental e material vegetal

O experimento foi realizado em casa de vegetação localizada em latitude 21° 45' 39" S e longitude 41° 17' 21" W na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), na cidade de Campos dos Goytacazes, em altitude de 11 metros acima do nível do mar. Baseado na classificação Köppen-Geiger (1936), o clima da região é tropical úmido (Aw), com verão chuvoso e estação seca no inverno. A espécie utilizada foi *Vitis labruscana* (var. Niagara Rosada), enxertadas sobre porta-enxerto IAC-766, conduzidas em espaldeira com dois ramos por planta, em vasos com capacidade de 25 L, que foram preenchidos com uma mistura de solo, areia e adubo de 1:1:1. Os vasos foram dispostos com espaçamento entre linhas de 0,92 m e entre plantas de 0,38 m.

A adubação de manutenção foi realizada de acordo com a análise de solo e foram feitos controles preventivos de pragas e doenças. O sistema de irrigação montado foi do tipo gotejamento, utilizando um gotejador PCJ (tipo botão) por vaso, com vazão de 4 L h<sup>-1</sup>. O manejo de irrigação realizado baseou-se na estimativa da evapotranspiração da cultura (ET<sub>c</sub>). Os dados climáticos foram obtidos por meio de estação meteorológica portátil WatchDog® (Spectrum Technologies, EUA) instalada dentro da casa de vegetação, coletando dados a cada 15 minutos. O fotoperíodo natural varia entre 10,7 e 13,4 h durante o ano (Figura 2).

As plantas foram podadas em 17 de outubro de 2019 em ciclo de fotoperíodo de dias longos (FDL), enquanto a poda de ciclo de fotoperíodo de dias curtos (FDC) ocorreu em 17 de abril de 2020. As varas foram levadas ao laboratório para posterior manejo e experimentação, enquanto as gemas das plantas na casa de vegetação foram pinceladas com solução de cianamida hidrogenada 5% (DORMEX, BASF, Alemanha). O delineamento experimental escolhido foi inteiramente casualizado com 2 tratamentos (ciclos de produção) e 25 repetições, sendo cada planta considerada uma repetição. As mesmas plantas foram utilizadas em ambos os períodos de avaliação e todos os experimentos foram realizados com o material extraído das mesmas.

Os ramos coletados na poda foram prontamente levados ao laboratório, segmentados em estacas de gema única, distribuídas em placa de isopor em bandejas com água, mantidos em temperatura ambiente, e expostas a luz artificial por períodos de 16h diárias durante a realização dos experimentos. Para confirmar a distinção no tempo de brotação entre os ciclos FDC e FDL o BR50 (número de dias necessários para brotação de 50% das gemas) foi calculado em ambos os ciclos, segundo metodologia descrita por Vergara e Pérez (2010b). As gemas foram divididas em dois grupos, um controle, em que não foi aplicado o indutor de brotação, e um grupo com aplicação de DORMEX® 5%. No ciclo FDL foram utilizadas 35 gemas para ambos os tratamentos, enquanto no ciclo FDC foram utilizadas 30 gemas em cada tratamento.

As gemas tiveram suas brotações avaliadas em estádios, enumerados de 1 a 4, segundo classificação de Eichhorn e Lorenz modificada por Coombe (1995), sendo EL1 correspondente à gema dormente; EL2 gema com escamas abertas; EL3 gema algodão e EL4 gema ponta verde com emissão do primeiro folíolo. As gemas foram consideradas brotadas quando alcançaram o estádio EL4.

### **3.2 – Análise histoquímica das gemas de *Vitis labruscana***

Gemas laterais de videira em estádios iniciais de brotação EL1 a EL4 de ciclo FDL foram coletadas e fixadas à temperatura ambiente, no local da coleta, em solução fixadora de Karnovsky (1965), adaptado por Da Cunha et al., (2000),

contendo formaldeído 4% v/v, glutaraldeído 2,5% v/v e tampão cacodilato de sódio 0,05 M pH 7,2.

Posteriormente, as amostras foram lavadas com o mesmo tampão e parte do material passou pela série de desidratação alcoólica nas porcentagens 40% v/v, 50% v/v, 60% v/v, 70% v/v, 80% v/v, 90% v/v e três vezes em 100% v/v, seguida para o processo de infiltração em Histoiresin®. As amostras infiltradas por Histoiresin® foram emblocadas e polimerizadas em temperatura ambiente durante três dias.

As amostras emblocadas foram submetidas a secções transversais e longitudinais de aproximadamente 5 µm de espessura em micrótomo rotativo (Cut 4050 Slee Mainz). As secções foram montadas em lâminas e submetidas a reagentes cromogênicos para evidenciação de substâncias lipídicas e amilíferas.

Após testes histoquímicos, as lâminas foram montadas em lâminas permanentes com Entelan®. As amostras foram observadas em microscópio óptico de campo claro (Axioplan ZEISS) e capturadas em câmera digital Hamamatsu C3077 acoplada ao microscópio. As imagens obtidas foram analisadas pelo software Analysis® - LINK/ISIS/ZEISS (Oxford, Reino Unido).

Parte do material botânico referente aos estádios de tratamento EL1, EL2, EL3 e EL4 foi reservada para secções obtidas a partir de material infiltrado em resina Histoiresin® Layca, submetidas a várias técnicas de coloração e examinadas em microscópio óptico de campo claro (Axioplan ZEISS) para análises das substâncias químicas presentes no material (Tabela 1).

**Tabela 1:** Reagentes que foram utilizados para os testes histoquímicos realizados para identificar os compostos químicos presentes nas gemas axilares de videira

Reagente	Composto químico de afinidade	Coloração	Tempo de exposição
Azul de toluidina (Feder e O'Brien, 1968)	Compostos ácidos/básicos	Metacromasia – azul/azul esverdeado	30 segundos
Lugol (Jensen, 1940)	Amido	Roxo ou castanho	5 minutos
Reagente de Nadi (David e Carde, 1964)	Óleos essenciais e ácidos resínicos	Violeta a púrpura	60 minutos

**Obs.:** Os protocolos utilizados para as análises em Histoquímica seguiram Kraus (1997).

### 3.3 - Análise quantitativa de proteínas solúveis totais

Para extração e quantificação proteica, foi utilizada a metodologia de Bradford (1976) com modificações, sendo realizada a maceração de 0,2 g de tecido fresco a 4°C em gral de porcelana contendo 2 mL de tampão fosfato ou Tris 0,1 N (pH 6,8) seguido de uma centrifugação do extrato (1.000 x g em 24°C, por 10 minutos) e coletado o sobrenadante. Foi repetido este passo 3 vezes para enriquecimento da amostra. Para quantificação adicionou 0,1 mL de extrato em 5 mL de solução de azul de coomasie e seguiu com leitura de absorbância em placa de 96 poços no comprimento de 595 nm. Uma curva padrão feita com concentrações de BSA entre 0,02 e 0,1 mg mL<sup>-1</sup> e um gráfico de regressão foi calculado para estimar as concentrações de proteínas.

### **3.4 - Análise quantitativa de açúcares solúveis**

O método para extração e quantificação do amido escolhido foi descrito por McCready (1950) com modificações descritas a seguir. A extração seguiu a maceração manual de 0,2 g de material seco em nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>), em gral de porcelana.

Ao material foram adicionados 1 mL de etanol 80%, seguido de 5 mL de água destilada e agitado. Após 5 minutos, uma solução aquecida de etanol 80% foi adicionada e a amostra foi centrifugada por 5 minutos em baixa rotação (1500 x g). A amostra ficou em repouso para decantar e a fase etanólica foi descartada, sendo este processo de lavagem repetido três vezes para enriquecer a amostra.

Ao precipitado final foram adicionados 5 mL de água, sendo inserido em banho de gelo e agitado, e adicionado 6,5 mL de ácido clorídrico à solução. Sendo agitado ocasionalmente, após cerca de 10 minutos foram adicionados 20 mL de água seguidos de centrifugação em baixa rotação (2000 x g). Esta solução foi então adicionada a um balão volumétrico de 100 mL e filtrada em fibra de vidro Whatmann nº 2, descartando os primeiros 5 mL de solução.

Para a quantificação de amido, uma alíquota de 5 mL da solução filtrada foi diluída em 500 mL de água e 5 mL desta nova solução foram misturados com 10 mL de solução de antrona (2 g de antrona em 1 L de uma solução 95% de ácido sulfúrico gelado), seguido de uma agitação manual e aquecimento a 100°C por 8 minutos. Decorrido o tempo, a amostra foi resfriada até temperatura ambiente e leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis (Varian, USA) a 630 nm, em cubeta de quartzo.

Curvas padrões de glicose foram feitas com concentrações entre 0-100 mg g<sup>-1</sup> e as soluções de antrona e glicose foram preparadas no dia dos experimentos.

### **3.5 - Análise quantitativa de alfa-amilase**

Para a extração e quantificação enzimática da alfa-amilase (E.C: 3.2.1.1), foi utilizada metodologia descrita por Fuwa (1954) de quantificação colorimétrica por reação de iodo-amido com modificações descritas no trabalho de Castillo-Michel et al. (2007). Para isso, 0,2 g de tecido de gema foi extraído por maceração

manual em N<sub>2</sub> líquido e imerso em tampão imidazol 2 mM pH 7.0. Em seguida o extrato foi aquecido a 70°C por 10 minutos para inativação da β-amilase e outras enzimas termossensíveis, seguido de centrifugação por 5 minutos a 4°C em 14.000 x g em centrífuga refrigerada, ao final o sobrenadante foi descartado.

O método de quantificação seguiu-se com a adição de 1 mL de tampão acetato 0,5 M pH 5,0 e 1,5 mL de água destilada ao volume final de 2,5 mL. As amostras foram mantidas em banho-maria a 37°C por 10 minutos e depois foi adicionada uma solução de amido 1% como substrato, retornando a incubação por 30 minutos. Ao final do tempo de reação 5 mL de uma solução de ácido acético 1 N foi adicionada para interromper a atividade da enzima, sendo a solução então agitada.

Cerca de 1 mL de uma solução de lugol (1% iodo, 0,1% iodeto de potássio) foi adicionada como solução corante e cerca de 9 mL de água adicionada após para diluição. As leituras foram realizadas em leitor de microplacas μQuant (Biotek, UK) em 620 nm. Curvas padrões de amido foram utilizadas para calcular a atividade da enzima. A seguinte equação foi utilizada para calcular a atividade da enzima:

$$\text{Ativ. Enzima} = \{DO (\text{controle}) - DO (\text{amostra}) / DO (\text{controle})\} \times 100 / 10$$

Sendo: DO (controle) – densidade óptica controle (s/ adição de substrato);

DO (amostra) – densidade óptica amostra.

### 3.6 – Análise Estatística

Os dados foram tratados com ferramentas estatísticas descritivas e inferências. Média das repetições (triplicatas) e desvios padrões foram aplicados aos dados em todos os experimentos bioquímicos, além de *two-way* ANOVA para análise de variância entre fotoperíodos e estádios de desenvolvimento, seguido do teste Tukey em 95% de significância ( $\alpha=0,05$ ). Para análise das médias, foram utilizados os softwares Microsoft Office Excel versão 2016 e o GraphPad Prism® versão 8.0.2.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 - Histoquímica das gemas de *Vitis labruscana*

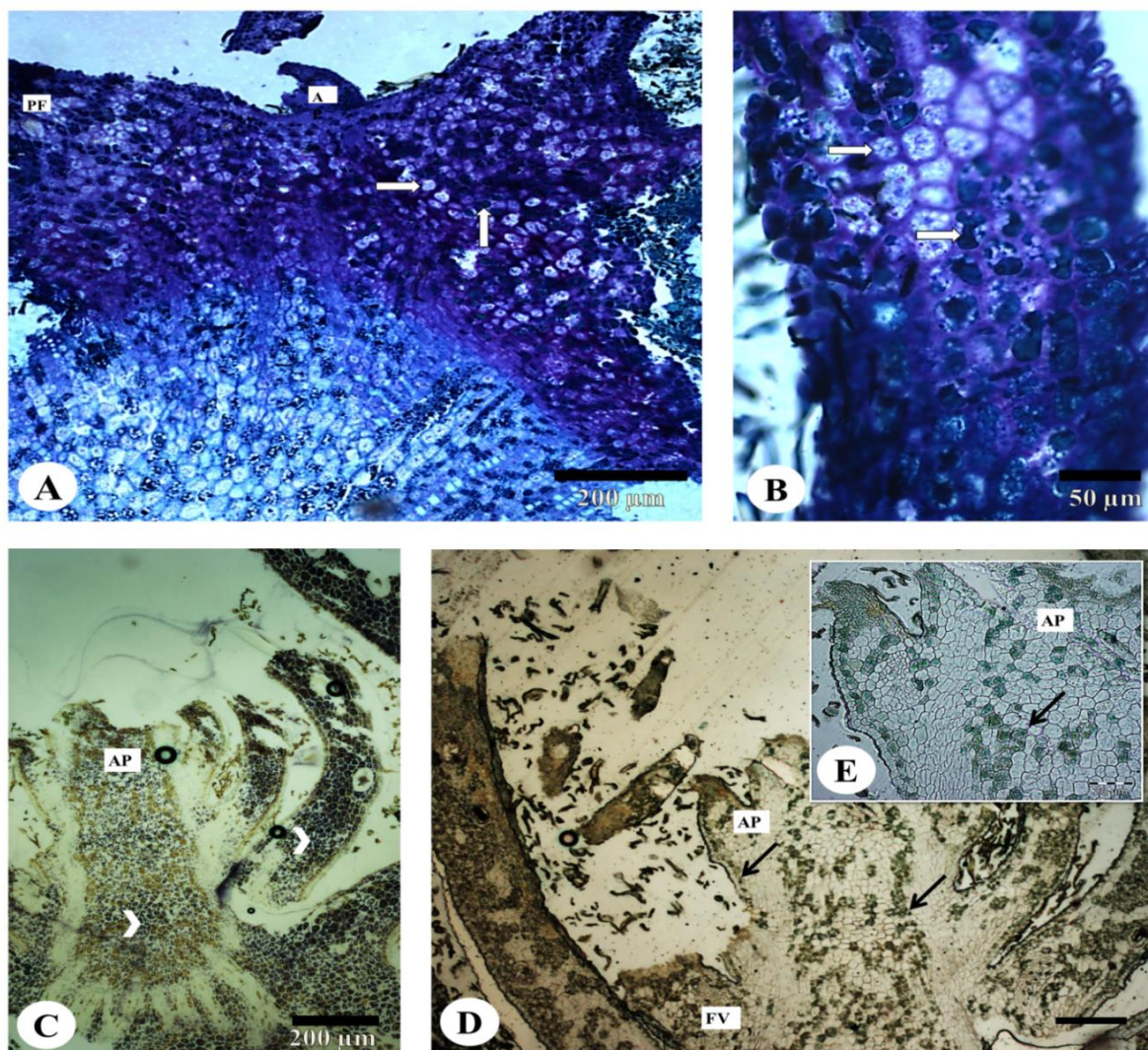
A anatomia das gemas axilares de ramos de *Vitis labruscana* retirada em condições de FDC foi analisada em microscopia óptica com reagentes cromogênicos para revelar compostos orgânicos presentes em diferentes estádios de desenvolvimento. Esta análise considerou os estádios de quebra de dormência EL1, EL2, EL3 e EL4. Nesta análise, não houve diferenças significativas entre os resultados de EL3 e EL4. Dessa forma, nesta análise foram utilizados os dados de EL4 como estágio representativo dos estádios finais de quebra de dormência para as devidas análises. A tabela a seguir mostra os reagentes utilizados e os resultados evidenciados.



**Tabela 2:** Resultado dos testes histoquímicos realizados nas gemas axilares de *Vitis labruscana* nos estádios EL1, EL2 e EL4. Reação positiva (+); reação negativa (-)

Reagente	Composto químico de afinidade	EL1	EL2	EL4
<b>Azul de toluidina</b> (Feder e O'Brien, 1968)	Compostos ácidos / básicos	+	-	+
<b>Lugol</b> (Jensen, 1940)	Amido	+	+	-
<b>Reagente de Nadi</b> (David e Carde, 1964)	Óleos essenciais e ácidos resínicos	+	+	-

As análises no estágio EL1 revelaram a presença de compostos químicos na gema (Figura 3A) e primórdios foliares (Figura 3B). Testes com reagente Lugol evidenciaram a presença de amido, revelado na coloração púrpura a roxo azulado, presente em toda a extensão da gema e dos primórdios foliares (Figura 3C). Ao analisar a presença de lipídios, o Reagente NADI revelou a coloração cinza a azulada, com maior concentração na região central ao ápice da gema e primórdios foliares (Figura 3D).



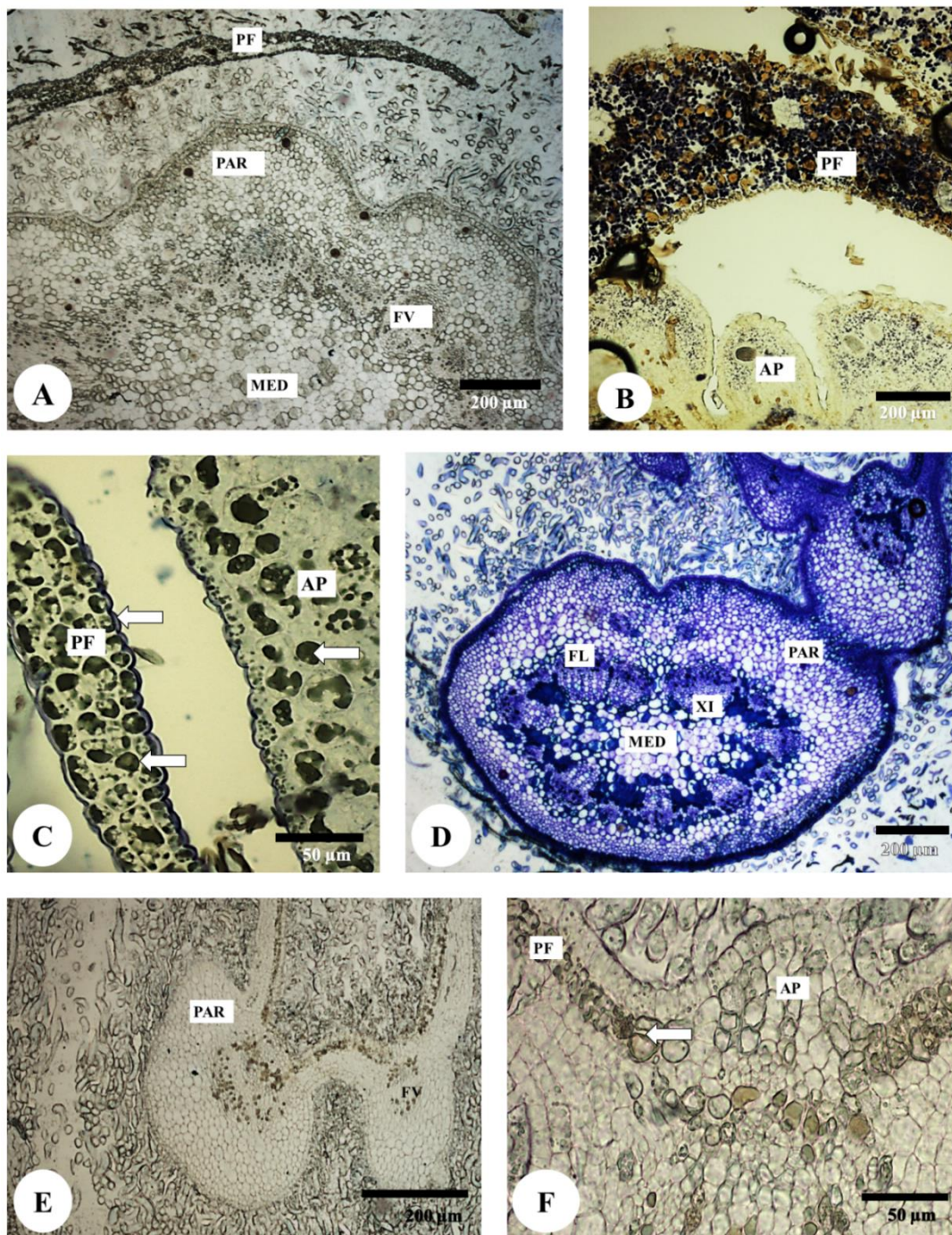
**Figura 3:** Microscopia óptica de gemas de *Vitis labruscana* em estágio de desenvolvimento EL1 A-D. Secções longitudinais de gema em estágio EL1. A-B. Metacromazia com reagente Azul de Toluidina destacando secreção (seta branca) no ápice (AP) e primórdio foliar (PF). C-E: C. Secção longitudinal de gema em estágio EL1 evidenciando amido (ponta da seta branca) por reagente Lugol, em coloração púrpura, na gema da base ao ápice (AP) e primórdio foliar (PF). D: Secção evidenciando lipídios (seta preta) pelo Reagente NADl, em coloração cinza azulado, na gema da base ao ápice (AP) e primórdio foliar (PF); E. Destaque para a região apical da gema evidenciando os lipídios. Barras nas imagens.

O estágio EL2 demonstrou menor presença na concentração de amido na gema axilar, estando presente no ápice, nas células da medula da gema na região distal mais próxima ao caule (Figura 4A) e também nos primórdios foliares e cutícula que envolve as células epidérmicas dos primórdios e do próprio ápice (Figura 4C). A concentração de lipídios também teve menor evidência no

estádio, e foi evidenciada em menor concentração no ápice da gema e em concentrações mais elevadas no primórdio foliar (Figura 4B).

O último estágio de análise de compostos químicos foi o EL4, onde foi possível analisar a presença de compostos orgânicos na região central das gemas, nos feixes vasculares (Figura 4D). Ao corar com Lugol, não foi evidenciada a presença de amido (Figura 4E) e a presença de lipídios foi revelada por Reagente NADI de forma discreta em células buliformes próximas à epiderme do ápice (Figura 4F). Compostos ácidos/básicos diversos foram observados nesse estágio, mas os testes não evidenciaram a quais classes de metabólitos secundários pertencem, sendo necessário mais análises.





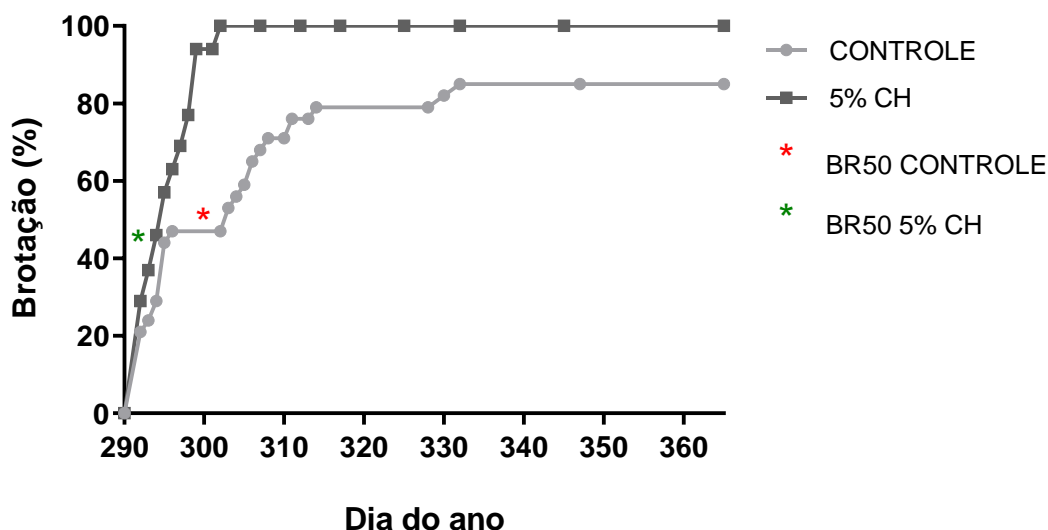
**Figura 4:** Microscopia óptica de *Vitis labruscana* em dois estádios de desenvolvimento, EL2 e EL4. seções transversais A, D e E. Seções longitudinais B, C e F. Estádio EL2 A-C. Estádio EL4 D-F: A. coloração cinza azulado pelo reagente NADI evidenciando lipídios na medula (MED), na região distal da gema e parênquima (PAR). B. Presença de amido pelo reagente lugol, em coloração roxa azulada a preto, nas regiões de primórdio foliar (PF) e no ápice da gema (AP). C. Presença de lipídios pelo reagente NADI (seta branca), no primórdio foliar, cutícula e ápice. D. metacromazia com reagente azul de toluidina destacando secreção na região medular, próximo aos feixes vasculares (FV). E. Ausência de marcação de amido após aplicação com lugol. F. A presença de lipídios foi evidenciada por NADI na coloração acinzentada (seta branca) nas células buliformes próximas à região epidérmica. Barras nas imagens.

## 4.2 – Dados de $\Delta$ BR50: comparação entre os ciclos FDL e FDC

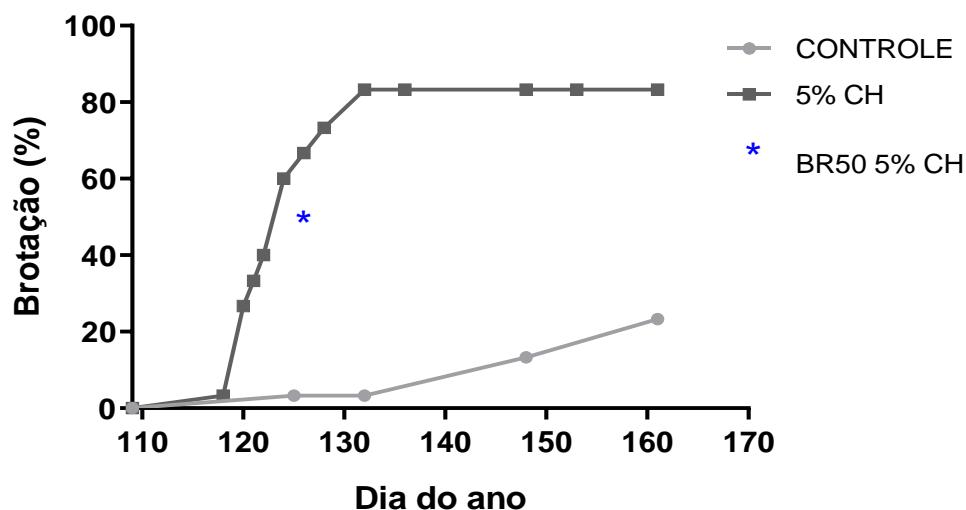
Os dados obtidos em gemas de estacas em condições controladas de temperatura e exposição a luz em ambos os ciclos vegetativos, mostraram uma diferença notável no âmbito do tempo necessário à quebra de dormência e quantidade total de gemas brotadas entre os grupos com e sem aplicação da CH 5% entre os ciclos.

Foi observada relação entre a aplicação do indutor de brotação e o aumento da brotação total das gemas de ciclo FDL, uma vez que o grupo com aplicação do indutor de brotação apresentou BR50 em 5 dias, um pico de brotação em cerca de 12 dias, além de ter apresentado maior porcentagem de brotação (100%). O controle por sua vez apresentou BR50 em 12 dias, seu pico de brotação em cerca de 40 dias e não atingiu a brotação total, atingindo cerca de 86% das gemas brotadas (Figura 5).

O ciclo FDC indicou uma distinção acentuada entre o grupo controle e o tratado com indutor de brotação, que apresentou uma alta porcentagem de brotação (>80%) e pico de brotação por volta de 25 dias, além de atingir o BR50 em 13 dias, enquanto o grupo controle não foi capaz de atingir o BR50, tendo alcançado apenas cerca de 20% das gemas brotadas e seu pico de brotação por volta de 50 dias (Figura 6).

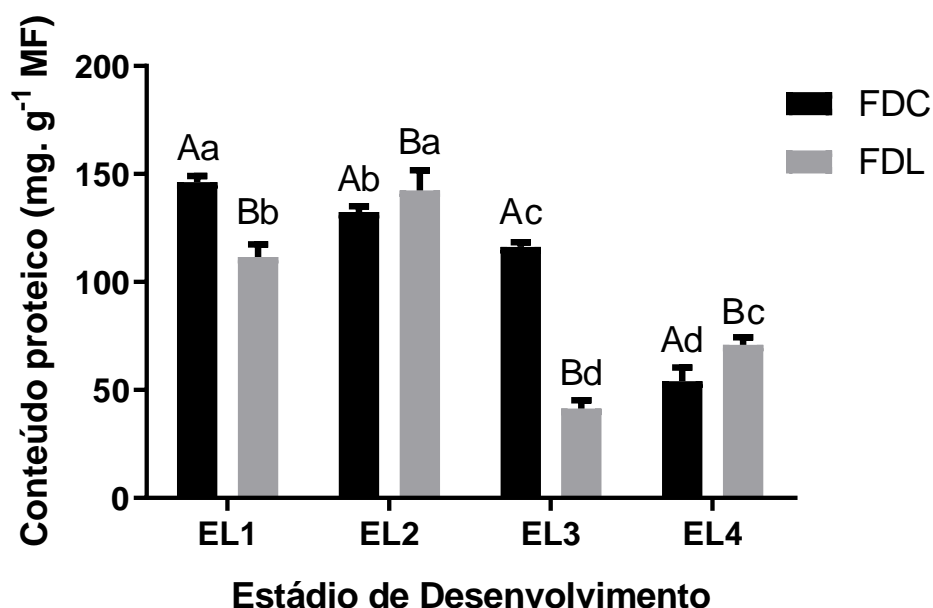


**Figura 5:** Porcentagem de brotação de gemas em grupos tratados com indutor e na ausência de indutor de brotação cianamida hidrogenada (CH) em ciclo de FDL no ano de 2019 em *V. labruscana*. Eixo Y: Brotação (%), eixo X representa os dias do ano no qual foram coletados os dados. Legenda: CONTROLE: Gemas sem aplicação de indutor CH; CH: Gemas tratadas com solução 5% de indutor de brotação. Asteriscos vermelho e azul indicam os BR50 de cada grupo. BR50 para CH: 5 dias; BR50 para CONTROLE: 12 dias.



**Figura 6:** Porcentagem de brotação em grupos tratados com e na ausência de indutor cianamida hidrogenada (CH) em ciclo de FDC no ano de 2020. Eixo Y: Brotação (%), eixo X: Dias do ano no qual foram coletados os dados. Legenda: CONTROLE – Gemas sem aplicação de indutor de brotação, 5% CH – Gemas tratadas com solução 5% de indutor de brotação. Asterisco no gráfico representa o BR50. BR50 = 13 dias.

### 4.3 – Conteúdo proteico: comparação entre os ciclos FDL e FDC



**Figura 7:** Teste de Bradford, para quantificação de proteínas solúveis em gemas de *Vitis labruscana* em diferentes estádios de brotação em ciclos FDC e FDL. Legenda: Eixo X: Estádio de desenvolvimento, eixo Y: Conteúdo proteico em mg g<sup>-1</sup> de matéria fresca. MF: Matéria fresca. As barras representam os desvios padrões obtidos. As letras maiúsculas distintas representam a diferença entre os regimes de fotoperíodo, enquanto as letras minúsculas representam a diferença entre estádios de desenvolvimento, letras iguais representam ausência de diferença estatística entre as médias dos tratamentos obtidos através do teste de Tukey em 95% de significância ( $\alpha=0,05$ ).

No ciclo FDL foi constatado que, conforme os estádios avançam, há uma queda das reservas proteicas do tecido da gema, tendo sua maior concentração no estágio EL1, seguido de sucessivas quedas na concentração nos estádios EL2, EL3 e sua queda mais acentuada no estágio EL4. Percebe-se a diferença estatística em todos os estádios, mostrando consumo destas reservas em condições em maior exposição solar. Dados do ciclo FDC revelam que há leve crescimento na concentração das proteínas solúveis entre o estágio EL1 e EL2, seguido de acentuada queda no estágio EL3 e um leve acréscimo de concentração proteica no estágio EL4. Foi possível ver a diferença significativa entre todos os estádios, o que revela flutuação da concentração de proteínas no tecido da gema durante a quebra de dormência nesta condição de baixa da exposição à luz diária. Em ambos os ciclos pode observar um consumo destas reservas ao final da quebra



de dormência, uma vez que as concentrações no último estágio são menores que as iniciais (Figura 7).

Segundo o quadro ANOVA, onde comparou a influência dos fatores fotoperíodo e estágio de desenvolvimento na concentração destas reservas no tecido da gema, encontraram resultados distintos nos dois ciclos quanto às concentrações de proteínas solúveis nas gemas durante seus estádios de quebra de dormência. Os fatores fotoperíodo e estágio de desenvolvimento se mostraram relevantes para a mudança de concentrações proteicas na gema durante a quebra de dormência, explicando a variação sazonal destas reservas no período anual, evidenciado pelos valores P inferiores ao alfa de 0,05 (Tabela 3).

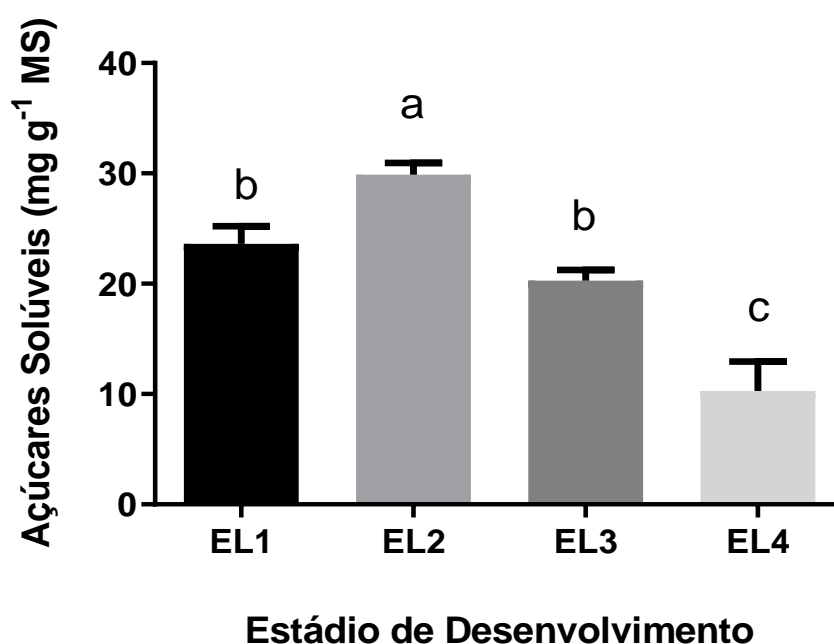
**Tabela 3:** Tabela ANOVA multifatorial do conteúdo proteico avaliando os fatores fotoperíodo e estádios de desenvolvimento no período anual. Os asteriscos representam a diferença estatística entre os fatores

<b>Bradford Two-Way ANOVA <math>\alpha=0,05</math></b>					
<b>Fator</b>	SQ	GL	QM	Valor P	Coeficiente Variação (%)
<b>Interação</b>	8234	3	2745	< 0,0001 *	23,07
<b>Estádio de Desenvolvimento</b>	24472	3	8157	< 0,0001 *	68,57
<b>Fotoperíodo</b>	2568	1	2568	< 0,0001 *	7,196
<b>Resíduo</b>	416,7	16	26,05		



#### 4.4 – Perfil de açúcares solúveis em gemas de *Vitis labruscana* var. Niagara Rosada em ciclo de FDL

A quantificação de açúcares solúveis foi avaliada e revelou um consumo de açúcares solúveis na gema durante seus estádios de brotação, tendo a concentração de açúcares no estágio EL1 superior à concentração no estágio EL4. A concentração variou durante os estádios, iniciando com uma concentração média de 25 mg g<sup>-1</sup> MS e foi seguida por uma alta no estágio EL2 e seguido de duas quedas na concentração nos estádios seguintes, representando uma mudança no sentido do consumo das reservas, porém mantendo a disponibilidade destas reservas (Figura 8).

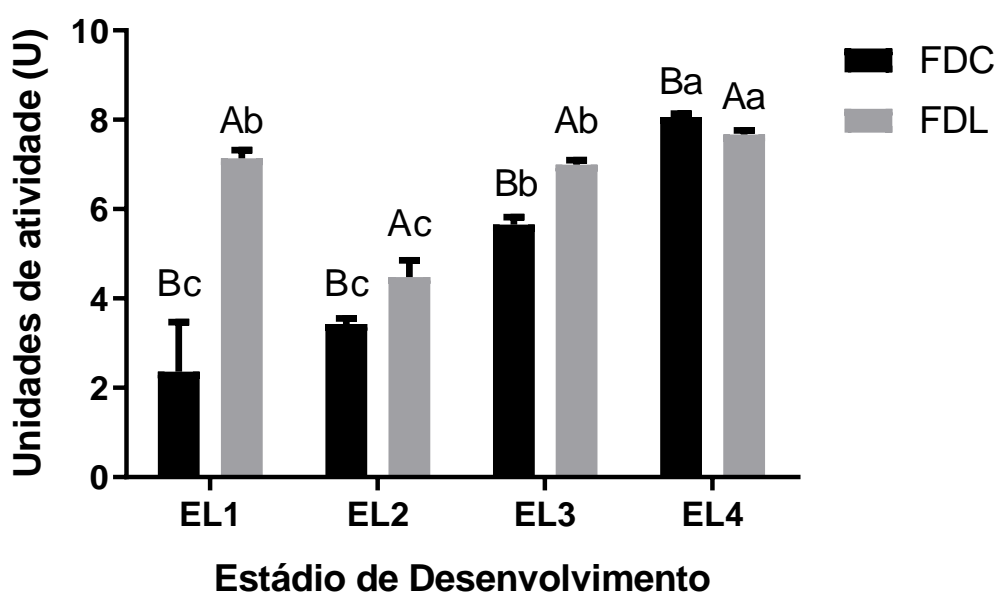


**Figura 8:** Quantificação de açúcares solúveis de gemas de *Vitis labruscana* var. Niagara Rosada em estádios de brotação em ciclo de fotoperíodo de dias longos do ano de 2019. Legenda: Eixo X: Estádio de desenvolvimento, eixo Y: Concentração de açúcares encontrados nas amostras, em mg g<sup>-1</sup> MS. MS: matéria seca. As barras representam os desvios padrões obtidos. As letras representam a diferença estatística obtida através do teste Tukey em 95% de significância ( $\alpha=0,05$ ). Letras iguais representam ausência de diferença estatística dos tratamentos.

O teste foi aplicado em triplicata para cada estágio de brotação (EL1 a EL4) e foi possível notar uma ausência de diferença estatística entre os estádios EL1 e

EL3, entretanto os estádios EL2 que representam um aumento na concentração e o estádio EL4 que representa uma queda da concentração ao final da quebra de dormência apresentaram diferenças significativas. Uma queda no conteúdo de sacarídeos durante a quebra de dormência mostra um consumo basal da reserva energética neste regime de fotoperíodo, pois mantém-se algum nível de presença da mesma ao final do processo.

#### 4.5 – Atividade da enzima alfa-amilase: comparação entre os ciclos FDL e FDC



**Figura 9:** Teste de atividade da enzima alfa-amilase em gemas de *Vitis labruscana* var. Niagara Rosada em estádios de brotação durante ciclos FDL e FDC. Legenda: Eixo X: Estádio de desenvolvimento, eixo Y: Atividade da enzima, ou potencial da enzima em catalisar 100 mg de substrato e transformar em produto(s) no período de 30 min de reação. As barras representam os desvios padrões obtidos. As letras distintas representam a diferença estatística entre regimes de fotoperíodo (maiúsculas) e estádio de desenvolvimento (minúsculas), obtidas através do teste Tukey em 95% de significância ( $\alpha=0,05$ ). Letras iguais representam ausência de diferença estatística dos tratamentos.

Os testes enzimáticos de quantificação de alfa-amilase mostraram comportamentos distintos ao longo do ano. Os dados do ciclo FDC indicaram atividade amilásica crescente ao longo dos estádios de quebra de dormência, tendo sua menor atividade no estádio EL1 e subindo gradativamente conforme avançam

os estádios, até apresentar sua maior atividade no estádio EL4. Nos tratamentos no ciclo FDC os desvios padrões se sobrepuseram apenas nos estádios EL1 e EL2, o que também revelou ausência da diferença estatística destas médias. Os estádios EL3 e EL4 apresentaram diferenças significativas dos outros grupos, em um panorama geral um leve aumento na atividade da enzima alfa-amilase ao final da quebra de dormência foi estatisticamente confirmado. Os dados de ciclo de FDL indicam uma atividade constante da enzima, com um leve acréscimo ao final dos estádios de quebra de dormência, não apresentando diferença estatística entre os estádios EL1 e EL3, entretanto os estádios EL2 e EL4 diferiram dos demais, em suma mostrando a importante presença de atividade hidrolítica da enzima (Figura 9).

Segundo a tabela ANOVA multifatorial, ambos os fatores são significativos, ou seja, afetam a atividade hidrolítica da enzima, tanto em fotoperíodo e em cada estádio de desenvolvimento, o que mostra a importância da enzima durante os eventos de quebra de dormência, em intensidades distintas, esta diferença estatística foi evidenciada pelos valores P inferiores ao alfa de 0,05 (Tabela 4).

**Tabela 4:** Tabela de ANOVA multifatorial da atividade de alfa-amilase avaliando os fatores fotoperíodo e estádio de desenvolvimento no período anual. Os asteriscos representam a diferença estatística entre os fatores

<b>Alfa-amilase Two-Way ANOVA <math>\alpha=0,05</math></b>					
<b>Fator</b>	SQ	GL	QM	Valor P	Coeficiente Variação (%)
<b>Interação</b>	21,57	3	7,191	< 0,0001 *	22,48
<b>Estádio de Desenvolvimento</b>	54,26	3	18,09	< 0,0001 *	56,53
<b>Fotoperíodo</b>	17,19	1	17,19	< 0,0001 *	17,91
<b>Resíduo</b>	2,962	16	0,1851		



## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 – Dados de BR50 revelam diferenças expressivas entre os ciclos FDL e FDC

Os dados de BR50 indicaram endodormência das gemas, porém apenas no ciclo de FDC, evidenciado pela variação na porcentagem total de brotação entre o grupo controle e o com aplicação do indutor de brotação. No ciclo FDL menos dias foram necessários para iniciar brotação das amostras de ambos os grupos (tratadas com indutor e sem adição da CH), além de ambas mostrarem altas porcentagens de brotação. O ciclo FDC demonstrou maior tempo para iniciar brotação em ambos os grupos (tratadas com indutor e não tratadas) e também apresentou baixas porcentagens de brotação no grupo sem indutor, que não foi capaz de atingir o BR50 no período avaliado, enquanto o grupo tratado com indutor foi capaz de atingir o BR50, com porcentagem total de cerca de 85%.

A endodormência é um fenômeno que apresenta ocorrência sob baixa do fotoperíodo percebido pela planta por longo período de tempo. A variação de fotoperíodo natural na latitude (21,5°S), onde se encontram as plantas avaliadas, varia anualmente entre 10,8h/13,2h (Funari e Tarifa, 2017). Ainda são escassos os estudos que tratam da aptidão de videiras para entrar em endodormência nessas latitudes.

Nas latitudes elevadas (>30°) o comportamento de gemas durante a endodormência está bem consolidado e descrito, pois as condições climáticas e sazonalidade definem bem as estações do ano, com a existência de um inverno rigoroso que permite apenas um ciclo de produção anual e indução a endodormência (Keller, 2015). Na latitude onde nosso estudo foi realizado, as condições ambientais permitem mais de um ciclo de produção no período anual, mesmo com a sazonalidade branda existente.

Análises anteriores mostraram que gemas de *Vitis labruscana* tratadas com regime de fotoperíodo 12h de luz por 8 semanas foram capazes de entrar em dormência (Fennell e Hoover, 1991). O que sugere que o período de 12h de luz seria o limite superior de horas de luz necessárias para indução à dormência, qualquer tempo de exposição diária abaixo desse limite seria também capaz de induzir dormência.

Em trabalhos anteriores, o nosso grupo de pesquisa avaliou o comportamento da cultura em um período anual através de variáveis fenológicas, observando resposta similar à quebra de endodormência em gemas brotadas de *V. labruscana* var. Niagara Rosada em ciclo FDL, com maior desuniformidade de brotação, enquanto que no ciclo FDC, houve uma maior formação de periderme e cessação de crescimento dos ramos precoces (Lemos, 2018d). O conjunto de evidências da formação de periderme e interrompimento do crescimento de ramos, acompanhado de queda de fotoperíodo natural foram associados como sinais de entrada em endodormência (Grant et al., 2013c). Nossos dados também demonstram sinais de endodormência, evidenciada pelo reduzido fotoperíodo natural e pela desuniformidade da brotação entre o grupo controle e com aplicação da CH.

Pessanha (2016) também avaliou o BR50 e observou desenvolvimento precoce das gemas no mês de janeiro, enquanto nossa poda ocorreu em meados de abril. Estas distinções indicam que no mês de abril possivelmente as gemas estavam sendo induzidas a endodormência por redução do fotoperíodo e dessa forma encontraram maior dificuldade de iniciar seu desenvolvimento, mesmo em condições controladas de exposição a luz e temperatura (24°C, 12h de exposição

a luz em laboratório). Consideramos plausível que a data escolhida para poda de FDC foi suficiente para indução de endodormência nas condições impostas.

Nossos dados de brotação se assemelham às condições de baixa do fotoperíodo natural realizado por Benjamin et al. (2018), em que estes observaram um período de 9 dias para quebra de dormência, no mesmo período de poda, enquanto nós observamos um BR50 de 13 dias. Entretanto, este não utilizou grupo controle sem aplicação de indutor de brotação, enquanto nós o fizemos, desta forma mostramos um novo perfil, da resistência da gema naturalmente induzida a quebra da dormência durante o mesmo período, embora as latitudes sejam distintas.

Não encontramos evidências que suportem a quiescência das gemas no período de poda escolhido em nossa latitude, um vez que a mesma foi associada a rápido início de desenvolvimento pós-poda, entretanto aproximam-se mais da endodormência, uma vez que o isolamento metabólico das gemas exige tempo superior para quebra de dormência (Signorelli et al., 2018; Dantas et al., 2020e).

Os dados mostram a importância de caracterizar os períodos aptos a poda para sistemas de dupla poda da cultura em baixas latitudes, pois cada mês apresenta influência única no desenvolvimento do ciclo, seja produtivo ou vegetativo (de Souza et al., 2015; Junior et al., 2019a), além disso tudo indica que se evite a poda dentre o período de meses que corresponde ao outono-inverno (abril-julho) afim de obter maior uniformidade das brotações nos vinhedos.

## **5.2 – Análises histoquímicas revelam a dinâmica das reservas presentes no tecido da gema durante o processo de quebra de dormência**

Dentre as moléculas investigadas, foi observada a presença de amido e lipídios, além de compostos ácidos/básicos que podem representar proteínas ou fenóis. Nas análises histoquímicas sobretudo nas regiões de primórdios foliares (brácteas), com micrografias mostrando quantidades de reservas distribuídas nas gemas nos estádios iniciais e aos finais não foram encontradas reservas como amido e lipídios.

A presença de reservas energéticas durante a quebra de dormência desde o primeiro estágio, sugere a independência energética da gema em quebrar dormência, sem necessidade de aporte externo advindo da planta-mãe.

A alta concentração de amido nos estádios iniciais de quebra de dormência associa-se a dados que mostram a importância do amido como estoque principal de rápida mobilização para crescimento e divisão celular (Liang et al., 2019a). Embora os polissacarídeos tenham sido associados à proteção das gemas ao congelamento (Kaya, 2020a), nossas condições de temperatura não exigem esta resposta fisiológica, desta forma sugerimos que esta seja uma resposta ao desenvolvimento do novo ramo através do consumo, de reservas, principalmente do amido.

Nossos dados apresentam os locais de estocagem de amido nas gemas durante a quebra de dormência, nos primórdios foliares e distribuídos ao longo do meristema, além de seu consumo durante o processo com finalidade de desenvolvimento do meristema da gema, complementando dados já descritos da formação de amido nas gemas durante a entrada em endodormência (Rubio et al., 2019; Wang et al., 2019).

Outras reservas como lipídios, também demonstram presença nos estádios iniciais de quebra de dormência (EL1 e EL2), sobretudo nos primórdios foliares assim como o amido. A sua ausência nos estádios finais de quebra de dormência, sugere que ambas as reservas podem ser mobilizadas em prol da divisão e crescimento celular do meristema, levando ao desenvolvimento de um novo ramo.

Há relatos da importância da acumulação de corpos lipídicos para formação das gemas (Rinne et al., 2016c), entretanto pouco é conhecido da função dos mesmos durante a quebra de dormência. Embora os lipídios aparentem ter sua biossíntese promovida e metabolismo transiente durante desaclimatação de frio e quebra de dormência (Kovaleski e Londo, 2019b), não foi possível observar formação de corpos lipídicos nos estádios finais de quebra de dormência em nosso modelo de estudo, e sim um consumo e utilização do mesmo para formação de cutícula dos primórdios foliares.



A presença e mobilização reforçam a ideia da importância destas moléculas até então pouco exploradas como combustível de desenvolvimento inicial da gema, sobretudo para formação dos tecidos de crescimento primário, como os feixes vasculares.

Proteínas solúveis também puderam ser avaliadas em todos os estádios de quebra de dormência. As proteínas em si aparentam ser promovidas em razão da necessidade de enzimas para catalisar as reações das vias metabólicas. Evidências sugerem a promoção durante a quebra de dormência como a via do etileno, jasmonato e giberelinas, glicólise dentre outros (Kovaleski e Londo, 2019c). Nossos dados são complementares bioquimicamente, mostrando a presença ativa dos mesmos durante a quebra de dormência.

Nosso trabalho apresentou uma localização das reservas durante a quebra de dormência, sobretudo nas brácteas, mas também presentes em menores quantidades nas porções basais e medianas das gemas em estágio EL1, dessa forma sugerimos que estas regiões ricas em reservas sirvam primariamente de combustível a divisão e crescimento celular nas regiões meristemáticas, uma vez que foi demonstrado que não existe conexão vascular ou simplástica entre a gema e planta durante a quebra de dormência (Rinne et al., 2011d; Signorelli et al., 2020b).

### **5.3 – O perfil de atividade de alfa-amilase indica importância do consumo do amido e formação de açúcares solúveis no desenvolvimento inicial das gemas**

As elevadas atividades da enzima alfa-amilase observadas durante os estádios de quebra de dormência, sugerem hidrólise do amido possivelmente para contrapor os efeitos da hipoxia e aumento do metabolismo redox nos estádios iniciais, talvez pela disposição de energia para restaurar homeostase da gema (Meitha et al., 2018b). O aumento gradativo de atividade da enzima visto no ciclo FDC, ou manutenção de atividade durante os estádios, do ciclo FDL são afetados pela condição de exposição solar diária e também dependente do estágio de desenvolvimento, mostrando o papel destes fatores em guiar as respostas observadas durante o período de coleta de dados.

O comportamento de aumento do metabolismo energético durante a quebra de dormência parece ser conservado em variedades de *Vitis labruscana*, pois análises proteômicas de gemas de *Vitis labruscana* cv. Shine Muscat apontaram um aumento de enzimas do metabolismo de carboidratos ativos durante a quebra de dormência, em maior quantidade no grupo tratado com cianamida hidrogenada, mas também presentes no grupo com brotação sem adição do composto (Khalil-Ur-Rehman et al., 2020).

A leve variação na concentração de açúcares solúveis nas gemas de *Vitis labruscana* encontradas durante a coleta de dados, sugere a função de concentrações de glicose/frutose dentre outros açúcares na manutenção da viabilidade das gemas durante a entrada e saída da dormência, uma vez que há uma correlação entre o balanço amido/açúcares solúveis com a formação de necroses no tecido das gemas (Junior et al., 2019b).

O aumento da concentração de açúcares solúveis durante o estágio EL2 parece estar associado ao afrouxamento do sistema simplástico de transporte que foi indicado por Signorelli et al. (2020c), porém é inconclusivo e exige maiores elucidações. Faltam-nos dados do perfil dos açúcares solúveis em poda de ciclo FDC que nos permitam discutir sobre a dinâmica anual destas moléculas.

Conseguimos observar a importância primária do metabolismo do carboidrato como combustível para os processos de crescimento e divisão celular dos meristemas de gemas, assim como observados em outras espécies perenes lenhosas (Fadon et al., 2018b; Liang et al., 2019b; Xing et al., 2019). Em nosso trabalho podemos avaliar a correlação da presença de carboidratos e seu consumo ao longo do processo de quebra de dormência, entretanto sugerimos que este consumo não seja apenas associado a crescimento, mas como estratégia de manutenção da vitalidade da gema, uma vez que relatos a presença de concentrações aumentadas de açúcares nas gemas tivessem função de evitar o efeito de necrose e morte celular no tecido da gema (Junior et al, 2019c; Kaya, 2020b).

## 6. RESUMO E CONCLUSÕES

A variação de fotoperíodo em latitude 21,5°S influenciou a capacidade de brotação das gemas, com menor porcentagem de brotação das amostras avaliadas durante o ciclo de fotoperíodo decrescente e maior porcentagem no fotoperíodo crescente.

As reservas estão presentes nas gemas e são consumidas, sobretudo nos estádios iniciais (EL1 e EL2). Nos estádios seguintes (EL3 e EL4), observamos um comportamento de recuperação dos níveis das reservas, porém em valores inferiores aos estádios anteriores onde há uma acentuada queda das reservas.

A atividade da enzima alfa-amilase interna da gema se mostrou presente ao longo do processo de quebra de dormência em ambos os ciclos do ano. Com isso, concluímos que a enzima está envolvida na quebra das reservas amilíferas no processo de quebra de dormência, como na manutenção indireta dos níveis de açúcares solúveis.

Os fatores fotoperíodo e estágio de desenvolvimento apresentaram influência nas concentrações observadas nas gemas de *Vitis labruscana* var. Niagara Rosada para as reservas amilíferas e proteicas, assim como na atividade da enzima alfa-amilase.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarenga, A. A., Abrahão, E; Regina, M. A., Antunes, L. E. C., Pereira, A. F. (1998) Origem e classificação botânica da videira. *Informe Agropecuário*, 19 (194):5-8.

Amerine, M. A., Winkler, A. J. (1944) Composition and quality of musts and wines of California grapes. *Hilgardia*, 15 (6):493-675.

Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.

Benjamin, A. M. S., Dantas, D. J., Dantas, D. J., Nunes, G. H. S., Pommer, C. V., Bressan-Smith, R. E., Mendonça, V. (2018) Development of 'Itália Melhorada' grapes on different rootstocks and under semiarid conditions of the Rio Grande do Norte State, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 39(5):1867-1876.

Buttrose, M. S. (1974) Climatic factors and fruitfulness in grapevines. *Horticultural Abstracts*, 46(6):319-326.

Camargo, U.A., Tonietto, J., Hoffman, A. (2011) Progressos na viticultura brasileira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33:144-149.

Castillo-Michel, H., Parsons, J. G., Peralta-Videoa, J. R., Martínez-Martínez, A., Dokken, K. M., Gardea-Torresdey, J. L. (2007) Use of X-ray absorption

spectroscopy and biochemical techniques to characterize arsenic uptake and reduction in pea (*Pisum sativum*) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(6-7):457-463.

Considine, M. J.; Considine, J. A. (2016) On the language and physiology of dormancy and quiescence in plants. *Journal of Experimental Botany*, 67(11):3189–3203.

Coombe, B. G. (1995) Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1 (2):104–110.

da Cunha, M., Gomes, V. M., Xavier Filho, J., Attias, M., Souza, W., Miguens, F. C. (2000) Laticifer system of *Chamaesyce thymifolia*. A closed host environment for trypanosomatids. *Biocell* (Mendoza), 24 (2):123-132.

Dantas, D., Bressan-Smith, R., Noriega, X., Pérez, F. J. (2020) Buds of “Italia melhorada” grapevines grown under tropical conditions develop a quiescent state. *Environmental and Experimental Botany*, 171:103951.

de Deus, B. C. (2018) *Relações hídricas em gemas de videiras nos estádios iniciais de crescimento*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 65p.

de Souza, C. R., Da Mota, R. V., Dias, F. A. N., De Melo, E. T., De Souza, L. C., De Souza, A. L., Pimentel, R. M. A., Regina, M. A. (2015) Starch accumulation and agronomical performance of ‘Syrah’ under winter cycle: responses to pruning and ethephon management. *Vitis*, 54:195-201.

Díaz-Vivancos, P., Albuquerque, N., García-Brunton, J., Cantabella, D., Burgos, L., Hernández-Cortés, J. A. (2018) Bud growth regulator profiles in peach. *Acta Horticulturae*, 1206 (35):253-256.

Fadon, E., María, H., Javier, R. (2018) Dormant Flower Buds Actively Accumulate Starch over Winter in Sweet Cherry. *Frontiers in Plant Science*, 9:171.

FAO-OIV Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Organization of Vine and Wine. Table and dried grapes. <http://www.fao.org/3/a-i7042e.pdf/>. 2016.

Fennell, A., Hoover, E. (1991) Photoperiod influences growth, bud dormancy, and cold acclimation in *Vitis labruscana* and *V. riparia*. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 116 (2):270-273.

Fennell, A., Schlauch, K. A., Gouthu, S., Deluc, L. G., Khadka, V., Sreekantan, L., Grimplet, J., Cramer, G. R., Mathiason, K. L. (2015) Short day transcriptomic programming during induction of dormancy in grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 6:834.

Fernandez, E., Cuneo, I. F., Luedeling, E., Alvarado, L., Farias, D., Saa, S. (2019) Starch and hexoses concentrations as physiological markers in dormancy progression of sweet cherry twigs. *Trees*, 33 (4):1187-1201.

Friend, A. P., Trought, M. C. T., Stushnoff, C., Wells, G. H. (2011) Effect of delaying budburst on shoot development and yield of *Vitis vinifera* L. Chardonnay 'Mendoza' after a spring freeze event. *Australian Journal Grape Wine Research*. 17:378-382.

Funari, F. L., Tarifa, J. R. Insolação, radiação solar global e radiação líquida no Brasil. *Revista do Instituto Geológico*, 38 (2):49-83.

Fuwa, H. (1954) A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate. *The Journal of Biochemistry*, 41 (5): 583-603.

Grant, T. N. L.; Gargrave, J.; Dami, I. E. (2013) Morphological, physiological and biochemical changes in *Vitis* genotypes in response to photoperiod regimes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64 (4):466–475.

Gerrath, J. M. (1992) Developmental morphology and anatomy of grape flowers. *Horticultural Reviews*, 13:315-337.

Giovannini, E. (2008) *Produção de uvas para vinho, suco e mesa*. 3.ed. Porto Alegre: Renascença, 362p.

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 (11):534-540.

Huglin, P. (1978) Nouveau mode d'évaluation des possibilités héliothermiques d'un milieu viticole. In: Symposium International sur l'Écologie de la Vigne, I, Constança, Roumanie, *Ministère de l'Agriculture et de l'Industrie Alimentaire*, p.89-98.

IBGE Produção Agrícola Municipal 2018: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613#resultado> em 17/05/2020 página mantida pelo IBGE.

Iland, P., Dry, P., Proffitt, T., Tyerman, S. D. (2011) *The grapevine: from the science to the practice of growing vines for wine*. Adelaide: Patrick Iland Wine Promotions, 320p.

Jogaiah, S., Maske, S. R., Upahyay, A. (2014) Rootstock induced changes in enzymes activity and biochemical constituents during budbreak in 'Thompson Seedless' grapevine. *Vitis*, 53 (2):57.

Junior, O. A., De Souza, C. R., Dias, F. A. N., Fernandes, F. P., Torregrosa, L., Fernandes-Brum, C. N., Charfun-Júnior, A., da Mota, R. V., Peregrino, I., Regina, M. A. (2019) Effect of pruning strategy on 'Syrah' bud necrosis and fruitfulness in Brazilian subtropical Southeast. *Vitis*, 58:87-94.

Kaya, O. (2020) Bud death and its relationship with lateral shoot, water content and soluble carbohydrates in four grapevines cultivars following winter cold. *Erwerbs-Obstbau*, 62 (Suppl 1):S43-S50.

Keller, M. (2015) *The science of grapevines anatomy and physiology: anatomy and physiology*. 2 ed, Oxford, UK: Academic Press, Elsevier Inc, 522p.

Khalil-Ur-Rehman, M., Wang, W., Zheng, H., Faheem, M., Iqbal, S., Shen, Z. G., Tao, J. (2020) Role of hydrogen cyanamide (HC) in grape bud dormancy release: proteomic approach. *3 Biotech*, 10:229.

Kraus, J. E., Arduin, M. (1997) *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Seropédica: Universidade Rural, 198p.

- Kovaleski, A. P., Londo, J. P. (2019) Tempo of gene regulation in wild and cultivated *Vitis* species shows coordination between cold deacclimation and budbreak. *Plant Science*, 287:110178.
- Kühn, N., Ormeño-Nuñez, J., Jaque-Zamora, G., Pérez, F. J. (2009) Photoperiod modifies the diurnal expression profile of VvPHYA and VvPHYB transcripts in field grown grapevine leaves. *Journal of Plant Physiology*, 166:1172–1180.
- Kurokura, T., Mimida, N., Battey, N. H., Hytönen, T. (2013) The regulation of seasonal flowering in the Rosaceae. *Journal of Experimental Botany*, 64(14):4131-4141.
- Lang, G. A. (1987) Dormancy: a new universal terminology. *HortScience*, 25:817-820.
- Leão, P.C.S., Silva, E. E. G. (2003) Brotação e fertilidade de gemas em uvas sem sementes no vale do São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(3):375-378.
- Leão, P.C.S., Maia, J.D.G. (1998) Aspectos culturais em viticultura tropical uvas de mesa. *Informe Agropecuário*, 19:34-39.
- Lemos, I. B. (2018) *Balanco de carbono foliar e efeitos interativos de temperatura e fotoperíodo no crescimento de Vitis labruscana e Vitis vinifera em região tropical de baixa latitude*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes, RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 62p.
- Liang, D. Huang, X., Shen, Y., Shen, T., Zhang, H., Lin L., Wang, J., Deng, Q., Lyu, X., Xia, H. (2019) Hydrogen cyanamide induces grape bud endodormancy release through carbohydrate metabolism and plant hormone signaling. *BMC Genomics*, 20:1034.
- Lorenz, D. H., Eichhorn, K. W., Bleiholder, H., Klose, R., Meier, U., Weber, E. (1995) Phenological growth stages of the grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*)-Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1(2):100-110.



McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V. Owens, H. S. (1950) Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. *Analytical Biochemistry*, 22, 9:1156-1158.

Meitha, K., Agudelo-Romero, P., Signorelli, S., Gibbs, D. J., Considine, J. A., Foyer, C. H., Considine, M. J. (2018) Developmental control of hypoxia during bud burst in grapevine. *Plant, Cell & Environment*, 41:1154–1170.

Mohamed, B. H., 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*, 140:19–25.

Morrison J. C. (1991) Bud development in *Vitis vinifera* L. *Botanical Gazette*, Chicago, 153,3:304-315.

Noriega, X.; Pérez, F. J. (2017). ABA biosynthesis genes are down-regulated while auxin and cytokinin biosynthesis genes are up-regulated during the release of grapevine buds from endodormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36:814–823.

OIV, International Organization of Vine and Wine. - 2019 Statistical report on world vitiviniculture: <http://www.oiv.int/public/medias/6782/oiv-2019-statistical-report-on-world-vitiviniculture.pdf> em 18/06/20 página mantida pela OIV.

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 Molecular Biology*, 71(4-5):403.

Parada, F., Noriega, X., Dantas, D., Bressan-Smith, R., & Pérez, F. J., (2016), Differences in respiration between dormant and non-dormant buds suggest the involvement of ABA in the development of endodormancy in grapevines. *Journal of Plant Physiology*, 201: 71-78.

Pedro Júnior, M. J.; Sentelhas, P. C.; Pommer, C. V.; Martins, F. P.; Gallo, P. B.; Santos, R. R. dos; Bovi, V.; Sabino, J. C. (1993) Caracterização fenológica da

videira 'Niagara Rosada' em diferentes regiões paulistas. *Bragantia*, Campinas, 52(2):153-160.

Pérez, F. J., & Lira, W. (2005) Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. *Journal of Plant Physiology*, 162(3): 301-308.

Pessanha, L. dos S. (2017) *Transporte de seiva no xilema após a quebra de dormência das gemas laterais de Vitis labrusca L.* Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 41p.

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.

Pittendrigh, C.S., Minis, D.H. (1964) The Entrainment of Circadian Oscillations by Light and Their Role as Photoperiodic Clocks. *The American Naturalist*, 98:902 :261-294.

Pommer, C. (2003) *Edição Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado.* Porto Alegre, Editora Cinco Continentes.

Pommer, C. V., Mendes, L. S., Hespanhol-Viana, L., Bressan-Smith, R. (2009) Climatic potential for grape production in the north region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31(4):1076-1083.

Protas, J.F.S., Camargo, U.A., Mello, L.M.R. (2002). A viticultura brasileira: realidade e perspectivas. *EMBRAPA Uva e Vinho*, Artigo Técnico. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br>>. Acesso em Fevereiro de 2020.

Rinne, P. L. H., Welling, A., Vahala, J., Ripel, L., Ruonala, R., Kangasjärvi, J., van der Schoot, C. (2011) Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUST T and recruits GA-inducible 1,3- $\beta$ -glucanases to reopen signal conduits and release dormancy in *Populus*. *The Plant Cell*, 23:130-146.

Rinne, P. L. H., Paul, L. K., Vahala, J., Kangasjärvi, J., van der Schoot, C. (2016) Axillary buds are dwarfed shoots that tightly regulate GA pathway and GA-inducible

1,3- $\beta$ -glucanase genes during branching in hybrid aspen. *Journal of Experimental Botany*, 67(21):5975-5991.

Rios, G., Leida, C. Conejero, A. Badenes, M. L. (2014) Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. *Journal. Frontiers in Plant Science*, 5, 247.

Rohde, A., & Bhalerao, R. P. (2007) Plant dormancy in the perennial context. *Trends in Plant Science*, 12(5):217-223.

Rubio, S., Noriega, X., Pérez, F. J. (2019) ABA promotes starch synthesis and storage metabolism in dormant grapevine buds. *Journal of Plant Physiology*, 234-235:1-8.

Sartorius, O. (1937). *Die Entwicklung des Blattes von V. vinifera und einige Gesetzmässigkeiten in seinen Aufbau. Gartenbauwissenschaft* 10:541-557. In M. Carmo Vasconcelos, Marc Greven, Chris S. Winefield, Mike C.T. The Flowering Process of *Vitis vinifera*: A Review. *American Journal Enology and Viticulture*. Dezembro 2009. Davis, EUA. 60:411-434.

Shi, Z., Halaly-Basha, T., Zheng, C., Weissberg, M., Ophir, R., Galbraith, D. W., Pang, X., Or, E. (2018) Transient induction of a subset of ethylene biosynthesis genes is potentially involved in regulation of grapevine bud dormancy release. *Plant Molecular Biology*, 98(6):507-523.

Signorelli, S., Agudelo-Romero, P., Meitha, K., Foyer, C. H., Considine, M. J. (2018) Roles for light, energy, and oxygen in the fate of quiescent axillary buds. *Plant Physiology*, 176:1171-1181.

Signorelli, S., Shaw, J., Hermawaty, D., Wang, Z., Verboven, P., Considine, J. A., Considine, M. J. (2020) The regulation of bud burst in grapevine features dynamic regulation of the apoplastic pore size. *Journal of Experimental Botany*, 71(2):719-729.

Song, Y. H., Ito, S., Imaizumi, T. (2013) Flowering time regulation: photoperiod-and temperature-sensing in leaves. *Trends in Plant Science*, 18(10):575-583.

Tonietto, J., Carbonneau, A. (2004). A multicriteria climatic classification system for grape growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology*, 124 (1-2):81-97.

Vergara, R., Pérez, F. J. (2010) Similarities between natural and chemically induced bud-endodormancy release in grapevine *Vitis vinifera* L. *Scientia Horticulturae*, 125, 4:648–653.

Wang, S., Pei, J., Li, J., Tang, G., Zhao, J., Peng, X., Nie, S., Ding, Y., Wang, C. (2019) Sucrose and starch metabolism during *Fargesia yunnanensis* shoot growth. *Physiologia Plantarum*, 168 (1):188-204.

Winkler A. J., Cook, A., Kliwer, W. M, Lider, L.A. (1997). *General Viticulture*. Ed. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London, p.710.

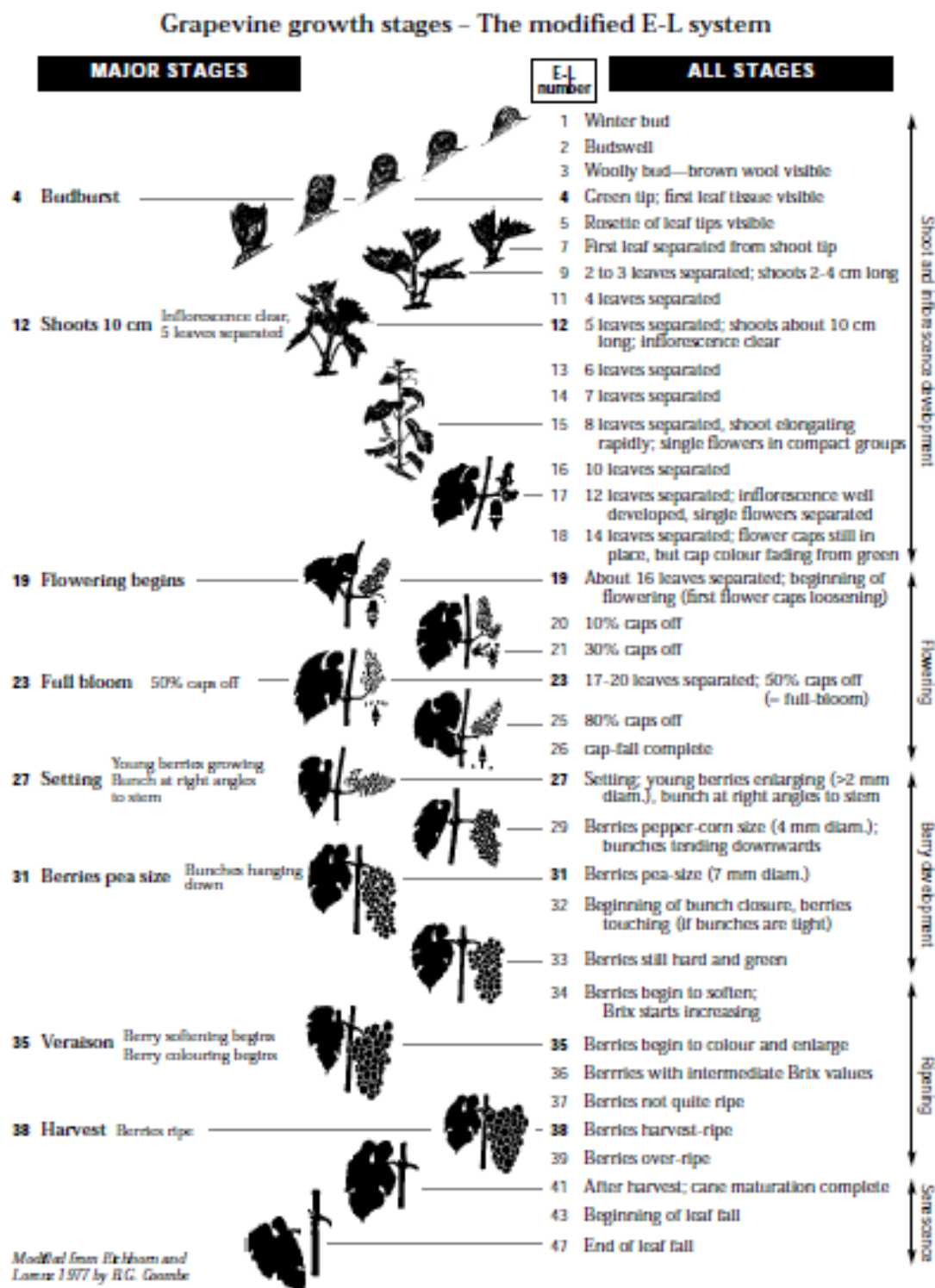
Xing, L., Zhang, D., Qi, S., Chen, X., An, N., Li, Y., Zhao, C., Han, M., Zhao, J. (2019) Transcription profiles reveal the regulatory mechanisms of spur bud changes and flower induction in response to shoot bending in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant Molecular Biology*, 99(1-2):45-66.

Zabadal, T. J., Dami, I. E., Goffinet, M. C., Martinson, T. E., & Chien, M. L. (2007) *Winter injury to grapevines and methods of protection*. Chien ML: Michigan State University Extension. 36-38.

Zheng, C., Acheampong, A. K., Shi, Z., Halaly, T., Kamiya, Y., Ophir, R., Galbraith D. W., Or, E. (2018a) Distinct gibberellin functions during and after grapevine bud dormancy release. *Journal of Experimental Botany*, 69(7):1635-1648.

Zheng, C., Acheampong, A. K., Shi, Z., Mugzech, A., Halaly-Basha, T., Shaya, F., Sun, Y., Colova, V., Mosquna, A., Ophir, R., Galbraith, D. W., Or, E. (2018b) Abscisic acid catabolism enhances dormancy release of grapevine buds. *Plant, Cell & Environment*, 41(10):2490-2503.

## APÊNDICE



**Figura 1A** – Escala fenológica da videira proposta por Eirich e Lorenz, modificada por Coombe, 1995.