

**REGULAÇÃO SAZONAL DA DORMÊNCIA POR ANÁLISES PROTEÔMICAS E
BIOFÍSICAS EM GEMAS DE VIDEIRA**

RODRIGO RICHARD RABELLO FONSECA LUCAS

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JUNHO – 2025**

REGULAÇÃO SAZONAL DA DORMÊNCIA POR ANÁLISES PROTEÔMICAS E
BIOFÍSICAS EM GEMAS DE VIDEIRA

RODRIGO RICHARD RABELLO FONSECA LUCAS

“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 Doutor em Produção
Vegetal”

Orientador: Prof. Ricardo Bressan-Smith

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JUNHO – 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

L933

Lucas, Rodrigo Richard Rabello Fonseca.

REGULAÇÃO SAZONAL DA DORMÊNCIA POR ANÁLISES PROTEÔMICAS E BIOFÍSICAS EM GEMAS DE VIDEIRA / Rodrigo Richard Rabello Fonseca Lucas. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

62 f. : il.

Bibliografia: 50 - 59.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.

Orientador: Ricardo Enrique Bressan Smith.

1. aclimação. 2. endodormência. 3. proteína. 4. vitis. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

REGULAÇÃO SAZONAL DA DORMÊNCIA POR ANÁLISES PROTEÔMICAS E
BIOFÍSICAS EM GEMAS DE VIDEIRA

RODRIGO RICHARD RABELLO FONSECA LUCAS

“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 Doutor em Produção
Vegetal”

Aprovada em 02 de junho de 2025

Comissão examinadora:

Vanildo Silveira (D.S., Biotecnologia) - UENF

Claudete Santa Catarina (D.S., Biotecnologia) - UENF



Alisson Pacheco Kovalski (PhD., Plant Biology) – University of Wisconsin-Madison

Prof. Ricardo Bressan-Smith (D.S., Produção Vegetal) – UENF

Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir que realize meu objetivo e que minha família possa se orgulhar do meu feito;

Ao meu orientador Ricardo Bressan, pelas contribuições científicas e inestimável experiência transmitidas durante a realização deste trabalho;

Aos colegas de laboratório, pelo apoio nas questões institucionais e convivência descontraída durante os anos de doutoramento;

A meus pais Eduardo e Marion, pelo apoio incondicional de sempre. Sem as decisões que tornaram em 2013 nada disso seria possível;

Ao meu filho Arthur, por ser meu precioso legado nesta terra, pelo carinho e cuidado com seu pai, mesmo em seu início de jornada;

A minha amada Mayara Cristina, pelo apoio mútuo neste tempo de formação, pela amizade e companheirismo. Sua presença neste momento tornou tudo mais leve;

A UENF, por participar ativamente da minha formação profissional, por fomentar minha bolsa pela maioria do tempo de doutoramento e por também ser responsável pela minha formação como cidadão pleno, com capacidade de pensamento crítico;

As agências de fomento, FAPERJ e CAPES, pelo fomento ao projeto que permitiu a realização da tese e das bolsas necessárias para a realização do trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	ii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	vi
INTRODUÇÃO	8
OBJETIVOS	11
REVISÃO DE LITERATURA.....	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS.....	33
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS.....	50

RESUMO

LUCAS; Rodrigo Richard Rabello Fonseca; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. junho de 2025. REGULAÇÃO SAZONAL DA DORMÊNCIA POR ANÁLISES PROTEÔMICAS E BIOFÍSICAS EM GEMAS DE VIDEIRA. Orientador: D.Sc. Ricardo Bressan-Smith.

A dormência de espécies vegetais perenes se caracteriza por um período de isolamento metabólico entre planta-mãe e meristema lateral das gemas, acompanhado da cessão do crescimento da planta e de alterações morfoanatômicas das plantas como o surgimento da periderme, redução do metabolismo apenas para funções primárias como metabolismo energético e combate a ROS. A cultura da uva no Rio de Janeiro sofre com períodos de dormência irregulares por conta de não ser exposta a temperaturas necessárias a indução do processo de dormência levando a atrasos na quebra de dormência, consequentemente levando a atrasos na produção. Para aprofundar a fisiologia da dormência nas videiras cultivadas na região, o objetivo deste trabalho foi prospectar possíveis elementos associados à dormência em um contexto em que o fotoperíodo fosse tratamento diferencial entre as amostras de gemas de Niagara Rosada coletadas em campo. Neste trabalho duas linhas de investigação foram realizadas, a saber: i) O perfil proteômico do processo de quebra de dormência em duas condições distintas de fotoperíodo; ii) Avaliação do potencial de aclimação das gemas durante o período anual. Para isso, as coletas foram feitas acompanhando os períodos de poda de verão e inverno do ano de 2023 para proteômica. Para os dados de aclimação foram necessárias coletas quinzenais durante março de 2023 até agosto de 2024. Foi utilizada a metodologia de proteômica global para elucidar o papel do fotoperíodo no perfil proteico durante o ano nos eventos de dormência, além de ferramentas de bioinformática e banco de dados de proteoma de videira para analisar função e metabolismo das proteínas preditas. Para avaliação da aclimação foi utilizada a metodologia de resistência ao frio das gemas durante o período anual, para isso foi montado um aparato para captar as temperaturas mínimas de congelamento, conhecido como temperaturas subletais (TSL) e feitas médias TSL das réplicas biológicas em todas as datas de

coleta. Foram encontradas 993 proteínas no total e 108 proteínas reguladas nas diferentes estações. No período de verão as proteínas mais abundantes estão relacionadas ao metabolismo secundário como manutenção de parede celular e biossíntese de metabólitos secundários, ao passo que o perfil de inverno mostra a predominância de processos do metabolismo primário como glicólise/gliconeogênese, maturação de clorofila e metabolismo associado ao piruvato. Foi observada maior aclimação por meio da redução das temperaturas subletais nos períodos de inverno, o que coincide com a queda de fotoperíodo ao longo do outono-inverno, ao fim do inverno e retomada do aumento de fotoperíodo foi encontrada a relação inversa, onde a aclimação diminuiu através das TSL mais elevadas. Nossa hipótese é que o fotoperíodo influencia as alterações metabólicas e biofísicas das gemas de 'Niagara Rosada', mesmo com ausência de frio. Portanto, com o portfólio de resultados pode-se concluir que o fotoperíodo tem capacidade de alterar as propriedades metabólicas e biofísicas durante o processo de dormência endógena em gemas de videira cultivadas em condições transicionais de latitude a 21°S.

Palavras-chave: aclimação, endodormência, proteína, vitis.

ABSTRACT

LUCAS; Rodrigo Richard Rabello Fonseca; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. June 2025. SEASONAL REGULATION OF DORMANCY THROUGH PROTEOMIC AND BIOPHYSICAL ANALYSES IN GRAPEVINE. Advisor: D.Sc. Ricardo Bressan-Smith.

Dormancy of perennial plant species is characterized by a period of metabolic isolation between the mother plant and the lateral meristem of the buds, accompanied by the cessation of plant growth and morpho-anatomical changes such as the formation of periderm, a reduction in metabolism limited to primary functions like energy metabolism and ROS (reactive oxygen species) defense. Grape cultivation in Rio de Janeiro state, Brazil experiences irregular dormancy periods due to the absence of low temperatures needed to induce the dormancy process. This leads to delays in dormancy break and, consequently, production delays. To deepen the understanding of dormancy physiology in grapevines cultivated in the region, this study aimed to identify potential elements associated with dormancy in a context where photoperiod was used as a differential treatment among field-collected bud samples of 'Niagara Rosada'. Two lines of investigation were conducted in this study: i) The proteomic profile of the dormancy break process under two distinct photoperiod conditions. ii) Evaluation of the acclimation potential of the buds through sublethal temperatures (SLT) over the annual cycle. To achieve this, sample collections were carried out during the summer and winter pruning periods for proteomic analysis. For acclimation data, biweekly collections were conducted from March 2023 and continued until August 2024. We conducted a global proteomics approach to elucidate the role of photoperiod in the protein profile throughout the year during dormancy events. Additionally, bioinformatics platforms and the grapevine proteome database were used to analyze the function and metabolism of predicted proteins. To evaluate acclimation, we applied the bud cold resistance methodology throughout the annual cycle. For this, we assembled a system to measure the minimum freezing temperatures or SLT and calculated the average SLT of the biological replicates for all collection dates. As result, a total of 993 proteins

were identified, of which 108 exhibited differential regulation across seasons. During the summer period, predominant proteins were associated with secondary metabolic pathways, including cell wall maintenance and the biosynthesis of secondary metabolites. In contrast, the winter proteomic profile was characterized by an increased abundance of proteins involved in primary metabolic processes, such as glycolysis/gluconeogenesis, chlorophyll maturation, and pyruvate metabolism. Increased acclimation was observed through the reduction in sublethal temperatures during the winter period, which coincided with the decline in photoperiod across the autumn-winter phase. At the end of winter, as photoperiod increases, an inverse relationship was observed, with acclimation decreasing as sublethal temperatures rose. We hypothesized that photoperiod modulates the metabolic and biophysical alterations in 'Niagara Rosada' buds even in cold absence. Consequently, based on the comprehensive data set, we can conclude that photoperiod significantly influences the metabolic and biophysical properties during the endogenous dormancy process in grapevine buds grown in transitional latitudes at 21°S.

Keywords: acclimation, endodormancy, protein, vitis.

INTRODUÇÃO

A dormência das gemas é uma estratégia adaptativa vital em espécies perenes de clima temperado, possibilitando a sobrevivência durante adversidades sazonais por meio da paralisação temporária da atividade meristemática. Em videiras (*Vitis* spp.), a regulação da dormência tem sido tradicionalmente associada ao acúmulo de frio, às baixas temperaturas e ao encurtamento do fotoperíodo — sinais que sincronizam a brotação das gemas com as condições favoráveis da primavera (Lang, 1987; Rohde e Bhalerao, 2007). No entanto, com a expansão da viticultura para regiões subtropicais e tropicais, esse paradigma vem sendo cada vez mais desafiado. Nessas zonas de clima quente, o acúmulo de frio frequentemente é insuficiente para atender às exigências fisiológicas necessárias à liberação natural da dormência (Lemos, 2018; Dantas et al., 2020), sendo comum o uso de agentes externos, como a cianamida hidrogenada, para induzir a brotação.

Apesar do uso generalizado desses agentes químicos, os mecanismos moleculares que sustentam a indução e manutenção da dormência em condições sem frio ainda são pouco caracterizados. Não está claro se as gemas em regiões tropicais entram em verdadeira endodormência ou se permanecem em um estado de quiescência determinado apenas pela dominância apical ou pelo equilíbrio hormonal. Essa lacuna de conhecimento é particularmente crítica diante dos impactos crescentes das variações climáticas, que ameaçam o ciclo de dormência dependente do frio em regiões tradicionais de cultivo (Luedeling et al., 2011).

Evidências apontam o fotoperíodo como um sinal ambiental primário em videiras, capaz de induzir a dormência independente do acúmulo de frio (Fennel e Hoover, 1991; Dantas et al., 2020). Dantas et al. (2020) observaram assinaturas transcriptômicas e metabolômicas semelhantes à dormência em uma cultivar tropical submetida a dias curtos. Esse achado está em consonância com evidências mais amplas em espécies de clima temperado, indicando que genes sensíveis ao fotoperíodo e vias relacionadas ao ácido abscísico (ABA) desempenham papéis centrais na indução da dormência (Singh et al., 2019). No entanto, evidências no nível do proteoma para a regulação da dormência por fotoperíodo em videiras sob condições tropicais têm sido amplamente ausentes.

A proteômica oferece uma perspectiva única sobre o estado funcional dos tecidos vegetais, fornecendo informações sobre a regulação pós-transcricional e os mecanismos de adaptação ao ambiente (George et al., 2018). Isso é particularmente relevante no contexto da dormência das gemas, um processo fisiológico complexo modulado por sinais hormonais, metabólicos e ambientais sobrepostos. Diferentemente dos estudos transcriptômicos, que inferem a atividade potencial com base na expressão gênica, a análise proteômica revela moléculas funcionais reais que impulsionam as respostas celulares, incluindo modificações pós-traducionais, estabilidade proteica e compartimentalização.

Em videiras, uma espécie perene de grande importância econômica e sensível a sinais sazonais, as transições de dormência envolvem uma profunda reorganização do metabolismo celular. Proteínas relacionadas à eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), metabolismo energético, resposta ao choque

térmico e remodelação da parede celular foram identificadas como elementos-chave nessas transições de dormência-crescimento (Fennell et al., 2015; Monteiro et al., 2022). Apesar de sua relevância, conjuntos de dados proteômicos abrangentes que descrevem essas mudanças ainda são escassos, especialmente em condições onde o frio está ausente e o fotoperíodo torna-se o principal fator ambiental. Assim, utilizar uma abordagem proteômica global neste estudo permite avaliar diretamente como o fotoperíodo regula a dormência em gemas de videira e identificar assinaturas moleculares exclusivas da fisiologia da dormência em baixas latitudes.

Para investigar a base molecular da regulação da dormência em videiras de clima quente, foi conduzida uma análise proteômica global das gemas de *V. labruscana* 'Niagara Rosada', (cultivar com baixa exigência de frio) amostradas em dois extremos sazonais de fotoperíodo: fotoperíodo máximo (coincidente com o início do verão) e fotoperíodo mínimo (coincidente com o início do inverno), em vinhedo localizado em região de latitude (21°S). Ao comparar os perfis de expressão proteica durante os distintos períodos, buscou-se identificar proteínas sensíveis à sazonalidade e elucidar as vias moleculares associadas às transições de dormência na ausência de frio. Este estudo contribui para uma compreensão ampla da regulação da dormência em condições climáticas não tradicionais e oferece dados relevantes para a adaptação da viticultura em cenários de aquecimento climático. Adicionalmente, é fundamental investigar se as gemas de videira manifestam alterações biofísicas associadas ao endurecimento e à aclimação ao longo do ciclo anual, visando identificar novos marcadores fenotípicos e funcionais indicativos do status de dormência, com potencial para subsidiar diagnósticos precoces e intervenções relevantes para o manejo da viticultura.

OBJETIVOS

O objetivo geral desta tese foi a investigação das bases moleculares e biofísicas da regulação do processo de dormência em gemas de videira sob exposição a fotoperíodos contrastantes ao longo do ciclo anual. A este objetivo geral foram atribuídos objetivos específicos, a saber: i) Condução de uma análise proteômica global, para identificação de proteínas com acúmulo diferencial sobre os dois fotoperíodos, para elucidar rotas metabólicas e mecanismos moleculares associados à indução, manutenção e quebra de dormência em condições de ausência de frio; e ii) A investigação do potencial de aclimação das gemas nos dois fotoperíodos por meio das temperaturas subletais para alterações biofísicas associadas à resistência ao frio e à progressão da dormência.

REVISÃO DE LITERATURA

A videira

A história das videiras é marcada por uma ampla diversidade de espécies e uma trajetória que remonta à era pré-histórica. O gênero *Vitis*, pertencente à família das Vitaceae, abrange mais de 70 espécies, destacando-se por motivos de cultivo ou pesquisa científica *Vitis vinifera*, *V. labrusca*, *V. riparia* e *V. rupestris* (Currle et al., 1983; Mullins et al., 1992).

As videiras, caracterizadas pela presença de gemas, gavinhas e folhas decíduas, são plantas perenes que demonstram uma notável capacidade de adaptação a diferentes climas (Manica e Pommer, 2006; Keller, 2015). Primordiamente associada a regiões temperadas, a cultura expandiu-se para os trópicos, inclusive em solo brasileiro a produção abrange as regiões Sul (principalmente para uvas de vinho) e Sudeste/Nordeste (destaque para uvas de mesa) (Manica e Pommer, 2006).

O centro primário de origem de *V. vinifera* (a principal espécie cultivada) é a região do Cáucaso e Ásia Ocidental, enquanto o gênero *Vitis* como um todo tem origem ampla no hemisfério norte, com centros de diversidade secundários nas Américas e na Ásia Oriental (This et al., 2006).

A história da viticultura remonta à era neolítica, aproximadamente entre 6000-5000 a.C., quando as primeiras evidências de cultivo de videiras surgiram ao longo da costa leste do Mar Negro. A *V. vinifera*, ou seu progenitor, *V. vinifera subsp. sylvestris*, distribuiu-se pela Europa durante os períodos Atlântico ou Holocênico e Sub-boreal, há cerca de 7500 a 2500 anos atrás, descoberto através de dados arqueológicos (Grassi e Arroyo-Garcia, 2020). No Brasil, a introdução da videira é marcada por relatos históricos que datam de 1532, quando Martim Afonso de Souza registrou o transporte de videiras portuguesas para a então Capitania de São Vicente, atual Estado de São Paulo (Pereira et al., 2022). Desde essa introdução inicial, a viticultura expandiu-se para diversas regiões do país. A viticultura em terras brasileiras passou por um hiato entre os séculos XVIII e XIX, em que quase desapareceu. Ganhou notoriedade a partir da segunda metade do séc. XIX pela introdução de variedades híbridas americanas e reintrodução de variedades européias pela imigração de alemães, franceses e, principalmente, de italianos, em regiões do sul do Brasil. (Mullins et al., 1992).

Uma das variedades de destaque é a Niagara Rosada, originada em 1933 no município de Louveira, em São Paulo, por mutação genética natural da variedade 'Niagara' (no Brasil chamada de 'Niagara Branca'), cruzamento entre as variedades Concord e Cassady em 1868, no condado de Niagara, em Nova Iorque, EUA (Camargo, 1994; Maia, 2002). Sousa (1996) destaca a rápida predominância da Niagara Rosada sobre a Niagara Branca no Brasil, demonstrando a dinâmica evolutiva e adaptativa da viticultura ao longo do tempo.

A videira possui características morfológicas distintas e um ciclo fenológico influenciado por diversos fatores climáticos. A adaptabilidade das videiras é notável, pois são geralmente pouco exigentes em relação ao frio, especialmente quando cultivadas em climas quentes e secos, com alta intensidade de luz e baixa pluviometria, o que resulta em um comportamento diferenciado comparado a regiões

temperadas. Morfologicamente, a videira é considerada uma planta liana, lenhosa de porte arbustivo, perene e de folhas decíduas, caracterizada pela presença de gavinhas e inflorescências opostas às folhas (Mullins et al., 1992; Pommer, 2003). As raízes, fasciculadas e predominantemente encontradas nos primeiros 60 a 150 cm de profundidade, são importantes no acúmulo de carboidratos no final do ciclo vegetativo, essenciais para o desenvolvimento da planta no próximo ciclo (Pommer, 2003).

A parte aérea da videira, composta por tronco e ramos, desempenha um papel vital na sustentação dos frutos, do tipo baga, agrupados em cachos (Hidalgo, 1993; Alvarenga et al., 1998). Os frutos, assim como as folhas, apresentam diversidade de formas e tamanhos, características essas de diferenciação varietal e práticas de manejo (Terra et al., 1993; Sousa, 1996; Iland et al., 2024).

A inflorescência da videira é uma panícula com estrutura variável, e as variedades cultivadas geralmente possuem flores hermafroditas, permitindo a autofertilização (Pratt, 1971; May, 2000). O cacho, composto por pedúnculo, raquis, pedicelo e flores, transforma-se em bagas quando fertilizado, apresentando estruturas distintas como pele, polpa carnuda e sementes (May, 2000; Ribéreau-Gayon et al., 2006; Jackson, 2008).

O ciclo anual da videira abrange desde a mobilização de reservas, crescimento vegetativo, acúmulo de metabólitos até o repouso vegetativo ou dormência (Hidalgo, 2002; Reynier, 2003). A data de poda emerge como uma referência crucial para o início desse ciclo fenológico, variando conforme a cultivar, as condições climáticas e o local de cultivo. O cultivo de videiras em áreas tropicais possibilita a obtenção de até duas ou mais colheitas por ano, sendo viável proceder com a poda de produção em qualquer período do ano, contanto que os ramos estejam maduros após a colheita da safra anterior, enfatizando a versatilidade e adaptabilidade desta planta ao longo do tempo (Kuhn e Maia, 2001; Manica e Pommer, 2006; Embrapa Uva e Vinho, 2018).

Fenologia da videira

A classificação fenológica da videira do trabalho de Galet (1983) 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 pode influenciar o outro.

O manejo da videira em regiões tropicais varia significativamente com a latitude, refletindo as diferenças em fotoperíodo, temperatura média anual e distribuição de chuvas. Em latitudes próximas a 10°, como nas zonas equatoriais, a constância do fotoperíodo (~12 h) ao longo do ano e a baixa amplitude térmica inviabilizam a indução natural da dormência, exigindo podas e aplicações de reguladores de crescimento para promover a brotação e sincronizar os ciclos produtivos. Na fase de repouso costuma se dar pela redução de irrigação de forma controlada para promover o acúmulo de reservas, reproduzindo o período hibernar das regiões temperadas (Leão e Maia, 1998). Em latitudes em torno de 20°S, típicas de regiões produtoras do Sudeste do Brasil, há leve variação no fotoperíodo e um gradiente térmico mais acentuado entre estações, o que favorece uma entrada parcial em dormência. Nessas condições, o manejo pode ser ajustado conforme o ciclo fenológico e o objetivo produtivo, permitindo duas safras por ano. Em latitudes próximas a 30°S, típico de subtropical, as estações do ano são mais definidas, com temperaturas mais baixas no inverno e fotoperíodo reduzido, o que favorece a ocorrência de dormência fisiológica mais pronunciada (endodormência). Nessas regiões, a videira pode completar naturalmente parte de seus requerimentos de dormência, reduzindo a necessidade de tratamentos químicos, tal que o manejo se aproxima dos modelos adotados em climas temperados. Essa transição latitudinal demanda estratégias específicas de poda, irrigação, controle de doenças e uso de

indutores químicos, ajustadas à fisiologia da planta sob diferentes regimes ambientais.

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

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*), 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 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 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*) 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 Amerine e Winkler (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.

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 (Ríos et al., 2014). A dormência de gemas é classificada em três estádios fisiológicos: i) paradormência, que é mais associada à inibição causada por fatores de dominância apical; ii) a ecodormência, que é a dormência causada por fatores ambientais adversos; iii) a endodormência, ou dormência profunda, 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 (Liu et al., 2013). 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., 2016).

A ecodormência em videiras refere-se a um estado de inatividade temporária das gemas causado exclusivamente por condições ambientais desfavoráveis, mesmo quando a gema já superou a endodormência e está fisiologicamente pronta para retomar o crescimento. Os fatores mais comuns que induzem a ecodormência são temperaturas muito baixas, déficit hídrico ou baixa radiação solar, impedindo o crescimento vegetativo mesmo que os fatores internos prevenindo o crescimento já tenham sido removidos.

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* (Parada et al., 2016). Observa-se um intervalo de não reatividade a sinais de crescimento promovidos externamente, retomando 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* spp. (Grant et al., 2013). 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.

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, além da ação acessória das moléculas bloqueadoras de ROS como a catalase (Pérez e Lira, 2005).

O fotoperíodo é por definição a quantidade de horas de luz durante um dia. As plantas desenvolveram sistemas metabólicos como fitormônios e moléculas fotos sinalizadoras 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). Próximo à linha do equador, a duração do dia é muito próxima da noite ao longo do ano inteiro. Conforme se afasta em direção aos polos, o fotoperíodo aumenta no verão e diminui no inverno (Figura 1).

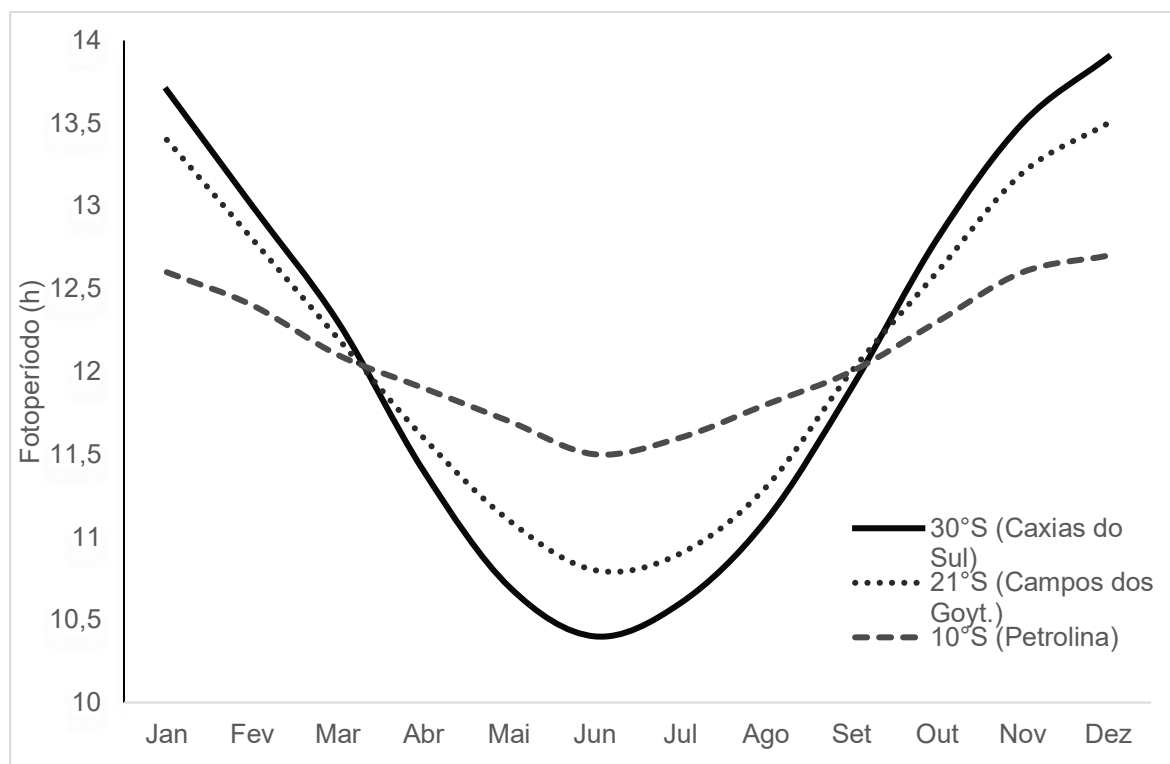


Figura 1: Comparação da variação de fotoperíodo anual em diferentes latitudes, correspondentes a regiões produtoras de uvas no Brasil

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 β -glucanos (Rinne et al., 2011). 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 ativa. Esta transição entre dormente 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 para o estabelecimento da dormência em videiras (Dantas et al., 2020).

Em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa, os aspectos de transporte de água e relações de fotoperíodo e dormência de gemas foram explorados. Há análise da formação de conexão xilemática entre a gema e o caule durante a brotação, observando que esta conexão só é formada com a formação da primeira folha. Com base nos dados, a conclusão foi a ausência do transporte de moléculas energéticas para o tecido da gema durante a quebra de dormência (de Deus, 2018).

O trabalho de Lemos (2018) analisou o efeito do fotoperíodo na indução de dormência em diferentes genótipos na latitude 21,5°S. Se observou que períodos em que o fotoperíodo diminuiu, houve relação com a entrada em dormência das gemas. Além disso, concluindo 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. 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. 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 (Fadón et al., 2018; Fernandez et al., 2019).

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 et al., 2018). 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., 2016).

A proteômica em *Vitis spp.* mostrou um perfil proteico de metabolismo de combate a ROS e focado primariamente em metabolismo energético (George et al., 2018). Além disso, análises em um híbrido (*V. labruscana* Bailey x *V. vinifera* L.) e álamo (um interessante modelo para estudos de dormência) revelaram a importância do fator de transcrição 'Short vegetative phase 3' na coordenação entre os metabolismos de ABA e GA, além da formação de calose durante a dormência de gemas. Neste estudo, as principais proteínas que iniciam a cascata de sinalização do fator SVP3 foram downreguladas durante o tratamento com o indutor de brotação cianamida hidrogenada (Dong et al., 2023).

Aclimação e resistência ao frio

O fenômeno de aclimação ao frio de espécies arbóreas e gramíneas tem seus estudos desde a década de 50, em que experimentos em campo tinham como resultado que plantas expostas a baixas temperaturas de forma gradual exibiam maior resistência ao frio intenso. Era usualmente associada a processos morfológicos, dada as limitações da época. A partir da década de 70, através de

análises bioquímicas, foi possível entender que a diferença no acúmulo de açúcares e viscosidade celular era responsável pela proteção celular à formação de cristais de gelo intracelulares. Dentre as enzimas mais importantes para esse processo encontra-se a sacarose sintase (Kawamura e Uemura, 2003).

Desde então, os estudos têm ampliado o conhecimento dos fatores relacionados à aclimação, como a importância do fotoperíodo, principalmente pela ativação dos fotorreceptores fitocromo A que percebe o desbalanço da quantidade de luz diária e dispara resposta de entrada em dormência em espécies perenes. Um híbrido de álamo (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) com reduzida expressão do gene de fitocromo A (phyA) apresentou aumento de sensibilidade a endodormência regulada por dias curtos (Eriksson, 2000). Outras perspectivas a respeito da dormência de perenes têm revelado que utilizar o fenômeno morfofisiológico da brotação como único indicador de dormência é insuficiente, sobretudo em regiões tropicais de baixa latitude. North e Kovaleski (2024) demonstraram que o acúmulo de frio, frequentemente simulado por tratamentos térmicos em experimentos, também induz aumento da resistência ao frio (cold hardiness), o que pode retardar a brotação mesmo com acúmulo térmico adequado. Em latitudes tropicais como 21°S, onde os invernos são brandos e a dormência profunda é atenuada, a relação entre aclimação térmica e brotação ganha relevância prática especialmente quando se utilizam manejos como poda de produção, cianamida hidrogenada ou supressão hídrica para induzir ciclos fenológicos. A incorporação da resistência ao frio e da taxa de desaclimação aos modelos de dormência pode prever o comportamento das gemas, otimizar o momento das intervenções e minimizar riscos fisiológicos associados a estresses climáticos inesperados em ambientes temperados (Kovaleski et al., 2018). Porém, esse tipo de dados não existe para condições tropicais, o que abre oportunidades para explorar este tipo de metodologia em cultivos tropicais.

Além disso, North et al. (2024) mostraram que as variações no tempo até a brotação entre espécies ou cultivares não refletem, necessariamente, diferentes ritmos de dormência, mas sim interações entre resistência inicial ao frio e velocidade de desaclimação. Esse princípio também se aplica a videiras cultivadas em ambientes tropicais, onde o manejo visa adaptar a fenologia a

condições climáticas sem acúmulo natural de frio. Já Han et al. (2023) concluíram, por meio de análises transcriptômicas, que diferentes tipos de estresse térmico ativam vias moleculares distintas nas gemas de *Vitis vinifera*, o que reforça a ideia de que a resposta fisiológica ao ambiente tropical não é apenas uma ausência de dormência, mas sim uma adaptação complexa e molecularmente regulada. Esses achados indicam que, em regiões de 21°S, o estudo conjunto da fisiologia da dormência, da biofísica das gemas e da expressão gênica pode subsidiar estratégias de manejo mais eficientes e resilientes, diante de cenários climáticos com maior variabilidade térmica e menor previsibilidade sazonal.

Outros fatores como chaperonas como as sHSP (do inglês, *small Heat Shock Proteins*) estão envolvidas no processo por estarem upreguladas durante eventos de exposição a altas e baixas temperaturas, tendo como principal função de proteger proteínas contra desnaturação e agregação (Wang et al., 2004). A presença de proteínas LEA (do inglês, *late embryogenesis abundant proteins*) durante este processo também foi investigada e resultou no aumento da expressão gênica da família destas proteínas em diversas espécies, a principal hipótese foi que as desidrinas alteravam o padrão de saturação lipídica da membrana gerando maior proteção ao frio (Porat et al., 2004; Puhakainen et al., 2004).

Análises metabolômicas e proteômicas atuais comprovam a presença de metabólitos secundários e proteínas de combate de ROS sendo acumuladas durante a exposição ao frio de sementes de *Eucaliptus* spp (Oberschelp et al., 2020), dessa forma ampliando o conhecimento do processo de proteção vegetal às condições de aclimação ao frio. Pouco ou nenhum conhecimento foi encontrado sobre a presença ou não de respostas em cultivares em condições de frio ameno. Estas espécies não necessitam destas respostas usualmente, porém para ampliar o conhecimento sobre o fenômeno de aclimação ao frio, é importante investigar se esta resposta é encontrada no fenótipo em variedades cultivadas em climas quentes, tendo em vista a instabilidade do clima e a possibilidade de viabilidade de cultivar variedades de climas quentes em climas frios, ou mesmo em cultivo de altitude. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar a dormência de videiras cultivadas em latitude 21°S quanto ao seu perfil de proteoma e biofísica da aclimação, com foco em elucidar se existem mecanismos distintos aos de cultivos

em clima temperado, determinando se as gemas de cultivo em clima tropical apresentam endodormência ou ecodormência.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Gemas da cv. Niagara Rosada [mutação somática da cv. Niagara - *V. labrusca* 'Concord' x 'Cassady' (*V. labrusca* x *V. vinifera* Variedade VIVC 8540)] (Pierozzi e Moura, 2014) enxertadas no porta-enxerto IAC-572 foram utilizadas para avaliações. Plantadas em 2006 em vinhedo comercial, as gemas foram colhidas durante duas condições de fotoperíodo: dezembro de 2022 (solstício máximo – 13,5 h) e junho de 2023 (solstício mínimo – 10,5 h). O vinhedo localizado no município de São Fidélis, RJ, Brasil (21°51' S; 41°71' W) é constituído por plantas em produção distribuídas a 2,5 m entre linhas e 2 m entre plantas seguindo em um sistema de formação de pérgola e irrigado por gotejamento por dois emissores por planta a uma distância de 0,5 cm do caule. As gemas foram amostradas durante o estágio de desenvolvimento, seguindo o sistema EL modificado (Coombe 1995): EL 1 (gema dormente). Três (classificação de Köppen - *Am*) réplicas biológicas e experimentais

foram realizadas para as análises proteômicas. A cada coleta foram extraídos dez ramos e deles feita uma pré-seleção das gemas mais vistosas (maior biomassa) para a análise em laboratório. O material coletado foi imediatamente envolto em papel-alumínio para proteção contra a luz, e os ramos foram acondicionados em sacos plásticos transparentes e transportados em caixa de isopor com gelo até o laboratório, localizado a 71 km de distância. As gemas oriundas da poda realizada em dezembro foram designadas como tratamento de 'verão', enquanto as gemas podadas em junho foram consideradas como tratamento de 'inverno' para esta pesquisa.

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos, cada um com 12 plantas individuais como repetições biológicas, utilizando dois ramos por planta ($n=24$). No momento da coleta, as gemas dos ramos sazonais foram seccionadas em segmentos contendo uma única gema, sendo estas retiradas das posições entre o 3º e o 10º nó a partir da base até o topo do ramo. As escamas foram removidas e o material remanescente das gemas foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado a -80°C até as etapas posteriores.

Avaliação da brotação das gemas

Um segundo grupo de gemas foi coletado e imediatamente transportado para o laboratório, sendo dividido em dois grupos de 40 gemas (20 por tratamento) dispostas em bandejas plásticas com água, submetidas a condições forçadas (12 h de luz / 12 h de escuro, temperatura de 24 °C): um grupo controle (pulverizado com água) e um grupo tratado com 5% cianamida hidrogenada (p/v) (CH). A brotação foi quantificada até que as gemas atingissem o estágio de "ponta verde aberta" (E-L 4), com base na classificação fenológica modificada de Eichhorn-Lorenz (Coombe, 1995). As observações foram registradas diariamente, de 3 de dezembro de 2022 a 3 de janeiro de 2023 para o tratamento de verão, e de 5 de junho de 2023 a 5 de agosto de 2023 para o tratamento de inverno.

Extração e quantificação de proteínas totais

Três amostras biológicas de 150 mg cada foram maceradas em almofariz e pistilo com nitrogênio líquido e transferidas para microtubos. As amostras em pó foram homogeneizadas com 1 mL de tampão de extração, composto por 7 M ureia (Cytiva, Hoegaarden, Bélgica), 2 M tioureia (Cytiva), 2% Triton X-100 (Sigma–Aldrich), 1% ditiotretol (Bio-Rad, Hercules CA, EUA) e 1 mM fenilmetilsulfonil fluoreto (PMSF, Sigma-Aldrich), conforme descrito por Reis et al. (2021). As concentrações de proteínas dos replicados biológicos foram estimadas utilizando o kit 2-D Quant (Cytiva). Para preparação da digestão proteica, alíquotas de 100 µg de cada amostra foram precipitadas pelo protocolo metanol/clorofórmio para remoção de contaminantes detergentes (Nanjo et al., 2012).

Digestão proteica

A digestão tripsínica foi realizada utilizando o método de preparação de amostra assistida por filtro (FASP) (Wiśniewski et al., 2009). Resumidamente, as proteínas foram duplamente dessalinizadas com 50 mM bicarbonato de amônio (Sigma-Aldrich) a pH 8,5 em filtros Microcon de 30 kDa (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). Em seguida, foram incubadas a 60 °C por 20 min com 100 µL de solução redutora contendo 50 mM DTT, preparada em 8 M ureia e 50 mM bicarbonato de amônio (pH 8,5). Após resfriamento, adicionaram-se 200 µL 8 M

ureia e 50 mM bicarbonato de amônio, seguido de alquilação por 20 min a 25 °C no escuro com 100 µL 50 mM iodoacetamida (Sigma-Aldrich) em bicarbonato de amônio. Posteriormente, as amostras foram lavadas duas vezes com 8 M ureia e 50 mM bicarbonato de amônio, e três vezes com 50 mM bicarbonato de amônio. A digestão proteica foi realizada por 18 h a 37 °C, em uma solução contendo 25 µL de RapiGest a 0,2% (Waters, Manchester, Reino Unido) e 20 µL de solução de tripsina (razão tripsina:amostra de 1:100 µg, Promega, Madison, EUA). A atividade da tripsina foi inibida com 5 µL ácido trifluoroacético (TFA) a 15%, para uma concentração final de 0,5%, e incubação a 37 °C por 30 min. Os peptídeos foram liofilizados a vácuo e solubilizados a 0,7-1 µg µL⁻¹ em uma solução de 95% água, 5% acetonitrila e 0,1% ácido fórmico, todos grau MS (Sigma-Aldrich). A concentração de peptídeos foi estimada por espectrofotometria a 205 nm usando o NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA).

Análise por espectrometria de massas

A análise proteômica foi realizada utilizando um sistema nanoAcquity UPLC M-class (Waters) acoplado a um espectrômetro de massas Synapt G2-Si (Waters) com fonte de ionização por eletrospray (ESI-MS/MS), conforme descrito por Passamani et al. (2018). Brevemente, 2 µg de peptídeos digeridos foram carregados em uma coluna de pré-concentração C18 (100Å, 5 µm, 180 µm × 20 mm, 2D; Waters) a uma vazão de 5 µL min⁻¹ por 3 min, seguida de separação em uma coluna analítica HSS T3 de fase reversa (100Å, 1,8 µm, 75 µm × 150 mm; Waters) a 400 nL min⁻¹ e temperatura de 45 °C. A eluição foi realizada com um gradiente binário, sendo a fase móvel A composta por água (Tedia, Fairfield, EUA) e 0,1% ácido fórmico, e a fase móvel B por acetonitrila e 0,1% ácido fórmico. O gradiente iniciou-se em 5% B, aumentando de 5 para 40% B até 92 min, 40 para 99% B até 96 min, sendo mantido em 99% B até 100 min. A fase B foi reduzida para 5% até 102 min e mantida até o final do ensaio em 118 min.

Os dados HDMSE foram adquiridos no modo de aquisição independente de dados (DIA) utilizando mobilidade iônica, com os seguintes parâmetros: modo positivo, resolução de 35.000 FWHM (V mode) e programa de velocidade de onda de mobilidade de 800 para 500 m s⁻¹. A energia de colisão foi aumentada de 25 para

55 V no modo de alta energia, e as tensões do cone e capilar foram de 40 e 2800 V, respectivamente. A pressão do gás de nanofluxo foi de 0,5 bar, com fluxo do gás de purga de 150 L h⁻¹ e temperatura da fonte de 80 °C. Para os parâmetros do tempo de voo (TOF), o tempo de varredura foi de 0,6 s no modo contínuo, com faixa de massa de 50 a 2000 Da. Como calibrante externo, utilizou-se fibrinopeptídeo B humano [Glu1] (Waters) a 100 fmol µL⁻¹, com aquisição de lock mass a cada 30 s. Os espectros de massas foram adquiridos com o software MassLynx v4.1 (Waters).

Análise de dados

A análise dos espectros MS/MS foi realizada utilizando o software ProteinLynx Global SERVER (PLGS) v.3.03 (Waters), e a quantificação label-free foi conduzida pelo software ISOQuant v.1.6 (Distler et al., 2014), conforme parâmetros descritos previamente (Passamani et al., 2018). Os dados foram processados no PLGS com um limiar de baixa energia de 150 contagens, limiar de energia elevada de 50 e limiar de intensidade de 750. Os parâmetros de busca incluíram até duas clivagens perdidas, um mínimo de três íons fragmento por peptídeo, sete íons fragmento por proteína e dois peptídeos por proteína, com modificações fixas de carbamidometilação (C) e variáveis de oxidação (M) e fosforilação (STY). O FDR para identificação de peptídeos e proteínas foi fixado em 1%, com peptídeos de no mínimo seis aminoácidos.

A análise no ISOQuant incluiu alinhamento de tempo de retenção, exato tempo de retenção de massa, agrupamento IMS, normalização dos dados e filtragem de homologia proteica. A quantificação foi realizada pelo método TOP3, seguido de normalização multidimensional. Para análise diferencial, apenas proteínas presentes em todas as três repetições ou ausentes em todas foram consideradas. Proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) foram identificadas com teste t de Student ($P < 0,05$) e Log2 FC $> 0,585$ (up-reguladas) ou $< -0,585$ (down-reguladas).

A anotação funcional foi realizada no OmicsBox e UniProtKB, utilizando BLAST contra o banco de proteínas não redundante de plantas verdes (NCBI, taxa: 33090). O Enriquecimento funcional foi conduzido no Metascape, e as interações

preditas no STRING v.12.0. Fatores de transcrição e quinases foram identificados via iTAK (Zheng et al., 2016).

Determinação do requerimento de frio das gemas

As gemas retiradas de campo foram avaliadas quanto ao acúmulo de frio das gemas, baseado no modelo dinâmico de acúmulo de frio em porções (Fishman et al., 1987). O modelo é baseado na suposição de que há um precursor termicamente instável que leva à acumulação de um fator que resulta na finalização da dormência. A seguinte fórmula descreve o modelo:

Sendo: PQD – precursor de quebra de dormência, FQD – fator de quebra de dormência, as setas reversíveis representam os fatores de formação e destruição do precursor, a seta única representa a reação irreversível de formação do fator de quebra de dormência.



As taxas de formação e destruição do precursor são funções de temperatura e indicam as faixas de temperatura em que o precursor é formado ou degradado. A transição do precursor para o fator de quebra de dormência foi determinada como um processo irreversível para membranas e macromoléculas que ocorre após a formação do precursor ultrapassar um limite hipotético que é igual a 1, sendo este equivalente a uma porção de acúmulo de frio. Após ultrapassar o limite, o valor de acúmulo do precursor retorna a zero e reinicia-se a contagem. As taxas de formação e destruição do precursor segue a lei de Arrhenius e a fórmula final é mostrada a seguir:

$$K_{0,1} = A_{0,1} \exp (-E_{0,1}/\Theta) \quad (\text{Eq.2})$$

Onde: Θ = temperatura em graus absolutos ($^{\circ}\text{K}$), $E_{0,1}$ = energias de ativação dos processos de formação e destruição de PQD (em unidades de temperatura) e $A_{0,1}$ = taxas dos coeficientes, que são independentes de temperatura.

Montagem sistema de captação da resistência ao frio de gemas

O sistema é uma análise térmica diferencial, sendo uma adaptação do sistema proposto em (Mills et al., 2006), onde se baseia em fios termopares (modelo D36904, Vix) que detectam temperatura das gemas. Cada fio termopar comporta uma única gema e seu princípio de funcionamento será o seguinte: ao resfriar as gemas a água interna cristaliza, liberando calor e aumentando a temperatura da gema, o fio termopar então detecta reação exotérmica gerada pelo congelamento do conteúdo de água interna, caracterizando a temperatura de morte da gema.

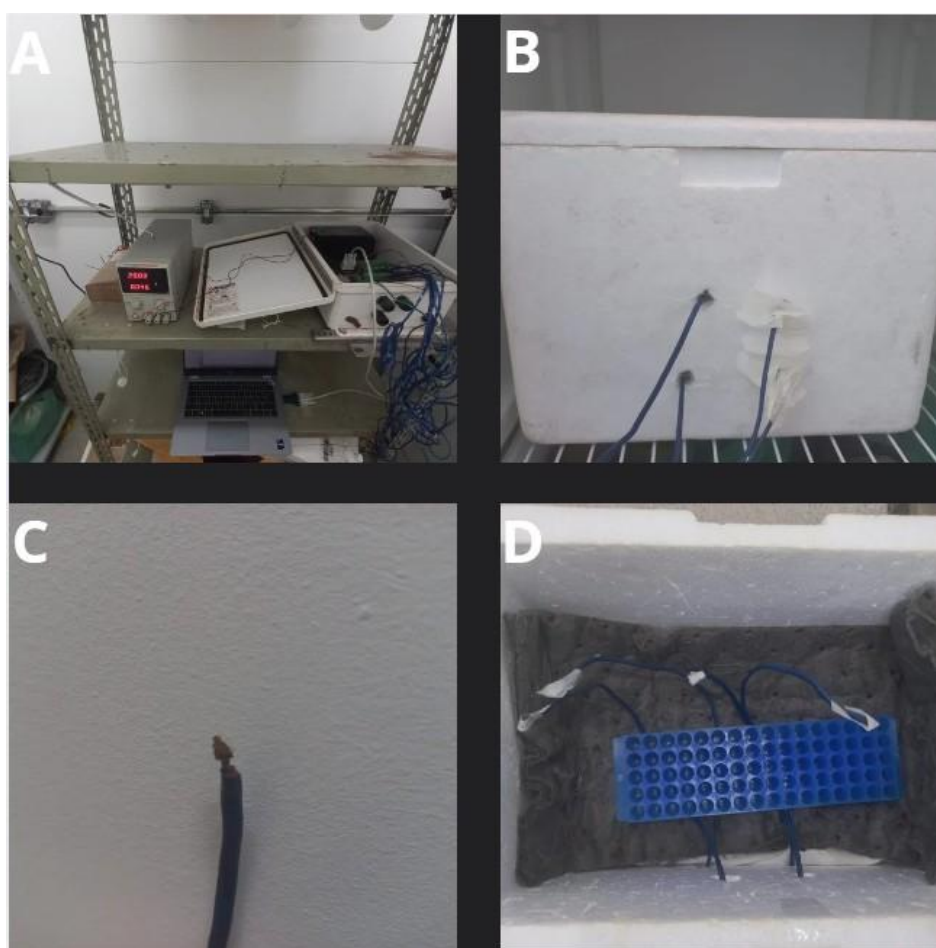


Figura 2: Montagem do sistema de captação de dados de resistência ao frio das gemas de videira. A – visão geral do sistema, mostrando o datalogger, fonte, termopares conectados às portas do datalogger e computador que exibe os dados no software LoggerNet versão 3.3.1. B – caixa de isopor com inserção dos termopares e vedadas com fita adesiva para fixação dos termopares. C – exemplificação da inserção da gema na ponta do termopar para análise da resistência ao frio. D – disposição das gemas e termopares dentro da caixa de isopor com o auxílio de um peso para evitar a movimentação dos termopares e as gemas são embaladas com fita adesiva evitando erros na coleta dos dados de resistência ao frio

As câmaras de amostragem consistiram em uma caixa de isopor retangular de 33cm x 25cm x 25cm (comprimento/largura/altura), as gemas foram retiradas das estacas com auxílio de um bisturi e suas porções basais inseridas nas pontas dos termopares para melhor captação dos picos exotérmicos. Os fios então foram inseridos na caixa isopor através de furos de 14mm de diâmetro que foram feitos na caixa de isopor para permitir circulação de ar dentro do sistema. As gemas nos fios termopares foram envoltas em fita adesiva para evitar afastamento da interface gema-termopar e tecido isolante térmico (tecido algodão 100%) envolto na fita adesiva. Os fios termopares foram fixados e conectados ao centro de coleta dos dados para monitorar a temperatura do freezer. O centro de coleta de dados será um data logger (modelo CR1000, Campbell Scientific) que apresenta 8 canais, dessa forma 8 termopares foram utilizados para captação dos dados que serão armazenados a cada 10 segundos. Foi introduzido o sistema em um freezer -25°C para resfriamento das gemas. As saídas de voltagem em mV seguirão ao software EXCEL (versão 2019, Microsoft) e os dados foram processados e plotados em duas dimensões, sendo a saída do termopar no eixo x e a saída de tempo no eixo y.

Determinação da resistência ao frio

Gemas dormentes dos nós quatro ao oito a contar da base foram cortadas de videiras cultivadas em campo. Aproximadamente 2 mm de tecido do ramo circundante das gemas foram preservados no corte para permitir o resfriamento do material. Oito gemas foram inseridas em cada termopar com a face que recebeu o corte voltado para o termopar. Um termopar foi deixado livre como controle para descontar efeitos de ruídos de sinal. Um total de 8 termopares com gemas foram colocados em freezer para a análise, totalizando 8 gemas por tratamento em cada análise (n=16). Temperaturas exotérmicas foram identificadas manualmente do plot do termopar (eixo x) versus os tempos observados para cada pico exotérmico (eixo y). Temperaturas letais para as gemas serão descritas como LTE50, as temperaturas responsáveis pela morte de 50% das gemas analisadas. Esses valores foram determinados por meio do alcance exotérmico das gemas e sua distribuição que são visíveis nos picos das leituras de cada placa.

RESULTADOS

5.1 – Proteômica de gemas em diferentes estações

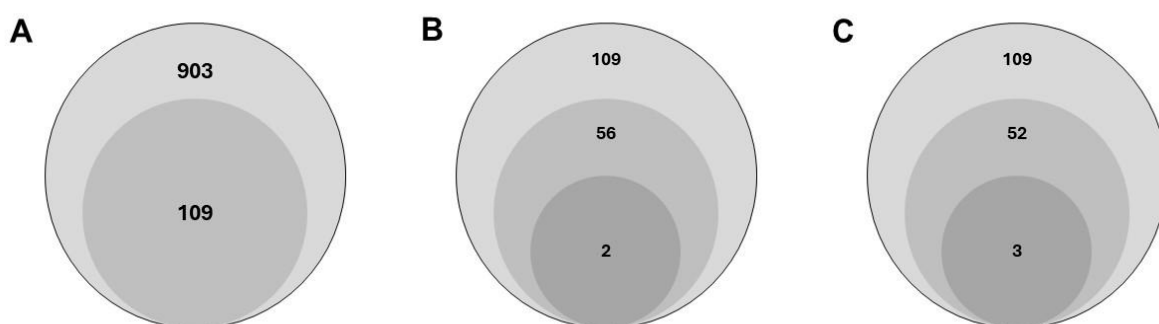


Figura 3: Diagrama de venn representando os resultados da análise proteômica. A - perfil total de proteínas quantificado pelo método proteômico global (903) vs. total de proteínas reguladas identificadas (109). B – total de proteínas reguladas (109) vs. total de proteínas reguladas no inverno (56) vs. proteínas exclusivas do inverno (2). C – total de proteínas reguladas (109) vs. total de proteínas reguladas no verão (52) vs. proteínas exclusivas do verão (3)

Das 909 proteínas detectadas, 903 foram mantidas após a exclusão de contaminantes. Um total de 109 proteínas com acúmulo diferencial (DAPs) foi identificado entre as condições de verão e inverno, com base nos critérios de $|\log_2FC| \geq 0,585$ e $p < 0,05$. Dentre essas, 55 proteínas apresentaram redução e 50 foram induzidas no inverno em relação ao verão. Além disso, cinco proteínas foram exclusivamente expressas — três no verão e duas no inverno (Figuras 3A–3C).

As análises de enriquecimento de ontologia gênica (GO) e de vias metabólicas (KEGG) revelaram um perfil funcional claramente divergente entre os tratamentos: as gemas de verão apresentaram enriquecimento em vias relacionadas ao metabolismo secundário, transdução de sinais em membranas e resposta ao estresse por radiação UV. Já as gemas de inverno exibiram indução de proteínas envolvidas no metabolismo de carboidratos, desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e dobramento de proteínas (Figuras 4 e 5).

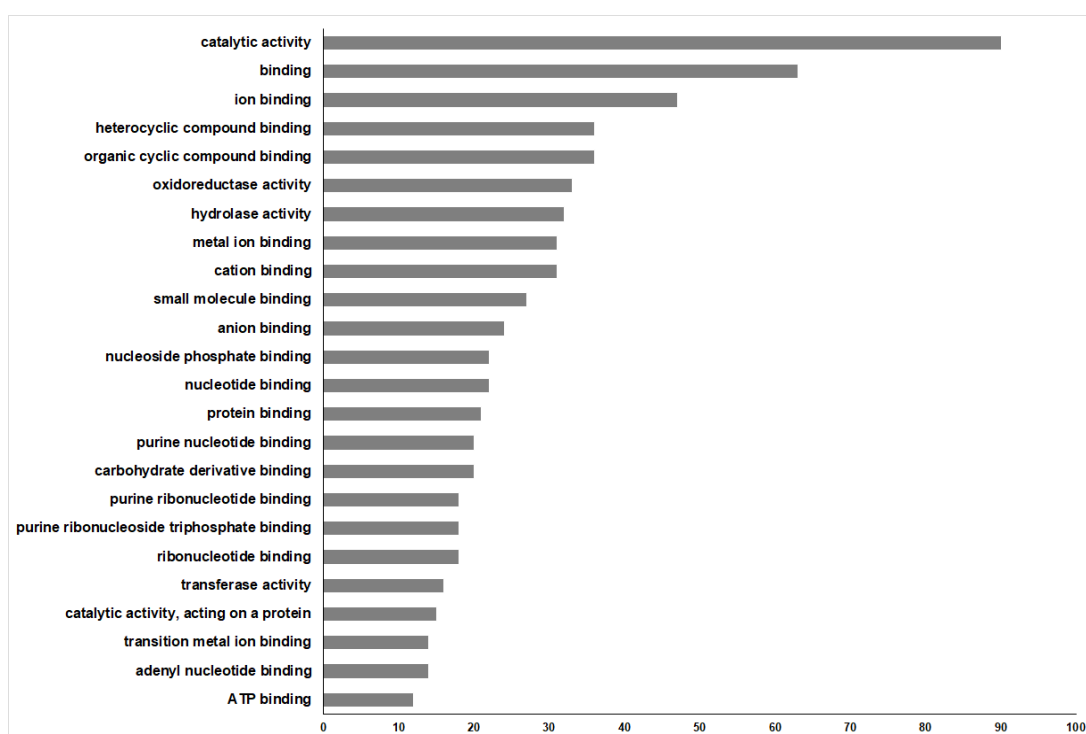


Figura 4: Análise funcional das proteínas reguladas a partir das sequências 'fasta' utilizando o software OmicsBox, o eixo x representa o número de sequências encontradas, enquanto o eixo y corresponde à função predita das proteínas

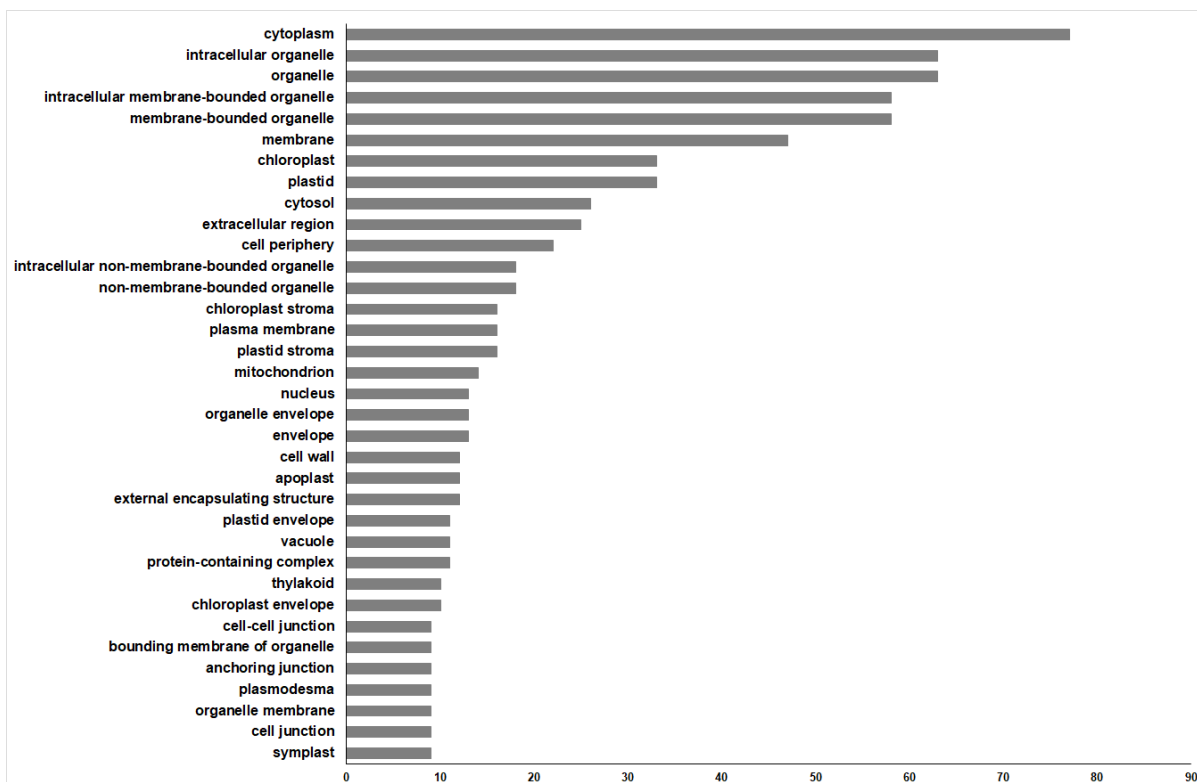


Figura 5: Análise funcional dos compartimentos celulares das proteínas reguladas a partir das sequências 'fasta' utilizando o software OmicsBox, o eixo 'x' representa o número de sequências reguladas encontradas, enquanto o eixo 'y' corresponde à localização celular predita das proteínas

A análise de agrupamento por heatmap revelou uma mudança marcante nos perfis proteômicos, confirmando o estado de quiescência no verão em contraste com a dormência no inverno. Termos funcionais destacados incluíram degradação de amido (GO:0044275), dobramento de proteínas (GO:0006457) e resposta ao frio (GO:0009409), com destaque especial durante a condição de inverno (Figura 6). Estes processos estão altamente regulados neste conjunto de dados, dessa forma o proteoma demonstra uma resposta usual de dormência.

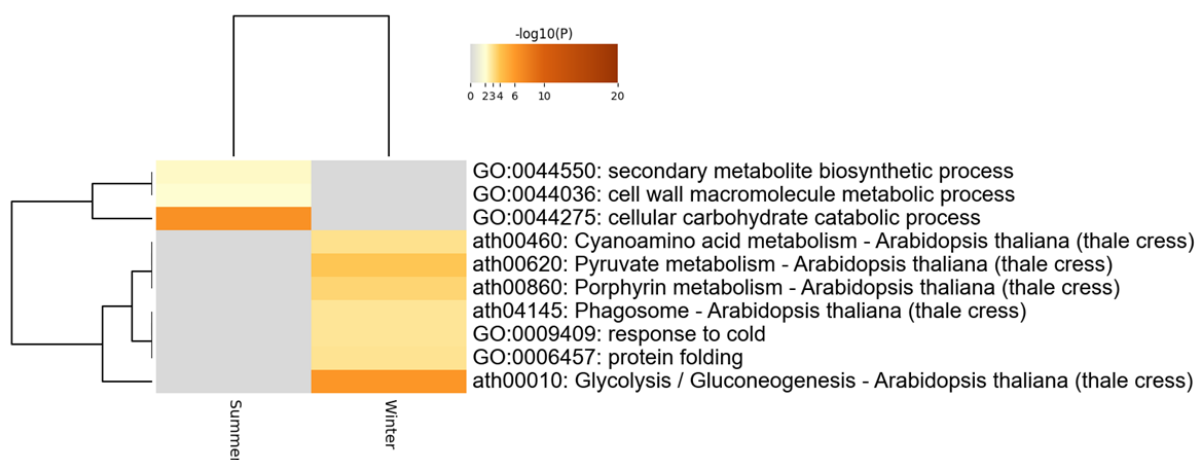


Figura 6: Mapa de calor das proteínas reguladas com base no organismo de referência *A. thaliana*. 'summer' representa as proteínas reguladas no tratamento de verão, enquanto 'winter' representa as proteínas reguladas no tratamento de inverno, a quantidade de proteínas reguladas varia de cinza (ausência de proteínas reguladas) a laranja escuro, que corresponde ao número máximo de proteínas reguladas, a análise funcional das proteínas reguladas é apresentada com base em sua identificação no software Cytoscape

O mapeamento de interações baseado na plataforma STRING revelou membros da família HSP70 como nós centrais interligando enzimas metabólicas, especialmente aquelas envolvidas na gestão de espécies reativas de oxigênio (ROS), como a catalase. Esses chaperonas podem atuar na estabilidade do proteoma e no desenvolvimento de cloroplastos sob estresses térmicos e luminosos (Figura 6). No conjunto de proteínas reguladas foram encontradas 27 proteínas não caracterizadas segundo o proteoma de referência. Com base em suas sequências FASTA, foi realizada uma análise utilizando a busca BLAST no campo de proteínas da espécie *Vitis vinifera* L. (taxid: 29760), com o objetivo de identificar essas proteínas e formular hipóteses sobre seus possíveis papéis nos eventos relacionados à dormência. A tabela a seguir apresenta os nomes e os padrões de regulação dessas proteínas (Tabela 1).

Tabela 1: Lista de proteínas ‘não caracterizadas’ identificadas pelo BLAST e seus status de regulação

Table Acession	Description	Reference Organism	Max Score	Total Score	Query Cover (%)	E value	Identity (%)	BLAST Acession	Regulation
A5BOL2_VITVI	actin-66	<i>Vitis vinifera</i>	784	784	100	0.0	100	XP_002279672.1	Down
A5C0I8_VITVI	alcohol dehydrogenase 2	<i>Vitis vinifera</i>	780	1546	100	0.0	100	XP_059592057.1	Down
F6I4V4_VITVI	GDSL esterase/lipase At1g09390	<i>Vitis vinifera</i>	772	772	100	0.0	100	XP_002277053.2	Up
D7TW84_VITVI	protein HOTHEAD isoform X2	<i>Vitis vinifera</i>	1198	1198	100	0.0	100	XP_002282510.2	Up
D7TVX5_VITVI	Puromycin-sensitive aminopeptidase	<i>Vitis vinifera</i>	1025	1025	100	0.0	100	RVX08967.1	Up
D7SK85_VITVI	tropinone reductase homolog At5g06060	<i>Vitis vinifera</i>	557	557	100	0.0	100	XP_010650991.1	Down
F6HBC6_VITVI	protein DUF642 L-GALACTONO-1,4-LACTONE-RESPONSIVE GENE 2	<i>Vitis vinifera</i>	734	734	100	0.0	100	XP_002276894.1	Up
F6I3V5_VITVI	stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic	<i>Vitis vinifera</i>	1393	1393	100	0.0	100	XP_002282802.1	Unique_Summer
F6GTP0_VITVI	stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic	<i>Vitis vinifera</i>	1419	1419	100	0.0	100	XP_002279101.1	Down
F6HTT7_VITVI	DNA damage-repair/tolerance protein DRT102 isoform X2	<i>Vitis vinifera</i>	619	619	100	0.0	100	XP_003633653.1	Down
D7TE44_VITVI	expansin-B3	<i>Vitis vinifera</i>	533	533	100	0.0	100	XP_002267127.2	Up
F6HLD8_VITVI	heat shock cognate 70 kDa protein 2	<i>Vitis vinifera</i>	1336	1336	100	0.0	100	XP_002263599.1	Down
D7TT84_VITVI	Formamidase	<i>Vitis vinifera</i>	867	867	100	0.0	94.24	RVX23487.1	Down
D7TT87_VITVI	Formamidase	<i>Vitis vinifera</i>	873	873	100	0.0	95.12	RVW57493.1	Down
F6HN72_VITVI	heat shock cognate 70 kDa protein	<i>Vitis vinifera</i>	1320	1320	100	0.0	97.74	XP_002279097.1	Down
F6HAB0_VITVI	Beta-glucosidase BoGH3B	<i>Vitis vinifera</i>	838	1297	100	0.0	99.51	RVW58361.1	Up
F6HF71_VITVI	Beta-glucosidase BoGH3B	<i>Vitis vinifera</i>	1292	1292	100	0.0	99.52	RVW42102.1	Down
F6HCT7_VITVI	heat shock 70 kDa protein, mitochondrial	<i>Vitis vinifera</i>	1382	1382	100	0.0	99.71	XP_002272173.3	Up
F6HNS9_VITVI	cucumisin	<i>Vitis vinifera</i>	1573	2641	98	0.0	100	XP_010658507.1	Up
D7SWF9_VITVI	Ultraviolet-B receptor UVR8	<i>Vitis vinifera</i>	697	912	86	0.0	88.00	RVW55258.1	Down

Foram identificadas 20 proteínas no total, sendo 8 reguladas no inverno e 12 induzidas ou exclusivas do verão. Entre as proteínas exclusivas do verão, destacam-se: Fotorreceptor UVR8, que regula a biossíntese de flavonoides sob exposição à radiação UV-B; HSP70-2, provavelmente envolvida na maturação de cloroplastos, com suporte da associação à via do spliceossomo segundo a análise KEGG; Pectato liase, um possível novo marcador de remodelação da parede celular em gemas dormentes. Entre as proteínas exclusivas do inverno, destacam-se: Aldolase de Frutose 1,6-bifosfato, uma enzima central da glicólise, indicando mobilização de carboidratos; Expansina B3 e XTH (xiloglucano endotransglicosilase/hidrolase), sugerindo o afrouxamento da parede celular durante a pré-brotação. Essas proteínas foram integradas em um modelo conceitual de transição da dormência, ilustrando que, mesmo na ausência de acúmulo de frio, gemas expostas a fotoperíodos curtos ativam vias bioquímicas associadas à dormência (Figura 7).

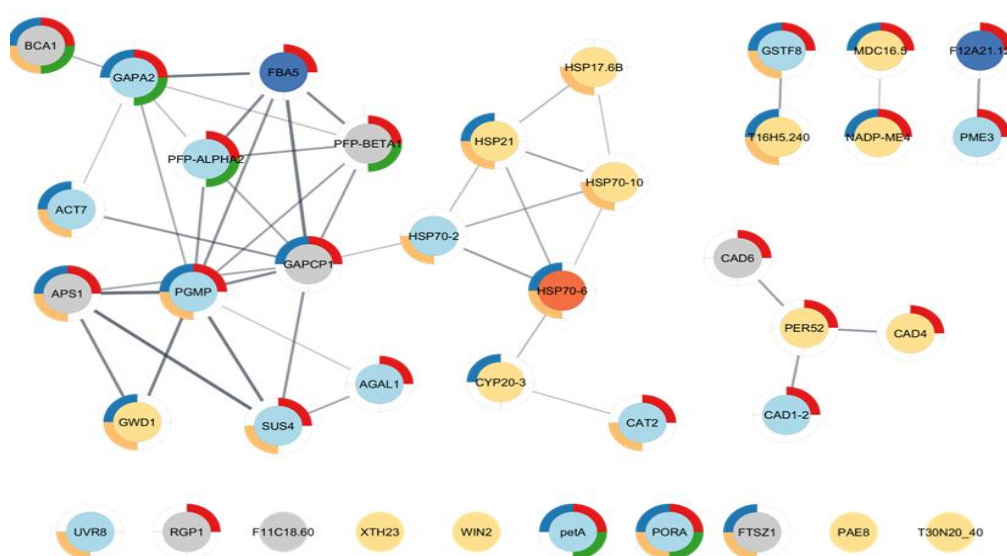


Figura 7: Rede predita de interação entre proteínas reguladas em diferentes períodos de poda, baseada na análise da plataforma STRING (confiança média). círculos azuis – proteínas reguladas no inverno. círculos amarelos – proteínas reguladas no verão. círculos cinzas – proteínas não alteradas. semicírculo verde – proteína relacionada à fotossíntese. semicírculo laranja – proteína relacionada à resposta a estímulos de fatores abióticos. semicírculo vermelho – proteína relacionada a vias metabólicas. semicírculo azul – proteína localizada nos cloroplastos

5.2 – Montagem do sistema de captação da resistência ao frio de gemas

O sistema foi montado utilizando as especificações da parte metodológica e consistiu em 8 termopares conectados a uma central (datalogger) que captou todos os dados de variação de temperatura durante os tratamentos de frio. O sistema montado está representado pela Figura 2. Os dados foram coletados em intervalos quinzenais e as médias de 8 observações foram calculadas para cada período de coleta, sendo o intervalo entre análise dos tratamentos de 48h. Durante as análises as gemas foram inseridas em freezer comum (-25°C) e o datalogger foi configurado a coletar 10 leituras de temperatura a cada segundo, com essa sensibilidade de análise é possível perceber pequenas variações na temperatura que possam indicar a morte da gema sob temperaturas negativas. A Figura 8 mostra as médias mensais de resistência ao frio dos tratamentos.

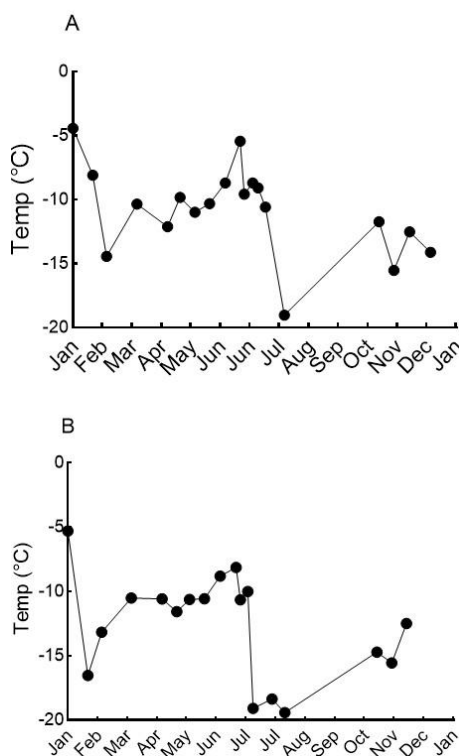


Figura 8: Resistência ao frio das gemas durante o ano de 2023, o eixo 'x' corresponde aos meses de análise, o eixo 'y' corresponde às médias de temperaturas mínimas letais observadas. A: grupo controle (s/aplicação do indutor de brotação). B: grupo ch 5%

Baseado nos dados da Figura 8 pode perceber aumento da resistência ao frio das gemas durante os meses de inverno e ao longo do início da primavera a resistência tende a abaixar, comportamento visto pelo aumento das temperaturas letais das gemas. O comportamento de aumento da resistência ao frio ocorreu em ambos os grupos observados, entretanto o grupo CH 5% permaneceu com baixas temperaturas de resistência por mais tempo que o grupo controle. A diferença entre os tratamentos quando em menores temperaturas subletais, aparenta ter relação com o efeito fisiológico do tratamento com cianamida hidrogenada, uma vez que as plantas tendem a se proteger inicialmente do efeito bloqueador da fosforilação oxidativa. É provável que esta resposta diminua a temperatura subletal da gema, nos meses que as gemas estão sob baixo fotoperíodo.

DISCUSSÃO

A regulação da dormência de gemas em videira (*Vitis vinifera*) tem sido historicamente concebida a partir do modelo de endodormência dependente de frio, no qual as gemas necessitam de exposição a baixas temperaturas para superar o estado dormente. No entanto, esse paradigma tem sido progressivamente questionado por observações em regiões tropicais e subtropicais, onde o acúmulo de frio é insignificante, mas ainda assim ocorrem comportamentos semelhantes à dormência e supressão do crescimento (Fennell e Hoover, 1991; Del Barrio et al., 2022).

O presente estudo apresenta a primeira investigação proteômica em larga escala das respostas das gemas de videira a variações sazonais de fotoperíodo em ambiente de clima quente, demonstrando que o fotoperíodo curto, por si só, é suficiente para induzir estados metabólicos semelhantes à dormência. Essa descoberta impõe uma reavaliação dos modelos tradicionais de dormência à luz das

variações climáticas e aponta para mecanismos alternativos de regulação em viticultura de baixa latitude.

Nossos dados fisiológicos e proteômicos indicam que os sinais fotoperiódicos exercem uma influência marcante nas transições de dormência das gemas. A diferença evidente na capacidade de brotação entre gemas podadas no verão e no inverno, apesar de temperaturas semelhantes, sugere que a duração do dia, isoladamente, é capaz de desencadear a entrada em dormência. A completa ausência de brotação nas gemas de inverno tratadas com água, em contraste com uma resposta baixa, porém mensurável, no verão, aponta para um estado de dormência mais profundo sob dias curtos compatível com a endodormência e para uma dormência mais superficial ou quiescência em condições de dias longos. Essa interpretação é reforçada pela formação de periderme, abscisão foliar e supressão do crescimento vegetativo observadas nos ramos podados no inverno (Lemos, 2018).

Essas características morfológicas correspondem às definições clássicas de endodormência (Lang, 1987), embora ocorram na ausência de exposição ao frio, destacando a capacidade do fotoperíodo de induzir um fenótipo dormente por meio de cascatas de sinalização sensíveis à luz. A comparação proteômica entre as estações revelou 109 proteínas com acúmulo diferencial (DAPs), com as gemas de inverno apresentando uma redução acentuada na diversidade e abundância proteica, sugerindo uma supressão metabólica compatível com o estabelecimento da dormência. As proteínas reguladas positivamente no inverno estavam predominantemente envolvidas na biossíntese de açúcares solúveis (por exemplo, aldolase de frutose-bisfosfato), na desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (como catalase e SOD) e na remodelação da parede celular (como expansina B3 e XTHs), todas as categorias funcionais comumente enriquecidas durante a endodormência de gemas em espécies de clima temperado (Fennell et al., 2015; Monteiro et al., 2022).

Por outro lado, as gemas de verão mostraram regulação positiva de proteínas envolvidas na transdução de sinais, metabolismo secundário e mitigação de estresses, indicando um estado metabólico ativo, embora sujeito a estresses. A

presença de proteínas exclusivas associadas à resposta ao estresse luminoso e sinalização de membrana, como uma proteína contendo domínio C1_2, reflete adaptações à radiação solar intensa e às altas temperaturas.

Esses achados sugerem que gemas podadas no verão encontram-se em um estado de quiescência, mantido pela supressão ambiental e não por um bloqueio intrínseco ao crescimento, em consonância com os conceitos de ecodormência ou paradormência (Horvath et al., 2003).

Entre os achados mais relevantes deste estudo está a regulação dependente do fotoperíodo do fotorreceptor UVR8 (D7SWF9_VITVI). Estruturalmente, o UVR8 existe como um homodímero na ausência de radiação UV; quando exposto à radiação UV-B, resíduos de triptofano em sua sequência primária promovem a dissociação dos homodímeros, convertendo a molécula em um monômero ativo que inicia a transdução de sinais. O UVR8 interage com os repressores RUP1 e RUP2 (REPRESSOR OF UV-B PHOTOMORPHOGENESIS 1/2), que encerram sua atividade e promovem o retorno à conformação inativa de homodímero (Podolec et al., 2021). Parte dos receptores UVR8 interage com a fosforilase S402-P e migra para o núcleo, onde atua em conjunto com diversos fatores de transcrição como RUP1, RUP2, COP1 (CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC 1), SPA (SUPPRESSOR OF PHYA-105) e a metiltransferase DRM2.

O UVR8 atua na mediação da biossíntese de flavonoides e da fotomorfogênese por meio de sua interação com HY5, COP1 e RUP1/2 (Jenkins, 2014; Liu et al., 2024). Neste estudo, o UVR8 foi mais abundante nas gemas de verão, condizente com seu papel já estabelecido na percepção da luz e na proteção contra radiação UV. A redução de aproximadamente 50% na abundância de UVR8 nas gemas de inverno pode representar um "interruptor desligado" fotoperiódico, permitindo a ativação de cascatas de sinalização associadas à dormência.

Corroborando essa hipótese, Chen et al. (2025) relataram o enriquecimento de fatores de transcrição sensíveis à radiação UV em gemas dormentes da cultivar 'Cabernet Sauvignon', sugerindo que o UVR8 pode atuar como regulador da transição entre dormência e crescimento. Foi proposto, portanto, que o UVR8

funcione como um supressor da dormência durante os dias longos, mantendo um estado metabólico voltado à fotoproteção e à mitigação de estresses. À medida que o fotoperíodo se encurta, os níveis de UVR8 diminuem, liberando a inibição de vias downstream relacionadas ao acúmulo de carboidratos e à progressão da dormência (Chen et al., 2025).

A presença enriquecida de enzimas glicolíticas como a frutose-bisfosfato aldolase (FBA) nas gemas podadas no inverno evidencia mudanças metabólicas marcantes associadas ao estabelecimento da dormência. A FBA catalisa uma reação reversível na via glicolítica, permitindo a flexibilidade entre o armazenamento e a mobilização de glicose, de acordo com as exigências metabólicas do tecido (Lv et al., 2017). Sua abundância nas gemas de inverno sugere que os tecidos dormentes estão acumulando energia sob a forma de amido ou açúcares solúveis, preparando-se para uma mobilização rápida no momento da liberação da dormência.

Paralelamente, a maior expressão de catalase e superóxido dismutase (SOD) reflete o fortalecimento do sistema de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (ROS), um traço característico das transições de dormência, nas quais os ROS atuam tanto como agentes de estresse quanto como mensageiros secundários (Bailly, 2004). A atuação coordenada dessas enzimas sugere um ambiente redox rigorosamente regulado, que protege os meristemas dormentes ao mesmo tempo que mantém o preparo celular para uma reativação rápida.

Adicionalmente, as proteínas expansina B3 e a enzima xiloglucano endotransglicosilase/hidrolase (XTH) apresentaram regulação positiva específica nas gemas de inverno. Ambas são conhecidas por promoverem o afrouxamento da parede celular, um processo essencial para a retomada do crescimento (Steele et al., 2001; Lee e Choi, 2005). Seu acúmulo, mesmo na ausência de crescimento visível, sugere que a preparação da parede celular ocorre de forma antecipada durante a dormência, facilitando a quebra rápida da dormência quando as condições se tornam favoráveis. Esses achados são coerentes com evidências transcriptômicas prévias, que indicam ativação precoce de enzimas modificadoras da parede celular antes mesmo da emergência do broto (Shangguan et al., 2020).

Curiosamente, a pectato liase (D7SHE0_VITVI) usualmente associada à degradação da pectina em frutos foi expressa exclusivamente nas gemas de verão. Embora seu papel em gemas ainda não esteja claro, é possível que essa enzima esteja envolvida em remodelagens estruturais da parede celular voltadas à tolerância a estresses abióticos, como calor e radiação intensa. Até onde se sabe, este é o primeiro relato da participação da pectato liase na fisiologia de gemas de videira, o que abre novas perspectivas para a pesquisa em biologia de parede celular no contexto da dormência.

Um ponto central identificado na rede de interação STRING foi a proteína HSP70-2, uma chaperona da família das proteínas de choque térmico com provável localização no estroma dos cloroplastos. As HSP70s são amplamente reconhecidas por sua função essencial no dobramento, translocação e estabilização de proteínas, especialmente em condições de estresse abiótico (Balchin et al., 2016; ul Haq et al., 2019). Nossa análise indica que a HSP70-2 atua como elo entre enzimas metabólicas, como a frutose-bisfosfato aldolase (FBA), e enzimas envolvidas na desintoxicação de espécies reativas de oxigênio, como a catalase, sugerindo sua função como chaperona central na manutenção metabólica e na recuperação celular sob estresse.

Adicionalmente, a associação da HSP70-2 com vias do spliceossomo (conforme mapeamento por KEGG) aponta para um possível papel dessa proteína na maturação de mRNAs cloroplastidiais ou na biossíntese de precursores de clorofila. Esses dados sustentam uma hipótese inovadora: a HSP70-2 pode estar envolvida na maturação de cloroplastos durante a superação da dormência, promovendo o rápido esverdeamento dos brotos e a ativação da fotossíntese após o brotamento das gemas em videiras.

Esse possível novo papel da HSP70-2 amplia nossa compreensão sobre os mecanismos moleculares que preparam os tecidos dormentes para uma retomada eficiente do crescimento, e reforça a importância das chaperonas no controle fino da transição entre dormência e atividade vegetativa. Integrando os achados fisiológicos e proteômicos deste estudo, foi proposto um modelo de dormência dominado por fotoperíodo para videiras cultivadas em climas quentes:

- Fotoperíodo longo (verão): As gemas permanecem metabolicamente ativas, com expressão aumentada de proteínas de resposta ao estresse e fotoproteção, como UVR8 e HSPs. A dormência é superficial, representando um estado de quiescência, e a indução de brotação por cianamida hidrogenada (CH) é rápida e completa atenuando a necessidade da aplicação extensiva da cianamida hidrogenada nos vinhedos;
- Fotoperíodo curto (inverno): As gemas exibem supressão metabólica, acúmulo de carboidratos de reserva, ativação de sistemas de desintoxicação de ROS e remodelamento estrutural da parede celular. A dormência é mais profunda, consistente com endodormência, e a brotação requer estímulos mais intensos, como o tratamento com CH.

Esse modelo reconhece a ausência de exposição ao frio como fator de indução de dormência, mas confirma a existência de estados dormentes funcionalmente relevantes, regulados principalmente pela duração do dia. Ele também está alinhado com evidências emergentes de sensibilidade ao fotoperíodo na regulação da dormência em outras espécies perenes, como macieira, cerejeira e álamo (Götz et al., 2018). Portanto, este modelo fornece uma estrutura conceitual útil para entender a plasticidade da dormência em regiões tropicais e subtropicais e pode orientar estratégias de manejo e melhoramento para a viticultura em cenários de aquecimento climático.

Nossos achados propõem uma estrutura conceitual revisada da dormência em videiras, que é independente do frio e responsiva ao fotoperíodo. A identificação de proteínas específicas por estação, como UVR8, HSP70-2, FBA e expansina B3, oferece um conjunto de ferramentas moleculares para caracterizar a dormência em regiões não temperadas. Pesquisas futuras devem validar a função dessas proteínas por meio de nocaute com CRISPR ou linhas de superexpressão em videira ou *Arabidopsis*; integrar dados proteômicos com informações hormonais, transcriptômicas e epigenéticas em múltiplas cultivares; e desenvolver marcadores diagnósticos para o status de dormência, a fim de orientar o momento da aplicação de produtos químicos na viticultura. Compreender como o fotoperíodo e não o frio

reprograma a dormência pode, em última análise, oferecer soluções resilientes ao clima para o manejo de culturas perenes no século XXI.

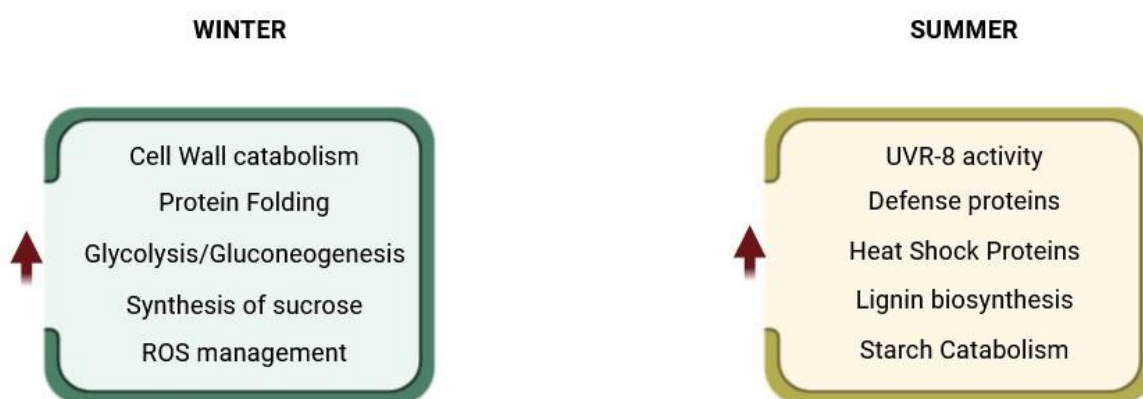


Figura 9: Arquétipo resumindo os achados da análise proteômica global, indicando diferenças entre gemas de verão e inverno, as setas representam o enriquecimento de processos celulares durante a sazonalidade de cada tratamento. “winter” representa o tratamento de inverno e “summer” representa o tratamento de verão

A resistência ao frio das gemas de videira é amplamente estudada em condições de frio, uma vez que ela permite a gema que progride da dormência endógena para o crescimento ao fim do inverno. As gemas analisadas não foram expostas a temperaturas que justifiquem a aclimação usual à literatura com tempo de exposição ao frio severo ($<10^{\circ}\text{C}$), podendo então ser controlado pelo genótipo da variedade e levantada a hipótese de que seja modulada pela alteração do fotoperíodo no período anual.

A aclimação se dá pela alteração gradual nas médias das temperaturas subletais das gemas de videira ao longo do ano, e que exibe seu máximo potencial durante o inverno, representado pelos meses de junho e julho, onde as temperaturas subletais chegam a -20°C . Os dados de brotação coletados por trabalhos anteriores do grupo convergem com os dados de resistência ao frio obtidos, exibindo uma

relação inversa. A redução da temperatura subletal é usualmente acompanhada por um atraso da brotação em dias, ao ponto que uma vez que o intervalo de tempo para brotação diminui, as gemas atingem as temperaturas subletais em maiores temperaturas (Pessanha, 2017).

Com estes dados foi criada uma base para assumir a importância dos dados de genômica, metabolômica e proteômica que apontam a presença desses marcadores moleculares de resistência ao frio, como enzimas do metabolismo de açúcares, como a sacarose sintase que foi encontrada enriquecida em nossos dados proteômicos durante o período de inverno. Sintetizamos o entendimento que o processo de aquisição de resistência ao frio ocorre em paralelo às necessidades térmicas da cultivar, não como uma resposta induzida e sim uma consequência do processo de dormência endógena das gemas de videira.

CONCLUSÕES

Este estudo fornece a primeira evidência, em escala proteômica, de que fotoperíodos curtos, por si só, podem desencadear uma programação metabólica relacionada à dormência em gemas de videira cultivadas em regiões tropicais, mesmo na ausência de frio em condições de campo. Nossa análise revelou que as gemas de inverno apresentam características típicas da endodormência, incluindo conservação de energia, desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e expressão de proteínas de estresse, enquanto as gemas de verão refletem um estado quiescente metabolicamente ativo, caracterizado pelo metabolismo secundário e pela presença de proteínas de resposta aos raios UV. A identificação de HSP70-2, UVR8 e proteínas sazonais não caracterizadas oferece novos marcadores candidatos para o status de dormência em videiras sob condições não temperadas. Esses achados ampliam a compreensão da dormência fotoperiódica e têm implicações significativas para o manejo vitícola adaptado às mudanças climáticas.

Com base nos resultados encontrados foi concluído que o perfil proteômico, juntamente aos dados de resistência ao frio, mostram uma diferença expressiva entre as gemas de verão e inverno, nos seus aspectos metabólicos e biofísicos. As gemas de verão apresentam uma baixa resistência ao frio, e um metabolismo focado em metabolismo secundário. As gemas de inverno, por sua vez, apresentam uma resistência ao frio mais elevada e um perfil metabólico com processos primários, como obtenção energética e maturação de clorofila.

REFERÊNCIAS

- Alvarenga, A., Abrahão, E., Regina, A., Antunes, C., Pereira, 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
- Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14(2), 93–107. DOI doi.org/10.1079/SSR2004159
- Balchin, D., Hayer-Hartl, M., Hartl, F. U. (2016). In vivo aspects of protein folding and quality control. *Science*, 353(6294), aac4354. DOI doi.org/10.1126/science.aac4354
- Camargo, U. A. (1994) *Uvas do Brasil*. Brasília, DF: Embrapa-CNPUV, 90p
- Chen, L., Chen, K., Jiang, J., Wang, D., Zhang, K., Fang, Y. (2025). Multi-omics analysis of the regulatory network in winter buds of ‘Cabernet Sauvignon’ grapevine from dormancy to bud break. *Plant Biotechnology Journal*, pbi.70014. DOI doi.org/10.1111/pbi.70014
- Considine, J., Considine, A. (2016). On the language and physiology of dormancy and quiescence in plants. *Journal of Experimental Botany*, 67(11), 3189–3203. DOI doi.org/10.1093/jxb/erw138
- Coombe, G. (1995). Growth stages of the grapevine: adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1(2), 104–110. DOI doi.org/10.1111/j.1755-0238.1995.tb00086.x
- Currle, O., Bauer, O., Hofäcker, W., Schumann, F., Frisch, W. (1983) *Biologie der rebe*. Neustadt an der Weinstrasse, Alemanha: D. Meininger Verlag, 304p
- Dantas, D., Bressan-Smith, R., Noriega, X., Pérez, J. (2020). Buds of “Italia melhorada” grapevines grown under tropical conditions develop a quiescent state. *Environmental and Experimental Botany*, 171, 103951. DOI doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103951

de Deus, B.C.S. (2018) Relações hídricas em gemas de videiras nos estádios iniciais de crescimento. Tese de doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, Campos dos Goytacazes - RJ, 66p

del Barrio, R., Orioli, A., Brendel, S., Lindström, I., Pellegrini, N., Campoy, A. (2022). Persian walnut (*Juglans regia* L.) bud dormancy dynamics in northern patagonia, Argentina. *Frontiers in Plant Science*, 12:803878. DOI doi.org/10.3389/fpls.2021.803878

Distler, U., Kuharev, J., Navarro, P., Levin, Y., Schild, H., Tenzer, S. (2014). Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. *Nature Methods*, 11(2), 167-170. DOI doi.org/10.1038/nmeth.2767

Dong, Y., Liu, J., Huang, L., Yang, L., Khalil-Ur-Rehman, M., Zheng, H., Tao, J. (2023). SHORT VEGETATIVE PHASE 3 mediates hormonal signals control of bud dormancy in grape. *Environmental and Experimental Botany*, 211, 105342. DOI doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105342

Embrapa Uva e Vinho (2018) Manual poda da videira em clima temperado. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 24p

Eriksson, M. E. (2000) The role of phytochrome A and gibberellins in growth under long and short-day conditions: studies in hybrid aspen. Umeå: Swedish University of Agricultural Sciences, 55p

Fadón, E., Herrero, M., Rodrigo, J. (2018). Dormant flower buds actively accumulate starch over winter in sweet cherry. *Frontiers in Plant Science*, 9, 171. DOI doi.org/10.3389/fpls.2018.00171

Fennell, A., Hoover, E. (1991). Photoperiod influences growth, bud dormancy, and cold acclimation in *Vitis labruscana* and *V. riparia*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(2), 270–273. DOI doi.org/10.21273/JASHS.116.2.270

Fennell, Y., Schlauch, A., Gouthu, S., Deluc, G., Khadka, V., Sreekantan, L., Grimplet, J., Cramer, R., Mathiason, L. (2015). Short day transcriptomic programming during induction of dormancy in grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 6. DOI doi.org/10.3389/fpls.2015.00834

Fernandez, E., Cuneo, 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. DOI doi.org/10.1007/s00468-019-01855-0

Fishman, S., Erez, A., Couvillon, A. (1987). The temperature dependence of dormancy breaking in plants: computer simulation of processes studied under controlled temperatures. *Journal of Theoretical Biology*, 126(3), 309–321. DOI doi.org/10.1016/S0022-5193(87)80237-0

Galet, P. (1983). *Précis de viticulture: à l'usage des ingénieurs agronomes, des étudiants en agronomie et en enologie, des techniciens des lycées agricoles et des professionnels de la viticulture*. Montpellier: P. Déhan, 584p

George, S., Fennell, Y., Haynes, A. (2018). Shotgun proteomic analysis of photoperiod regulated dormancy induction in grapevine. *Journal of Proteomics*, 187, 13–24. DOI doi.org/10.1016/j.jprot.2018.05.014

Götz, K.-P., Naher, J., Fettke, J., Chmielewski, F.-M. (2018). Changes of proteins during dormancy and bud development of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, 239, 41–49. DOI doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.016

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. DOI doi.org/10.5344/ajev.2013.13060

Grassi, F., Arroyo-Garcia, R. (2020). Editorial: origins and domestication of the grape. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1176. DOI doi.org/10.3389/fpls.2020.01176

Han, X., Li, H., Yao, H., Yao, F., Wang, L., Wang, H., Li, H. (2023). Transcriptomics reveals the effect of short-term freezing on the signal transduction and metabolism of grapevine. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3884. DOI doi.org/10.3390/ijms24043884

Hidalgo, L. (1993). *Tratado de viticultura general*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 983p

Hidalgo, L. (2002). *Tratado de viticultura general*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1235p

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. DOI doi.org/10.1016/j.tplants.2003.09.013

Huglin, P. (1978). Nouveau mode d'évaluation des possibilités héliothermiques d'un milieu viticole. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 64, 1117–1126

Iland, P., Dry, P., Proffitt, T., Tyerman, S., Collins, C., Pagay, V., Steel, C. (2024). *The grapevine: from the science to the practice of growing vines for wine*. 2. ed. Campbelltown, South Australia: Patrick Iland Wine Promotions Pty Ltd., 428p

Jackson, S. (2008). *Wine science: principles and applications*. 3. ed. San Diego: Academic Press, 776p

Jenkins, I. (2014). The uv-b photoreceptor uvr8: from structure to physiology. *The Plant Cell*, 26(1), 21–37. DOI doi.org/10.1105/tpc.113.119446

Jogaiah, S., Maske, R., Upadhyay, A. (2014). Rootstock induced changes in enzymes activity and biochemical constituents during budbreak in 'Thompson Seedless' grapevine. *Vitis: Journal of Grapevine Research*, 53(2), 57-64. DOI doi.org/10.5073/vitis.2014.53.57-64

Kawamura, Y., Uemura, M. (2003). Mass spectrometric approach for identifying putative plasma membrane proteins of Arabidopsis leaves associated with cold acclimation. *The Plant Journal*, 36(2), 141–154. DOI doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01864.x

Keller, M. (2015). *The science of grapevines: Anatomy and Physiology*. 2. ed. (Hardcover) Cambridge, MA, USA: Academic Press, 522p DOI doi.org/10.1016/B978-0-12-816365-8.00001-4

Kovaleski, P., Reisch, I., Londo, P. (2018). Deacclimation kinetics as a quantitative phenotype for delineating the dormancy transition and thermal efficiency for

budbreak in vitis species. AoB PLANTS. 10(5), october 2018, ply066, DOI doi.org/10.1093/aobpla/ply066

Kuhn, M., Maia, L. (2001). De duas safras de uva por ciclo vegetativo pelo manejo da poda. Revista Brasileira de Fruticultura, 23(2), 491–493. DOI: 10.1590/S0100-29452001000200042

Lang, A. (1987). Dormancy: a new universal terminology. HortScience, 22(5), 817–820. DOI doi.org/10.21273/HORTSCI.22.5.817

Leão, P. C. de S.; Maia, J. D. G. (1998). Aspectos culturais em viticultura tropical: uvas de mesa. Informe Agropecuário, 19(194), 34–39

Lee, Y., Choi, D. (2005). Biochemical properties and localization of the β -expansin OsEXPB3 in rice (*Oryza sativa* L.). Molecules and Cells, 20(1), 119–126. DOI doi.org/10.1016/S1016-8478(23)13207-9

Lemos I.B. (2018) Balanço 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 de doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, Campos dos Goytacazes - RJ, 74p

Liu, W., Giuriani, G., Havlikova, A., Li, D., Lamont, J., Neugart, S., Velanis, N., Petersen, J., Hoecker, U., Christie, M., Jenkins, I. (2024). Phosphorylation of Arabidopsis UVR8 photoreceptor modulates protein interactions and responses to UV-B radiation. Nature Communications, 15(1), 1221. DOI doi.org/10.1038/s41467-024-45575-7

Liu, X., Zhang, H., Zhao, Y., Feng, Z., Li, Q., Yang, Q., Luan, S., Li, J., He, H. (2013). Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3 activation in Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 110(38), 15485–15490. DOI doi.org/10.1073/pnas.1304651110

Luedeling, E., Girvetz, H., Semenov, A., Brown, H. (2011). Climate change affects winter chill for temperate fruit and nut trees. PLoS ONE, 6(5), e20155. DOI doi.org/10.1371/journal.pone.0020155

Lv, G.-Y., Guo, X.-G., Xie, L.-P., Xie, C.-G., Zhang, X.-H., Yang, Y., Xiao, L., Tang, Y.-Y., Pan, X.-L., Guo, A.-G., Xu, H. (2017). Molecular characterization, gene evolution, and expression analysis of the fructose-1, 6-bisphosphate aldolase (fba) gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 8, 1030. DOI doi.org/10.3389/fpls.2017.01030

Maia, J. D. G. (2002) Manejo da videira Niágara Rosada em regiões tropicais. *Anais do 1º Simpósio Mineiro de Viticultura e Enologia*, Andradas, MG. 1:135–144

Manica, I., Pommer, C.V. (2006) Uva: do plantio a produção, pós-colheita e mercado. Porto Alegre, RS, Brasil: Cinco Continentes, 185p

May, P. (2000). From bud to berry, with special reference to inflorescence and bunch morphology in *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(2), 82–98. DOI doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00166.x

Mills, J., Ferguson, C., Keller, M. (2006). Cold-hardiness evaluation of grapevine buds and cane tissues. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(2), 194–200. DOI doi.org/10.5344/ajev.2006.57.2.194

Monteiro, I., Aires, A., Malheiro, C., Bacelar, A. (2022). Biochemical changes in vitis vinifera buds between dormancy and forced bursting: a case study of three portuguese white varieties. *Agronomy*, 12(2), 382. DOI doi.org/10.3390/agronomy12020382

Mullins, M.G., Bouquet, A., Williams, L.E. (1992) *Biology of the grapevine*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 239p

Nanjo, Y., Skultety, L., Uváčková, L., Klubicová, K., Hajduch, M., Komatsu, S. (2012). Mass spectrometry-based analysis of proteomic changes in the root tips of flooded soybean seedlings. *Journal of Proteome Research*, 11(1), 372–385. DOI doi.org/10.1021/pr200701y

Oberschelp, J., Guarnaschelli, B., Teson, N., Harrand, L., Podestá, E., Margarit, E. (2020). Cold acclimation and freezing tolerance in three *Eucalyptus* species: A metabolomic and proteomic approach. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154, 316–327. DOI doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.05.026

Parada, F., Noriega, X., Dantas, D., Bressan-Smith, R., Pérez, 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. DOI doi.org/10.1016/j.jplph.2016.07.007

Passamani, L., Bertolazi, A. A., Ramos, A. C., Santa-Catarina, C., Thelen, J. J., Silveira, V. (2018). Embryogenic competence acquisition in sugarcane callus is associated with differential H⁺-pump abundance and activity. *Journal of Proteome Research*, 17(8), 2767–2779. DOI: [10.1021/acs.jproteome.8b00213](https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00213)

Pereira, E., Rizzon, A., Manfro, V. (2022). A história do vinho no Brasil. In: Scarton, M. (Coord.). *Confraria do Vinho de Bento Gonçalves: 25 anos de história*. Bento Gonçalves, RS: Confraria do Vinho de Bento Gonçalves, 135–144

Pérez, J., Lira, W. (2005). Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. *Journal of Plant Physiology*, 162(3), 301–308. DOI doi.org/10.1016/j.jplph.2004.07.011

Pessanha, S, L. (2017) Transporte de seiva no xilema após a quebra de gemas em *Vitis vinifera* L. em clima tropical. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, Campos dos Goytacazes - RJ, 49p

Pittendrigh, S., Minis, H. (1964). The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. *The American Naturalist*, 98(902), 261–294. DOI doi.org/10.1086/282327

Podolec, R., Lau, K., Wagnon, B., Hothorn, M., Ulm, R. (2021). A constitutively monomeric UVR8 photoreceptor confers enhanced UV-B photomorphogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(6), e2017284118. DOI doi.org/10.1073/pnas.2017284118

Pommer, C. V. (2003) *Uva: Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 778p

Porat, R., Pasentsis, K., Rozentzvieg, D., Gerasopoulos, D., Falara, V., Samach, A., Lurie, S., Kanellis, K. (2004). Isolation of a dehydrin cDNA from orange and grapefruit citrus fruit that is specifically induced by the combination of heat followed by chilling

temperatures. *Physiologia Plantarum*, 120(2), 256–264. DOI doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.0242.x

Pratt, C. (1971). *Grapevine structure and function*. Berkeley: University of California Press, 120p

Puhakainen, T., Hess, W., Mäkelä, P., Svensson, J., Heino, P., Palva, T. (2004). Overexpression of multiple dehydrin genes enhances tolerance to freezing stress in *arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 54(5), 743–753. DOI doi.org/10.1023/B:PLAN.0000040903.66496.a4

Reynier, A. (2003). *Manuel de viticulture: guide technique du viticulteur*. 9. ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier, 548p

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2006). *Handbook of enology, volume 1: the microbiology of wine and vinifications*. 2. ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 512p

Rinne, H., Paul, 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- β -glucanase genes during branching in hybrid aspen. *Journal of Experimental Botany*, 67(21), 5975–5991. DOI doi.org/10.1093/jxb/erw352

Rinne, H., Welling, A., Vahala, J., Ripel, L., Ruonala, R., Kangasjärvi, J., Van Der Schoot, C. (2011). Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUS T and recruits GA-inducible 1,3- β -glucanases to reopen signal conduits and release dormancy in *populus*. *The Plant Cell*, 23(1), 130–146. DOI doi.org/10.1105/tpc.110.081307

Ríos, G., Leida, C., Conejero, A., Badenes, L. (2014). Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. *Frontiers in Plant Science*, 5, 247. DOI doi.org/10.3389/fpls.2014.00247

Rohde, A., Bhalerao, P. (2007). Plant dormancy in the perennial context. *Trends in Plant Science*, 12(5), 217–223. DOI doi.org/10.1016/j.tplants.2007.03.012

Shangguan, L., Chen, M., Fang, X., Xie, Z., Gong, P., Huang, Y., Wang, Z., Fang, J. (2020). Comparative transcriptome analysis provides insight into regulation pathways and temporal and spatial expression characteristics of grapevine (*Vitis vinifera*) dormant buds in different nodes. *BMC Plant Biology*, 20(1), 390. DOI doi.org/10.1186/s12870-020-02583-1

Singh, K., Miskolczi, P., Maurya, P., Bhalerao, P. (2019). A tree ortholog of SHORT VEGETATIVE PHASE floral repressor mediates photoperiodic control of bud dormancy. *current biology*, 29(1), 128-133.e2. DOI doi.org/10.1016/j.cub.2018.11.006

Sousa, J. S. I. (1996). A importância das variedades Niágara Rosada e Niágara Branca no Brasil. In: *Uvas para o Brasil*. São Paulo: Melhoramentos, 1:102–118

Steele, M., Sulová, Z., Campbell, P., Braam, J., Farkaš, V., Fry, C. (2001). Ten isoenzymes of xyloglucan endotransglycosylase from plant cell walls select and cleave the donor substrate stochastically. *Biochemical Journal*, 355(3), 671–679. DOI doi.org/10.1042/bj3550671

Terra, M. (1993). A viticultura no estado de São Paulo. *Viticultura e Enologia Profissional*, 26, 17–22

This, P., Lacombe, T., Thomas, M.R. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics*, 22, 511–519. DOI 10.1016/j.tig.2006.07.008

Tonietto, J., Carbonneau, A. (2004). A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology*, 124(1–2), 81–97. DOI doi.org/10.1016/j.agrformet.2003.06.001

Ul Haq, S., Khan, A., Ali, M., Khattak, M., Gai, X., Zhang, X., Wei, M., Gong, Z. (2019). Heat shock proteins: dynamic biomolecules to counter plant biotic and abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21), Artigo 21. DOI doi.org/10.3390/ijms20215321

Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A. (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9(5), 244–252. DOI doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006

Wiśniewski, R., Zougman, A., Nagaraj, N., Mann, M. (2009). Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nature Methods*, 6(5), 359–362. DOI doi.org/10.1038/nmeth.1322

Zheng, Y., Jiao, C., Sun, H., Rosli, G., Pombo, A., Zhang, P., Banf, M., Dai, X., Martin, B., Giovannoni, J., Zhao, X., Rhee, Y., Fei, Z. (2016). iTAK: A program for genome-wide prediction and classification of plant transcription factors, transcriptional regulators, and protein kinases. *Molecular Plant*, 9(12), 1667–1670. DOI doi.org/10.1016/j.molp.2016.09.014