

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**INFLUÊNCIA DO FRIO E DO DÉFICE HÍDRICO NAS
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM VIDEIRAS
(*Vitis vinifera* L.) cv. THOMPSON SEEDLESS**

REGINALDO CONCEIÇÃO CERQUEIRA

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP –
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutor em Agronomia
(Horticultura)

BOTUCATU – SP

Fevereiro de 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**INFLUÊNCIA DO FRIO E DO DÉFICE HÍDRICO NAS
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM VIDEIRAS
(*Vitis vinifera* L.) cv. THOMPSON SEEDLESS**

REGINALDO CONCEIÇÃO CERQUEIRA

Orientador: Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP –
Câmpus de Botucatu, para obtenção do
título de Doutor em Agronomia
(Horticultura)

BOTUCATU – SP

Fevereiro de 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO -
SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA
- LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Cerqueira, Reginaldo Conceição, 1968-
C416i Influência do frio e do déficit hídrico nas características fisiológicas e
 bioquímicas em videiras (*Vitis vinífera* L.) cv. Thompson seedless /
 Reginaldo Conceição Cerqueira. - Botucatu : [s.n.], 2011
 xii, 122 f. : tabs., gráfs. color., fots. color.

 Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
 Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2011
 Orientador: João Domingos Rodrigues
 Inclui bibliografia

 1. Ecofisiologia. 2. Enzimas antioxidantes. 3. Fisiologia do
 estresse em planta. 4. Fluorescência da clorofila. 5. Trocas gasosas. I.
 Rodrigues, João Domingos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de
 Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III.
 Titulo.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "INFLUÊNCIA DO FRIO E DO DÉFICE HÍDRICO NAS CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM VIDEIRAS (Vitis vinifera L.) cv. THOMPSON SEEDLESS".

ALUNO: REGINALDO CONCEIÇÃO CERQUEIRA

ORIENTADORA: PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Aprovado pela Comissão Examinadora



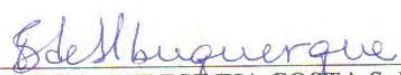
PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES



PROFA. DRA. ELIZABETH ORIKA ONO



PROF. DR. FERNANDO BROETTO



PROFA. DRA. TERESINHA COSTA S. DE ALBUQUERQUE



PROFA. DRA. BARBARA FRANCA DANTAS

Data da Realização: 22 de fevereiro 2011.

Está:
Na dinâmica do Universo
Na fotossíntese
Na polinização das flores
Na totipotência
Na migração dos pássaros
Na piracema
Nos animais
Na existência
Em mim
Em você
Está na consciência de cada um...
e como o arremeterá.
Para os mais céticos
A NATUREZA!

DEDICO.

À minha família e em especial ao Filhão (Luís Gustavo).

MEUS AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. João Domingos Rodrigues (Mingo), pelo apoio, confiança e a amizade que cultivamos neste período.

Aos meus amigos colaboradores que colocaram a “mão na massa” e muito contribuíram para este trabalho. Foram eles: Nelson, Luiza, Luchele, Murilo, Rosão, Amanda e Ana.

À Profa. Dra. Elizabeth Ono (Beth) que, sempre com muita presteza, colaborou em todos os momentos.

Aos professores: Broetto, Dutti, Klar e Erasmo, assim como as professoras: Dra. Romy, Phina e Sarita pela imensa colaboração.

Aos colegas e amigos Caio, Manoel, Edvar, Camila, Angela, Marcão, Ítalo e Libério pelo convívio e amizade.

Aos funcionários do Pomar, meus amigos: Amauri, Lima e Osmar. Ao pessoal do Laboratório de Isótopos Estáveis (Sibeli, Evandro e Silva). Aos meninos do NUPAM e da Manutenção. Antônio, antes na Ciência Ambiental, agora no Departamento de Solos, que, independente de qual setor se encontrava, contribui imensamente.

Aos meus senhorios Sr. Egídio e D. Neuza que me deram todo apoio desde o primeiro dia que cheguei a Botucatu.

À FCA-UNESP através de seu quadro de pessoal e sua infraestrutura que possibilitaram o desenvolvimento de minha inspiração científica.

À FAPESP pelo financiamento deste projeto e a CAPES pela concessão da bolsa sanduíche, o que permitiu ampliar nossos conhecimentos.

Ao ITQB-Portugal e Profa. Manuela Chaves, Miguel, Ana Regalado, Ala, Marta e Olfa.

À UNEB por TUDO.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE TABELAS.....	XII
RESUMO.....	13
SUMMARY.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO DA VIDEIRA.....	20
2.2 ASPECTOS ECONÔMICOS DA VITICULTURA.....	21
2.3 CARACTERÍSTICAS DA CULTIVAR THOMPSON SEEDLESS.....	22
2.4 EXIGÊNCIAS CLIMÁTICAS.....	23
2.5 ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS DA VIDEIRA.....	26
2.5.1 Fotossíntese.....	26
2.5.2 Potencial hídrico e trocas gasosas.....	28
2.5.3 Fluorescência da clorofila a.....	29
2.6 SISTEMA ENZIMÁTICO ANTIOXIDATIVO.....	32
2.7 FERTILIDADE E DORMÊNCIA DAS GEMAS.....	33
2.8 EFEITO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA.....	35
2.9 EFEITO DO FRIO.....	36
2.10 ASPECTOS BIOQUÍMICOS.....	38
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1 LOCALIZAÇÃO E CLIMA.....	39
3.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS DO SUBSTRATO.....	40
3.3 CORREÇÃO E ADUBAÇÃO DO SOLO.....	41
3.4 MATERIAL VEGETAL E CONDUÇÃO DAS PLANTAS.....	41
3.5 TRATOS CULTURAIS.....	42
3.6 TRATAMENTOS.....	43
3.7 MONITORAMENTO DA UMIDADE DO SUBSTRATO NOS VASOS.....	43
3.8 CASA DE VEGETAÇÃO, CÂMARA CLIMATIZADA E MONITORAMENTO DOS AMBIENTES.....	46
3.9 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	53
3.10 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS AVALIADAS.....	54
3.10.1 Medidas de trocas gasosas.....	54
3.10.2 Fluorescência da clorofila a.....	55
3.10.3 Potencial hídrico da folha.....	56
3.11 CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS AVALIADAS.....	56
3.11.1 Coleta, processamento e armazenamento do material vegetal.....	56
3.11.2 Determinação da concentração de ácido abscísico (ABA).....	56
3.11.3 Determinação do teor de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂).....	57
3.11.4 Obtenção do extrato bruto dos tecidos vegetais.....	58
3.11.5 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1).....	58
3.11.6 Atividade da enzima Catalase (CAT; EC 1.11.1.6).....	59
3.11.7 Atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11).....	59
3.11.8 Teor de proteínas solúveis totais.....	60
3.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	60
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62

4.1 POTENCIAL HÍDRICO	64
4.2 TROCAS GASOSAS	65
4.3 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA.....	71
4.4 AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS.....	72
4.4.1 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD: EC 1.15.1.1).....	74
4.4.2 Atividade da Catalase (CAT: EC 1.11.1.6).....	75
4.4.3 Atividade da Ascorbato Peroxidase (APX: EC 1.11.1.11).....	77
4.4.4 Proteínas solúveis totais	79
4.4.5 Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	80
4.4.6 Conteúdo de ácido abscísico (ABA).....	83
4.5 PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO DE GEMAS	86
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91
6 CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS	94
APÊNDICES	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$^1\text{O}_2$ – oxigênio singlete

A - taxa de assimilação líquida de CO_2

A/Ci - eficiência momentânea da Rubisco

A/ g_s - eficiência intrínseca do uso da água

ABA - ácido abscísico

Am – antemanhã

APX – ascorbato peroxidase

CAT – catalase

Ci - concentração intracelular de CO_2

CO_2 – dióxido de carbono

CV – coeficiente de variação

cv – cultivar

DAT – dias após o tratamento

DFFFA - densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos

E - transpiração

EROs – Espécies reativas de oxigênio

F_v/F_m - eficiência quântica máxima potencial

GR – glutathione reductase

g_s - condutância estomática

IRGA - Infra-red Gas Analyzer

OH \cdot - radical hidroxila

H_2O_2 – peróxido de hidrogênio

Md – meio dia

NADPH – nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzido

O_2 – oxigênio molecular

$\text{O}_2^{\cdot-}$ radical superóxido

Prot - proteína

PSII - fotossistema II

PVPP - polivinil polipirrolidona

Rubisco - ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase

RuBP - ribulose 1,5-bisfosfato

SOD – superóxido dismutase

TRAT – tratamento

TRIS - tris (hidroximetil) aminometano

UI – unidade internacional

Ψ_f - potencial hídrico da folha

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Vista das plantas conduzidas em casa de vegetação. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 42
- Figura 2. Médias dos valores de tensão do solo para o controle e os tratamentos com frio e sob deficiência hídrica, ao longo do período de avaliação. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 44
- Figura 3. Curva de retenção de água no solo obtida através de amostras deformadas utilizando a placa de Richards. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 46
- Figura 4. Vista interna da casa de vegetação utilizada no experimento. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 47
- Figura 5. Haste equipada com instrumentos meteorológicos instalada dentro da casa de vegetação. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 20089. 48
- Figura 6. Valores de temperatura máxima, média e mínima dentro da casa de vegetação no período compreendido entre a poda e a floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 49
- Figura 7. Valores da umidade relativa máxima, média e mínima dentro da casa de vegetação no período da poda à floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 49
- Figura 8. Radiação solar global (R_g) e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) medidas dentro da casa de vegetação no período da poda à floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 50
- Figura 9. Défice de pressão de vapor (DPV) dentro da casa de vegetação no período da poda à floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 50
- Figura 10. Vista do acesso à câmara climatizada, com o painel de controle na parte externa e forma de distribuição das plantas na parte interna. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 51
- Figura 11. Vista da parte superior das plantas dentro da câmara climatizada. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 51
- Figura 12. Valores de temperatura máxima, média e mínima dentro da câmara climatizada durante máximo período que as plantas foram submetidas ao frio. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 52
- Figura 13. Valores de umidade relativa máxima, média e mínima dentro da câmara climatizada durante máximo período que as plantas foram submetidas ao frio. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 52
- Figura 14. Défice de pressão de vapor (DPV) dentro da câmara climatizada utilizada para o estabelecimento do tratamento por frio às plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 53

- Figura 15. Analisador portátil infravermelho de CO₂ (IRGA), modelo LI-6400 da Li-Cor, utilizado na avaliação de trocas gasosas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 54
- Figura 16. Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) em função da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), em plantas do controle (25-30°C/60-70%U.R), com três repetições. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009. 55
- Figura 17. Potencial hídrico na folha antemanhã – Ψ_{am} (a) e ao meio-dia – Ψ_{Md} (b) em videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento do tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=6). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 65
- Figura 18. Respostas de taxa de condutância estomática - g_s (a); transpiração – E (b); assimilação líquida de CO₂ – A (c); concentração intracelular de CO₂ – C_i (d); eficiência intrínseca do uso de água - A/g_s (e) e eficiência momentânea da Rubisco - A/C_i (f) em videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento do tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=9). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 67
- Figura 19. Respostas da eficiência quântica máxima potencial - F_v/F_m em videiras ‘Thompson Seedless’ após 90 dias sob os tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=9). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 72
- Figura 20. Atividade da enzima superóxido dismutase - SOD em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 75
- Figura 21. Atividade da enzima catalase - CAT em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 76
- Figura 22. Atividade da enzima ascorbato peroxidase - APX em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 78
- Figura 23. Teor de proteínas solúveis em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 79
- Figura 24. Conteúdo de peróxido de hidrogênio – H₂O₂ em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 81
- Figura 25. Conteúdo de ácido abscísico – ABA em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas

dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3).
FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 84

Figura 26. Porcentagem de brotação de gemas de videiras 'Thompson Seedless' avaliadas em condições de controle, deficiência hídrica e frio aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o tratamento (DAT). As barras indicam erro-padrão das médias (n=3).
FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009. 87

Figura 27. Relação do número de horas com temperaturas abaixo de 10°C em videiras 'Thompson Seedless' submetidas ao tratamento por frio aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o tratamento (DAT). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009..... 87

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Características químicas do solo utilizado no experimento. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2008..... 40
- Tabela 2. Características físicas do solo utilizado no experimento. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2008..... 40
- Tabela 3. Modelo da ANOVA cujos dados foram analisados..... 61
- Tabela 4. Valores de quadrado médio das características de trocas gasosas: A – taxa de assimilação líquida de CO₂; g_s – condutância estomática; Ci – concentração intracelular de CO₂; E – transpiração; A/g_s – eficiência intrínseca do uso de água; A/Ci – eficiência momentânea da Rubisco; além do Ψ - potencial hídrico da folha (Am - Antemanhã) e (Md – Meio-dia), para diferentes tempos de permanência das plantas sob os tratamentos. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009. 63
- Tabela 5. Valores de quadrado médio das características bioquímicas em folhas de videira cv. Thompsom Seedless: SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase, APX – ascorbato peroxidase, PROT – proteína, H₂O₂ - peróxido de hidrogênio e ABA – ácido abscísico, para diferentes tempos de permanência das plantas sob os tratamentos. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009..... 73
- Tabela 6. Valores de quadrado médio das características bioquímicas em gemas de videira cv. Thompsom Seedless: SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase, APX – ascorbato peroxidase, PROT – proteína, H₂O₂ - peróxido de hidrogênio e ABA – ácido abscísico, para diferentes tempos de permanência das plantas sob os tratamentos. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009..... 74

INFLUÊNCIA DO FRIO E DO DÉFICE HÍDRICO NAS CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM VIDEIRAS (*Vitis vinifera* L.) cv. THOMPSON SEEDLESS. Botucatu, 2011, 122p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autor: REGINALDO CONCEIÇÃO CERQUEIRA

Orientador: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

RESUMO

A videira por ser originária de regiões de inverno rigoroso, apresenta mecanismo de dormência que conferem condições de sobrevivência durante o período frio. Contudo, esta mesma espécie também é cultivada em condições tropicais, cuja ausência de estação com baixas temperaturas favorece seu contínuo desenvolvimento vegetativo, fazendo-se necessário estabelecer um repouso, que normalmente é promovido com a redução do fornecimento de água, através do controle da irrigação. No entanto, este processo, apesar de ter o mesmo objetivo da dormência estabelecida pelo frio, apresenta mecanismos fisiológicos e bioquímicos diferentes. Este trabalho teve o objetivo de avaliar características fisiológicas e bioquímicas de plantas de *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless submetidas às condições de frio e deficiência hídrica, assim como sua influência na brotação de gemas. As plantas foram conduzidas em casa-de-vegetação e submetidas aos seguintes tratamentos: 1. Controle (25-30°C / 60-70% U.R. em capacidade de campo - cc); 2. Deficiência Hídrica (25-30°C / 60-70% U.R. a uma tensão de água no solo entre -80 a -100 kPa); 3. Frio (5-13°C / 60-70% U.R. em câmara climatizada e em cc), por um período de até 90 dias, sendo cada parcela de plantas avaliada e amostrada a cada 15 dias, para em seguida ser reconduzida às condições de Controle (25-30°C/60-70%U.R em cc), onde permaneceram até a brotação. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida (3 x 6); sendo a parcela representada pelos três tratamentos; enquanto a subparcela representada pelos seis tempos de permanência que as plantas foram submetidas aos tratamentos (15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o tratamento – DAT). O número de repetição variou de acordo com o tipo de

característica avaliada (destrutiva e não destrutiva) e cada unidade experimental foi constituída por uma planta. Foram avaliadas as características fisiológicas: taxa de assimilação líquida de CO_2 - A , condutância estomática - g_s , concentração interna de CO_2 - C_i , transpiração - E , eficiência intrínseca do uso de água - A/g_s , eficiência momentânea da Rubisco - A/C_i , potencial hídrico da folha - Ψ_f , e eficiência quântica máxima potencial - F_v/F_m . Um dia após a avaliação das características supracitadas, coletou-se material de folhas e gemas, que foram congeladas com nitrogênio líquido e armazenados em ultra freezer ($-80\text{ }^\circ\text{C}$) para determinação da atividade das enzimas: superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT, ascorbato peroxidase - APX, bem como o teor de proteína - PROT, peróxido de hidrogênio - H_2O_2 e de ácido abscísico - ABA. Avaliou-se também a porcentagem de brotação das gemas. O estresse promovido pelos efeitos do frio e da deficiência hídrica afetou de forma similar as características de trocas gasosas das plantas. A deficiência hídrica reduziu o Ψ_f e elevou a síntese de ABA, enquanto que a atividade da CAT e F_v/F_m foram fortemente reduzidas sob baixas temperaturas, que também promoveu maior porcentagem de brotação.

Palavras Chaves: Ecofisiologia, trocas gasosas, fluorescência da clorofila, enzimas antioxidantes, fisiologia do estresse em planta.

INFLUENCE OF COLD AND THE WATER DEFICIT IN PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS IN GRAPEVINE (*Vitis vinifera* L.) cv. THOMPSON SEEDLESS. Botucatu, 2011, 122p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: REGINALDO CONCEIÇÃO CERQUEIRA

Adviser: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

SUMMARY

The vine is from cold winter regions and because this has dormancy mechanism conferring survival conditions during the cold period. However, these species are also cultivated in tropical conditions and absence of season with low temperatures increase vegetative growth, and because this is necessary to establish a dormant which usually is promoted with reducing water supply through irrigation control. But while used in place of cold dormancy, irrigation control has different biochemical and physiological mechanisms, this way, the aim were to evaluate physiological and biochemical characteristics of *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless plants submitted to cold and drought conditions, as well as its influence on bud break. Plants were growing in a green house and treated as follows: 1. Control (25-30°C / 60-70% RH at field capacity - cc), 2. Water deficiency (25-30°C/60-70% RH at a soil water tension between -80 to -100 kPa) 3. Cold (5-13°C/60-70% RH in an growth chamber acclimatized at cc), for a period up to 90 days, and plants portion were sampled and evaluated each 15 days, to then be brought back to Control conditions (25-30°C/60-70% RH in cc), where they remained until budding. The design was completely randomized in a split plot design (3 x 6) being three main treatments and sub plots constituted by six permanence time which plants were treated (15, 30, 45, 60, 75 and 90 days after treatment - DAT). The repetition number varied according characteristic evaluated (destructive and non destructive) and each plant represented one experimental unit. The following physiological characteristics were evaluated: rate of net CO₂ assimilation - A, stomatal conductance - g_s, internal CO₂

concentration - C_i , transpiration - E , intrinsic water use efficiency - A/g_s , momentary Rubisco efficiency - A/C_i , leaf water potential - Ψ_f and maximum potential quantum efficiency - F_v/F_m . One day after above evaluation, materials from leaves and buds were collected and treated with liquid nitrogen and stored at ultra freezer (-80°C) to enzymes activity determination: superoxide dismutase - SOD, catalase - CAT, ascorbate peroxidase - APX, protein - PROT, hydrogen peroxide - H_2O_2 and abscisic acid - ABA as well as percentage of budding. The stress, caused by cold and drought effects, affected similarly characteristics of gas exchange in plants. Water stress also reduced the Ψ_f and increased level ABA. While CAT activity and F_v/F_m were strongly reduced at low temperatures, besides, water stress also promoted a higher budding rate.

Keywords: ecophysiology, gas exchange, chlorophyll fluorescence, antioxidant enzymes, plant physiology of stress.

1 INTRODUÇÃO

A uva desempenha grande importância em todo o mundo, seja pelo seu consumo ao natural ou quando processada em passas, sucos ou vinhos, que além de gerar riquezas, seus produtos quando consumido adequadamente, contribui para a saúde. Os principais países produtores de uvas são Itália, China, EUA, Espanha e França. O Brasil encontra-se em 15º lugar, com produção de 1,42 milhões de toneladas (FAO, 2010) em 82.584 hectares (IBGE, 2010). O Rio Grande do Sul é o maior produtor brasileiro de uvas (54,79%), em ordem decrescente vem São Paulo, Pernambuco, Paraná, Bahia e Santa Catarina, apresentando-se como os principais pólos de produção e comercialização de uvas de mesa no Brasil. A diversidade climática associada ao grande número de variedades tem favorecido a expansão da viticultura por todo o Brasil, abrangendo desde regiões tradicionais como sul e sudeste até o nordeste.

A videira apresenta gemas de brotação rápida e as latentes, estas últimas, encontram-se em diferentes estádios de desenvolvimento, denominadas gema primária, secundária e terciária. Estas são lentamente formadas durante o período de crescimento vegetativo, que em condições de clima temperado, entram em dormência durante

a estação fria do ano, necessitando uma quantidade mínima de horas de temperaturas abaixo de 10°C para brotar na primavera.

A dormência das gemas é um processo intrínseco das fruteiras caducifólias que lhes permite sobreviver em condições desfavoráveis de inverno. A dormência é caracterizada pelas fases de paratência, endotência e ecolência, as quais são controladas por fatores ambientais que afetam o nível dos hormônios vegetais; que por sua vez, controlam as mudanças metabólicas que podem conduzir à supressão da dormência e, conseqüentemente, à brotação. Enquanto em regiões de inverno com temperaturas elevadas, as gemas parecem não passar pela fase de endodormência; ou, no mínimo, não conseguem, por si só, desenvolver mecanismos que permitam sua liberação, o que leva à desuniformidade de brotação.

Dessa forma, observa-se que nos trópicos o desenvolvimento da videira é diferente daquele observado nas tradicionais zonas temperadas. Fazendo-se necessário o uso de práticas especiais de manejo, como podas, uso de porta-enxertos, reguladores vegetais e manejo da água, a fim de estabelecer um período de repouso vegetativo nas plantas.

Tanto a deficiência hídrica quanto o frio promovem o fechamento dos estômatos, reduzindo a difusão de CO₂ para o mesófilo foliar, o que leva a queda nas taxas fotossintéticas e, conseqüentemente, afeta o acúmulo de biomassa. Ainda pode ocorrer considerável redução na fotossíntese por efeitos não estomáticos; basta haver quantidade de energia de excitação da luz superior à usada na fotossíntese, para acumular espécies reativas de oxigênio (EROs), surgindo os estresses oxidativos. Além do acúmulo de EROs, os estresses levam à produção de compostos endógenos que também atuam na transdução de sinais químicos e hidráulicos, determinando mudanças na fisiologia da planta. No entanto, as plantas possuem vários mecanismos antioxidantes, enzimáticos e não-enzimáticos, localizados em diferentes compartimentos celulares, que atuam na interrupção dos processos de oxidação desencadeados pelas EROs. O sistema enzimático é composto pelas chamadas “enzimas antioxidantes”, que incluem a superóxido dismutase - SOD, a catalase - CAT, guaiacol peroxidase - POD, ascorbato peroxidase - APX e a glutatona redutase - GR.

A superação da dormência nas gemas é dependente de baixas temperaturas, que inibem a atividade da CAT e conseqüentemente, aumenta os níveis de peróxido de hidrogênio - H₂O₂, que inicia um processo de transdução de sinais, cujo resultado

é o fim do estado de dormência das gemas. Enquanto o déficit hídrico promove o aumento no nível de ácido abscísico - ABA dentro da planta, promovendo a latência das gemas.

A intensidade de dormência de gemas nas videiras está diretamente relacionada à atividade da CAT, que é inibida sob baixas temperaturas. Isto causa aumento dos níveis de peróxido de hidrogênio - H_2O_2 , que inicia um processo de transdução de sinais, cujo resultado é o fim do estado de dormência das gemas. Por outro lado, o déficit hídrico aumenta o nível endógeno de ácido abscísico (ABA) na planta, o que leva as gemas a entrarem em latência, assim como seu decréscimo em níveis muito baixos, promove a saída deste estado.

Durante a dormência ocorrem mudanças no metabolismo da *Vitis vinifera* que, a depender da quantidade de horas de frio exigido para cada variedade, as gemas tornam-se aptas a se desenvolverem. Contudo, variedades desta mesma espécie também são cultivadas em condições tropicais, cuja ausência de estação com baixas temperaturas favorece a dominância apical, promovendo um contínuo e vigoroso desenvolvimento vegetativo. Dessa forma, faz-se necessário estabelecer um repouso vegetativo, que normalmente é requerido com a redução do fornecimento de água, através do controle da irrigação. Apesar de se buscar, com este processo, o mesmo objetivo da dormência estabelecida pelo frio, a redução da disponibilidade de água parece apresentar mecanismos fisiológicos e bioquímicos diferentes.

Diante do exposto, faz-se necessário o estudo comparativo desses dois processos (repouso vegetativo e/ou dormência) em videira, para identificar as substâncias envolvidas e suas influências no desenvolvimento fisiológico com o intuito de conhecer melhor a forma de manejo, principalmente, de variedades mais exigentes, como é caso da Thompson Seedless; assim como, possibilitar sua produção em regiões de clima ameno.

Este trabalho teve o objetivo de avaliar características fisiológicas e bioquímicas de plantas de *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless submetidas às condições de frio e deficiência hídrica, assim como sua influência na brotação de gemas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Origem e distribuição da videira

A videira teve origem há mais de quatro mil anos, conforme indícios de pólen e sementes de uva fósseis, na parte oriental do Mar Negro na Transcaucásia, que hoje corresponde à Geórgia, Armênia e ao Azerbaijão. Depois de sobreviver às sucessivas tormentas das glaciações ao norte, algumas espécies encontraram refúgio ao sul. Assim ocorreu com a *Vitis silvestris*, reunindo as formas bravas de *Vitis vinifera*, na flora espontânea da Transcaucásia, Grécia, Itália, França, Alemanha e Espanha, ao longo do período quaternário (REYNIER, 1986).

Com as sucessivas mutações e seleção ao longo do tempo, acredita-se que a *Vitis silvestris* propiciou a origem da videira cultivada (*Vitis silvestris sativa*). Com sua propagação e contato com espécies selvagens locais da Europa e Ásia surgiram cultivares caracterizadas por cachos compactos, pequenos a médios de cor variável, formando o grupo *Vitis vinifera occidentalis*. Cultivares euro-asiáticas cultivadas às margens do Mar Negro

foram reagrupadas sob o nome de *Vitis vinifera* **pontica**. O terceiro grupo, *Vitis vinifera* **orientalis**, formado por cultivares desenvolvidas no Oriente Próximo e no Oriente Médio que compreende as variedades de mesa, dentre estas, surgem algumas sem sementes (apirenas), como é o caso da Sultanina (POMMER e MAIA, 2003).

Na antiguidade, os gregos e os romanos foram os pioneiros na distribuição desta cultura em seus respectivos territórios. Ainda na Idade Média, os romanos foram os principais responsáveis pela manutenção desta cultura, devido à tradição cristã. No século XIX, após a viticultura passar por graves problemas fitossanitários (oídio, míldio e, principalmente, a filoxera), ressurgiu graças às técnicas de produção desenvolvidas na França (REYNIER, 1986).

No início da descoberta do continente americano, os espanhóis introduziram a *Vitis vinifera* L., primeiramente, no México e nos Estados da Califórnia e Arizona, nos Estados Unidos. Em 1532, Martim Afonso de Souza a introduziu na Capitania de São Vicente, passando a ter importância comercial a partir da segunda metade do século XIX, quando imigrantes italianos alavancaram os pólos vitivinícolas de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, utilizando variedades americanas (LEÃO e POSSÍDIO, 2000). O estado de São Paulo tornou-se o maior produtor de uva de mesa do Brasil depois do surgimento da Niagara Rosada, que se deu a partir de mutação sofrida em uma planta da variedade Niagara Branca (*Vitis labrusca*) (POMMER e MAIA, 2003).

2.2 Aspectos econômicos da viticultura

A uva desempenha grande importância em todo o mundo, por tratar-se de fruta cultivada há séculos, com mercados consolidados tanto para o consumo na forma de fruta fresca como de vinho, seu cultivo encontra-se espalhado por todos os continentes, mas com nítida superioridade de produção para países como: Itália, China, Estados Unidos, Espanha e França, com produção de 7,79, 7,24, 6,64, 6,02 e 5,66 milhões de toneladas, respectivamente; enquanto o Brasil encontra-se em 15º lugar, com produção de 1,42 milhões de toneladas em 82.584 hectares (FAO, 2010).

Segundo estudo realizado por Mello (2010) houve redução de 4,08% do total de uvas produzidas no Brasil em 2009, interrompendo a tendência de crescimento dos últimos anos devido à crise econômica mundial e aos fatores climáticos desfavoráveis, sendo então, metade das uvas produzidas no país, destinada ao consumo de mesa.

O Rio Grande do Sul é o maior produtor brasileiro de uvas, com 54,79% de toda produção nacional, com aptidão predominantemente vinícola (95% da produção nacional de vinho), em ordem decrescente vem São Paulo, Pernambuco, Paraná, Bahia e Santa Catarina, apresentando-se como os principais pólos de produção e comercialização de uvas de mesa no Brasil (IBGE, 2010). O Submédio São Francisco é responsável por 80% das exportações brasileiras de uvas, visto que as uvas sem sementes vêm demonstrando tendência preferencial nos grandes mercados internacionais, em função do aumento acentuado no consumo desse tipo de uva (ARAÚJO, 2004).

2.3 Características da cultivar Thompson Seedless

A cultivar Thompson Seedless, pertence à espécie *Vitis vinifera* L. e é originária do Oriente Médio (entre Armênia e Irã), de onde se expandiu por toda Ásia Menor, Síria, Egito e países do mediterrâneo, também conhecida por Sultanina, Sultana ou Kishmish Oval, no Mediterrâneo Oriental. No Ocidente é conhecida por ‘Thompson Seedless’, em homenagem ao viticultor William Thompson, que foi o primeiro a cultivá-la na Califórnia (LEÃO, 2005; POMMER e MAIA, 2003). É a cultivar de mesa mais plantada do mundo (LEÃO, 2005; MASHIMA, 2000), com significativas áreas de plantio nos Estados Unidos, Chile, Austrália e Índia para a produção de uvas de mesa e uvas-passa, despontando como a cultivar de maior receptividade no mercado consumidor, por não apresentar sementes (LEÃO, 2005; ALBUQUERQUE *et al.* 2000).

Thompson Seedless é uma cultivar apirena, ou seja, sem sementes. Esta característica deve-se ao mecanismo chamado de estenospermocarpia, onde o fruto se desenvolve após fecundação, seguida de aborto do embrião ainda imaturo devido à degeneração do endosperma (CAMILI, 2007; POMMER *et al.*, 2003). A morte do embrião

ocorre entre três e oito semanas após a antese (CAMARGO *et al.*, 1999). Em frutos originados por este processo, é comum a presença de sementes-traço pouco desenvolvidas, macias e imperceptíveis, como no caso da ‘Thompson Seedless’ (CAMILI, 2007; SANTOS *et al.*, 2003).

De acordo com Pommer *et al.* (2003), esta cultivar apresenta cachos grandes (400-600 g), acentuadamente alados, cilindro-alongados e compactos. As bagas são uniformes, de tamanho médio, pesando entre 4 - 6 g, oval-alongadas, de cor esverdeada ou levemente dourada quando maduras, sem sementes, textura firme e sabor neutro. Para Mashima (2000), nas condições do Nordeste brasileiro, seu ciclo produtivo (poda-colheita) é de aproximadamente 110 dias, sendo que as plantas são vigorosas e a produtividade razoável (20 t/ha no segundo ano), devendo ser podada em ramos bem longos.

Esta cultivar foi introduzida no Brasil, primeiramente, pela SUVALE e em seguida pela Embrapa Semiárido, ambas no Vale do São Francisco. Somente a partir de meados de 1980 é que houve iniciativa pioneira na produção de ‘Thompson Seedless’, mas precisamente naquela região (LEÃO, 2005). Apresentando, inicialmente, resultados pífios, o que levou à crença de que não seria possível seu cultivo naquela região, devido ao excessivo vigor vegetativo, baixa fertilidade de gemas e, conseqüentemente, pequena produtividade (LEÃO, 2005; ALBUQUERQUE e DECHEN, 2000; ALBUQUERQUE *et al.*, 2000).

Retomadas as pesquisas, principalmente com portas-enxertos, manejo de poda, de condução e de irrigação, fez da ‘Thompson Seedless’ a uva sem sementes mais promissora da região (LEÃO, 2001; FREIRE *et al.*, 1991). No entanto, em condições de clima tropical e subtropical, cultivá-la satisfatoriamente ainda é um grande desafio, devido ao fato das plantas apresentarem vegetação muito intensa em detrimento do desenvolvimento de inflorescências, o que acarreta baixa produtividade (ALBUQUERQUE, 2000).

2.4 Exigências climáticas

Os fatores limitantes à expansão da viticultura nas diversas regiões do mundo estão particularmente condicionados às condições de temperatura, luminosidade,

umidade atmosférica e disponibilidade hídrica do solo (COSTACURTA e ROSELLI, 1980; WINKLER, 1970).

Para Teixeira e Anjos (2001) a temperatura do ar é o fator ambiental mais significativa para a cultura da videira, influenciando nas reações da fotossíntese, as quais são menos intensas em temperaturas inferiores a 20 °C, aumentando quando a temperatura atinge o máximo entre 25 e 30 °C e voltam a cair quando a temperatura se aproxima de 45 °C. Temperaturas abaixo de 10 °C levam a planta a entrar em repouso vegetativo, que é usualmente considerada como temperatura base para as videiras, onde temperaturas acima caracterizam crescimento ativo, enquanto abaixo é estabelecido o repouso vegetativo (ZULUAGA *et al.*, 1971). No entanto, cada genótipo tem a sua própria temperatura base, podendo também ocorrer variação nesse valor em função das condições climáticas do local e do ano (ZULUAGA *et al.*, 1971; WHESTPHALEN, 1977; MANDELLI, 1984).

Em clima subtropical, a disponibilidade de frio das áreas vitícolas tem sido considerada como fator importante para classificação da aptidão agroclimática da videira, sendo a avaliação feita pelo somatório de horas de frio abaixo de 10°C (ZULUAGA *et al.*, 1971).

O preenchimento das exigências em frio das viníferas é necessário para que seja eficiente sua supressão da dormência, que em áreas de inverno frio é alcançada em condições naturais, enquanto em regiões quentes ou de invernos quentes, podem ocorrer limitações na brotação das gemas (HUGLIN, 1986; BERNSTEIN, 1984).

Pedro Júnior e Sentelhas (2003) chamam atenção para algumas regiões produtoras de uva do país que apresentam baixo número de horas de frio e que só é possível, por apresentar deficiência hídrica elevada, induzindo ao repouso vegetativo, não por frio, mas por falta de água disponível às plantas.

A umidade relativa, para Kishino e Caramori (2007) considerando o manejo fitossanitário, ideal seria entre 62% e 68%. Umidade relativa acima de 75% (associada à temperatura alta) durante o período vegetativo favorece a infecção por míldio, podridão do fruto, mancha-da-folha e ferrugem, por prolongar o período de molhamento foliar em que ocorre formação de água livre sobre os tecidos da planta. A baixa umidade do ar, por outro lado, favorece a proliferação de ácaros e oídio, além de elevar a transpiração da planta. Maior

umidade relativa do ar ainda proporciona o desenvolvimento de ramos mais vigorosos e, conseqüentemente, menos produtivos.

A videira adapta-se desde zonas onde o regime pluviométrico não ultrapassa a 200 mm até aquelas mais úmidas, com mais de 1000 mm anuais, variando somente a tecnologia de produção e os níveis de produtividade (MANICA e POMMER, 2006). No entanto, a necessidade hídrica anual da videira varia entre 400 e 1.200 mm, dependendo do clima, duração do ciclo fenológico, cultivar utilizada, estrutura e profundidade do solo, práticas culturais, direção, espaçamento e largura das fileiras e altura da latada (WILLIAMS e MATTHEWS, 1990; EVANS *et al.*, 1993, ÁVILA NETO *et al.*, 2000).

Conforme citado por Taiz e Zeiger (2009), a videira é planta de metabolismo C₃ e necessita entre 500 e 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). As taxas de assimilação líquida de CO₂ podem alcançar até 20 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (DURING, 1991; GAMON e PEARCY, 1990; KRIEDEMANN *et al.*, 1970). Contudo as taxas máximas mais comum encontradas para videiras estão na faixa de 8 a 13 $\text{mmol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (ARCHER e STRAUSS, 1990; CORREIA *et al.*, 1990; DOWNTON *et al.*, 1987), enquanto que as perdas de CO₂ por fotorrespiração estão na faixa de 13% a 20% da taxa de assimilação líquida de CO₂ (DURING, 1991).

A quantidade de luz é muito importante para cultura, conforme afirmam Pedro Júnior e Sentelhas (2003), pois durante o ciclo vegetativo é necessário um total de horas de insolação em torno de 1200 a 1400, sendo maior a demanda no período reprodutivo. As exigências para as variedades apirenas diferenciarem suas gemas, em frutíferas, é de aproximadamente 15 dias a partir da floração com boa intensidade luminosa (MASHIMA, 2000). Baixos níveis de luz favorecem o crescimento vegetativo em detrimento à indução de gemas floríferas e a frutificação nas videiras da cv. Thompson Seedless (VIEIRA *et al.*, 1999).

Existem evidências de que o déficit hídrico aumenta a fertilidade das gemas, provavelmente pela redução da densidade foliar e maior iluminação do interior da folhagem, resultando em aumento da fertilidade das gemas (PIRES *et al.*, 2003). Isto se deve ao fato da videira precisar anualmente, de um repouso fisiológico. Este repouso pode ser provocado por baixas temperaturas como ocorre em regiões européias, ou pela supressão parcial da água em regiões tropicais (GOMES, 2007).

Segundo Stoll (2000), o déficit hídrico parcial no sistema radicular promove alterações no surgimento de sinais químicos derivados das raízes, que determinam mudanças na fisiologia da videira.

2.5 Aspectos ecofisiológicos da videira

2.5.1 Fotossíntese

O metabolismo do carbono nas plantas está vinculado à atmosfera através das trocas gasosas onde, durante a fotossíntese, as plantas absorvem CO_2 e liberam O_2 enquanto que no processo respiratório e na fotorrespiração as trocas gasosas são invertidas. Em plantas iluminadas, a fotossíntese aparente ou fotossíntese líquida resulta do consumo de CO_2 no ciclo de Calvin subtraído do CO_2 liberado na respiração e fotorrespiração. A fixação de CO_2 total é denominada fotossíntese bruta, refletindo a capacidade máxima de incorporação de CO_2 pelas folhas (MAJEROWICZ *et al.*, 2003).

Os produtos da fotossíntese são geralmente referidos como fotossintatos ou fotoassimilados, os quais incluem açúcares, amido e outros carboidratos. A sacarose é facilmente transportada por toda parte da planta e pode ser usada diretamente como fonte de energia na manutenção das plantas e na síntese de carboidratos, proteínas, lipídios e outros compostos. O amido é o principal carboidrato que a videira armazena para utilização posterior. Celulose e hemicelulose são os principais materiais estruturais usados na formação da célula, enquanto, os ácidos orgânicos, que também são produtos primários da fotossíntese, são usados diretamente ou convertidos em aminoácidos por adição de nitrogênio, que são armazenados ou formarão as proteínas (HELLMAN, 2003). As conversões de amido para açúcares ocorrem em ocasiões de crescimento vegetativo intenso, quando as reservas são usadas para suportar a atividade meristemática de ápices caulinares e também o crescimento de frutos (PRIESTLEY, 1963).

A cada ciclo, a videira apresenta uma fase de crescimento vegetativo e, paralelamente, outra de formação de seus órgãos reprodutivos, onde nesse período fazem-se

necessário os órgãos verdes (folhas maduras), que sintetizam os fotoassimilados, proporcionando o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo (SCARPARE, 2007). Contudo, ao final de cada ciclo as plantas entram em repouso vegetativo, seja naturalmente, quando estas se desenvolvem em regiões de clima temperado, devido ao abaixamento da temperatura no período de outono/inverno, ou quando o repouso é estabelecido pela deficiência hídrica, seja natural ou imposta pelo produtor, quando as videiras são cultivadas em clima tropical. Satisfeita a necessidade do repouso vegetativo e em condições ambientais favoráveis, a planta volta a brotar. Para tanto, os açúcares depositados como reservas, sofrem uma série de descarboxilações oxidativas durante a respiração celular, com liberação de energia contida nas moléculas. Essa energia é utilizada para mobilização das reservas e nutrição dos órgãos em crescimento (REYNIER, 2003).

As folhas (fontes) da videira exportam o carbono sob forma de açúcares para os tecidos ou órgãos fotossinteticamente menos ativos classificados como drenos (ROITSCH, 1999). O parênquima do xilema é o tecido de reserva dos vegetais lenhosos e constitui um tecido dreno, uma vez que ele estoca, na forma de amido, o carbono assimilado na folha. Por outro lado, durante o período de repouso e retomada do crescimento, este tecido pode mobilizar as reservas amiláceas para outros tecidos. Então ele torna-se um tecido fonte e é essencial para garantir a perenidade da planta (TAIZ e ZEIGER, 2009; CITADIN, 2006).

O controle do crescimento das videiras se deve ao equilíbrio entre estimuladores e inibidores endógenos em resposta ao ambiente e ao próprio estágio de desenvolvimento da planta (RODRIGUES, 2009). O ácido giberélico, superando o efeito do ácido abscísico, seria o principal fator do vigor vegetativo, enquanto que a diminuição deste e o aumento de ácido abscísico inibem o crescimento (GIL, 2000). Desta forma, o excesso de vigor nos ramos pode levar à redução da fertilidade de gemas em videiras (BOTELHO *et al.*, 2004).

2.5.2 Potencial hídrico e trocas gasosas

A água normalmente retirada do solo pelas plantas constitui 80 a 95% de sua massa, quando seus tecidos encontram-se metabolicamente ativos. Como solvente universal, a água participa de reações importantes, além de transporte, arrefecimento e sustentação através da pressão de turgor que exerce nas células, favorecendo aos mais diversos processos fisiológicos, como alongamento celular, trocas gasosas e transporte no floema. Além da essencialidade como doadora de elétrons para o fluxo acíclico na fotossíntese, é importante também na eliminação de oxigênio reativo, como O_2^- e H_2O_2 , produzidos devido aos diversos estresses que a planta está constantemente exposta (KERBAUY, 2008).

O estado hídrico de uma planta depende da água disponível no solo, do gradiente de pressão de vapor estabelecida entre a folha e o ar e das resistências ao fluxo de água no sistema solo-planta-atmosfera (OLLAT, 1989, PEREIRA, 2000). Este estado hídrico na planta pode ser mensurado através do potencial hídrico da folha (Ψ_f) (TAIZ e ZEIGER, 2009). É um parâmetro representativo da condição hídrica da planta porque expressa a resposta desta, frente aos diversos fatores que possam influenciar seu estado hídrico (PATAKAS *et al.*, 2005), a partir de folhas de qualquer parte do ramo (NAOR, 1998).

O potencial hídrico de base ou antemanhã (Ψ_{Am}), mensurado antes que as folhas recebam os primeiros raios de sol do dia, indica o estado hídrico do solo na zona do sistema radicular, por corresponder o real estado hídrico da planta, após haver o equilíbrio entre os dois sistemas (solo-planta), sem interferência da atmosfera (KAVANAGH *et al.*, 2007). O potencial mínimo ou ao meio-dia (Ψ_{Md}) é mensurado logo após o meio-dia, no momento de maior demanda evaporativa da atmosfera (BERGONCI *et al.*, 2000). Este último pode ser bom indicador do estado hídrico da videira em condições de deficiência hídrica leve ou média, não sendo eficiente sob deficiência elevada (CHONÉ *et al.*, 2001).

Assis e Lima Filho (2000) consideram que uma planta encontra-se em bom nível de hidratação, quando o potencial hídrico de base é de -0,1 ou -0,2 MPa. Para Hsiao (1973), um estresse moderado pode ser detectado quando atinge até -1,2 MPa. Quando esta variável apresenta valores inferiores a -1,5 MPa, diz-se que a planta encontra-se sob déficit hídrico severo.

O movimento de abertura e fechamento dos estômatos está relacionado à variação de turgescência das células estomáticas e, conseqüentemente, do estado hídrico da planta (CASTRO *et al.*, 2005). Desta forma, os estômatos regulam a perda de água através da transpiração, respondendo ao déficit hídrico com a alteração da condutância estomática a uma faixa crítica de valores do potencial hídrico foliar (LARCHER, 2000).

A transpiração é a perda de água na forma de vapor, através dos poros estomáticos que se abrem nos espaços vazios entre as células do mesófilo foliar, criando assim um caminho ininterrupto entre o ambiente externo e ambiente interno da folha. O ambiente quase sempre tem baixa umidade relativa quando comparado ao interior da folha, a qual apresenta por volta de 100% UR, existindo assim um gradiente de pressão de vapor, o que leva o vapor d'água se mover de dentro da folha para o ambiente (HELLMAN, 2003). Sendo assim, a taxa de transpiração depende da abertura estomática, que está relacionada aos fatores externos tais como: níveis de luz, concentração de CO₂, temperatura, déficit de pressão de vapor e vento (JONES, 1992), além da disponibilidade hídrica do solo, que a depender do nível, pode levar ao fechamento estomático parcial ou total (CHAVES *et al.*, 2010). Sob condição de déficit hídrico, tem sido demonstrado uma correlação direta entre a concentração de CO₂ dentro do mesófilo foliar e a condutância estomática em videiras, levando, conseqüentemente, a uma redução da taxa de assimilação líquida de CO₂ e menor rendimento quântico do fotossistema II (BAKER, 1993; JACOBS *et al.*, 1996; CHAVES *et al.*, 2010).

2.5.3 Fluorescência da clorofila a

O estresse hídrico e baixas temperaturas são restrições ambientais que limitam o desenvolvimento da videira devido à redução da fotossíntese (FLEXAS *et al.*, 1999). Contudo, tal limitação nas plantas pode ocorrer tanto pela diminuição da condutância estomática, limitando a difusão de CO₂ para os sítios de carboxilação; quanto pela redução nas taxas de reações químicas e enzimáticas, causada pelo frio, por exemplo. A redução da fotossíntese pode também ocorrer por deficiências específicas da cadeia de transporte de elétrons (BAKER, 1993; DAMATTA e RAMALHO, 2006). Esta última situação pode

acontecer principalmente, quando a energia luminosa absorvida for maior que a capacidade fotossintética de utilizá-la nos processos fotoquímicos (BJÖRKMAN e DEMMIG-ADAMS, 1995), proporcionando um forte efeito fotoinibitório, caracterizado por decréscimo significativo do rendimento quântico (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009).

A capacidade do fotossistema II (PSII) de oxidar a água, que permite aos organismos fotossintetizantes utilizarem a luz solar como fonte de energia e a água como fonte doadora de elétrons para fixar o CO₂ atmosférico (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009), também apresenta a mesma capacidade para reduzir o O₂ molecular (reação de Mehler) (DAMATTA e RAMALHO, 2006), produzindo as espécies reativas de oxigênio (EROs), cuja formação resulta da alteração do estado estacionário da molécula de oxigênio, como no caso do oxigênio singlete (¹O₂) ou da transferência de um, dois ou três elétrons ao O₂ para formar, respectivamente, o radical superóxido (O₂⁻), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical hidroxila (OH[·]) (MITTLER, 2002).

Segundo Björkman e Demmig-Adams (1995), os pigmentos clorofilianos podem dissipar a sua energia de excitação, resultante da absorção de luz, através de quatro vias alternativas: pela conversão em energia química das ligações dos produtos finais da fotossíntese; consumindo essa energia em processos metabólicos, mas não resultando em armazenamento de energia em ligações químicas; convertendo a energia de excitação em calor (dissipação térmica); e através da reemissão dos fótons como fluorescência (dissipação radiativa). Estes processos ocorrem em competição, onde o aumento na eficiência de um, resultará decréscimo na eficiência dos outros (MAXWELL e JOHNSON, 2000). O PSII é sensível às condições ambientais e seu funcionamento é um dos mais precisos indicadores de estresses ambientais em plantas (MATTOS, 1998). Dessa forma, as medidas da fluorescência da clorofila têm sido amplamente usadas sobre os efeitos desses estresses, sendo aqueles causados por exposição à luz excessiva (fotoinibição) (LICHTENTHALER e BURKART, 1999), estresse hídrico (WRIGHT *et al.*, 2009; FLEXAS *et al.*, 1999) e baixas temperaturas (BERTAMINI, *et al.*, 2006; HENDRICKSON *et al.*, 2003; FLEXAS *et al.*, 1999).

A relação entre a fluorescência variável e fluorescência máxima (F_v/F_m) representa a eficiência quântica máxima potencial do PSII, ou seja, a eficiência quântica de todos os centros do PSII quando abertos e é usado como indicador sensível da performance fotossintética da planta. O valor de F_v/F_m pode variar entre 0,75 a 0,85 em plantas

em condições ambientais ótimas (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009), ao passo que, valores inferiores a 0,725 indicam fenômeno de fotoinibição (CRITCHLEY *et al.*, 1998). O declínio da F_v/F_m é um bom indicador do dano fotoinibitório quando as plantas estão expostas a estresses do ambiente, incluindo frio e seca (BJÖRKMAN e POWLES, 1984) e pode representar tanto uma regulação fotoprotetora reversível ou uma inativação irreversível do PSII.

A proteína D1 que faz parte do centro de reação do PSII é o principal local afetado pela fotoinibição, quando danificada pelo excesso de luz é removida da membrana e substituída por outra idêntica, sendo que as outras partes do centro de reação do PSII são projetadas para serem recicladas, enquanto a proteína D1 é o único componente que precisa ser sintetizado (ARO *et al.*, 1993). Dessa forma, Taiz e Zeiger (2009) relatam dois tipos de fotoinibição: a dinâmica e a crônica. A primeira é observada sob excesso moderado de luz, onde a fotoinibição é causada pelo desvio da energia luminosa, absorvida em direção a dissipação de calor, reduzindo a eficiência quântica do PSII. Tal decréscimo é temporário e a eficiência quântica pode retornar ao seu valor inicial mais alto, quando o fluxo fotônico decrescer abaixo dos níveis de saturação. A fotoinibição crônica resulta da exposição a altos níveis de luz, que danificam o sistema fotossintético e diminuem a eficiência quântica e a taxa fotossintética máxima. A fotoinibição crônica está associada ao dano e substituição da proteína D1 do centro de reação do PSII. Ao contrário da fotoinibição dinâmica, tais efeitos têm duração relativamente longa, persistindo por semanas ou meses.

Para proteção da maquinaria fotossintética contra estresses oxidativos, as plantas precisam dissipar o excesso de energia luminosa, o que pode ser alcançado mediante a regulação da eficiência fotoquímica via ciclo das xantofilas (DEMMIG-ADAMS *et al.*, 1996), por manutenção do fluxo de elétrons envolvendo rotas alternativas, como a fotorrespiração (ORT e BAKER, 2002) e a reação de Mehler (SÓRIO, 2006; APEL e HIRT, 2004; ASADA, 1999) ou, ainda, por atuação do sistema de defesa antioxidativo (APEL e HIRT, 2004; ASADA, 1999).

2.6 Sistema enzimático antioxidativo

Além do sistema enzimático que atua na desintoxicação das células, também existem os mecanismos não enzimáticos que englobam o ascorbato na forma reduzida (AsA), glutathiona na forma reduzida (GHS), flavonóides, alcalóides, compostos fenólicos, aminoácidos não protéicos, tocoferóis e carotenóides (GRATÃO *et al.* 2005).

Os mecanismos enzimáticos de eliminação de EROs abrangem um conjunto de enzimas antioxidantes, que catalisam reações de formação e regeneração de moléculas para a captura de EROs ou que estão envolvidas diretamente na sua remoção (MARTINS e MOURATO, 2008). O sistema que compreende esses mecanismos enzimáticos, é composto pelas chamadas enzimas antioxidantes, que incluem a superóxido dismutase - SOD, a catalase - CAT, peroxidases como a guaiacol peroxidase - POD, as enzimas e metabolitos do ciclo da glutathiona ascorbato, como a ascorbato peroxidase - APX e a glutathiona redutase - GR (BROETTO, 2009; ORT e BAKER, 2002; SOFO *et al.*, 2005; ASADA, 1999). A polifenol oxidase - PPO, responsável pela oxidação de substratos difenólicos e quinonas (KUWABARA e KATHOL, 1999), localizada essencialmente no lúmen dos tilacóides, participa também nos mecanismos de defesa da planta, na medida em que está relacionada com o metabolismo dos fenóis, que possuem uma ação antioxidante não enzimática (RICE-EVANS *et al.* 1997).

A SOD é considerada a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo, atuando na dismutação do radical superóxido, transformando em peróxido de hidrogênio e oxigênio ($O_2^{\cdot-} \rightarrow H_2O_2 + O_2$) (GRATÃO *et al.* 2005; BLOKHINA *et al.* 2003; ALSCHER *et al.*, 2002). De acordo com o metal co-fator, são três os tipos de enzimas SOD: cobre/zinco (Cu/Zn SODs), ferro (Fe-SODs) e manganês (Mn-SODs). As enzimas Fe-SODs estão presentes nos cloroplastos, enquanto que as Mn-SODs situam-se na mitocôndria e nos peroxissomos. As Cu/Zn SODs são normalmente encontradas no citosol, sendo que algumas plantas contêm uma isoforma nos cloroplastos (TSANG *et al.*, 1991) e, possivelmente, nos espaços extracelulares (ALSCHER *et al.*, 2002).

O produto da dismutação do superóxido pela SOD, o H_2O_2 , deve ser removido a fim de evitar sua conversão em radicais mais reativos, como o OH^- (PERL-

TREVES e PERL, 2002). Para isso, diversas enzimas como CAT e APX atuam reduzindo o H_2O_2 a H_2O e O_2 molecular. Assim como as SODs, a CAT e a APX também apresentam diferentes isoformas. Em plantas, as CATs são encontradas nos peroxissomos, glioxissomos, citosol e mitocôndrias (PERL-TREVES e PERL, 2002), e as isoformas da APX estão presentes no citosol, em membranas dos peroxissomos e em cloroplastos, sendo que nesse caso, uma isoforma está presente no estroma e outra está associada às membranas dos tilacóides (MIYAKE e ASADA, 1992).

2.7 Fertilidade e dormência das gemas

A videira apresenta ciclos que são fisiologicamente dirigidos pela variação da relação entre carboidratos e nitrogênio na seiva, e também pela relação entre os hormônios que favorecem a frutificação (auxinas e citocininas) e os hormônios inibidores da diferenciação da gema (como as giberelinas) (PIRES e POMMER, 2003).

A fertilidade de gemas pode ser definida como a capacidade que estas apresentam para diferenciarem-se de vegetativas em frutíferas, podendo ser utilizada para estimar quantitativamente o potencial produtivo da videira (LEÃO, 2003). Para Botelho *et al.* (2006b), a formação de gema fértil é a consequência da diferenciação do primórdio indiferenciado em primórdio reprodutivo. Esta característica depende de cada variedade, mas dentro da mesma variedade pode haver grandes variações de um ciclo para outro, podendo o clima influenciar na fertilidade da gema (RIVES, 2000; DRY, 2000; CHADHA e SHIKAMANY, 1999). Hidalgo (1999) ressalta que a fertilidade das gemas depende das condições observadas durante a fase de crescimento vegetativo do ciclo anterior, onde ocorre a diferenciação floral, em que fatores como desigualdade de crescimento, temperaturas irregulares, secas pronunciadas, colheitas exageradas e ataques de doenças podem contribuir para a redução da fertilidade no ciclo seguinte.

Na fase vegetativa, os ramos da videira nunca formam gemas terminais, cujos brotos podem aumentar a velocidade de crescimento em qualquer época, se há calor suficiente e abundância de água no solo. O rápido alongamento dos brotos e o

incremento em diâmetro, nas partes mais velhas da videira e o desenvolvimento das partes florais são possíveis devido às reservas armazenadas durante o período de repouso. Depois que o alongamento do broto é reduzido, os carboidratos começam a acumular-se nos mesmos (WINKLER, 1970).

Enquanto a videira se desenvolve, no exato período das fases fenológicas correntes, prepara-se o ciclo de frutificação para o ano sucessivo, com o fenômeno da diferenciação das gemas, o qual requer o emprego de notável quantidade de carboidratos (POMMER, 2003), cuja fertilidade dependerá das condições ambientais.

A videira apresenta dois tipos de gemas, as chamadas de brotação rápida e as latentes (MULLINS *et al.*, 1992). As gemas latentes podem ser consideradas um conjunto de gemas envoltas por uma mesma proteção, as escamas. Notam-se a presença de três gemas, separadas internamente por brácteas, e que se encontram em diferentes estádios de desenvolvimento, denominadas gema primária, secundária e terciária. As mesmas são lentamente formadas durante o período de crescimento vegetativo, que em condições de clima temperado, entram em dormência durante a estação fria do ano, brotando na primavera (MORRIS e CAWTHON, 1981). Em condições de clima tropical as fruteiras temperadas não apresentam dormência de gemas, encontrando-se aptas ao contínuo crescimento vegetativo (ALBUQUERQUE, 2003). Em tais condições a videira pode brotar 20 dias após sua colheita (ALBUQUERQUE, 2003; SOUSA, 1996).

Nos trópicos, *Vitis vinifera* se comporta como uma planta com crescimento vegetativo contínuo, mantendo as gemas laterais latentes, em detrimento da dominância apical. Podendo sua latência ser superada através de poda do ápice, aliada a outros fatores ambientais como temperatura e fotoperíodo. Mesmo assim estas gemas podem manter-se latente, o que seria efeito da inibição correlativa (LAVEE e MAY, 1997).

Segundo os autores Pinto *et al.*, (2008) e Lang *et al.* (1987), a dormência é caracterizada por três fases, a saber: paralatência – as gemas laterais permanecem em repouso devido a dominância exercida pela gema apical; endolatência – neste período as gemas perdem definitivamente a capacidade de brotar, estas só saem deste estado após ter cumprido um mínimo de horas de frio; ecolatência – apesar da gema nesta fase apresentar plena capacidade de brotar, permanecem em repouso até que maiores temperaturas da

primavera lhes permitam a saída deste estado e assegure o normal desenvolvimento do novo broto.

Alguns estudos têm demonstrado que a dormência em gemas é controlada por genes e podem ser induzidas naturalmente por fatores ambientais como fotoperíodo, disponibilidade de nutrientes, déficit hídrico e/ou baixas temperaturas (LAVEE e MAY, 1997; PIRES e BOTELHO; 2001; PIRES e MARTINS, 2003). Os mesmos autores chamam atenção da necessidade do frio para a superação da dormência e a conseqüente retomada do crescimento e abertura uniforme das gemas na primavera seguinte. Ao tempo em que a alta temperatura pode prevenir o aparecimento da dormência (provavelmente o que acontece nos trópicos) ou substituir o efeito do resfriamento pela ativação de uma via alternativa (LAVEE e MAY, 1997).

2.8 Efeito da deficiência hídrica

O desenvolvimento da videira nos trópicos é completamente diferente daquele observado nas tradicionais zonas temperadas. Fatores como dormência das gemas, dominância apical, baixa fertilidade natural, crescimento contínuo (CAMILI, 2007; CAMARGO e OLIVEIRA, 2001), entre outros, exigem práticas culturais especiais, como manejo da irrigação, cujo déficit hídrico parcial no sistema radicular promove alterações no surgimento de sinais químicos derivados das raízes, que determinam mudanças na fisiologia da videira (STOLL, 2000).

Apesar de alguns estudos mostrarem decréscimo na fertilidade de gemas em videiras sob estresse hídrico (SMART e COOMBE, 1983; LOVEYS e KRIEDEMANN, 1973); outros apontam aumento (MAY, 2004; BUTTROSE, 1974), em detrimento da redução da densidade de folhas, melhorando a iluminação dentro do dossel e, conseqüentemente, a fertilidade de gemas. Contudo, quando o estresse é persistente, diminui a fertilidade de gemas latentes (HUGLIN, 1986) e influencia no desenvolvimento de inflorescência, tendo o número e tamanho do primórdio de inflorescência reduzidos (MATTHEWS e ANDERSON, 1989).

O déficit hídrico afeta a bioquímica, a fisiologia, a morfologia e os processos de desenvolvimento das plantas, reduzindo a fotossíntese de três maneiras: pela redução da área foliar disponível para interceptar a radiação solar, pela redução da difusão do CO₂ para dentro da folha e pela redução da habilidade dos cloroplastos para fixar o CO₂ que neles penetra (JONES, 1983).

Embora o estado de água na folha possa regular a condutância estomática e, conseqüentemente, sua transpiração, seu controle envolve também sinais químicos e/ou hidráulicos (TARDIEU e DAVIS, 1993), como o ABA que vai das raízes às folhas (DÜRING *et al.*, 1996; DRY e LOVEYS, 1998; LOVISOLO *et al.*, 2002), principalmente quando as raízes são expostas a solos secos, ocorrendo aumento da concentração de ABA na seiva do xilema que chega à folha induzindo o fechamento dos estômatos (ZHANG e DAVIES, 1991; DURING e ALLEWELDT, 1973).

Uma das primeiras respostas das plantas à deficiência hídrica é o fechamento dos estômatos e redução da transpiração (SOUZA, *et al.*, 2001; PEREIRA e CHAVES, 1993), levando a diminuição da difusão de CO₂ para o mesófilo foliar, o que causa a queda na fotossíntese (CHAVES, *et al.*, 2009). A baixa disponibilidade de água ainda limita a expansão celular, alterando a pressão de turgescência e extensibilidade da parede celular afetando o crescimento da planta (SPOLLEN *et al.*, 1993).

2.9 Efeito do frio

Muitos estudos têm sido feitos para examinar o efeito do frio sobre a brotação de plantas caducifólias, incluindo videiras em estado de dormência; e, segundo Lavee e May (1997), a necessidade do frio é essencial para encerrar o estado de dormência de gema nestas espécies e permitir sua brotação normal.

Camili (2007) relata que as videiras requerem poucas horas de exposição ao frio, quando comparadas a outras espécies de plantas decíduas, para sair da condição de dormência permitindo a brotação na primavera. Para alguns autores sua necessidade em temperaturas abaixo de 7,2°C pode variar de 50 a 800 horas, a depender da

cultivar (JENSEN e BETTIGA, 1984; DOKOOZLIAN *et al.*, 1995; PIRES e BOTELHO, 2001). Na cultivar Merlot foi necessário a exposição das plantas por um período de sete dias consecutivos, a temperaturas abaixo de 10°C para ocorrer brotação satisfatória (POUGET, 1988). Nas cultivares Thompson Seedless e Carignane, houve aumento do número e velocidade de brotação de gemas com maior tempo de exposição, chegando ao máximo com 66 dias, sob 2°C (KLIOWER e SOLEIMANI, 1972). De acordo com Zelleke e Kliever (1989) e Dokoozlian *et al.* (1995), pairam muitas dúvidas quanto a temperatura e o tempo de duração em que as videiras necessitam para promover uma eficiente supressão da dormência das gemas. Havendo, portanto, uma indefinição do papel que o frio exerce na regulação da supressão da dormência das gemas.

São vários os estudos que relacionam substâncias como ácido abiscisico (ABA) e ácidos giberélicos, necessidade de frio e fotoperíodo com a supressão da dormência de gemas em espécies decíduas (SALISBURY e ROSS, 1994; GUY, 1990; POWELL, 1987; GALSTON e DAVIES, 1972). Em macieira, Powell (1986) registrou uma relação direta entre ABA e baixas temperaturas. Resultados similares foram encontrados por Emmerson e Powell (1978) para três variedades de uva.

De acordo com Lavee (1973) a dormência de gemas em plantas decíduas é governada por fatores ambientais, como o frio, que afetam o nível das substâncias de crescimento e, estas por sua vez, controlam mudanças metabólicas que conduzem à supressão da dormência. Outros autores também observaram relação de efeitos fisiológicos entre dormência das gemas e hormônios vegetais, especialmente o ABA (HORIUCHI *et al.* 1981; POWELL, 1987; TAMURA, *et al.*, 1993), onde foi observado rápido aumento do nível desse hormônio livre em gemas de videira durante a fase introdutória da endodormência, para em seguida diminuir (EMMERSON e POWELL, 1978).

2.10 Aspectos bioquímicos

Como relatado anteriormente, a supressão da dormência em gemas de videira ocorre em virtude de atividades metabólicas controladas por substâncias endógenas, reguladas por fatores ambientais.

Tentando elucidar este mecanismo, alguns autores atribuem ao aumento do nível de ácido abscísico endógeno o fato das gemas entrarem em dormência, assim como seu decréscimo em níveis muito baixos, promove a saída deste estado (OR *et al.*, 2000; RICOUARD *et al.*, 1994; WALTON, 1980). Corroborando com esta idéia, Emmerson e Powell (1978) observaram que quando as gemas de videiras foram expostas a um período de frio, durante a abertura das gemas, o ácido abscísico atingiu seu nível mínimo, promovendo assim a saída da dormência.

No entanto, outros compostos diferentes de ácido abscísico estariam também envolvidos no mecanismo da dormência da videira, como etileno (C₂H₄) (THOBE *et al.*, 1992; GEMMA, 1995); ácido 1-aminociclopropano -1- carbônico (ACC) (GEMMA, 1995); atividade da catalase e o conteúdo de H₂O₂ (PINTO *et al.*, 2008; PÉREZ, 2005; EREZ, 1995). Outra substância envolvida no equilíbrio do H₂O₂ é a peroxidase, que em videiras mostrou alto grau de poliformismo (ROS BARCELÓ *et al.*, 2003).

Em videiras onde as gemas encontram-se em estado de endodormência a atividade da fotossíntese é nula e o aumento no teor de H₂O₂ nestes tecidos provém de reações catalisadas por peroxidases (PINTO *et al.*; 2008), além da diminuição da atividade da catalase (AMBERGER, 1984; SHULMAN *et al.*, 1986), que pode ser inibida pela exposição ao frio ou pela aplicação de reguladores vegetais nas gemas. Este aumento nos níveis de H₂O₂ poderia iniciar um processo de transdução de sinais, cujo resultado é o fim do estado de dormência das gemas, que em condições favoráveis inicia a brotação (PINTO *et al.*, 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e clima

Este trabalho foi desenvolvido entre janeiro de 2008 e outubro de 2009, em casa de vegetação no setor de Horticultura do Departamento de Produção Vegetal e em câmara climatizada no NUPAM - Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia da Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, no Campus de Botucatu-SP, localizada nas coordenadas geográficas 22°51' de latitude sul, 48°26' de longitude oeste de Greenwich e altitude de 815 m.

O clima local é classificado, segundo sistema Internacional de Köppen, como Cwa, que é caracterizado como temperado quente, com chuvas no verão e seco no inverno, com precipitação média anual de 1530 mm e temperatura média do mês mais frio inferior a 17°C e do mês quente superior a 23°C (CUNHA *et al.*, 1999).

3.2 Características químicas, físicas e biológicas do substrato

O substrato utilizado no experimento foi obtido de um solo caracterizado como Latossolo Vermelho Distroférico (EMBRAPA, 1997) e de textura média. Foi coletado dentro da Fazenda Lageado, eliminando-se a parte superficial, coletando a uma profundidade entre 10 e 30 cm. Foram enviadas amostras aos Laboratórios de Química e de Física do Solo do Departamento de Recursos Naturais e Ciência do Solo da FCA/UNESP – Campus de Botucatu-SP para análises químicas e granulométrica, cujos resultados estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Amostra de solo também foi enviada ao Laboratório de Nematologia do Departamento de Produção Vegetal da FCA/UNESP, cuja análise nematológica não constatou presença de nematóides.

Tabela 1. Características químicas do substrato utilizado no experimento. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2008.

pH	M.O.	P _{resina}	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----			mmol/dm ³ -----			
4,0	14	4	74	0,3	2	1	3	77	4
Boro		Cobre		Ferro		Manganês		Zinco	
-----			mg/dm ³ -----						
0,10		1,1		45		0,2		0,1	

Tabela 2. Características físicas do substrato utilizado no experimento. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2008.

AG	AF	Areia/T	Argila	Silte	Arg. Nat.	Umidade %	Textura do Solo
g/kg							
252	374	626	304	70	----	----	Média

3.3 Correção e adubação do solo

De posse do resultado da análise química, o solo foi peneirado para retirada de eventuais impurezas, em seguida corrigiu-se, elevando a saturação por bases para 80%, segundo boletim de recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo (RAIJ *et al.*, 1996), de forma que foram adicionadas 91,3 g de calcário dolomítico em 25 L de terra, correspondendo a 7,3 Mg ha⁻¹. Ainda conforme recomendação de Raij *et al.* (1996), a adubação de base foi feita usando 2,5 L de esterco bovino, 15,6 g de termofosfato e 3,9 g de sulfato de potássio, adicionados em 25 L de terra e homogeneizados através de uma betoneira. A terra foi acondicionada em vasos plásticos com capacidade para 25 L, armazenados dentro da casa-de-vegetação e sobre um bloquete hexágono, irrigados e revestidos com sacos de polietileno de cor preta, ficando incubados por 30 dias, a fim de favorecer a reação do solo com o corretivo e os adubos.

3.4 Material vegetal e condução das plantas

As estacas de videira da cultivar Thompson Seedless, obtidas na Região do Vale do São Francisco, com 30 cm de comprimento e em média de quatro gemas, foram plantadas em novembro de 2007, em sacos de polietileno com 1 L de substrato a base de uma mistura de casca de pinus, fibra de coco, vermículita e húmus de minhoca (1:1:1:1). Os sacos com as estacas foram acondicionados em uma estufa totalmente fechada com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) a meia-sombra, recoberta por tela de polietileno com 50% de incidência da luz e equipada com sistema de nebulização intermitente, mantendo a umidade e temperatura elevadas. Após 60 dias, as mudas foram transplantadas para os vasos com capacidade de 25 L e altura de 30 cm, que se encontravam distribuídos dentro da casa de vegetação em espaçamento de 2 x 1 m (Figura 1), em arranjo triangular.



Figura 1. Vista das plantas conduzidas em casa de vegetação. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

3.5 Tratos culturais

As plantas foram conduzidas por meio de um fitilho até o arame do sistema de latada, a uma altura de 1,8 m. Em julho de 2008 fez-se a primeira poda deixando, aproximadamente, quatro gemas no caule principal; esta poda teve o objetivo de estimular a brotação dos ramos secundários. Após a brotação, selecionaram-se dois ramos secundários, eliminando-se o restante; os mesmos foram conduzidos no sistema de latada através de fitilhos. Em fevereiro de 2009 fez-se a segunda poda, deixando oito gemas em cada ramo. Selecionaram-se dois ramos terciários que foram conduzidos por fitilho e presos ao arame com fitas plásticas aplicadas por uma enlaçadora manual à medida que foram crescendo.

Após cada poda, as plantas foram adubadas com composto orgânico, macro e micronutrientes, com base em análises de solo e folhas, conforme recomendação de Rajj *et al.* (1996) (Boletim 100). Com o desenvolvimento da parte vegetativa passou-se a fazer adubações via fertirrigação a cada duas semanas. O monitoramento da solução do solo foi feito por meio de condutímetro portátil digital (Digimed[®], modelo BM3), após retirá-la por meio de sondas extratoras equipadas com cápsulas de cerâmica e seringas plásticas, enquanto

que adubações foliares foram feitas a cada trinta dias, tendo como parâmetro os resultados das análises de folhas.

A fitossanidade das plantas foi tratada alternadamente com fungicida de contato a base de Oxicloreto de Cobre e sistemicamente com Azoxystrobin, conforme dose recomendada pelo fabricante. Além do uso eventual de inseticidas para o controle de lagartas, ácaros e formigas.

3.6 Tratamentos

Após 19 meses do transplante (agosto de 2009), as plantas foram submetidas a três condições diferentes: 1. Controle – as plantas foram conduzidas todo o tempo dentro da casa de vegetação (25-30°C / 60-70% U.R. em capacidade de campo - cc); 2. Deficiência Hídrica – as plantas também foram conduzidas todo o tempo dentro da casa de vegetação (25-30°C / 60-70% U.R.) a uma tensão de água no solo entre -80 a -100 kPa.; 3. Frio – as plantas foram conduzidas inicialmente na casa de vegetação e levadas à câmara climatizada (5-13°C / 60-70% U.R. em cc) apenas durante o período em que foram submetidas ao tratamento por frio, retornando à casa de vegetação após completar o tempo pré-estabelecido para cada planta.

As plantas foram submetidas aos tratamentos por um período de até 90 dias, sendo que a cada 15 dias, três plantas de cada tratamento foram avaliadas, amostradas e podadas, para em seguida serem reconduzidas às condições ambientais do controle (25-30°C / 60-70% U.R. em cc), onde permaneceram até a brotação, quando foram novamente avaliadas, com relação à brotação.

3.7 Monitoramento da umidade do substrato nos vasos

O monitoramento da umidade do substrato (Figura 2) foi realizado através de tensiômetros de mercúrio e sensores de resistência elétrica da Irrometer®. Estes últimos foram usados no monitoramento da umidade do solo das plantas sob deficiência

hídrica; pois, os tensiômetros não conseguem registrar tensões menores que -60 kPa. Foram instalados 20 tensiômetros, distribuídos 10 para os vasos com plantas do tratamento controle e 10 para os do tratamento por frio. Já os vasos do tratamento por deficiência hídrica tiveram 20 sensores, que após serem calibrados, foram instalados dois em cada vaso, com profundidades de 10 e 20 cm, obtendo a média das leituras registradas em centibars/kPa por meio de medidor digital Watermark[®]. As leituras tanto dos tensiômetros quanto das resistências elétricas foram feitas a cada dois dias, sendo os tensiômetros escovados após cada leitura para evitar interferências com entrada de ar em seu sistema.

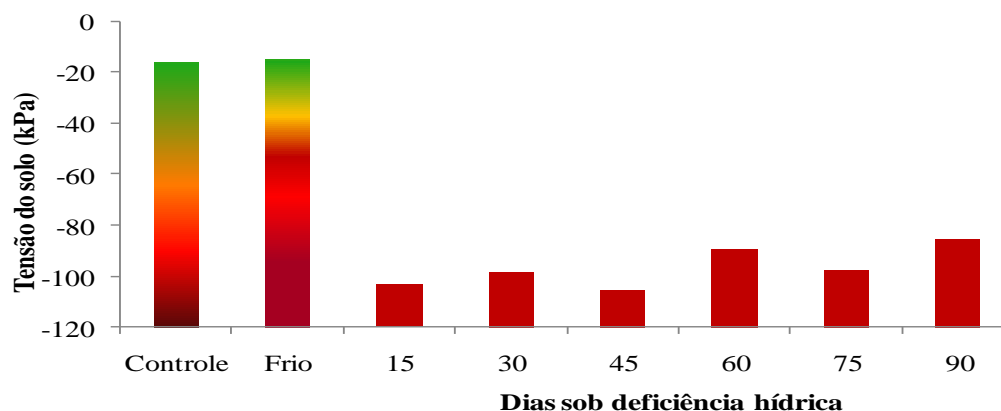


Figura 2. Médias dos valores de tensão do solo para o controle e os tratamentos com frio e sob deficiência hídrica, ao longo do período de avaliação. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

As leituras de tensão de água no solo pelo tensiômetro com coluna de mercúrio foram convertidas a partir do valor da altura do mercúrio (h) para o potencial matricial, pela seguinte equação:

$$\Psi_m = (p-x-12,6 h)/10,2 \dots \dots \dots (\text{eq. 01})$$

Onde:

Ψ_m - Potencial matricial da água no solo na profundidade p (kPa);

p - Profundidade de instalação do tensiômetro (cm);

x – Altura da superfície da cuba até a superfície do solo (cm);

h – Altura da coluna de mercúrio (cm).

A irrigação de todas as plantas anteriormente ao estabelecimento dos tratamentos, assim como as do controle, foi feita através de gotejamento com temporizador eletrônico. À medida que as plantas eram submetidas aos tratamentos a manutenção da umidade do solo foi realizada manualmente, cujo volume aplicado era mensurado por meio de uma proveta de 1000 mL. As plantas dos tratamentos controle e por frio foram mantidas com potencial de água no solo entre -10 e -30 kPa, cuja unidade volumétrica corresponde a 0,176 e 0,165 $\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$, respectivamente, sendo que estes valores estão dentro da capacidade de campo, segundo curva de retenção de água no solo (Figura 3) calculada experimentalmente pela metodologia descrita por Richards (1941). A profundidade efetiva do sistema radicular (Z) adotada foi 20 cm. Nestas plantas o suprimento da água foi feito sempre que o solo apresentava tensão de -30 kPa, sendo a lâmina calculada pela equação:

$$\text{LRN} = (\text{CC} - \text{Ui}) Z / 10 \dots\dots\dots(\text{eq. 02})$$

Onde:

LRN – Lamina real necessária;

CC – Capacidade de campo;

Ui - Limite mínimo de umidade no solo, usado como decisão para realizar a irrigação;

Z - Profundidade efetiva do sistema radicial.

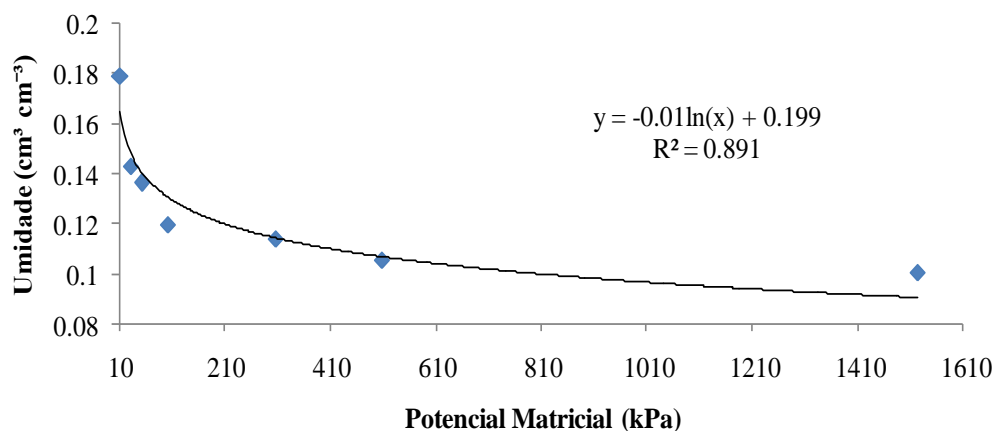


Figura 3. Curva de retenção de água no solo obtida através de amostras deformadas utilizando a placa de Richards. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

A deficiência hídrica nas plantas foi estabelecida inicialmente pela supressão do fornecimento de água até que o solo destas plantas atingisse tensão de -100 kPa e, a partir daí, o fornecimento de água foi feito mantendo a tensão do solo entre -80 e -100 kPa, o que corresponde a unidade volumétrica de 0,155 e 0,153 cm³ cm⁻³, respectivamente.

3.8 Casa de vegetação, câmara climatizada e monitoramento dos ambientes

A casa de vegetação utilizada apresenta sistema de climatização, de estrutura metálica com vidros nas laterais e cobertura em duas águas com placas de policarbonato alveolar, apresentando dimensões de 10 m de largura, 12 m de comprimento e 2,5 m de pé direito. Equipada com sistema de resfriamento, aquecimento e umidificação ligad o a um painel de controle digital (Figura 4).



Figura 4. Vista interna da casa de vegetação utilizada no experimento. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

Dentro da casa de vegetação foram instaladas quatro hastes micrometeorológicas (Figura 5) com instrumentos para medição da radiação solar global incidente e refletida, radiação fotossinteticamente ativa, umidade relativa e temperatura do ar, monitorados na altura do dossel das plantas ligados a um *datalogger* modelo CR3000 Micrologger® fabricado pela Campbell® Scientific que capturou os dados a intervalos de 10 minutos, apresentados aqui pelas Figuras 6, 7 e 8 para os valores de temperaturas, umidade relativa e radiação, respectivamente. Através dos dados de temperatura e umidade relativa foi calculado, segundo Pereira *et al.* (2002), o déficit de pressão de vapor – DPV (Figura 9), através da equação:

$$\Delta e = e_s - e_a \dots\dots\dots(\text{eq. 03})$$

Onde:

Δe - déficit de pressão de vapor do ar, expresso em kPa;

e_s - pressão de saturação de vapor d'água;

e_a - pressão parcial de vapor.

Onde a pressão de saturação de vapor d'água foi calculada pela equação de Tetens:

$$e_s = 0,6108 \cdot 10^{7,5 \text{ Tar} / 237,3 + \text{Tar}} \dots\dots\dots (\text{eq. 04})$$

Sendo Tar representado pela temperatura do ar em °C.

Enquanto a pressão parcial de vapor, calculada pela equação:

$$e_a = \text{UR\%} \cdot e_s / 100 \dots\dots\dots (\text{eq. 05})$$

Em que UR é a umidade relativa atual do ar, expressa em %.

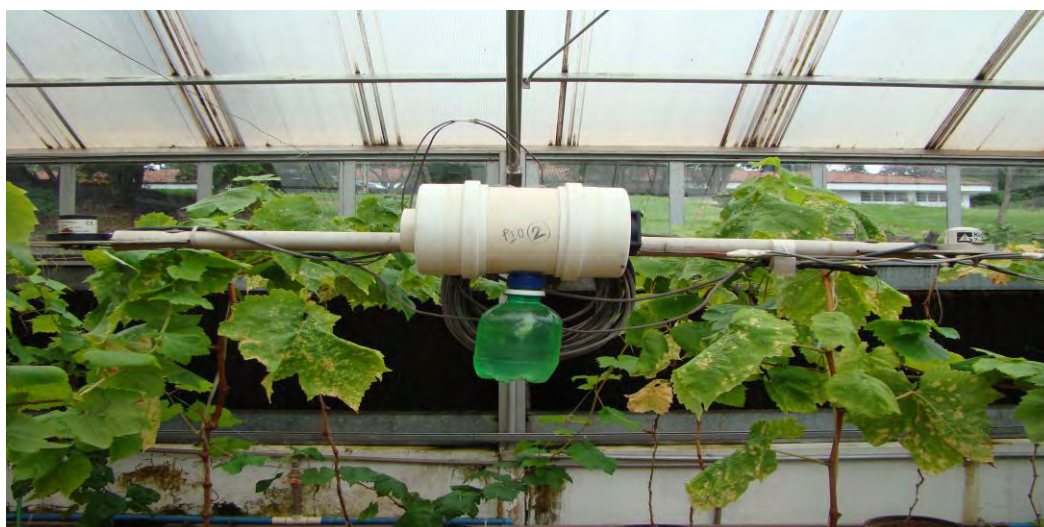


Figura 5. Haste equipada com instrumentos meteorológicos instalada dentro da casa de vegetação. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 20089.

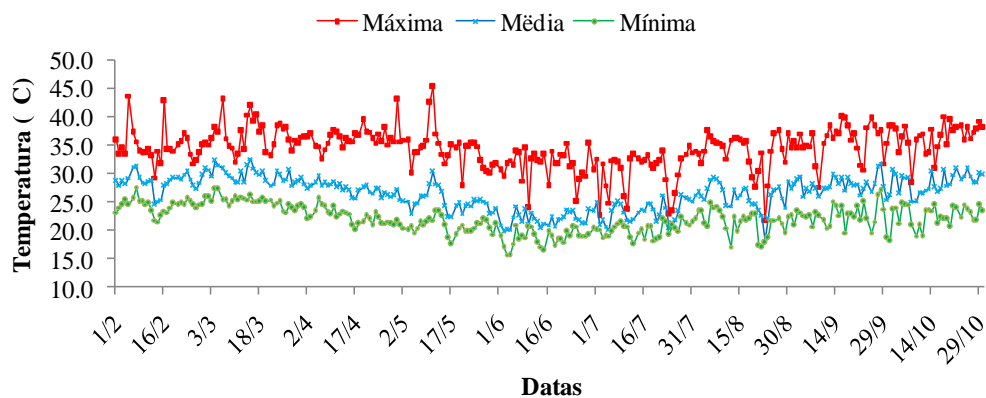


Figura 6. Valores de temperatura máxima, média e mínima dentro da casa de vegetação no período compreendido entre a poda e a floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

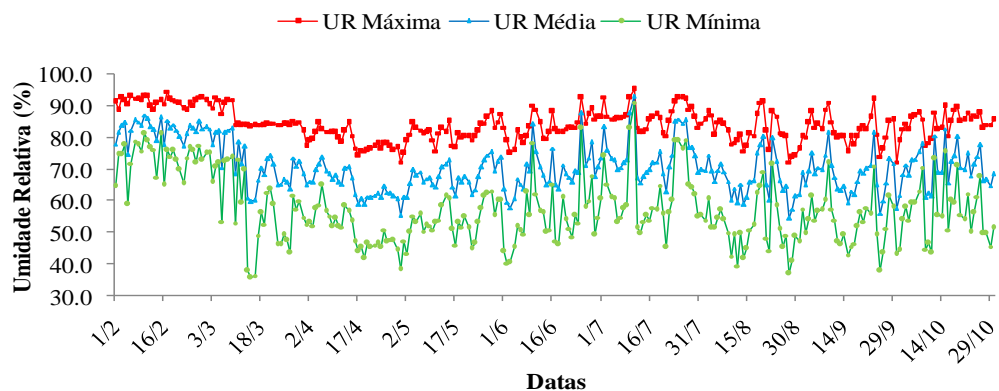


Figura 7. Valores da umidade relativa máxima, média e mínima dentro da casa de vegetação no período da poda à floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

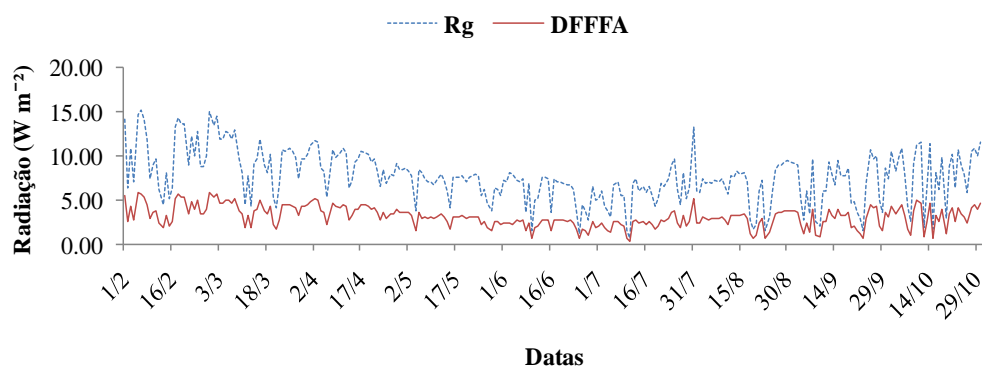


Figura 8. Radiação solar global (Rg) e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) medidas dentro da casa de vegetação no período da poda à floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

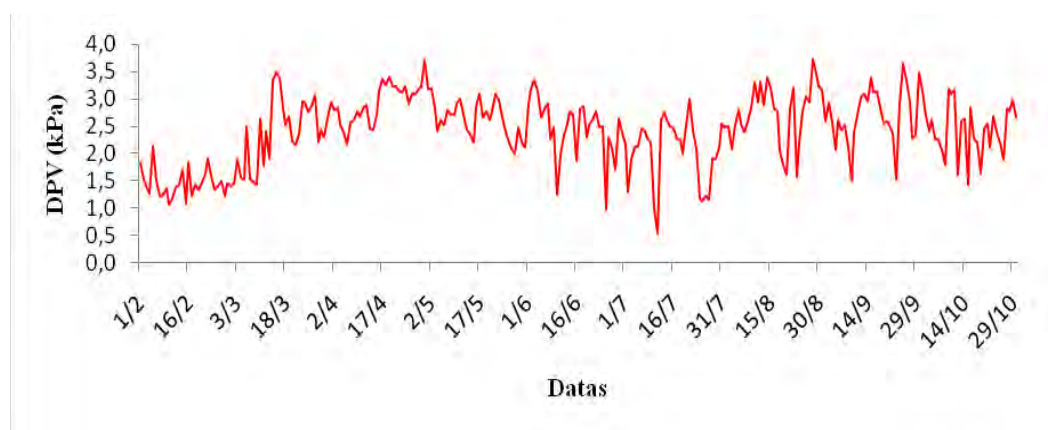


Figura 9. Déficit de pressão de vapor (DPV) dentro da casa de vegetação no período da poda à floração das plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

Para o tratamento por frio, utilizou-se câmara climatizada de 10,35 m² (Figuras 10 e 11), com controle de temperatura, umidade relativa, ventilação e luminosidade. O monitoramento foi feito por uma estação Termo-higro, modelo Kat. Nr. 30.3015 da TFA-Germany, armazenando informações a cada 10 minutos, cujos resultados de temperatura e umidade relativa do período em que as plantas foram submetidas ao tratamento por frio, representados pelas Figuras 12 e 13, respectivamente. Enquanto que na Figura 14 estão os valores de DPV, calculados através dos valores de temperatura e umidade relativa, coletados dentro da câmara climatizada.



Figura 10. Vista do acesso à câmara climatizada, com o painel de controle na parte externa e forma de distribuição das plantas na parte interna. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.



Figura 11. Vista da parte superior das plantas dentro da câmara climatizada. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

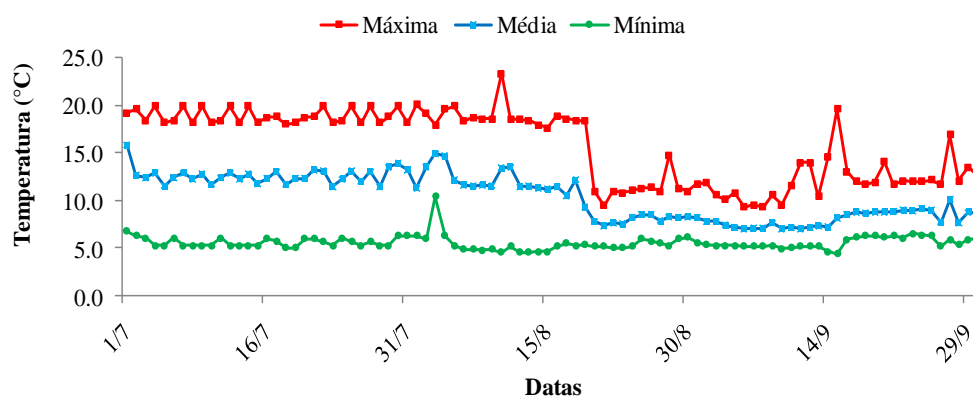


Figura 12. Valores de temperatura máxima, média e mínima dentro da câmara climatizada durante máximo período que as plantas foram submetidas ao frio. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

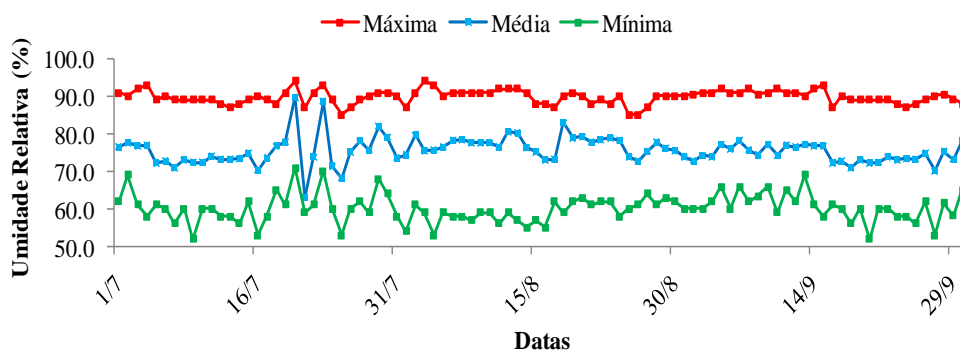


Figura 13. Valores de umidade relativa máxima, média e mínima dentro da câmara climatizada durante máximo período que as plantas foram submetidas ao frio. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

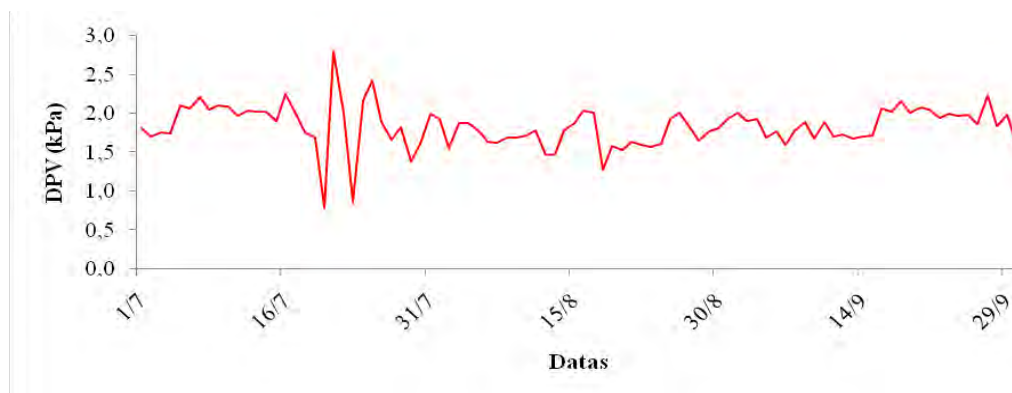


Figura 14. Déficit de pressão de vapor (DPV) dentro da câmara climatizada utilizada para o estabelecimento do tratamento por frio às plantas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

3.9 Delineamento experimental

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida (3 x 6), onde a parcela está representada pelos tratamentos: T1 - controle; T2 - deficiência hídrica; T3 - frio, enquanto a subparcela representada pelo tempo de permanência que as plantas foram submetidas aos tratamentos, que variou de 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias, totalizando 18 combinações de tratamentos. O número de repetições variou de acordo com o tipo de característica avaliada, em virtude da limitação de espaço dentro da casa de vegetação e da câmara climatizada, limitando conseqüentemente o número de plantas por repetição das análises destrutivas, não havendo limitação para as análises não-destrutivas. Dessa forma, estabeleceram-se nove repetições para as análises de trocas gasosas, seis para as análises de potencial hídrico da folha e três para as análises enzimáticas e de porcentagem de brotação.

Os valores de trocas gasosas e ABA foram transformados através da equação $\sqrt{x+1}$, a fim de obter a distribuição normal dos dados.

3.10 Características fisiológicas avaliadas

3.10.1 Medidas de trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas a cada 15 dias, com analisador portátil infravermelho de CO₂ (IRGA), modelo LI-6400 da Li-Cor (Figura 15), sendo avaliadas as seguintes características: taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), transpiração (E), condutância estomática ao vapor de água (g_s), concentração intracelular de CO₂ (C_i). Estimou-se a eficiência intrínseca do uso da água (A/ g_s) e a eficiência momentânea da Rubisco (A/C_i). Essas avaliações foram feitas durante a permanência da abertura estomática, das 9 às 11 horas (hora solar), em folhas totalmente expandidas e saudáveis, previamente escolhidas no terço médio do ramo de cada planta.



Figura 15. Analisador portátil infravermelho de CO₂ (IRGA), modelo LI-6400 da Li-Cor, utilizado na avaliação de trocas gasosas. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

Para determinar a DFFFA - densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos - usada na avaliação das trocas gasosas, foi determinada a curva de

resposta de A à luz (Figura 16) em três plantas antes de serem submetidas aos tratamentos, nas condições de casa de vegetação, onde foram desenvolvidas. A curva de luz foi determinada em um dia ensolarado, entre 9:00 e 11:00 horas, com DFFFA variando entre 0 e 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, nos intervalos de 2000, 1700, 1400, 1100, 800, 500, 300, 200, 150, 50 e 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, em folhas totalmente expandidas.

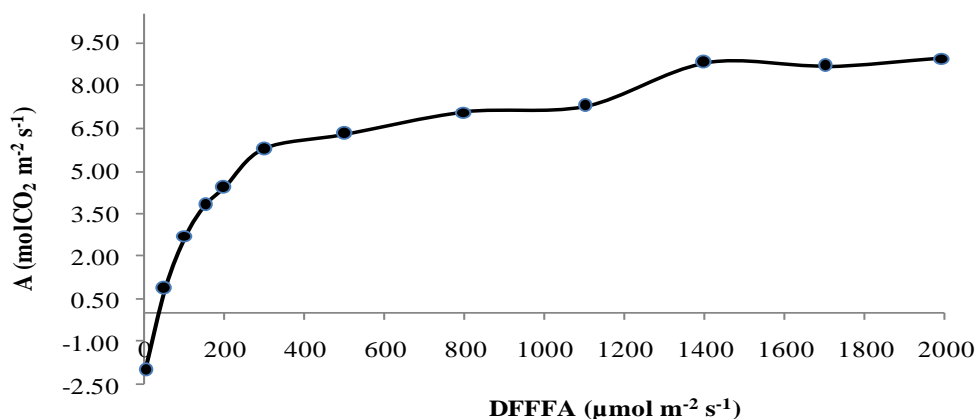


Figura 16. Taxa de assimilação líquida de CO_2 (A) em função da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), em plantas do controle (25-30°C/60-70% U.R), com três repetições. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009.

3.10.2 Fluorescência da clorofila a

Com o auxílio de fluorômetro, Modelo: OS5p da OPTI-SCIENCES, mediu-se a eficiência quântica máxima potencial (F_v/F_m) ao longo de um dia na última época de avaliação, onde F_v e F_m representam fluorescência variável e fluorescência máxima, respectivamente. Foram mensurados às 6:00 horas em folhas adaptadas ao escuro por uma noite e depois, em intervalos de três horas, em folhas adaptadas ao escuro por 30 minutos, segundo metodologia descrita por Souza *et al.* (2001).

3.10.3 Potencial hídrico da folha

O potencial hídrico da folha no período de antemanhã (Ψ_{Am}), entre 5:00 e 5:30 horas, e ao meio-dia (Ψ_{Md}), foi obtido por uma câmara de pressão, modelo PMS 1003 (PMS Instruments Co.), segundo Sholander *et al.* (1965). Utilizaram-se três folhas por planta, tomadas aleatoriamente, sendo o resultado expresso em MPa.

3.11 Características bioquímicas avaliadas

3.11.1 Coleta, processamento e armazenamento do material vegetal

Folhas e gemas utilizadas para as análises bioquímicas foram coletadas um dia após a cada avaliação de trocas gasosas. Coletaram-se duas folhas expandidas mais próximas do ápice e 10-20 gemas, de cada planta, às seis horas da manhã (antemanhã), folhas e gemas foram congeladas em nitrogênio líquido (-186°C) e armazenadas em ultra-freezer (-80°C). Posteriormente, folhas e gemas foram maceradas, separadamente e imersas em nitrogênio líquido, utilizando almofariz de 100 mL e pistilo. O material macerado foi colocado em tubos Fálcon, previamente imersos em nitrogênio líquido, fechados e armazenados em ultra-freezer (-80°C).

3.11.2 Determinação da concentração de ácido abscísico (ABA)

A extração de ABA foi feita segundo método descrito por Norman *et al.* (1990), com modificações propostas por Gomes (2001). Amostras de 50 mg de folhas e gemas maceradas em nitrogênio líquido, foram ressuspensas em 1,5 mL de acetona 80%

(v/v), contendo 100,0 mg L⁻¹ de BHT (hidroxidotolueno butilado) e 100 mg L⁻¹ BHA (hidroxianisol butilado). Os extratos foram armazenados a 4 °C durante duas semanas.

A purificação baseou-se na utilização de uma alíquota do extrato (750,0 µL), completada com tampão TBS (tampão tris salino), pH 7,5, até volume final de 5,0 mL. Este tampão é constituído pelas seguintes substâncias: 6,0 g de TRIS (hidroximetil amino metano); 0,2 g de MgCl₂; 8,8 g de NaCl; 0,1 g de NaN₃ (azida sódica) e 0,5 mL de TWEEN 20 para cada litro de tampão. O pH foi ajustado para 7,5 com HCl concentrado. A amostra foi centrifugada por 9 minutos, a 10.000 g e filtradas em membranas de nylon (0,22 µm). A quantificação do ABA nos extratos foi feita através do teste ELISA, usando kit comercial (Phytodetek® ABA Test Kit), de acordo com as recomendações do fabricante. Em seguida procedeu-se a leitura da densidade ótica através de espectrofotômetro de placas, no comprimento de onda de 405 nm.

Os cálculos para determinação da concentração de ABA foi realizado com auxílio de uma planilha do Excel utilizando a média de absorbâncias das triplicatas de cada repetição dos padrões e das amostras, baseada na equação:

$$\% \text{ de Ligação} = \frac{D.O.(Aou P) - D.O.LNE}{D.O.Bo - D.O.LNE} \times 100 \dots\dots\dots(\text{eq. 03})$$

Onde:

D.O. (A) = densidade ótica da amostra (nm);

D.O. (P) = densidade ótica do padrão (nm);

Bo = 100,0 µL de tampão + 100,0 µL de marcador = 100% de ligação;

Ligação não específica = 100,0 pmol/0,1mL de ABA + 100,0 µL de marcador = 0% de ligação.

3.11.3 Determinação do teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

A determinação do teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) seguiu metodologia descrita por Loreto e Velikova (2001), com algumas modificações, que se baseou

na utilização de 150 mg de tecidos, previamente macerados em nitrogênio líquido, de folhas e gemas. Foram homogeneizados separadamente em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 1% (p/v). O homogeneizado foi centrifugado a 15.000 x g a 4°C, por 10 min. Posteriormente, obteve-se 0,5 mL do sobrenadante ao qual foi adicionado 0,5 mL de tampão fosfato de potássio a 10 mM (pH 7,0) e 1,0 mL de iodeto de potássio (KI) a 1M. O teor de peróxido de hidrogênio do sobrenadante foi determinado comparando a sua absorbância a 390 nm frente a uma curva de calibração padrão, que variou entre 1 e 100 mmol mL⁻¹ de H₂O₂. O teor de H₂O₂ foi expresso em µmol g⁻¹ de massa fresca.

3.11.4 Obtenção do extrato bruto dos tecidos vegetais

O extrato bruto utilizado na determinação do teor de proteínas e da atividade das enzimas SOD, CAT e APX foi obtido através de homogeneização em almofariz de 300 mg do material vegetal em 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 0,1M, pH 6,8, suplementado com 50 mg de PVPP (Polivinil Polipirrolidona). O homogeneizado foi centrifugado a 12.000 x g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado e armazenado em ultra freezer a -80°C.

3.11.5 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

A determinação da atividade da SOD levou em consideração a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (azul de cloreto de nitrotetrazólio). A atividade foi determinada pela adição de 50 µL do extrato bruto oriundo de tecido de folhas e de gemas a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75 µM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 µM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, conforme descrito por Del Longo *et al.* (1993).

A reação iniciou com a iluminação dos tubos, em câmara composta por lâmpadas fluorescentes tubulares (15 W), a 25°C. Após cinco minutos de incubação, as lâmpadas foram desligadas e paralisada a reação (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotorredução do NBT foi determinado pela leitura em espectrofotômetro a 560 nm. Os tubos considerados brancos, para a análise, receberam os mesmos reagentes, porém foram mantidos cobertos com papel alumínio, abrigados da luz. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima considerou-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

3.11.6 Atividade da enzima Catalase (CAT; EC 1.11.1.6)

A atividade da enzima CAT foi determinada com base no método descrito por Peixoto *et al.* (1999), cuja atividade é definida pela quantidade de enzima necessária para catalisar a decomposição do H_2O_2 . Para o teste, 950 μL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12,5 mM foi colocado em cubetas de quartzo e a reação iniciada pela adição de 50 μL de extrato bruto. A variação da absorção (ΔE) foi calculada pela diferença das leituras a 240 nm em um intervalo de 80 segundos. A atividade da enzima foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar = $39,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e a determinação da atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) levou em consideração a concentração de proteína solúvel da amostra.

3.11.7 Atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)

Para a análise da atividade da enzima APX utilizou-se o método descrito por Koshiba (1993), com algumas modificações. O mesmo baseia-se na oxidação do

ascorbato na reação da atividade peroxidásica da enzima. Foi preparada, inicialmente, uma solução de trabalho contendo uma alíquota de 100 μL de extrato bruto com 2,9 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0 (volume final de 3,0 mL). A esta solução acrescentou-se ascorbato e peróxido de hidrogênio, em concentração final de 0,8 e 1 mM, respectivamente. Determinou-se a variação da absorção por meio de leitura a 290 nm, sendo que a atividade específica da enzima ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) foi calculada a partir de um coeficiente de extinção molar de $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

3.11.8 Teor de proteínas solúveis totais

A quantidade de proteínas solúveis nas amostras foi determinada pelo método de Bradford (1976), que consiste no corante *Coomassie Brilliant Blue G – 250* ligar-se em cargas negativas da cadeia polipeptídica, cuja reação o converte para a forma azul. A análise foi feita em triplicatas, usando tubo de ensaio com 5 mL do reativo de Bradford, adicionando-se 100 μL do extrato bruto. Em seguida, agitou-se e após 15 minutos foi feita a leitura da absorbância a 595 nm. Utilizou-se como padrão solução de albumina de soro bovino (BSA- Sigma) com a qual se obteve a curva padrão numa gama de concentração entre 0 e 1 mg mL^{-1} , cuja concentração de proteínas nas amostras foi determinada pela interpolação da curva padrão.

3.12 Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram tabulados em planilhas do Excel e submetidos à análise de variância conforme modelo apresentado na Tabela 3, onde as Fontes de Variação consistiram pela parcela representada pelos tratamentos - TRAT (Controle, Deficiência Hídrica e Frio); Erro 1 – composto da seguinte forma: Erro=Repetição(TRAT); subparcela representada pelo número de dias em que as plantas ficaram submetidas aos tratamentos -

DAT (15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias); TRAT*DAT – interação; e Erro 2 – representado pelo resíduo. O uso deste modelo, segundo Ferreira (2008), se deve ao fato de as épocas não poderem ser distribuídas aleatoriamente.

As análises estatísticas foram realizadas através do software SISVAR 5.1 (UFLA – Lavras-MG) e de acordo com o resultado do teste F, as médias foram comparadas através do teste de Tukey a 0,05 de probabilidade, além do desdobramento das interações, quando significativas. Enquanto para os resultados apresentados graficamente, calculou-se o Erro Padrão das médias representado por Barras de Erro.

Tabela 3. Modelo da ANOVA cujos dados foram analisados.

Fontes de Variação	Trocas	Potencial hídrico	Análises enzimáticas
	gasosas	da folha	e brotações
	G.L.	G.L.	G. L.
TRAT	2	2	2
Erro (1)	24	15	6
PARCELAS	26	17	8
DAT	5	5	5
TRAT * DAT	10	10	10
Erro (2)	120	65	30
Total	161	107	53

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Valores de quadrado médio das características de trocas gasosas e potencial hídrico estão representados na Tabela 4, seguidos de suas respectivas significância, além dos coeficientes de variação (CV). Todas as características foram altamente significativas tanto para o tempo de permanência, como para os tratamentos, além de suas interações a $p > 0,01$ pelo teste F, exceto para condutância estomática (g_s) e para a eficiência momentânea da Rubisco (A/C_i) que não apresentaram significância para a interação (TRAT x DAT). Isto permite afirmar que, nas características que apresentaram significância, pelo menos um tratamento foi diferente estatisticamente, assim como houve variação entre os tempos em que as plantas permaneceram sob os tratamentos, enquanto que as interações significativas mostram que os valores destas características foram influenciados pelo binômio TRAT versus DAT. Desta forma, fez-se o desdobramento de tempo dentro de cada tratamento a fim de observar seus efeitos, isoladamente.

Tabela 4. Quadro médio das características de trocas gasosas: A – taxa de assimilação líquida de CO₂; g_s – condutância estomática; Ci – concentração intracelular de CO₂; E – transpiração; A/g_s – eficiência intrínseca do uso de água; A/Ci – eficiência momentânea da Rubisco; além do Ψ - potencial hídrico da folha (Antemanhã - Am e Meio-dia - Md), para diferentes tempos de permanência das plantas de videira cv. Thompson Seedless sob os tratamentos. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	A (μmolCO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	g_s (molH ₂ Om ⁻² s ⁻¹)	Ci (μmolCO ₂ m ⁻²)	E (molH ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	A/g_s (molCO ₂ mol ⁻¹ H ₂ O)	A/Ci (molCO ₂ μmol ⁻¹ CO ₂)	Ψ(Am) (MPa)	Ψ(Md) (MPa)
TRAT (1)	2	75,86**	0,22**	103,23**	19,18**	13,95**	0,0022**	12,58**	17,88**
DAT (2)	5	25,59**	0,015**	79,80**	0,92**	19,47**	0,000383**	0,36**	0,31**
TRAT x DAT	10	3,35**	0,003 ^{ns}	21,45**	0,29**	6,42**	0,000030 ^{ns}	0,36**	0,25**
CV1 (%)		12,30	4,19	17,10	12,73	25,10	0,38	-8,37	-15,87
CV2 (%)		13,83	3,61	13,90	11,08	26,49	0,40	-15,84	-19,00

Níveis de significância: ** (p<0,01), * (p<0,05) e ^{ns} (não significativo) segundo o teste F.

4.1 Potencial hídrico

As Figuras 17a e 17b apresentam os resultados de potencial hídrico antemanhã (Ψ_{Am}) e ao meio-dia (Ψ_{Md}), respectivamente, onde a média dos valores para este último foi menor devido ao efeito do déficit de pressão de vapor (DPV) atuar ao longo do dia, promovendo maior transpiração e, conseqüentemente, menor hidratação das plantas (KERBAUY, 2008). O controle e o tratamento por frio apresentaram valores médios de -0,17 e -0,14 MPa para Ψ_{Am} e -0,79 e -0,37 MPa Ψ_{Md} , respectivamente, não diferindo significativamente entre eles, indicando que as plantas destes tratamentos apresentaram-se em boa condição de hidratação. Assis e Lima Filho (2000) relatam que videiras atingem o estado hídrico com valores de potencial de base de até -0,2 MPa. O tratamento por deficiência hídrica apresentou valores médios de -1,60 MPa (Ψ_{Am}) e -2,27 MPa (Ψ_{Md}); assim, pode-se afirmar que este último tratamento levou as plantas a um estresse severo, já que valores inferiores a -1,5 MPa se traduzem nesta condição, conforme Hsiao (1973). O Ψ_{Am} variou de -0,63 MPa, na avaliação realizada 15 dias após o tratamento (DAT) a -2,04 MPa, aos 90 DAT, enquanto que Ψ_{Md} variou de -1,53 a -2,98 MPa, no mesmo período, diferindo significativamente dentre eles, nas plantas sob deficiência hídrica. Tanto o Ψ_{Am} quanto Ψ_{Md} apresentam similaridade com o potencial matricial do solo (Figura 2), corroborando com os resultados de Williams e Araújo (2002) que encontraram correlações positivas destes potenciais com o potencial matricial do solo em *Vitis vinifera*, onde os valores de Ψ_{Am} correspondem ao equilíbrio do estado hídrico entre a planta e o solo (KAVANAGH *et al.*, 2007).

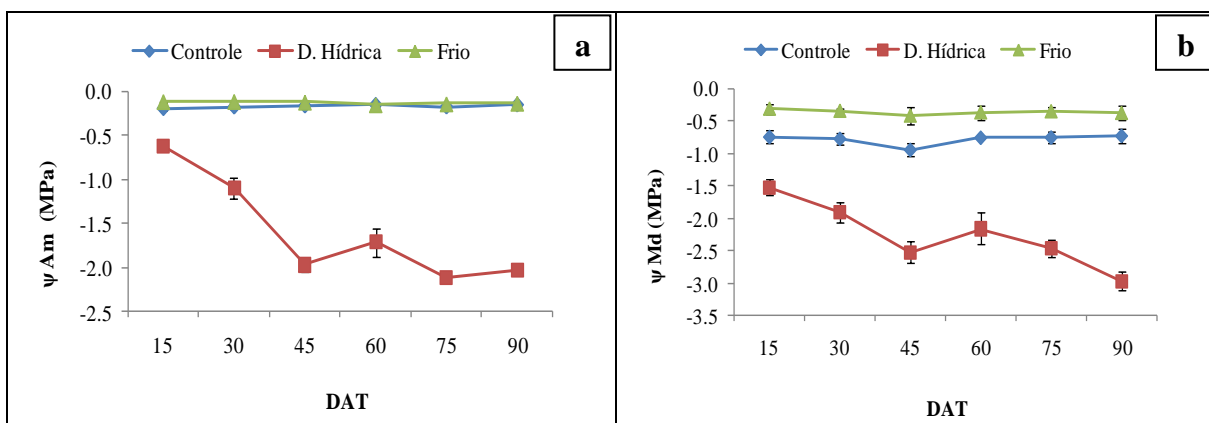


Figura 17. Potencial hídrico na folha antemanhã – Ψ_{Am} (a) e ao meio-dia – Ψ_{Md} (b) em videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento do tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias ($n=6$). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

4.2 Trocas gasosas

O fechamento estomático é um processo sensível a vários fatores ambientais, como intensidade luminosa, temperatura, disponibilidade hídrica, concentração de CO_2 e déficit de pressão de vapor, entre outros (JONES, 1992). Neste experimento todos os fatores foram controlados, mesmo os que não foram utilizados como tratamentos, dessa forma, era de se esperar que as plantas respondessem quanto à abertura estomática, como mostra a Figura 18a. Nesta, observa-se que tanto o tratamento por deficiência hídrica quanto por frio afetaram drasticamente a condutância estomática (g_s), cujos valores ao longo do tempo em que as plantas foram expostas aos tratamentos variaram entre 0,27 a 0,09 $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 0,17 a 0,06 $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente, contra 0,44 a 0,29 $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para o controle. Como se pode ver, os tratamentos por deficiência hídrica e frio apresentaram valores bem próximos ao longo do período. Neste caso, observa-se que o fechamento estomático se deve a fatores distintos, pois a deficiência hídrica levou as plantas a um nível de desidratação como se pode ver através dos valores médios de potencial hídrico das folhas (-1,60 MPa (Ψ_{Am}) e -2,27 MPa (Ψ_{Md})), atingidos devidos ao controle de umidade do solo que variou entre -80 e -100 kPa. Cerqueira *et al.* (2010) observaram valores de 0,009 $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para g_s em plantas de

videiras 'Syrah' e 'Touriga Nacional' após 21 dias da suspensão da irrigação, em plantas cultivadas em vasos e conduzidas em estufa. Vários estudos sobre relação hídrica em videiras também constataram esta correlação entre a deficiência hídrica do solo e fechamento estomático (STOLL *et al.*, 2000; SOUZA *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2005; CHAVES *et al.*, 2007). Por outro lado, o efeito da baixa temperatura também reduziu a g_s , sem que as plantas apresentassem sinais de deficiência hídrica. Este evento também foi observado por outros autores (ALLEN e ORT, 2001; HENDRICKSON *et al.*, 2004; HUANG e GUO, 2005), Hendrickson *et al.* (2004) ainda observaram que o fechamento estomático em videiras sob temperaturas inferiores a 10°C, independem da concentração de CO₂ e do DPV, sendo esta tese sustentada por Wilkinson *et al.* (2001), afirmam que o fechamento dos estômatos induzido pelo frio é uma resposta ao aumento da absorção de cálcio apoplástico pelas células-guarda, diferindo do mesmo efeito promovido pelo aumento da concentração de ABA em plantas sob déficit hídrico. Contudo, o prolongamento do fechamento estomático pode ser creditado ao aumento da concentração de ABA nas folhas em situação de frio (PÉREZ de JUAN *et al.*, 1997).

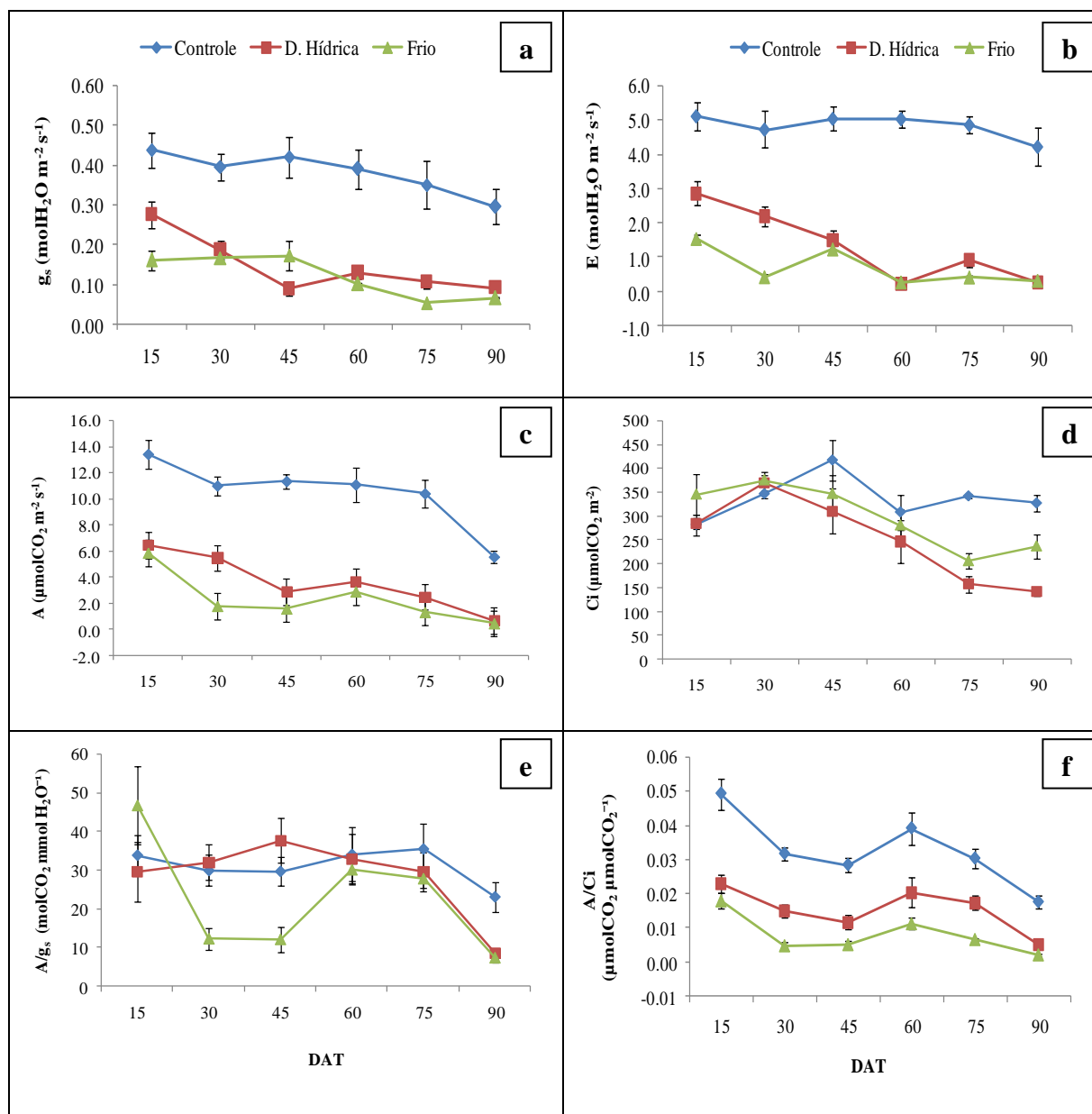


Figura 18. Respostas de taxa de condutância estomática - g_s (a); transpiração - E (b); assimilação líquida de CO_2 - A (c); concentração intracelular de CO_2 - C_i (d); eficiência intrínseca do uso de água - A/g_s (e) e eficiência momentânea da Rubisco - A/C_i (f) em videiras 'Thompson Seedless' no desdobramento do tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=9). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

A transpiração (E) das folhas seguiu o mesmo padrão observado pela g_s , onde os tratamentos por frio e por deficiência hídrica apresentaram valores bem reduzidos, variando entre 2,86 a 0,25 $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 1,55 a 0,31 $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente,

enquanto o controle variou de 5,11 a 4,22 molH₂O m⁻² s⁻¹, ao longo do período (Figura 18b). A transpiração resulta da difusão de vapores de água através dos estômatos abertos funcionando como um sistema de arrefecimento das folhas (TAIZ e ZEIGER, 2009), mas quando estes estão fechados, se estabelece nas plantas certa resistência à perda de água, com reflexos sobre as atividades metabólicas, devido à redução da difusão do CO₂ para o mesófilo e menor rendimento quântico do fotossistema II (BAKER, 1993; JACOBS *et al.*, 1996; CHAVES *et al.*, 2010). Em folhas de videiras estressadas, cuja transpiração foi cessada devido ao fechamento estomático, Freeman *et al.* (1980) observaram incrementos em torno de 10°C acima da temperatura do ar. A depender da intensidade de transpiração poderá causar distúrbios metabólicos, além de danos físicos irreversíveis às folhas (ASSIS e LIMA FILHO, 2000).

Quando as plantas encontram-se em situação de estresse hídrico ocorre o fechamento dos estômatos, a fim de evitar a completa desidratação das folhas, com isto limita a difusão do CO₂ para o mesófilo foliar o que acarreta diminuição da fotossíntese (CHAVES *et al.*, 2009). Na Figura 18c pode-se ver que não só o estresse hídrico, mas também a baixa temperatura influenciaram na redução da taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), de forma que o controle apresentou-se 65,4% e 77,7% maior do que os valores de A obtidos por plantas dos tratamentos por déficit hídrico e frio, respectivamente. Ao longo do período de exposição das plantas aos tratamentos foi possível observar redução de A, sendo que no tratamento por frio esse efeito foi mais brusco, ocorrendo grande limitação já aos 30 DAT, mantendo-se em níveis baixos até aos 90 DAT quando apresentou A= 0,47 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹. Já o tratamento por déficit hídrico apresentou essa limitação aos 45 DAT, chegando aos 90 DAT com 0,70 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹, enquanto que as plantas do controle mantiveram níveis significativamente mais elevados de A, saindo de 13,37 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹ aos 15 DAT e chegando aos 90 DAT com 5,56 μmolCO₂ m⁻² s⁻¹, havendo redução nesta última avaliação que levou a diferir significativamente dos demais tempo de permanência das plantas dentro do controle. Isto pode ter ocorrido devido às limitações mediante o grande crescimento vegetativo destas plantas. Baixas temperaturas podem limitar a fotossíntese através do fechamento dos estômatos, inibição do transporte de elétrons nos tilacóides e fotofosforilação, além da redução da atividade da RuBPCase e de enzimas importantes na biossíntese de sacarose e amido, assim como o carregamento do floema (ALLEN e ORT, 2001; HUANG e GUO, 2005), levando

assim, ao tão esperado repouso vegetativo da videira e, conseqüentemente, a superação da dormência de suas gemas, que para alguns autores é necessário um determinado número de horas de frio para que isto possa ocorrer (LAVEE e MAY, 1997; PIRES e BOTELHO; 2001; PIRES e MARTINS, 2003). Efeitos semelhantes na limitação fotossintética podem ocorrer em plantas sob estresse hídrico (JONES, 1983; CHAVES *et al.*, 2009), estabelecendo dessa forma, o repouso necessário às plantas para ocorrer as devidas transformações hormonais (STOLL, 2000), que aliado a outras práticas, como exemplo da poda (FREIRE *et al.*, 1991; LEÃO, 2001), pudesse exercer o mesmo efeito do frio sobre a brotação das gemas.

Esperava-se que a concentração intracelular de CO₂ (Ci) diminuísse na mesma intensidade do fechamento estomático, como observado por Chaves *et al.* (2009). No entanto, conforme resultados apresentados na Figura 18d, essa redução só iniciou a partir dos 45 DAT, para ambos os tratamentos com déficit hídrico e frio, sendo a difusão do CO₂ realmente limitada a partir dos 75 DAT, quando estes apresentaram valores de 156,97 e 205,89 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$, respectivamente, contra 341,50 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$ para o controle e este último diferiu significativamente dos demais. Contudo, houve grande variação nos valores de Ci dentro do próprio controle ao longo do período. Variações desta forma e elevada concentração de Ci em plantas com estômatos fechados, em resposta ao estresse hídrico, também foi observado por Souza *et al.* (2001) em 'Niagara Rosada' (*Vitis labrusca*) enxertada em dois porta-enxertos: o 101-14 (*V. riparia*) e o 1103 Paulsen (*V. rupestris* x *V. berlandieri*). Esses autores atribuem este feito ao fechamento desuniforme dos estômatos. Outra hipótese é que o estresse provocado tanto pelo frio quanto pelo déficit hídrico pode ter afetado o mecanismo enzimático. Isto torna a rubisco pouco efetiva, diminuindo assim, a carboxilação e favorecendo o acúmulo de CO₂ na célula, ou ainda, ter sofrido danos no aparelho fotossintético, de maneira que não havendo produção fotoquímica, não há consumo de CO₂ e, conseqüentemente, maiores serão os valores de Ci, mesmo os estômatos estando fechados (CERQUEIRA *et al.*, 2010).

Foram estimadas a eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) e a eficiência carboxílica (A/C_i), cujos resultados estão apresentados nas Figuras 18e e 18f, respectivamente. Os valores de A/g_s oriundos deste trabalho mostram grandes variações, principalmente nas plantas submetidas ao frio que apresentaram menor média entre os valores ao longo das avaliações (22,68 $\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$), enquanto que o controle e o déficit hídrico

apresentaram valores médios de 31,02 e 28,30 molCO₂ mol⁻¹ H₂O, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si ao longo do tempo em que as plantas estiveram sob os tratamentos, exceto aos 90 DAT, quando as plantas sob déficit hídrico e sob frio apresentaram valores da A/g_s de 63,5% e 68,3%, respectivamente, menor que o controle para esta mesma época. A maioria dos estudos com eficiência intrínseca do uso da água mostra que seu incremento acontece em plantas em situação de déficit hídrico moderado, como nos casos de RDI (do inglês *regulated deficit irrigation*) e PRD (*partial rootzone drying*) (PATAKAS *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2005). Quando ocorre o estresse severo, a planta parece apresentar instabilidade tanto na condutância estomática quanto nas taxas de assimilação líquida de CO₂, promovendo grandes variações dos valores de A/g_s, que a depender da cultivar e do nível de estresse em que a planta foi submetida poderá alcançar valores bem baixos (SOUZA *et al.*, 2001; CERQUEIRA *et al.*, 2010). Os resultados da A/Ci foram estáveis, mostrando o mesmo padrão de comportamento de A, isto se deveu a menor variação dos valores de Ci. Observa-se que o controle se destacou com maiores médias ao longo de todas as avaliações, variando de 0,05 molCO₂ μmol⁻¹CO₂ no início das avaliações para 0,02 molCO₂ μmol⁻¹CO₂ no final, redução significativa causada pela limitação da fotossíntese aos 90 DAT. Enquanto o estresse imposto às plantas sob deficiência hídrica e frio reduziu, consideravelmente, a eficiência momentânea da Rubisco (A/Ci) logo aos 15 DAT, chegando aos 90 DAT com valores ainda menores (0,02 e 0,01 molCO₂ μmol⁻¹ CO₂, respectivamente) para ambos os tratamentos. Estes resultados corroboram com os apresentados por outros autores em estudo de videiras sob deficiência hídrica (SOUZA *et al.*, 2001; PATAKAS *et al.*, 2003; CERQUEIRA *et al.*, 2010); o que é justificável devido à redução da atividade da enzima Rubisco, em função da redução na concentração ou pela perda de atividade, o que é comum em plantas sob situação de estresse hídrico (FARQUHAR e SHARKEY, 1982; CHAVES, 1991). Enquanto que, outros autores afirmam que baixas temperaturas proporcionam maior eficiência da Rubisco devido haver maior incremento na solubilidade do CO₂ comparado ao O₂ (DOUCE e HELDT, 2000). Hendrickson *et al.* (2004a) observaram perdas da eficiência da Rubisco na carboxilação em videiras sob baixa temperatura, e em trabalho posterior (HENDRICKSON *et al.*, 2004b), voltaram a confirmar que baixas temperaturas em videiras reduzem a fotossíntese devido aos fatores bioquímicos.

4.3 Fluorescência da clorofila

A fluorescência da clorofila foi determinada apenas aos 90 DAT, devido a problemas com o *software* do fluorômetro nos períodos anteriores, sendo a eficiência quântica máxima potencial do PSII (F_v/F_m) representada na Figura 19. Após 90 dias sob a condição de baixa temperatura, as plantas tiveram seu aparato fotossintético severamente afetado, a julgar pelos valores médios de F_v/F_m bem reduzidos (0,13). Critchley *et al.* (1998) atribui valores de F_v/F_m inferiores a 0,72 ao fenômeno da fotoinibição, enquanto que as plantas sob deficiência hídrica apresentaram 0,70 e o controle 0,77. Segundo Ottander *et al.* (1983), as plantas se tornam muito mais sensíveis à fotoinibição quando expostas a baixas temperaturas, devido, nesta condição, as plantas reduzirem a capacidade fotossintética, aumentando a probabilidade de excitação do PSII; reduz a capacidade de sua recuperação, havendo menor eficiência na síntese da proteína D1 nos centros de reação; menor capacidade dos sequestradores de oxigênio, o que reduz a proteção contra a fotoinibição; diminui a capacidade de dissipar a energia de excitação na antena do PSII, devido a menor produção de zeaxantina. De acordo com Araújo e Deminici (2009), baixas temperaturas aliadas à presença de luz levam a formação de radicais superóxidos nos cloroplastos que podem atuar, diretamente ou transformados em outros tipos de EROs, alterando as membranas pela peroxidação lipídica, como no caso das cadeias de ácido graxos das membranas dos tilacóides, ricas em poli-insaturados, altamente vulneráveis à peroxidação. Compostos formados da peroxidação induzem a rigidez das membranas podendo ocasionar a morte das células (STEPONKUS, 1984).

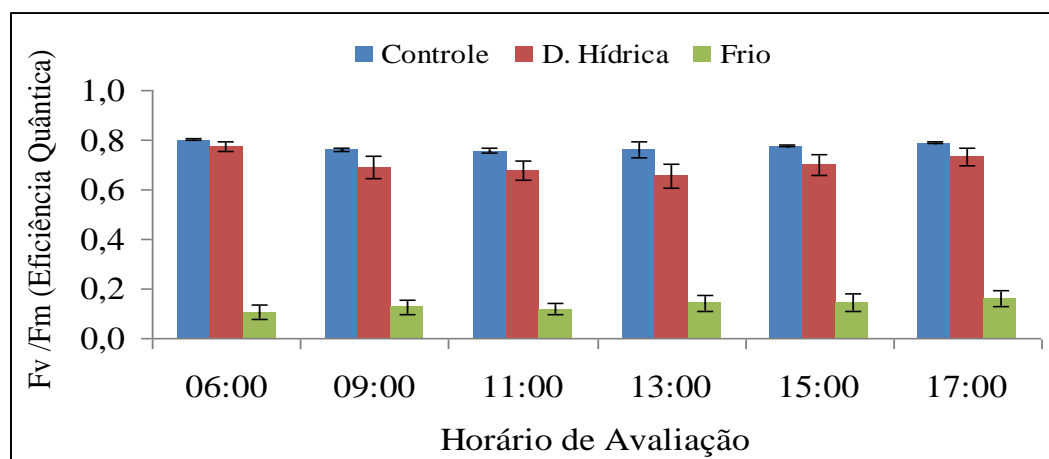


Figura 19. Respostas da eficiência quântica máxima potencial - F_v/F_m em videiras 'Thompson Seedless' após 90 dias sob os tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias ($n=9$). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

Nas plantas submetidas à deficiência hídrica os valores de F_v/F_m variaram entre 0,77 no período antemanhã a 0,65 às 13:00 horas, voltando a subir no final da tarde, atingindo 0,73 às 17:00 horas. Isto permite afirmar que estas plantas atingiram uma fotoinibição dinâmica, haja vista a recuperação do rendimento quântico do PSII no período de antemanhã, alcançando valores de F_v/F_m dentro dos níveis (0,75 – 0,85) estabelecidos por Araújo e Deminicis (2009) para plantas em condições ambientais ótimas. Nos quais também se enquadram os valores obtidos pelas plantas do controle.

4.4 Avaliações bioquímicas

Valores de quadrado médio das características bioquímicas: atividade das enzimas SOD, CAT, APX e dos teores de proteína, H_2O_2 e ABA, encontram-se nas Tabelas 5 e 6, respectivamente, para folhas e gemas, seguidos de suas significâncias e coeficientes de variação (CV). Para as análises de folhas observam-se que pelo menos um tratamento apresentou diferença significativa a 1% e/ou 5% de probabilidade para todas as características. Enquanto que para o tempo de permanência das plantas sob os tratamentos (DAT), houve diferença significativa dentro de apenas CAT e H_2O_2 , assim como, apenas CAT

apresentou interação (TRAT x DAT) significativa. Já o quadrado médio destas mesmas características analisadas em gemas, nenhuma das características dentro da variável TRAT diferiu significativamente. Por outro lado, dentro de DAT só não diferiram APX e H₂O₂, e somente SOD teve interação significativa. O menor número de significância para as características analisadas em gemas, quando comparada às de folhas, pode ter ocorrido devido às características da própria gema, cujo material amostrado apresentou desuniformidade. Nesse material observaram-se impurezas, como suas escamas e pequena porção de tecidos do caule aderidos, que a depender do estágio de desenvolvimento destas gemas, eram impossíveis de separá-las.

Tabela 5. Quadrado médio das características bioquímicas em folhas de videira cv. Thompsom Seedless: SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase, APX – ascorbato peroxidase, PROT – proteína, H₂O₂ - peróxido de hidrogênio e ABA – ácido abscísico, para diferentes tempos de permanência das plantas sob os tratamentos. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009.

FONTES DE VARIÇÃO	GL	SOD	CAT	APX	PROT	H₂O₂	ABA
TRAT (1)	2	5,95**	0,000445*	4,59*	0,34**	0,63**	31,35**
DAT (2)	5	3,65**	0,000066 ^{ns}	4,20**	0,22**	0,05 ^{ns}	2,06 ^{ns}
TRAT x DAT	10	0,25 ^{ns}	0,000182**	0,37 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,52 ^{ns}
CV1 (%)		18,07	37,51	29,17	10,93	16,21	36,26
CV2 (%)		21,83	34,06	27,22	19,71	28,90	20,08

Níveis de significância: ** (p<0,01), * (p<0,05) e ^{ns} (não significativo) segundo o teste F.

Tabela 6. Quadrado médio das características bioquímicas em gemas de videira cv. Thompson Seedless: SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase, APX – ascorbato peroxidase, PROT – proteína, H₂O₂ - peróxido de hidrogênio e ABA – ácido abscísico, para diferentes tempos de permanência das plantas sob os tratamentos. FCA/UNESP. Botucatu-SP. 2009.

FONTES							
DE	GL	SOD	CAT	APX	PROT	H ₂ O ₂	ABA
VARIACÃO							
TRA (1)	2	0,093 ^{ns}	0,000057 ^{ns}	0,0082 ^{ns}	0,0221 ^{ns}	0,0269 ^{ns}	0,000314 ^{ns}
DAT (2)	5	1,130**	0,000744**	0,0874 ^{ns}	0,0472**	0,0408 ^{ns}	0,000109*
TRAT x DAT	10	0,544*	0,000046 ^{ns}	0,0448 ^{ns}	0,0119 ^{ns}	0,0089 ^{ns}	0,000034 ^{ns}
CV1 (%)		21,69	74,58	28,00	21,59	13,34	1,02
CV2 (%)		18,19	37,91	24,63	16,36	23,79	0,62

Níveis de significância: ** (p<0,01), * (p<0,05) e ^{ns} (não significativo) segundo o teste F.

4.4.1 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD: EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD nas folhas das plantas sob condições de frio e deficiência hídrica foi superior ao controle, conforme é observado na Figura 20a, onde as médias das atividades dos tratamentos ao longo das avaliações foram: 1,96, 2,72 e 3,09 UI µg⁻¹ Prot., respectivamente para o controle, frio e deficiência hídrica, sendo que as duas últimas não diferiram significativamente entre si. Tal incremento na atividade da SOD é apoiado por Asada (1997), que afirma haver aumento na produção de EROs quando plantas são expostas a baixas temperaturas ou a deficiência hídrica e, como o O₂^{•-} é a primeira espécie reativa a ser formada, através da transferência de um elétron ao O₂ molecular (MITTLER, 2002), tudo isto faz da SOD a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo, devido sua atuação na dismutação do O₂^{•-} transformando-o em H₂O₂ + O₂ (BLOKHINA *et al.*, 2003; GRATÃO *et al.*, 2005).

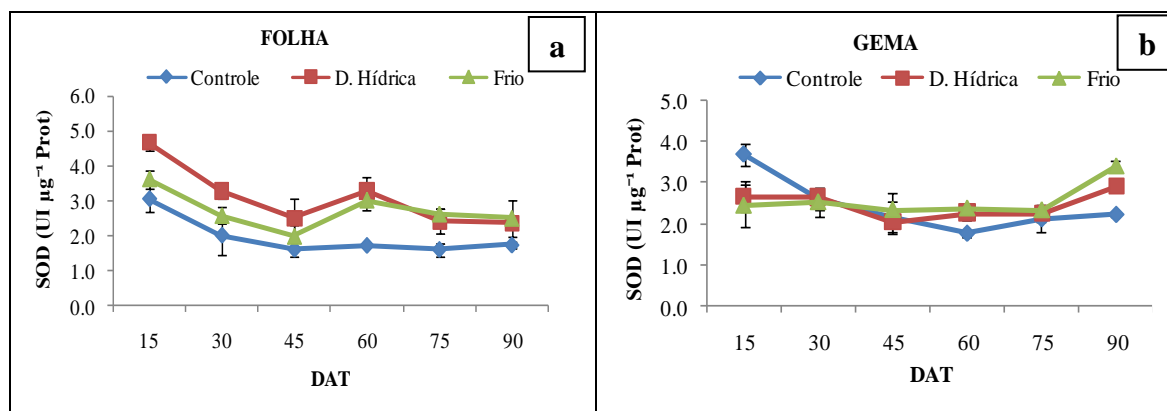


Figura 20. Atividade da enzima superóxido dismutase - SOD em folhas (a) e gemas (b) de videiras 'Thompson Seedless' no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

Todas as plantas apresentaram tendência de queda da atividade da SOD até aos 45 DAT, quando os três tratamentos mostram valores reduzidos e semelhantes. Aos 60 DAT as plantas sob frio e déficit hídrico aumentaram a atividade desta enzima, não se diferenciando significativamente nas três últimas avaliações, certamente influenciados pela ação estressante desses tratamentos a qual as plantas foram submetidas.

Quanto aos resultados da atividade da SOD nas gemas, quando comparados às médias dos tratamentos (2,44, 2,47 e 2,58 UI μg^{-1} prot., respectivamente, para controle, deficiência hídrica e frio) não diferiram entre si (Figura 20b).

4.4.2 Atividade da Catalase (CAT: EC 1.11.1.6)

Folhas das plantas sob deficiência hídrica apresentaram incremento na atividade da CAT aos 30 DAT, contudo, só apresentou diferença significativa dos demais tratamentos aos 45 DAT, voltando a ser semelhante ao controle nas três últimas avaliações, em virtude do aumento da atividade deste último (Figura 21a). Dessa forma, pode-se afirmar que o incremento da atividade da CAT foi influenciado diretamente pelo aumento na produção do

H_2O_2 , em plantas sob condições de estresse, mas ainda em condição ambiental favorável à atividade desta enzima. O aumento da atividade da CAT sob condições de deficiência hídrica também foi observado por Luis (2009) em plantas de pinhão manso e por Campos (2009) em citrumelo ‘Swingle’. Por outro lado, as folhas das plantas que foram submetidas ao frio apresentaram forte decréscimo na atividade da CAT a partir dos 45 DAT, variando de 0,30 $\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1} \text{Prot.}$ aos 15 DAT a 0,005 $\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1} \text{Prot.}$ aos 90 DAT. O efeito da baixa temperatura na redução da atividade da CAT também foi observado por vários autores em diferentes espécies, tais como: videira (NIR *et al.*, 1986), milho, (FEIERABEND *et al.*, 1992; LEIPNER, 1998); pepino, alfafa, trigo, tomate, maracujá, centeio e ervilha (FEIERABEND *et al.*, 1992; ZHOU *et al.*, 2007; PATTERSON, 1994; BAFFEL e IBRAHIM, 2008).

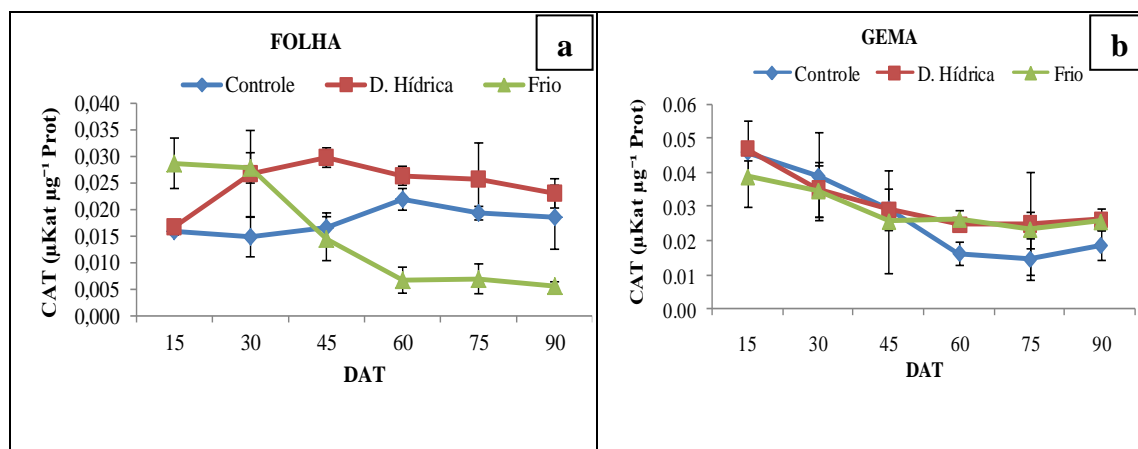


Figura 21. Atividade da enzima catalase - CAT em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

O H_2O_2 presente nas células, oriundo da dismutação da SOD, é constantemente utilizado como substrato pela enzima CAT no processo de desintoxicação contra estresse oxidativo, podendo, contudo, ser removido também pelas enzimas APX e GR (FOYER *et al.*, 1994; SALA, 1998). Caso o sistema de desintoxicação não seja efetivo o conteúdo de H_2O_2 presente na célula poderá, através de íons metálicos, ser transformado em radical hidroxila que apresenta maior nível de toxicidade, principalmente no processo de

peroxidação lipídica (PATTERSON *et al.*, 1994) e morte programada da célula (BAFEEL e IBRAHIM, 2008); mas, também, na transdução de sinais (FOYER e NOCTOR, 2005; PINTO *et al.*, 2008).

Para a atividade da CAT nas gemas, os tratamentos não diferiram entre si ao longo do período, exceto o controle aos 60 DAT que mostrou ligeira queda, estabilizando logo em seguida (Figura 21b). As diferentes respostas entre os resultados obtidos pelas folhas e gemas, assim como em trabalho conduzido por NIR *et al.* (1986), quando analisaram extrato de gemas de ramos de videira 'Perlette' submetidos a temperatura artificial de 5°C, observaram-se decréscimo de atividade da CAT em 25% e 31%, após três e dezessete dias, respectivamente, comparado as plantas do controle que foram conduzidas entre 23 e 28°C.

4.4.3 Atividade da Ascorbato Peroxidase (APX: EC 1.11.1.11)

As condições de estresse hídrico e estresse por frio impostas às plantas deste experimento promoveram maior atividade da APX em suas folhas, comparada ao controle, cuja atividade média dos dois primeiros tratamentos foi de 2,81 e 2,77 $\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ prot., respectivamente, contra 1,94 $\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ prot. para o controle (Figura 22a). Todas as plantas apresentaram tendência de queda na atividade desta enzima ao longo do período, no entanto, o tratamento por frio apresentou significativo incremento aos 60 DAT, mantendo-se neste nível até o final, diferindo do controle nas três últimas avaliações e aos 75 DAT do déficit hídrico. Enquanto que nas gemas os tratamentos mostraram-se muito instáveis quanto à atividade da APX ao longo das avaliações, não diferindo estatisticamente, além de apresentar menor atividade quando comparada às folhas (Figura 22b).

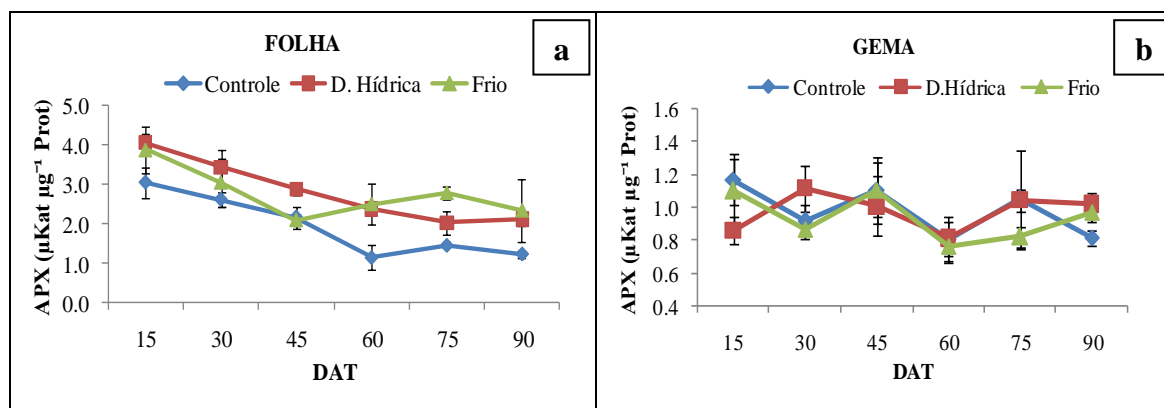


Figura 22. Atividade da enzima ascorbato peroxidase - APX em folhas (a) e gemas (b) de videiras 'Thompson Seedless' no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

Para Carvalho (2009), a função fisiológica da APX, principalmente em situações de estresse, é a utilização do H_2O_2 como substrato, ao tempo em que é frequente verificar aumento dos níveis da atividade desta enzima, havendo correlação com possíveis aumentos deste composto. Dessa forma, as plantas modulam também suas defesas antioxidantes quando se expõem a baixas temperaturas (YAMAUCHI *et al.*, 1975), elevando assim, a atividade da APX (O'KANE *et al.*, 1996); como observado em pimentão (YAMAUCHI *et al.*, 1975) e em *Arabidopsis* (O'KANE *et al.*, 1996), confirmando os resultados obtidos neste trabalho. O mesmo foi observado em gemas laterais de framboesa no período da liberação da endodormência, que foi estimulado pelo resfriamento controlado, observando indução da APX e GR (MAZZITELLI *et al.*, 2007), diferente dos resultados de APX apresentados para as gemas do presente trabalho. Ainda, trabalhos desenvolvidos com videira (CARVALHO, 2009) e com *Ocimum basilicum* L. (LEONARDO, 2006), ambos sob deficiência hídrica, apresentaram aumento na atividade da APX.

A APX desempenha importante papel, juntamente com a CAT, no processo de remoção do H_2O_2 (MITTLER, 2002). Contudo, sua ação nas plantas deste trabalho, principalmente as submetidas à deficiência hídrica, parece ter ocorrido de forma sincronizada com outras enzimas antioxidantes como a CAT e GR, que operam tanto nos cloroplastos quanto no citoplasma. Estas são capazes de controlar as concentrações celulares

de $O_2^{\bullet -}$ e H_2O_2 , controlando assim, a formação de EROs (NOCTOR e FOYER, 1998). Aliado a isto, ainda tem o mecanismo de adaptação das plantas, influenciando na redução da atividade desta enzima. O potencial da APX em metabolizar o H_2O_2 também depende do estado redox do ascorbato e da glutatona (FOYER *et al.*, 1994).

4.4.4 Proteínas solúveis totais

As plantas dos três tratamentos apresentaram aumento no teor de proteínas solúveis totais em suas folhas ao longo das avaliações, cujos teores variaram entre 0,45, 0,31 e 0,36 $\mu\text{g g}^{-1}$ aos 15 DAT e 0,98, 0,67 e 0,67 $\mu\text{g g}^{-1}$ aos 90 DAT para o controle, deficiência hídrica e frio, respectivamente, porém, o controle mostrou maior incremento diferindo-se dos demais a partir dos 45 DAT (Figura 23a). Os teores de proteínas nas gemas mantiveram-se estáveis tanto entre os tratamentos quanto ao longo do período, apresentando diferença significativa apenas aos 90 DAT por parte do controle (Figura 23b).

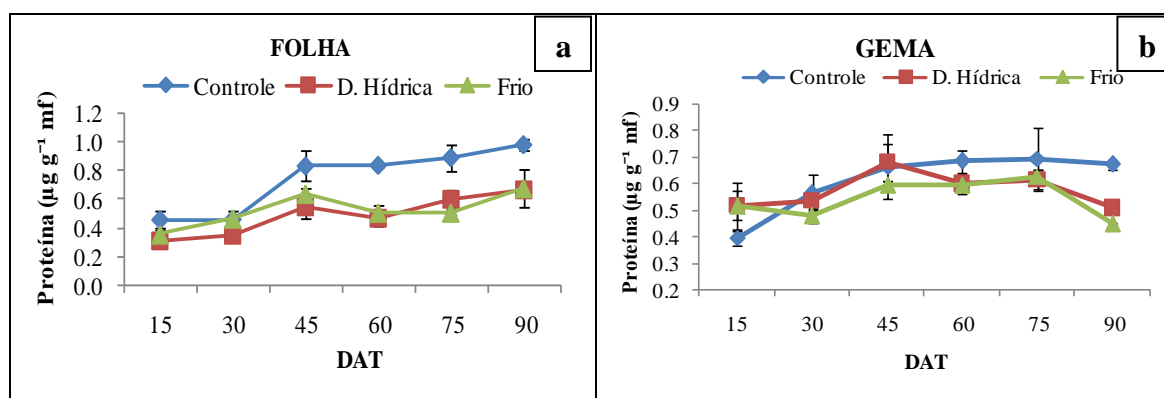


Figura 23. Teor de proteínas solúveis em folhas (a) e gemas (b) de videiras 'Thompson Seedless' no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

De acordo com Larcher (2000), sob influência do estresse, a síntese de proteína é inibida e sua degradação acelerada. Fato observado por Luis (2009) em pinhão manso sob déficit hídrico, cujo teor de aminoácidos e de proteínas reduziu significativamente e, após a reidratação do solo, as plantas recuperaram os seus níveis iniciais de aminoácidos e proteínas. Enquanto que, Leipner (1998), não constatou diferenças significativas nos teores de proteínas em folhas de milho cultivado em 25°C e 15°C, desvinculando-se das respostas obtidas para a atividade das enzimas antioxidantes.

A produção de EROs em plantas sob condição de estresse, além de inibir processos fisiológicos como fotossíntese e respiração (SCANDALIOS, 2005), implica na oxidação de importantes constituintes celulares, tais como: ácidos nucleicos; lipídios de membrana, alterando seu metabolismo (ALSCHER, 1997); induz à degradação de proteínas das membranas (MAXWELL e JOHNSON, 2000); proteínas do aparato fotossintético, principalmente a proteína D1 do PSII (SCHELLER e HALDRUP, 2005); assim como as proteínas do estroma (Rubisco) (MOLLER *et al.*, 2007).

4.4.5 Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

As plantas sob estresses por deficiência hídrica e por frio apresentaram valores médios dos teores de H₂O₂, tanto nas folhas quanto nas gemas, superiores aos respectivos controles, cujas médias, 0,59, 0,84 e 0,95 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para as folhas (Figura 24a) e 0,52, 0,55 e 0,60 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para as gemas (Figura 24b), do controle, deficiência hídrica e frio, respectivamente. Nas folhas das plantas submetidas à deficiência hídrica houve incremento no teor de H₂O₂ a partir dos 30 DAT, embora só tenha apresentado significância aos 45 DAT, quando as plantas submetidas ao frio também elevaram os teores de H₂O₂ nas folhas, mantendo-se superior aos do controle até aos 90 DAT. Da mesma forma, nas gemas, os teores de H₂O₂ mostraram-se superiores nos tratamentos estressantes, cujas médias foram 0,60 e 0,55 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para os tratamentos por frio e deficiência hídrica, respectivamente, contra 0,52 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para o controle, apresentando significância apenas na diferença entre as médias dos tratamentos por frio e o controle.

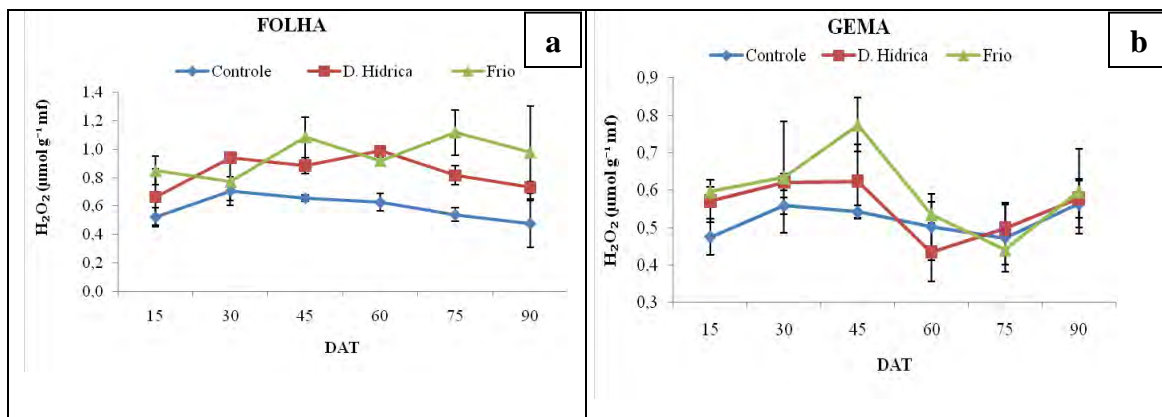


Figura 24. Conteúdo de peróxido de hidrogênio – H_2O_2 em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

Em diferentes condições de estresse, seja por exposição a baixas temperaturas (NIR *et al.*, 1986) ou por deficiência hídrica (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006) os vegetais sofrem alterações em seu metabolismo, ocorrendo a formação de EROs. Nos últimos anos vários trabalhos tem definido as EROs como importantes sinalizadores em diversos processos biológicos de plantas (PITZSCHKE *et al.*, 2006); elas podem influenciar a expressão de vários genes e vias de transdução de sinal, sugerindo que as células desenvolvem estratégias para utilizá-las como sinais no controle de vários programas biológicos (DALTON *et al.*, 1999). EROs são ideais para agir como tais moléculas de sinalização, uma vez que são pequenas e podem translocar-se em curtas distâncias (PITZSCHKE *et al.*, 2006). Sendo o H_2O_2 a forma mais estável das EROs, pode se mover a longas distâncias e livremente pelas membranas celulares, além de promover mudanças no estado redox do H_2O_2 das células vizinhas, levando a resposta antioxidante, agindo como um sinal de estresse oxidativo (LIN e KAO, 1998; SAIRAM e SRIVASTAVA, 2000; VRANOVÁ *et al.*, 2002), o que permite desenvolver seu papel como ator principal na sinalização de processos de sobrevivência das células (MITTLER *et al.*, 2004).

Pode-se afirmar, portanto, que o incremento no conteúdo de H_2O_2 nas folhas das plantas tratadas por frio e por deficiência hídrica, neste trabalho, foi influenciado pelo estresse oxidativo sofrido pelas referidas plantas. Tal elevação em seu conteúdo deve ter

auxiliado na sinalização de outras respostas destas plantas, como em seu fechamento estomático, assim como na liberação da endodormência de gemas em plantas tratadas por frio. Pois, em trabalho desenvolvido por Cerqueira *et al.* (2010) foi observado aumento de 122,48% no conteúdo de H_2O_2 em videiras 'Touriga Nacional' sob condição de estresse hídrico, assim como reduzida condutância estomática ($0,009 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), apresentando teor de H_2O_2 de $0,49 \mu\text{mol g}^{-1}$, contra $0,22 \mu\text{mol g}^{-1}$ para plantas irrigadas, as quais tiveram menor resistência estomática ($0,20 \text{ mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Os autores atribuíram este aumento no conteúdo de H_2O_2 ao estresse oxidativo, proveniente do mau funcionamento do aparato fotossintético em virtude de danos causados pelo estresse hídrico que tais plantas foram submetidas.

Vilela *et al.* (2007) propuseram que o elevado nível de H_2O_2 desencadeado pelo aumento de luz é responsável pela ativação de uma via de sinalização sobre as células dos estômatos, em processo, aparentemente, independente da regulação do ABA antes da emissão da raiz, sendo essencial para a sobrevivência das plantas durante o período ontogênico durante a propagação de *Vitis vinifera* L. da cultivar Touriga Nacional. Outros autores relataram que o papel do H_2O_2 está na habilidade de atuar no fechamento estomático, pela ativação de canais de cálcio e na modulação da concentração de Ca^{2+} no citosol, em processo que pode ser mediado pelo ABA (PEI *et al.*, 2000; DESIKAN *et al.*, 2004). Para Munné-Bosch *et al.* (2003) o fato de terem encontrado baixa concentração de H_2O_2 nos cloroplastos e alta concentração nas paredes das células do mesofilo de duas espécies de arbustos da região do Mediterrâneo (*Cistus clusii* Dunal e *Cistus albidus* L.) sob condição de deficiência hídrica, levaram a inferir que tal fato se deve ao papel sinalizador do H_2O_2 nas células de plantas em estágio inicial de seca.

H_2O_2 é um dos principais produtos metabólicos produzidos nas células vegetais sob influência de baixas temperaturas (CHATTOPADHYAY, 2002), tendo seu conteúdo aumentado pela inibição da atividade da CAT (NIR *et al.*, 1986; PASTORI *et al.*, 2000; ZHANG *et al.*, 2007), a principal enzima responsável na remoção do H_2O_2 , que o transforma em água e oxigênio metabólico (PERL-TREVES e PERL, 2002). Dessa forma, pode-se inferir que a baixa atividade da CAT apresentada neste trabalho, influenciada pela baixa temperatura que as plantas foram submetidas, foi responsável pelo aumento no teor de H_2O_2 . Havendo, contudo, um mecanismo compensatório entre a APX e a CAT, uma vez que

ambas as enzimas apresentam função removedora do H_2O_2 , guardado, é claro, as devidas proporções.

Trabalho desenvolvido por Kuroda *et al.* (2002), no Japão, mostra que o conteúdo de H_2O_2 em gemas floríferas de pêra japonesa aumentou gradualmente com o índice de desenvolvimento das gemas no final de dezembro (inverno) quando a endodormência foi quebrada, conseqüentemente, decresceu durante a ecodormência. Estes resultados sugerem que o incremento do nível de H_2O_2 durante o *chilling* está intimamente relacionado com a supressão da endodormência. Outros autores também observaram aumento dos níveis intracelular de H_2O_2 induzidos por baixas temperaturas (OKUDA *et al.*, 1991; PRASAD *et al.*, 1994), porém não associaram isto com a supressão da endodormência de fruteiras decíduas.

Para Jubany-Mari *et al.* (2010), o aumento de H_2O_2 nem sempre é prejudicial ao funcionamento da planta. Dependendo da concentração de H_2O_2 e sua localização na célula, esta molécula pode apresentar efeitos diferentes em células vegetais, como o fechamento estomático (SUHITA *et al.*, 2004; DESIKAN *et al.*, 2005), protegendo assim, as plantas do estresse hídrico. Além disso, tem sido demonstrado em arbustos resistentes à seca do Mediterrâneo, que o aumento de H_2O_2 no apoplasto das células do mesófilo, xilema e em células de diferenciação do esclerênquima, pode estar mais relacionado a um papel estrutural do que a dano oxidativo (MUNNE-BOSCH *et al.*, 2003; JUBANY-MARI *et al.*, 2009).

4.4.6 Conteúdo de ácido abscísico (ABA)

As folhas das plantas apresentaram maior conteúdo de ABA quando comparada às gemas, sendo 11,78, 19,77 e 36,99 $pg\ g^{-1}$ de massa fresca (mf) de folhas, para o controle, frio e deficiência hídrica, respectivamente (Figura 25a). Este último diferiu estatisticamente dos demais. Enquanto as gemas apresentaram conteúdo médio de ABA para o controle, frio e deficiência hídrica de 0,032, 0,038 e 0,049 $pg\ g^{-1}$ mf, respectivamente; sem diferirem estatisticamente. Ainda com relação ao ABA nas gemas, observa-se que a fase

inicial do estresse (15 DAT) promoveu aumento em seu conteúdo, principalmente, de plantas sob deficiência hídrica, que houve maior incremento.

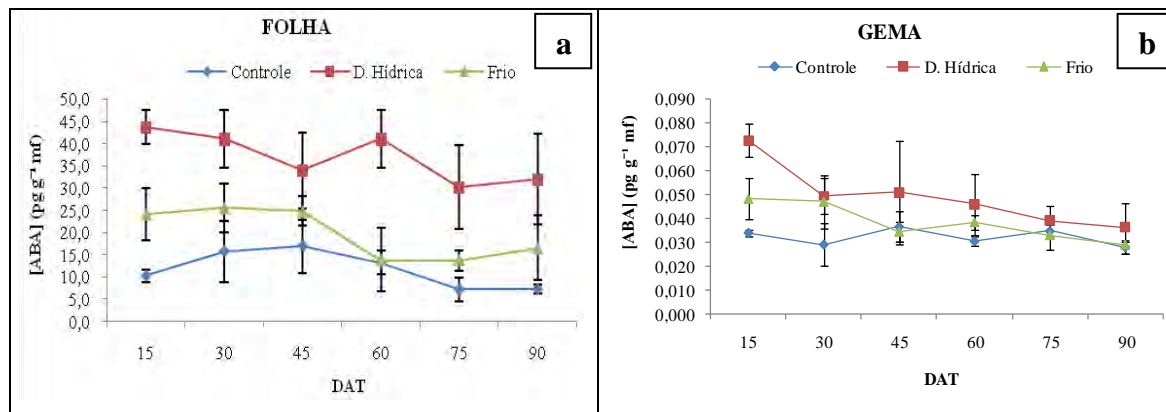


Figura 25. Conteúdo de ácido abscísico – ABA em folhas (a) e gemas (b) de videiras ‘Thompson Seedless’ no desdobramento de tempo de permanência das plantas dentro dos tratamentos. As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

O ABA é sintetizado na parte aérea e nas raízes em resposta a vários estresses, incluindo secas e baixas temperaturas (CHAVES *et al.*, 2003) e seu acúmulo em função do déficit hídrico pode ser pelo aumento da própria síntese e/ou pelo decréscimo na partição (BRAY, 1997). Talvez isto possa explicar os níveis médios de ABA encontrados nas folhas das plantas, aqui estudadas, serem superiores a 500 vezes quando comparados aos encontrados nas gemas; aliado também à impureza das gemas amostradas. Além da folha também ser uma fonte de ABA, esta ainda apresenta mecanismos estomáticos que necessitam da presença deste hormônio para regular a transpiração. Vários estudos mostram que em plantas submetidas a um estresse rápido, o fechamento estomático precede ao aumento do conteúdo de ABA no xilema (WALTON *et al.*, 1977; HENSON, 1981); acreditando-se que ABA possa ser também produzido nas folhas (RASCHKE, 1975; RADIN e ACKERSON, 1982) e que o estresse pode estimular a migração apoplástica deste ABA para as células da epiderme (LOVEYS, 1997). Esta migração provoca o acúmulo de íons K^+ nas células guardas, a fim de elevar a pressão osmótica, promovendo o controle estomático (REGINA e CARBONNEAU, 1997). Contudo, o ABA também é transportado das raízes pela seiva do

xilema para toda parte aérea da planta sob o primeiro sinal de estresse. Dessa forma, as raízes podem perceber o estado hídrico do solo e através da sinalização desse hormônio regular o comportamento estomático; evitando perdas de água pela redução da transpiração em caso de déficit hídrico do solo (DURING e ALLEWELDT, 1973; PEREIRA e CHAVES, 1993; DÜRING *et al.*, 1996; DRY e LOVEYS, 1998; ZHANG e DAVIES, 1991; SOUZA, *et al.*, 2001; LOVISOLO *et al.*, 2002). Estes sinais radiciais, emitidos graças ao aumento da concentração do ABA nos vasos do xilema, permitem às plantas responderem às mudanças das condições de extração de água no solo e encontram-se estreitamente relacionados com a redução da abertura dos estômatos e da atividade fotossintética das folhas de plantas sob deficiência hídrica (DURING, 1991).

As folhas das plantas submetidas à deficiência hídrica no presente ensaio apresentaram teor médio de ABA três vezes maior do que em plantas do controle, cujos valores foram 36,99 e 11,78 pg g^{-1} mf, respectivamente, diferentes estatisticamente entre si. Stoll *et al.* (2000) observaram aumento no conteúdo de ABA cinco vezes maior em folhas de videira 'Sultanina' após cinco dias da supressão de água. Outros trabalhos mostram que o aumento do teor de ABA pode variar entre 10 a 40 vezes em raízes de videira sob deficiência hídrica (LOVEYS *et al.*, 2000). Já Loveys e Soar (2004) encontraram diferença na concentração de ABA com relação ao DPV, sendo maior a concentração por volta do meio dia, quando registram maior DPV. Vários autores afirmam que, além do tipo de estresse e do material amostrado, o horário de avaliação (CHAVES *et al.*, 2007), a época do ano (KAWAMATA *et al.*, 2002), a temperatura (WILKINSON *et al.*, 2001), a intensidade luminosa e o pH (WILKINSON e DAVIES, 2002), podem influenciar nos teores de ABA na planta.

Por outro lado, o ABA nas plantas tratadas com frio pode ter atuado apenas como sinalizador, visto que não apresentou grande elevação no seu teor, quando comparado às plantas tratadas com deficiência hídrica. Porém, as trocas gasosas destas primeiras, foram fortemente afetadas, sem que seu potencial hídrico tenha sofrido qualquer alteração. Para Desikan *et al.* (2004), a percepção do ABA por receptores nas células guardas ativa uma complexa rede de sinalização como ativação de canais de íons, elevando o nível de cálcio citossólico, fosforilação reversível de proteínas, além de ativação de outros componentes de sinalização, como as proteínas G e modulação do metabolismo de RNA

também são mediados pelo ABA, levando ao fechamento dos estômatos (SCHROEDER *et al.*, 2001). Mais recentemente, estudos mostram também a participação das EROs, como o H₂O₂, atuando no fechamento estomático, em processo mediado pelo ABA (PEI *et al.*, 2000; NEILL *et al.*, 2003; DESIKAN *et al.*, 2004).

4.5 Porcentagem de brotação de gemas

Os tratamentos por deficiência hídrica e frio, utilizados no presente trabalho, apresentaram respostas muito diferentes na brotação das gemas destas plantas. Conforme apresentado na Figura 26, o déficit hídrico em que as plantas foram submetidas não influenciou, praticamente, na brotação de suas gemas quando o solo foi reidratado para a cc; isto é possível afirmar, visto que seus valores de porcentagem de brotação não diferiram estatisticamente do controle ao longo de todas as avaliações, cujas médias foram 22,79% e 23,90%, respectivamente. Enquanto que aos 45 DAT de frio, o que equivale a 411 horas de temperaturas abaixo de 10°C (< 10°C) (Figura 27), foi o suficiente para observar aumento significativo da ordem de 48,32% na porcentagem de brotação das gemas destas plantas em relação ao controle; chegando aos 90 DAT (1262 horas < 10°C) com taxa de brotação de 83,20%, não diferindo estatisticamente dos 45 (411 horas < 10°C), 60 (681 horas < 10°C) e 75 (1000 horas < 10°C) DAT.

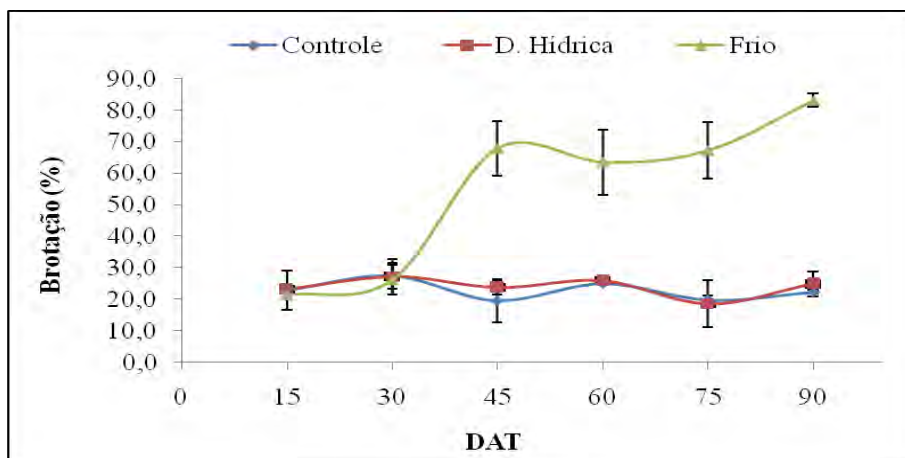


Figura 26. Porcentagem de brotação de gemas de videiras ‘Thompson Seedless’ avaliadas em condições de controle, deficiência hídrica e frio aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o tratamento (DAT). As barras indicam erro-padrão das médias (n=3). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

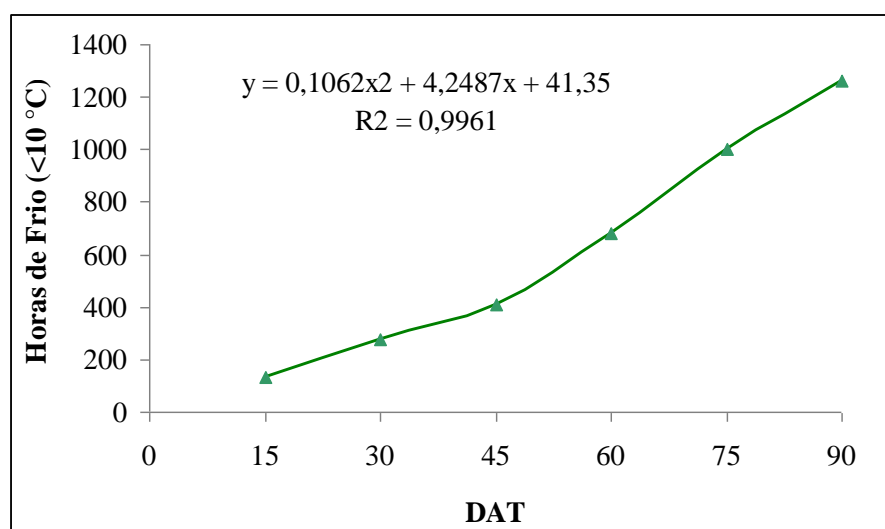


Figura 27. Relação do número de horas com temperaturas abaixo de 10°C em videiras ‘Thompson Seedless’ submetidas ao tratamento por frio aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o tratamento (DAT). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

A videira, assim como outras fruteiras de origem de clima temperado, apresenta dormência nas gemas como mecanismo de sobrevivência às condições de baixas

temperaturas, desfavoráveis ao seu desenvolvimento (SAURE, 1985); sendo caracterizada pelas fases de paralatência, endolatência e ecolatência (LANG *et al.*, 1987; PINTO *et al.*, 2008). Este processo, intrínseco a estas espécies, contribui também na brotação das gemas na primavera seguinte, ou quando estas plantas encontrarem-se, posteriormente, em condições de temperatura favorável, superando assim, a ecolatência. Contudo, em condições de clima tropical, a videira apresenta crescimento contínuo, em detrimento da dominância apical, levando as gemas laterais a um estado profundo de latência devido ao chamado efeito da inibição correlativa, assim relatado por Lavee e May (1997).

O aumento da porcentagem de brotação das gemas de plantas, aqui tratadas com baixas temperaturas, pode ter sido influenciado pela inibição da catalase, promovida pelo frio e, conseqüentemente, do aumento do nível de H_2O_2 , como pode ser observado nas Figuras 21 e 24. Como o H_2O_2 é uma ERO estável e se move livremente pelas membranas celulares, o aumento do seu nível celular pode influenciar na expressão de vários genes e vias de transdução de sinal, sugerindo que as células desenvolvam estratégias para utilizá-las como sinais no controle de vários programas biológicos (DALTON *et al.*, 1999), como na liberação da dormência de gemas.

Trabalho realizado por Nir *et al.* (1986) com videira 'Perlette', no Vale do Rio Jordão em Israel, constataram aumento significativos da atividade da catalase durante o outono, alcançando o máximo no final de outubro, decrescendo em seguida, atingindo um mínimo em janeiro. Observaram ainda que, a atividade da catalase e a intensidade da dormência diminuíram paralelamente com a queda da temperatura. Neste sentido, Zelleke e Kliewer (1989) afirmaram que, na natureza, o processo de supressão da dormência das gemas é induzido por baixas temperaturas, levando a inferir que a intensidade de dormência em gemas de videira está inversamente relacionada com a atividade da catalase. De acordo com Camili (2007), isto pode explicar os problemas na brotação de gemas de videiras cultivadas em regiões tropicais e subtropicais, onde apresentam inverno quente, não acumulando um número de horas de frio com temperaturas inferiores a $7^{\circ}C$ e a depender da região, nem chega a temperaturas tão baixas, importante para ativar a supressão natural da dormência das gemas (JENSEN e BETTIGA, 1984).

A fim de melhor elucidar essa relação direta do nível de H_2O_2 com a porcentagem de brotação de gemas em plantas submetidas ao frio, aqui observado, pode ser

justificado pela redução da fotossíntese nestas plantas (Figura 18c), que pode ter sido causado tanto por efeito no fechamento estomático, devido ao próprio H_2O_2 , quanto pela redução nas taxas de reações químicas e enzimáticas, assim como deficiências específicas da cadeia de transporte de elétrons, a que alguns autores (BAKER, 1993; DAMATTA e RAMALHO, 2006) associam sua causa também ao frio. Neste sentido, pode-se observar que estas plantas foram as mais afetadas pelos estresses oxidativos, conforme apontam os resultados de F_v/F_m (Figura 19).

A deficiência hídrica imposta às plantas afetou as características de trocas gasosas, tanto quanto o frio, além de apresentar resposta muito similar para as características bioquímicas, exceto a atividade da catalase e teor de ABA, assim como para F_v/F_m . Porém, não alterou significativamente a porcentagem de brotação de suas gemas. Isto pode ter ocorrido, justamente, pelo fato destas plantas terem apresentado elevado nível de ABA. Esta justificativa é apoiada por alguns autores, que atribuem o aumento do nível de ABA endógeno ao fato das gemas entrarem em dormência, assim como seu decréscimo em níveis muito baixos, promover a saída deste estado (WALTON, 1980; RICOUARD *et al.*, 1994; OR *et al.*, 2000). Ainda neste sentido, Emmerson e Powell (1978) observaram que gemas de videiras quando expostas a um período de frio, o ABA atingiu seu nível mínimo, promovendo assim a saída da dormência. A relação entre dormência de gemas e ABA, também foi investigada em maçã (SEELEY e POWELL, 1981), uva (EMMERSON e POWELL, 1978) e pera japonesa (TAKAMI *et al.*, 1988). Todos observaram que o nível de ABA livre em gemas, aumentou de repente durante a fase introdutória da dormência, devido a redução da temperatura, reduzindo posteriormente.

Diante dos resultados apresentados na Figura 25, cujos níveis de ABA foram significativamente superiores em plantas submetidas à deficiência hídrica, principalmente nas folhas, levam a crer que realmente este foi o fator preponderante na baixa taxa de brotação das gemas; mantendo assim, suas gemas em estado profundo de latência devido ao chamado efeito da inibição correlativa, como afirma Lavee e May (1997).

Como pode ser observado, o aumento do nível de ABA nas plantas pode estar relacionada tanto a baixas temperaturas quanto a deficiência hídrica, agindo, portanto, como inibidor do crescimento e induzindo a planta à senescência (TAIZ e ZEIGER, 2009), com consequência na paralização do crescimento apical, redução do número e do

comprimento dos entrenós, produção de gemas e abscisão das folhas (SALISBURY e ROSS, 1994). Isto tem levado alguns autores denominarem como fase de dormência, o período em que a planta cultivada em regiões tropicais, reduz o crescimento em decorrência da supressão de água (SOUSA, 1996), enquanto outros afirmam que não passa de um repouso vegetativo, pois, em condições tropicais a videira não entra em dormência (ALBUQUERQUE, 2003). No entanto, os autores não especificam o tipo de dormência, visto que as gemas apresentam três fases de dormência (LANG *et al.*, 1987; PINTO *et al.*, 2008) e, o mais surpreendente, é que a entrada da gema em dormência, parece não haver relação com a sua saída, ou seja, com a brotação. Como afirma Kawamata *et al.* (2002), que o ABA induz a dormência e mantém sua intensidade, contudo, não tem efeito na brotação. Os resultados do presente trabalho corroboram justamente com essa tese, visto que o estresse que as plantas foram submetidas sob deficiência hídrica, promoveu aumento do nível de ABA, porém sua taxa de brotação foi baixa. Certamente, porque o nível de ABA se manteve alto, mas principalmente porque não houve inibição na atividade da CAT, que pode ocorrer pela exposição ao frio ou pela aplicação de reguladores vegetais (AMBERGER, 1984; SHULMAN *et al.*, 1986). Isto leva ao aumento do nível de H₂O₂, o qual pode iniciar um processo de transdução de sinais, cujo resultado é o fim do estado de dormência das gemas, que em condições favoráveis inicia a brotação (PINTO *et al.*, 2008).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de trabalhos com plantas perenes cultivadas em ambiente controlado é um grande desafio, principalmente, quando envolve baixas temperaturas em regiões tropicais ou subtropicais, tornando este desafio ainda maior.

Talvez isto seja a razão da escassez de trabalhos desta natureza apresentados nas literaturas, visto que, a maioria dos trabalhos com frio em plantas de clima temperado fora de seu habitat natural é desenvolvida com ramos destacados que são mantidos em câmara fria. Isto não invalida, nem tão pouco, diminui a qualidade de seus resultados. Contudo, para obter informações dos processos desenvolvidos pela planta, ao longo de uma fase de desenvolvimento, resultante da ação de determinado tratamento, como é o caso do uso de baixas temperaturas e déficit hídrico, faz-se necessário a avaliação *in locu*.

Mas, para tanto, nem sempre é possível contrastar todas as situações necessárias, devido às limitações de infraestruturas, quando se trata de culturas perenes. Neste trabalho pôde-se observar a falta de um tratamento que estivesse associado tanto ao déficit hídrico quanto à baixa temperatura. Ficando impossibilitado de instalá-lo e,

consequentemente, avaliá-lo concomitantemente, devido à limitação na área da câmara fria. Ficando, aqui, essa sugestão para futuros trabalhos nesta linha.

São vários os trabalhos encontrados na literatura que tentam elucidar o processo de superação de dormência de gemas em plantas caducifólias, como é o caso das espécies do gênero *Vitis*. Sabe-se, portanto, que a exigência de uma determinada quantidade de horas de frio é necessário, sendo a videira, uma espécie menos exigente. Contudo, esta é uma espécie que vem sendo largamente cultivada em regiões de clima tropical, apesar dos problemas enfrentados devido à falta de um período de frio que promova a superação da dormência de suas gemas. Nestas regiões é comum o uso da deficiência hídrica a fim de minimizar este problema, contudo, o que tem melhor resultado é o uso da cianamida hidrogenada, que atua de fato na superação da dormência das gemas, diferentemente da deficiência hídrica, que não promove esta superação. A deficiência hídrica promove apenas, o repouso vegetativo às plantas, o qual assegura sua recuperação nutricional e, consequentemente, as transformações hormonais, para iniciar um novo ciclo.

Apesar de várias contribuições, como deste trabalho em especial, algumas perguntas ainda necessitam de respostas de como o peróxido de hidrogênio está envolvido neste mecanismo de transdução dos sinais para a superação da dormência das gemas? E se este mecanismo poderá ser eficientemente controlado através de manejos alternativos ao frio e a cianamida hidrogenada?

Neste processo de dormência de gemas, estudos com ecofisiologia molecular, que trata de análises de proteoma e transcrição gênica em plantas de videira sob condições de baixas temperaturas e déficit hídrico, faz-se necessário para melhor entender o mecanismo de dormência das gemas destas plantas.

Aqui seguem sugestões para futuros trabalhos que possam analisar também as fontes de reservas, sua distribuição e participação no processo de superação de dormência das gemas, visto que, alguns estudiosos julgam importante a reserva de aminoácidos, como a arginina, para a liberação e desenvolvimento das gemas.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que este trabalho foi desenvolvido, utilizando plantas de *Vitis vinifera* cv. Thompson Seedless, com aproximadamente dois anos de idade, cultivadas em vasos, sem porta-enxerto e conduzidas em ambiente climatizado, permite concluir que:

A deficiência hídrica, devido aos estresses que são produzidos nas plantas, promove uma série de limitações fisiológicas que influenciam nas respostas bioquímicas, porém não modifica o processo de dormência de suas gemas, não influenciando, conseqüentemente, na porcentagem de brotação das gemas, quando são fornecidas condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento das plantas.

Plantas que têm seu repouso vegetativo, acumulando pelo menos 411 horas com temperaturas abaixo de 10°C, além de apresentarem sérias restrições fisiológicas, com conseqüentes respostas bioquímicas, que reduz a atividade da catalase e aumenta o nível de peróxido de hidrogênio, promovem a superação da dormência de suas gemas.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, T. C. S. de; DECHEN, A. R. Absorção de macronutrientes por portas-enxerto e cultivares de videira em hidroponia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 135-139, jan./mar. 2000.

ALBUQUERQUE, T. C. S. Videira (*Vitis sp.*). In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (coords.). **Ecofisiologia de fruteiras: abacateiro, aceroleira, macieira, Pereira e videira**. Piracicaba: Agronômica Ceres. 2003. p. 93-119.

ALBUQUERQUE, T. C. S.; DECHEN, A. R.; CASTRO, P. R. C. Retardadores de crescimento e características nutricionais das cultivares de videira Thompson seedless e Itália. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57 n. 1, p. 45-53, jan./mar. 2000.

ALLEN, D. J.; ORT, D. R. Impacts of chilling temperature on photosynthesis in warm-climate plants. **Trends in Plant Science**. London, v. 6, p. 36-42. 2001.

ALSCHER, R. G.; DONAHUE, J. L.; CRAMER, C. L. Reative oxygen species and antioxidants: Relashionships in green cells. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 100, p. 224-233, 1997.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEALTH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.

AMBERGER, A. Uptake and metabolism of hydrogen cyanamide in plants. In: WEAVER, R. J., JONHOSON, J. O., WICKS, A. S. (Eds). **Proceeding of bud dormancy in grapevines: potential and pratical uses of hydrogene cyanamide on grapevines**. Davis: University of California, 1984. p. 5-10.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARAÚJO, J. L. P. **Cultivo da videira**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2004. (Sistemas de produção, 1). Disponível em:

<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira/custos.htm>
> Acesso em: 30 out. 2010.

ARAÚJO, S.; DEMINICIS, B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto alegre, v. 7, n. 4, p. 463-472, out./dez. 2009.

ARCHER, E.; STRAUSS, H. C. The effect of vine spacing on physiological aspects of *Vitis vinifera* L. (cv. Pinot Noir). **South African Journal for Enology and Viticulture**, Dennesig, v. 11, p. 76-87, 1990.

ARO, E.; MCCAFFERY, S.; ANDERSON, J. M. Photoinhibition and D1 protein degradation in Peas acclimated to different growth irradiances. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 103, p. 835-843, 1993.

ASADA, K. The role of ascorbate peroxidase and monodehydroascorbate reductase in H₂O₂ scavenging in plants. In: SCANDALIOS, J. G. (Ed.). **Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defences**. New York: Cold Spring Harbor, 1997. p. 715-35.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 601-639, 1999.

ASSIS, J. S. de; LIMA FILHO, J. M. P. Aspectos fisiológicos da videira irrigada. In: LEÃO, P. C. de S; SOARES, J. M., (Eds.). **A viticultura no semi-árido brasileiro**. Petrolina: EMBRAPA Semi-Árido, 2000. p. 129-142.

ÁVILA NETTO, J. et al. Exigência hídrica da videira na Região do Submédio São Francisco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, p. 1559-1566, 2000.

BAFEEL, S. O.; IBRAHIM, M. M. Antioxidants and Accumulation of α -tocopherol Induce chilling tolerance in *Medicago sativa*. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v. 10, n. 6, p. 593-598, 2008.

BAKER, N. R. Light-use efficiency and photoinhibition of photosynthesis in plants under environmental stress. In: SMITH, J. A. C.; GRIFFITHS, H. (Eds.). **Water deficits plant responses from cell to community**. Oxford: Bios Scientific Publishers, 1993. p. 221-235.

BERGONCI, J. I. et al. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 8, p. 1531-1540, ago. 2000.

BERNSTEIN, Z. L'amélioration de la régularité de debourrement dans les regions à hiver doux. **Bulletin de l'OIV**, Paris, v. 57, p. 480-488, 1984.

BERTAMINI, M. et al. Namachevayam Nedunchezian Low-night temperature increased the photoinhibition of photosynthesis in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 57, p. 25-31, 2006.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG-ADAMS, B. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion and dissipation in leaves of higher plants. In: SCHULZE, E.-D.; CALDWELL, M. M. (Eds.). **Ecophysiology of photosynthesis**. Berlin: Springer-Verlag, 1995. p. 17-47.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, p. 179-194, 2003.

BOTELHO. R. V.; PIRES, E. J. P.; TERRA, M. M. Desenvolvimento de gemas férteis em videira cv. Itália no Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 2, p. 297-306, 2006b.

BOTELHO. R. V.; PIRES, E. J. P.; TERRA, M. M. Fertilidade de gemas em videiras: fisiologia e fatores envolvidos. **Ambiência**, Guarapuava, v. 2, n. 1, p. 129-144, 2006a.

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

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Sciences**, London, v. 2, p. 48-54, 1997.

BROETTO. F. et al. Respostas bioquímicas durante a indução de estresse salino em plantas de pimentão cultivadas em sistema fertirrigado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 2, p. 290, jul. 2003. Suplemento 1.

BUTTROSE, M. S. Fruitfulness in grapevines: effect of waterstress. *Vitis*, Metz, v. 12, p. 299-305, 1974.

CAMARGO, U. A.; AMARAL, A. L.; OLIVEIRA, P. R. D. Uva sem sementes: uso da biotecnologia na busca de novas cultivares apirênicas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 2, n. 10, p. 108-112, 1999.

CAMARGO, U. A.; OLIVEIRA, P. R. D. Melhoramento genético. In: LEÃO, P. C. de S. (Ed.). **Uva de mesa: produção aspectos técnicos** Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 14-19. (Frutas do Brasil, 13).

CAMILI, E. C. **Ação de bioreguladores na brotação, produção e algumas características físico-químicas de uva do cultivar superior Seedless**. 2007. 206 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

CAMPOS, M. K. F. de. **Relações hídricas, trocas gasosas e atividade de enzimas antioxidantes em plantas transgênicas de citrumelo 'Swingle' com alto acúmulo de prolina submetidas ao déficit hídrico**. 2009. 114 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

CARVALHO, I. S. **Avaliação de stress oxidativo em bagos de videira (*vitis vinifera* L.) da casta 'trincadeira' em condições de stress hídrico**. 2009. 64 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônoma/Hortifruticultura e Viticultura)-Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. 650 p.

CERQUEIRA, R. C. et al. Índices fisiológicos e teor de peróxido de hidrogênio em cultivares de *vitis vinifera* L. sob estresse hídrico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21., 2010, Natal. **Anais...** Vitória da Conquista: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010. 1 CD-ROM.

CHADHA, K. L.; SHIKHAMANY, S. D. **The grape: improvement, production and postharvest management**. New Delhi: Malhotra, 1999. 579 p.

CHATTOPADHYAY, M. K. Low temperature and oxidative stress. **Current Science**, Karnataka, v. 83, n. 2, 25 July 2002. Correspondence.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt Stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, p. 551-560, 2009.

CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 30, p. 239-264, 2003.

CHAVES, M. M. et al. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. **Annals of Botany**, Oxford, v. 105, p. 661-676, 2010.

CHONÉ, X. et al. Stem water potential is sensitive indicator of grapevine water status. **Annals of Botany Company**, London, v. 87, p. 477-483, 2001.

CITADIN, I. **Ação do frio na mobilização das reservas amiláceas durante o período da dormência e conseqüências da falta de frio**. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/documentos/documento_165/workshop2/idemir_citadin.pdf> . Acesso em: 21 out. 2010.

CORREIA, M. J.; CHAVES, M. M. C., PEREIRA, J. S. Afternoon depression in photosynthesis in grapevine leaves: evidence for a high light stress effect. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, 41, p. 417-426, 1990.

COSTACURTA, A.; ROSELLI, G. Critères climatiques et edaphiques pour l'établissement des vignobles. **Bulletin de l'O.I.V.**, Paris, v. 53, n. 596, p. 783-786, 1980.

CRITCHLEY, P.; HARBAOUI, Y.; LEMEUR. In: RAGAVENDRA, A. S. **Photosynthesis: a comprehensive treatise**. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. p. 264-272.

CUEVAS, E.; BAEZA, P.; LISSARRAGUE, J. R. Variation in stomatal behavior and gas exchange between mid-morning and mid-afternoon of north-south oriented grapevines (*Vitis vinifera* L. cv Tempranillo) at different levels of soil water availability. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 108, p. 173-180, 2006.

CUNHA, A. R. et al. Classificação climática para o município de Botucatu, SP, segundo Koppen. In: SIMPÓSIO EM ENERGIA NA AGRICULTURA, 1., 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, FCA, 1999. v. 1, p. 487-490.

DALTON, T. P.; SHERTZER, H. G.; PUGA, A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 39, p. 67-101, 1999.

DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas. v. 18, p. 55-81, 2006.

DEL LONGO, O. T. et al. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 34, p. 1023-1028, 1993.

DESIKAN, R. et al. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 205-212, 2004.

DOKOOZLIAN, N. K.; WILLIAMS, L. E.; NEJA, R. A. Chilling exposure and hydrogen cyanamide interact in breaking dormancy of grape buds. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 6, p. 1244-1247, 1995.

DOUCE, R.; HELDT, H. W. Photorespiration. In: LEEGOOD, R. C.; SHARKEY, T. D.; VON CAEMMERER, S. (Eds.). **Photosynthesis: physiology and metabolism**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000. p. 115-136.

DOWNTON, W. J. S.; GRANT, W. J. R.; LOVEYS, B. R. Diurnal changes in the photosynthesis of field-grown grapevines. **New Phytologist**, Cambridge. v. 105, p. 71-80, 1987.

DOWTON, W. J. S.; LOVEYS, B. R.; GRANT, W. J. Nonuniform stomatal closure induced by water stress causes putative non-stomatal inhibition of photosynthesis. **New Phytologist**. Cambridge, v. 110, p. 503-509, 1988.

DRY, P. R. Canopy management for fruitfulness. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Glen Osmond, v. 6, n. 2, p. 109-115, 2000.

DRY, P. R.; LOVEYS, B. R. Factors influencing grapevine vigour and the potential for control with partial rootzone drying. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 4, p. 140-148, 1998.

DURING, H. Determination of the photosynthetic capacity of grapevine leaves. **Vitis**, Landau, v. 30, p. 49-56, 1991.

DURING, H.; ALLEWELDT, G. Der jahrengang abscisinsäure in vegetativen organen von reben. **Vitis**, Siebeldingen. v. 12, p. 26-32, 1973.

DÜRING, H.; LOVEYS, B. R. Stomatal patchiness of field-grown Sultana leaves: diurnal changes and light effects. **Vitis**, Siebeldingen, v. 35 n. 1, p. 7-10, 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

EMERSHAD, R. L.; RAMMING, D. W.; SERPE, M. D. In ovulo embryo development and plant formation from stenospermic genotypes of *Vitis vinifera* L. **American Journal of Botany**, New York, v. 76, p. 397-402, 1989.

EMMERSON, J. G.; POWELL, L. E. Endogenous abscisic acid in relation to rest and bud burst in three *Vitis* species. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 103, n. 5, p. 677-688, 1978.

EREZ, A. Means to compensate for insufficient chilling to improve bloom and leafing. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 395, p. 81-95, 1995.

EVANS, R. G. et al. Water use of *Vitis vinifera* grapes in Washington. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 23, p. 109-124, 1993.

FADZILLA, N. M. *et al.* Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. **Planta**, Heidelberg, v. 199, p. 552-556, 1996.

FAO. **Foostat agriculture dadta**: crops and crops processed: grape and wine. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 23 set 2010.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Boca Raton, v. 33, p. 317-345, 1982.

FEIERABEND, J.; SCHAAN, C.; HERTWIG, B. Photoinactivation of catalase occurs under both high and low temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, p. 1554-1561, 1992.

FLEXAS, J. et al. Analysis of the relative increase in photosynthetic o₂ uptake when photosynthesis in grapevine leaves is inhibited following low night temperatures and/or water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 121, p. 675-684, 1999.

FOYER, C. H.; LELANDAI, M.; KUNERT. K. J. Photooxidative stress in plants. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 92, p. 696-717, 1994.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 28, p. 1056-1071, 2005.

FREEMAN, B. M.; LEE, T. H.; TURKIGTON, C. R. Interaction of irrigation and pruning level on grape and wine quality of Shiraz vines. **American Journal Enology and Viticulture**, Reedley, v. 31, p. 124-135, 1980.

FREIRE, L. C. L.; ALBUQUERQUE, J. A. S. de; ALBUQUERQUE, T. C. S. de. Comportamento de uva 'Thompson Seedless' sobre diferentes porta-enxertos na região do Submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 129-133, 1991.

GALSTON, A. W.; DAVIES, P. J. **Mecanismo de controle no desenvolvimento vegetal**. São Paulo: Edgard Blucher, 1972. 171 p.

GAMON, J. A.; PEARCY, R. W. Photoinhibition in *Vitis californica*: interactive effects of sunlight, temperature and water status. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 13, p. 267-275, 1990.

GEMMA, H. Rest breaking in Delaware grape. **Acta Horticulture**, Leuven, v. 1, n. 395, p. 127-133, 1995.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K.; Superoxido dismutases. I: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Rockvile, v. 59, p. 309-314, 1977.

GIL, G. **Fruticultura**: la producción de fruta. Santiago: Ediciones Universidad Católica de Chile, 2000. 582 p.

GOMES, M. M. A. **Relações hídricas trocas gsoas e conteúdo de ácido abscísico e ácido 3-indolacético em laranjeiras 'Pêra' com clorose variegada dos citros**. 2001. 155 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)-Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. 13. ed. São Paulo: Nobel, 2007. 446 p.

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, Sidney, v. 32, p. 481-494, 2005.

GUY, C. L. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, p. 187-223, 1990.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 4th ed. Oxford: Clarendon Press, 2006. 272 p.

HELLMAN, E. W. Grapevine structure and function. In: HELLMAN, E. W. (Ed.). **Oregon viticulture**. Corvallis: Oregon State University Press, 2003. p. 5-19.

HENDRICKSON, L. et al. Assessment of photoprotection mechanisms of grapevine at low temperature. **Functional Plant Biology**, Sidiney, v. 30, p. 631-642, 2003.

HENDRICKSON, L. et al. Low temperature effects on photosynthesis and growth of grapevine. **Plant Cell and Environment**, London, v. 27, p. 795-805, 2004a.

HENDRICKSON, L.; CHOW, W. S. FURBANK, R. T. Low temperature effects on grapevine photosynthesis: the role of inorganic phosphate. **Functional Plant Biology**, Sidney, v. 31, p. 789-801, 2004b.

HENSON, I. E. Changes in abscisic acid content during stomatal closure in pearl millet (*Pennisetum americanum* L. Leeke). **Plant Science Letters**, Cambridge, v. 21, p. 121-127, 1981.

HIDALGO, L. **Poda de la vid**. 5. ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1999. 259 p.

HORIUCHI, S.; NAKAGAWA, S.; KATO, A. General characteristics of bud dormancy in the Vine. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Habikino, v. 50, p. 176-184, 1981.

HSIAO, T. C. Plant response to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 24, p. 519-570, 1973.

HUANG, M.; GUO, Z. Responses of antioxidative system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity. **Biologia Plantarum**, The Hague, v. 49, p. 81-84, 2005.

HUGLIN, P. **Biologie et ecologie de La vigne**. Lousane: Payot, 1986. 373 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Dados de produção de lavouras permanente nos estados no Brasil**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/default.php>>. Acesso em: 25 out. 2010.

ISHIKAWA, T. *et al.* Molecular characterization and physiological role of a glyoxysome-bound ascorbate peroxidase from spinach. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 39, p. 23-34, 1998.

JACOBS, C. M.; HURK, B. J. J. M. van den; BRUIN, H. A. R. de. Stomatal behaviour and photosynthetic rate of unstressed grapevines in semi-arid conditions. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 80, p. 111-134, 1996.

JENSEN, F.; BETTIGA, L. The effect of hydrogen cyanamide on bud break of Thompson Seedless, Emperor, and French Colombard. In.: INTERNATIONAL SEMINAR OF BUD DORMANCY IN GRAPEVINES: POTENCIAL AND PRACTICAL USES OF HYDROGEN CYANAMIDE ON GRAPEVINES, 1984, Davis. **Proceedings...** Davis: University of California, 1984. p. 15-16.

JONES, H. G. **Plant and microclimate**. Cambridge: Cambridge University Press, 1983. 323 p.

JONES, H. G. **Plants and microclimate**: a quantitative approach to environmental plant physiology. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 428 p.

JUBANY-MARIA, T. et al. The timing of methyl jasmonate, hydrogen peroxide and ascorbate accumulation during water deficit and subsequent recovery in the Mediterranean shrub *Cistus albidus* L. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 69 p. 47-55, 2010.

KAMINSKI, W; ROM, R. A possible role of catalase in the rest of peach *Prunus persica* Sieb. and Zucc. flower buds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 99, p. 84-86, 1974.

KAVANAGH, K. L; PANGLE, R; SCHOTZKO, A. D. Nocturnal transpiration causing disequilibrium between soil and stem predawn water potential in mixed conifer forests of Idaho. **Tree Physiology**, Victoria, v. 27, p. 621-629, 2007.

KAWAMATA, M. et al. Changes in the intensity of bud dormancy and internal compositions of current shoot in fig. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 71, p. 177-182, 2002.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 431 p.

KISHINO, A. Y.; CARAMORI, P. H. Fatores climáticos e o desenvolvimento da videira. In: KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. **Viticultura tropical**: o sistema de produção no Paraná. Londrina: IAPAR, 2007. cap. 3, p. 59-86.

KLIEWER, W. M.; SOLEIMANI, A. Effect of chilling on budbreak in 'Thompson Seedless' and 'Carignane' grapevines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 23, p. 31-34, 1972.

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 34, n. 5, p. 713-721, 1993.

KRIEDEMANN, P. E.; KLIOWER, W. M.; HARRIS, J. M. Leaf age and photosynthesis in *Vitis vinifera* L. **Vitis**, Siebeldingenv, v. 9, p. 97-104, 1970.

KURODA, H.; SUGIURA, T.; ITO, D. Changes in hydrogen peroxide content in flower buds of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) in relation to breaking of endodormancy. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 71, 610-616, 2002.

KUWABARA, T.; KATOH, Y. Involvement of the binuclear copper site in the proteolytic activity of polyphenol oxidase. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 40, p. 1029-1035, 1999.

LANG, G. A. et al. Endo, para and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. **HortScience**, Alexandria, v. 22, p. 371-377, 1987.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

LAVEE, S. Dormancy and break in warm climates; consideration of growth regulator involvement. **Acta Horticulturae**, Leiden, v. 34, p. 255-264, 1973.

LAVEE, S.; MAY, P. Dormancy of grapevine buds - facts and speculation. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Richmond, v. 3, p. 31-46, 1997.

LEÃO, P. C. de S. **Características da uva 'Thompson Seedless' no Vale do São Francisco**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2005. 8 p. (Comunicado técnico, 124).

LEÃO, P. C. S. **Variedades de uva de mesa e principais porta-enxertos para o Vale do São Francisco**. Petrolina: EMBRAPA, CPATSA, 2001. 12 p. (Circular técnica, 61).

LEÃO, P. C. S.; POSSÍDIO, E. L. Histórico da videira. In: LEÃO, P. C. S.; SOARES, J. M. (Eds.). **A viticultura no semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. p. 13-17.

LEÃO, P. C. S.; SILVA, E. E. G. Brotação e fertilidade de gemas em uvas sem sementes no Vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 375-378, 2003.

LEIPNER, J. **Chilling-induced photooxidative stress and Chilling-induced photooxidative stress and (*Zea mays* L.) leaves**. 1998. 115p. Thesis (Doctor in Natural Sciences)-Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Zurich, 1998.

LEONARDO, M. **Produção de óleo essencial associados à deficiência hídrica em plantas de *Ocimum basilicum* L. cv. genovese**. 2006. 112 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

LICHTENTHALER, H. K.; BURKART, S. Photosynthesis and high light stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 25, p. 3-16, 1999.

LIN, J. N.; KAO, C. H. Effect of oxidative stress caused by hydrogen peroxide on senescence of rice leaves. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 39, p. 161-165, 1998.

LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, Rockville, v. 127, p. 1781-1787. 2001.

LOVEYS, B. R. Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars III: the influence of xylem-derived abscisic acid on leaf gas exchange. **New Phytologist**, Cambridge, v. 98, p. 563-573, 1984.

LOVEYS, B. R. et al. Using plant physiology to improve the water use efficiency of horticultural crops. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 537, p. 187-199, 2000.

LOVEYS, B. R.; KRIEDEMANN, P. E. Rapid changes in abscisic acid-like inhibitors following alterations in vine leaf water potential. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 28, p. 476-479, 1973.

LOVEYS, B.; SOAR, C. **Improving water use efficiency, canopy structure and grape quality by better matching rootstock and scion physiology to irrigation practice**. Glen Osmond: Cooperative Research Centre for Viticulture, 2004. 74 p. Final report.

LOVISOLO, C.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, A. Whole-plant hydraulic conductance and root-to-shoot flow of abscisic acid are independently affected by water stress in grapevines. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 29, p. 1-8, 2002.

LUÍS, R. M. F. C. B. **Respostas de *Jatropha curcas* L. ao déficit hídrico: caracterização bioquímica e ecofisiológica**. 62 p. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônômica)-Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

MAJEROWICZ, N. et al. **Fisiologia vegetal: curso prático**. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 2003. 138 p.

MANDELLI, F. **Comportamento fenológico das principais cultivares de *Vitis vinifera* L. para a região de Bento Gonçalves, RS**, 1984. 125 f. Dissertação (Mestrado em Agrometeorologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1984.

MANDELLI, F. **Comportamento fenológico das principais cultivares de *Vitis vinifera* L. para a região de Bento Gonçalves, RS**, 1984. 125 p. Dissertação (Mestrado em Agrometeorologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1984.

MANICA, I.; POMMER, C. V. **Uva: do plantio a produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. 185 p.

MARTINS, L. L.; MOURATO, M. P. Alterações no metabolismo de plantas em meios contaminados por metais pesados: stresse oxidativo. **Revista Agros**, Lisboa, v. 8, 2008. 6 p.

MASHIMA, C. H. **Uva sem sementes**. Recife: SEBRAE, 2000. 51 p. (Agricultura, 14).

MATTHEWS, M. A.; ANDERSON, M. M. Reproductive development in grape (*Vitis vinifera* L.): responses to seasonal water deficits. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 40, p. 52-60, 1989.

MATTOS, E. A. Perspectives in comparative ecophysiology of some brazilian vegetation types: leaf CO₂ and H₂O gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence and carbon isotope discrimination. In: SCARANO, F. R.; FRANCO, A. C. (Eds.). **Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibius plants in the Neotropics**: oecologia brasiliensis. Rio de Janeiro: UFRJ, Instituto de Biologia, 1998. v. 4, p. 1-22.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 659-668, 2000.

MAY, P. **Flowering and fruit set in grapevines**. Adelaide: Lythrum, 2004.

MAZZITELLI, L. et al. Co-ordinated gene expression during phases of dormancy release in raspberry (*Rubus idaeus* L.) buds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p. 1035-1045, 2007.

MELLO, L. M. R. **Área e produção de uvas**: panorama mundial. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2009. Disponível em:
<<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/producaomundial.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2010.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2009**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. Disponível em
<<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/prodvit2009vf.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2010.

MITTLER R. et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, p. 490-498, 2004.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, p. 405-410, 2002.

MIYAKE, C.; ASADA, K. Thylakoid-Bound Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts and Photoreduction of Its Primary Oxidation Product Monodehydroascorbate Radicals in Thylakoids. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 33, n. 5, p. 541-553, 1992.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 58, p. 459-481, 2007.

MORRIS, J. R.; CAWTHON, D. L. Effect of ethephon on maturation and postharvest quality of 'Concord' grapes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 3, p. 293-295, 1981.

MULLINS, M. G.; BOUQUET, A.; WILLIAMS, L. E. **Biology of the grapevine**. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 239 p.

MUNNÉ-BOSCH, S.; JUBANY-MARI, T.; ALEGRE, L. Enhanced photo- and antioxidative protection, and hydrogen peroxide accumulation in drought-stressed *Cistus clusii* and *Cistus albidus* plants. **Tree Physiology**, Victoria, v. 23, p. 1-12, 2003.

NAOR, A. Relations between leaf and stem water potentials and stomatal conductance in three field-grown woody species. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Kent, v. 73, n. 4, p. 431-436, 1998.

NEILL S. J. et al. Nitric oxide as a mediator of abscisic acid signalling in guard cells. In: MAGALHÃES, J. R.; SINGH, R. P.; PASSOS, L. P. (Eds.). **Nitric oxide signalling in higher plants**. Houston: Science Tech, LCC, 2003.

NIR, G. et al. The involvement of catalase in the dormancy of grapevine buds. In: INTERNATIONAL SEMINAR OF BUD DORMANCY IN GRAPEVINES, 1984, Davis. **Potential and practical uses of hydrogen cyanamide on grapevines: proceedings...** Davis: University of California, 1984. p. 40-43.

NIR, G; SHULMAN, Y; FANBERSTEIN, L. LAVEE, S. Changes in the activity of catalase in relation to the dormancy of grape buds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 81, p. 1140-1142, 1986.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 249-79, 1998.

NORMAN, S. M.; POLING, S. M.; MAIER, V. P. An indirect enzymelinked immunosorbent assay for (+)-abscisic acid in *Citrus*, *Ricinus*, and *Xanthium* leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 36, p. 225-231. 1988.

O'KANE, D. et al. Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in *Arabidopsis thaliana* callus. **Planta**, Heidelberg, v. 198, p. 371-377, 1996.

OKUDA, T. et al. Abrupt increase in the level of hydrogen peroxide in leaves of winter wheat is caused by cold treatment. **Plant Physiology**, Rockville, v. 97, p. 1265-1267, 1991.

OLIVEIRA, A. C. de. **Impactos econômicos de irrigação sobre o pólo Petrolina-Juazeiro**. Recife: UFPE-PIMES; CODEVASF, 1990. 32 p.

OLLAT, N. Synthèse des résultats d'écophysiologie liés à la conduite du vignoble. **GESCO**, Bordeaux, n. 4, p. 66-79, 1989.

OR, E. et al. The transduction of the signal for grape bud dormancy breaking induced by hydrogen cyanamide may involve the SNF-like protein kinase GDBRPK. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 43, p. 483-494, 2000.

ORT, D. R.; BAKER, N. R. A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, p. 193-198, 2002.

OSÓRIO, M. L. et al. Limitations to carbon assimilation by mild drought in nectarine trees growing under field conditions. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 235-247, 2006.

OTTANDER, C. et al. Photosystem II reaction centers stay intact during low temperature photoinhibition. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 35, p. 191-200. 1993.

PASTORI, G.; FOYER, C.; MULLINEAUX, P. Low temperature-induced changes in the distribution of H₂O₂ and antioxidants between the bundle sheath and mesophyll cells of maize leaves. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 107-113, 2000.

PATAKAS, A.; KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS A. M. The relationships between CO₂ transfer mesophyll resistance and photosynthetic efficiency in grapevine cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 97, p. 255-263, 2003.

PATAKAS, A.; NOITSAKIS, B.; CHOUZOURI, A. Optimization of irrigation water use in grapevines using the relationship between transpiration and plant water status. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. Amsterdam, v. 106, p. 253-259, 2005.

PATTERSON, B. D. et al. An inhibitor of catalase induced by cold in chilling-sensitive plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 76, p. 1014-1018, 1984.

PEDRO JUNIOR, M. J.; SENTELHAS, P. C. Clima e produção. In: POMMER, V. C. (Coord.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. 778 p.

PEI, Z. M. et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. **Nature**, London, v. 406, p. 731-734, 2000.

PEIXOTO, P. H. P. *et al.* Aluminum effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Vicosa, MG, v. 11, n. 3, p. 137-43, 1999.

PEREIRA, J. M. M. **Caracterização fisiológica e agrônômica de diferentes estratégias culturais para minimizar o stress estival em *vitis vinifera* L. na região demarcada do Douro**. 2000. 262p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola)-Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2000.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia fundamentos e aplicações**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 478 p.

PEREIRA, J. S.; M. M. CHAVES. Plant water deficits in Mediterranean ecosystems. In: SMITH, A. C.; GRIFFITHS, H. (Eds.). **Water deficits: plant responses from cell to community**. Oxford: Bios Scientific, 1993. p. 237-251.

PÉREZ DE JUAN, J.; IRIGOYEN, J. J.; SANCHEZ-DIAS, M. Chilling of drought-hardened and non-hardened plants of differing chilling-sensitive maize lines: changes in water relations and ABA contents. **Plant Science**, Limerick, v. 122, p. 71-79, 1997.

PÉREZ, F. J.; LIRA, W. Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, n. 162, p. 301-308, 2005.

PERL-TREVES, R.; PERL, A. Oxidative stress: an introduction. In: VAN MONTAGU, M.; INZE, D. (Eds.). **Oxidative stress in plants**. New York: Taylor and Francis Books, 2002. p. 1-32.

PINTO, M. et al. Fisiologia de la latência de lãs yemas de vid: hipótesis actuales. In: UVAS rústicas de mesa: cultivo e processamento em regiões tropicais. Jales: [s.e.], 2008. p. 136-158.

PIRES, E. J. P.; BOTELHO, R. V. Uso de reguladores vegetais na cultura da videira. In: Cultura de uvas de mesa: do plantio à comercialização. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE UVAS DE MESA, 2000, Ilha Solteira. **Anais...** Ilha Solteira: [s.e.], 2001. p. 129-147.

PIRES, E. J. P.; BOTELHO, R. V.; TERRA, M. M. Efeito do CPPU e do ácido giberélico nas características dos cachos da uva de mesa 'Centennial Seedless'. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 305-311, 2003.

PIRES, E. J. P.; MARTINS, F. P. Técnicas de cultivo In: POMMER, C. V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. v. 1, p. 351-403.

PIRES, E. J. P.; POMMER, C. V. Fisiologia da videira. In: POMMER, C. V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. v. 1, p. 250-294.

PITZSCHKE, A.; FORZANI, C.; HIRT, H. Reactive oxygen species signaling in plants. **Antioxidants and Redox Signaling**, New Rochelle, v. 8, p. 1757-1764, 2006.

POMMER, C. V.; MAIA, M. L. Introdução. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 11-35.

POMMER, C. V.; TERRA, M. M.; PIRES, E. J. P. Cultivares, melhoramento e fisiologia. In: **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 109-204.

POUGET, R. Le débourrement des bourgeons de la Vigne: méthode de prévision et principes d'établissement d'une échelle de précocité de débourrement. **Connaissance de la Vigne et du Vin**, Bordeaux, v. 22, p. 105-123, 1988.

POWELL, L. E. Hormonal aspects of bud and seed dormancy in temperature zone woody plants. **Horticultural Science**, Budapest, v. 22, p. 845-850, 1987.

PRASAD, T. K. et al. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **Plant Cell**, Rockville, v. 6, n. 1, p. 65-74, 1994.

PRIESTLEY, C. A. Carbohydrate resources within the perennial plant. **Commonwealth Agricultural Bureaux**, Farnham Royal, v. 62, n. 1, p. 117-118, 1963.

RADIN, J. W.; ACKERSON, R. C. Does abscisic acid control stomatal closure during water stress? **What's New in Plant Physiology**, Malden, v. 13, p. 9-12, 1982.

RAIJ, B. van et al. Recomendacoes de adubacao e calagem para o estado de São Paulo. **Boletim Técnico Instituto Agrônômico de Campinas**, Campinas, n. 100, 1996. 2. ed. 285 p.

RASCHKE, K. Simultaneous requirement of carbon dioxide and abscisic acid for stomatal closing in *Xanthium strumarium* L. **Planta**, Heidelberg, v. 125, p. 243-259, 1975.

REGINA, M. de A.; CARBONNEAU, A. Trocas gasosas em *Vitis vinifera* sob regime de estresse hídrico I: caracterização do comportamento varietal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n. 12, p. 869-876, dez. 1996.

REGINA, M.; CARBONNEAU, A. Trocas gasosa em *Vitis vinifera* sob regime de estresse hídrico III. Ácido abscísico e comportamento varietal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, n. 6, p. 36-42, 1997.

REYNIER, A. **Manual de viticultura**. 3. ed. Mem-Martins: Publicações Europa-América, 1986. 424 p.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, London, v. 2, p. 152-159, 1997.

RICHARDS, L. A. A pressure: membrane extraction apparatus for soil solution. **Soil Science**, Baltimore, v. 51, p. 377-386, 1941.

RICOUARD, N.; BROQUEDIS, M; BOUARD, J. Abscisic acid and putrecine contents in buds at different stages of grafted vine multiplication. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, Bordeaux, v. 28, p. 293-302, 1994.

RIVES, M. Vigour, pruning cropping in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). I: a literature review. **Agronomie**, Paris, n. 20, p. 79-91, 2000.

RODRIGUES, A. **Desenvolvimento da videira 'Italia' em clima tropical de altitude**. 2009. 96 p. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

ROITSCH, T. Source-sink regulation by sugar and stress. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 2, p. 198-206, 1999.

ROS BARCELÓ, A. et al. Peroxidase: a multifunctional enzyme in grapevines. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 30, p. 577-591, 2003.

SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide treatment in tolerant and susceptible wheat genotypes. **Biologia Plantarum**, The Hague, v. 43, p. 381-386, 2000.

SALA, J. M. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 13, p. 255-261, 1998.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Fisiologia vegetal**. México: Iberoamérica, 1994. 759 p.

SANTOS, R. N. et al. Influência de doses e épocas de aplicação de ácido giberélico sobre o desenvolvimento do traço de semente em uva apirênica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 9., 2003, Atibaia. Fisiologia vegetal: novas abordagens para antigos problemas: resumos... In: **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Atibaia, v. 15, 2003. 191 p. Suplemento.

SAURE, M. Dormancy release in deciduous fruit trees. **Horticultural Reviews**, Hoboken, v. 7, p. 239-300, 1985.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SCARPARE, F. V. **Determinação de índices biometeorológicos da videira 'Niagara Rosada' (*Vitis labrusca* L.) podadas em diferentes épocas e fases do ciclo vegetativo**. 2007. 75 p. Dissertação (Mestrado em Física do Ambiente Agrícola)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SHELLER, H. V.; HALDRUP, A. Photoinhibition of photosystem I. **Planta**, Heidelberg, v. 221, p. 5-8, 2005.

SCHROEDER, J. I. et al. Guard cell signal transduction. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 52, p. 627-658, 2001.

SEELEY, S. D.; POWELL, L. E. Seasonal changes of free and hydrolysable abscisic acid in vegetative apple buds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, p. 405-409, 1981.

SHOLANDER, P. F. et al. Sap pressure in vascular plants. **Science**, Cambridge, v. 148, p. 339-346, 1965.

SHULMAN, Y.; NIR, G.; LAVEE, S. Oxidative processes in bud dormancy and the use of hydrogen cyanamide in breaking dormancy. **Acta Horticulturae**, Leiden, v. 179, p. 141-148, 1986.

SMART, R. E.; COOMBE, B. G. Water relations of grapevines. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Water deficits and plant growth**. New York: Academic Press, 1983. v. 7, p. 137-196.

SOFO, A. et al. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 32, p. 45-53, 2005.

SOUSA, J. S. I. de. **Uvas para o Brasil**. 2. ed. rev. atual. Piracicaba: FEALQ, 1996. 791 p.

SOUZA, C. R. de; SOARES, A. M.; REGINA, M. A. Trocas gasosas de mudas de videira, obtidas por dois porta-enxertos, submetidos à deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 10, p. 1221-1230, 2001.

SOUZA, C. R. et al. Control of stomatal aperture and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 106, p. 261-274, 2005.

SPOLEN, W. G. et al. Regulation of cell expansion in roots and shoots at low water potentials. In: SMITH, J. A. C.; GRIFFITHS, H. (Eds.). **Water deficits: plant responses from cell to community**. Oxford: Bios Scientific, 1993. p. 37-52.

STEPONKUS, P. L. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. **Annual Review Plant Physiology**, Palo Alto, v. 35, p. 543-584. 1984.

STOLL, M.; LOVEYS, B.; DRY, P. Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 350, p. 1627-1634, 2000.

STOUT, A. B. **Seedlessness in grapes**. New York: Agricultural Experiment Station, 1936. 68 p. (Technical bulletin, 238).

SUHITA, D. et al. Cytoplasmic alkalinization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid-induced stomatal closure. **Plant Physiology**, Rockville, v. 134, p. 1536-1545, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 719 p.

TAKAMI, T. K.; TANABE, K.; HAYASHI, S. Relationship of bud dormancy and endogenous growth regulators, especially ABA, in Japanese pear. **Abstract of Spring Meeting of Japanese Society for Horticultural**, p. 144-145.

TAMURA, F.; TANABE, K.; IKEDA, T. Relationship between intensity of bud dormancy and level of ABA in Japanese pear 'Nijisseiki'. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 62, p. 75-81, 1993.

TARDIEU, F.; DAVIES, W. J. Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 16, p. 341-349, 1993.

TEIXEIRA, A. E. de C.; ANJOS, J. B. Clima e solo. In: LEÃO, P. C. de S. (Ed.). **Uva de mesa: produção aspectos técnicos**. Petrolina: Embrapa, Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 20-25. (Frutas do Brasil, 13).

THOBE, M. et al. Roles of ACC and glutathione during breaking of dormancy in grapevine buds by high temperature treatment. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, n. 67 v. 6, p. 897-901, 1998.

TSANG, E. W. T. et al. Differential regulation of superoxide dismutases in plants exposed to environmental stress. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, p. 783-92, 1991.

VIEIRA, A. J. D. et al. Crescimento de ramos de *Vitis vinifera* L. cv. Thompson seedless em Jales, São Paulo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 7, n. 1, p. 45-52, 1999.

VILELA, B. J. et al. Gain of function of stomatal movements in rooting *Vitis vinifera* L. plants: regulation by H₂O₂ is independent of ABA before the protruding of roots. **Plant Cell Reports**, Secaucus, v. 26, p. 2149-2157, 2007.

VRANOVÁ, E.; INZÉ, D.; VAN BREUSEGEM, F. Signal transduction during oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1227-1236. 2002.

WALTON, D. C.; GALSON, E.; HARRISON, M. A. The relationship between stomatal resistance and abscisic acid levels in leaves of water stressed plants. **Planta**, Heidelberg, v. 133, p. 183-189, 1977.

WALTON, D. C. Biochemistry and physiology of abscisic acid. **Annual Review Plant Physiology**, Palo Alto, v. 31, p. 453-489, 1980.

WESTPHALEN, S. L. Bases ecológicas para determinação de regiões de maior aptidão vitivinícola no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE LA UVA Y DEL VINO, 1976, Montevideo. **Annales...** Montevideo: Laboratorio Tecnológico, 1977. p. 89-101. (Cuaderno técnico, 38).

WILKINSON, S.; CLEPHAN, A. L.; DAVIES, W. J. Rapid low temperature-induced stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold-sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 126, 1566-1578. 2001.

WILKINSON, S.; DAVIES, W. J. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 195-210, 2002.

WILLIAMS, L. E.; ARAUJO, F. J. Correlations among predawn leaf, midday stem water potential and their correlations with other measures of soil and plant water status in *Vitis vinifera*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 127 n. 3, p. 448-454, 2002.

WILLIAMS, L. E.; MATTHEWS, M. A. Grapevine. In: STEWART, B. J.; NIELSEN, D. R. (Eds.). **Irrigation of agricultural crops**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 1990. p. 1019-1055. (Agronomy monographs, n. 30).

WINKLER, A. J. **Viticultura**. México: Compañía Editorial Continental, 1970. 792 p.

WRIGHT, A. H. et al. The relationship between water status and chlorophyll a fluorescence in grapes (*Vitis* spp.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 193-199, 2009.

YANG T.; POOVAIAH B. W. Hydrogen peroxide homeostasis: activation of plant catalase by calcium/calmodulin. **PNAS**, Washington, DC, v. 99, p. 4097-4100, 2002.

ZELLEKE, A.; KLIEWER, W. M. The effects of hydrogen cyanamide on enhancing the time and amount of budbreak in young grape vineyards. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 40, n. 1, p. 47-51, 1989.

ZHANG, J.; DAVIES, W. J. Antitranspirant activity in the xylem sap of maize plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, p. 317-321, 1991.

ZHANG, Y. et al. Adaptation of cucurbit species to changes in substrate temperature: Root growth, antioxidants, and peroxidation. **Journal of Plant Biology**, Korea, v. 50, n. 5, p. 527-532, 2007.

ZHOU, Y. et al. Chill-induced decrease in capacity of RuBP carboxylation and associated H₂O₂ accumulation in cucumber leaves are alleviated by grafting onto figleaf gourd. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, p. 839-848, 2007.

ZHOU, Y. et al. Chill-induced decrease in capacity of RuBP carboxylation and associated H₂O₂ accumulation in cucumber leaves are alleviated by grafting onto figleaf gourd. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, p. 839-848, 2007.

ZULUAGA , P. A. et al. **Ecología de la vid en la República Argentina**. Mendoza: Instituto de Viticultura, 1971.149 p. (Boletim especial, 166).

APÊNDICES

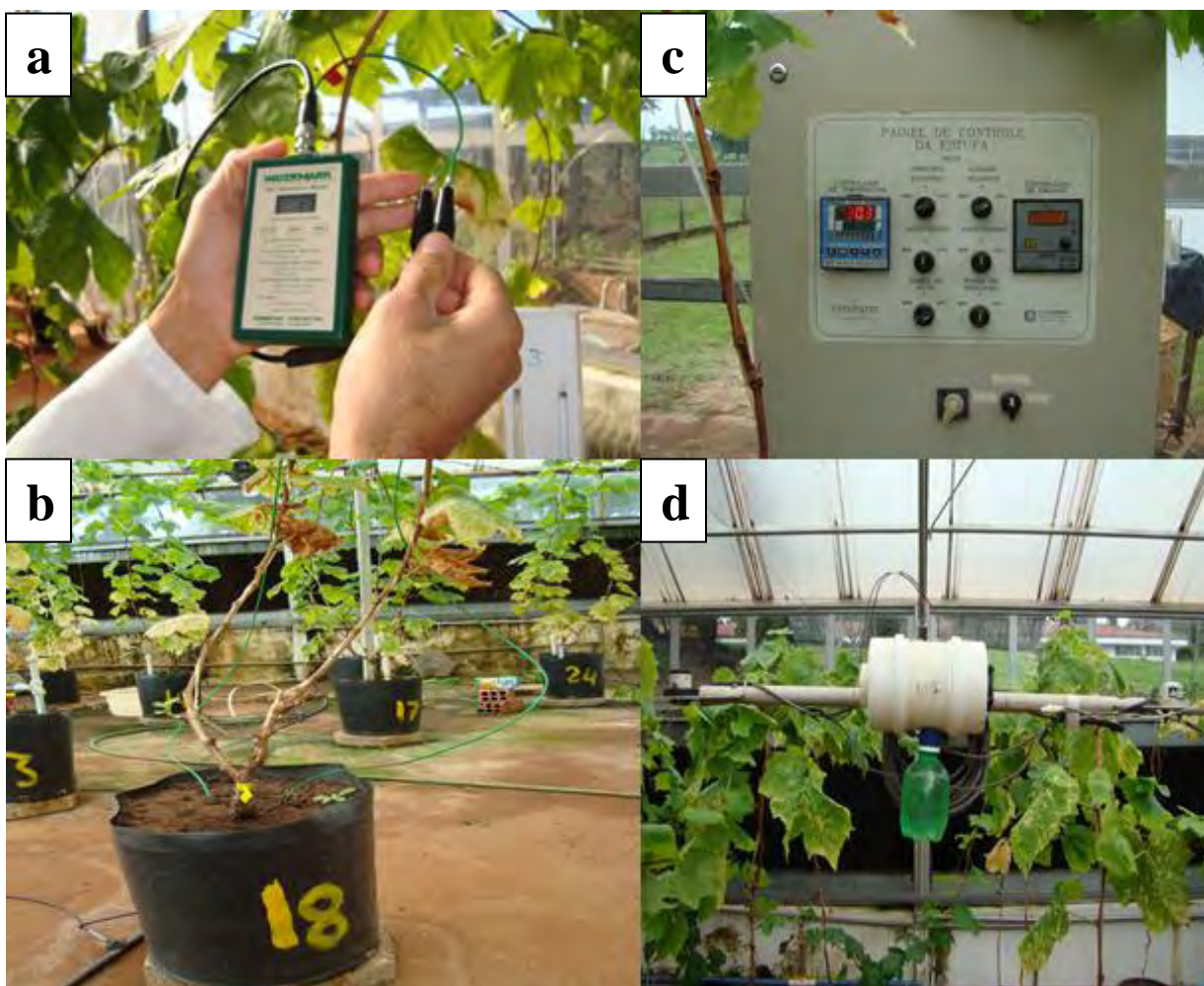


Figura 1. Equipamentos usados no monitoramento de umidade do solo (a e b), umidade e temperatura da casa de vegetação (c e d). FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

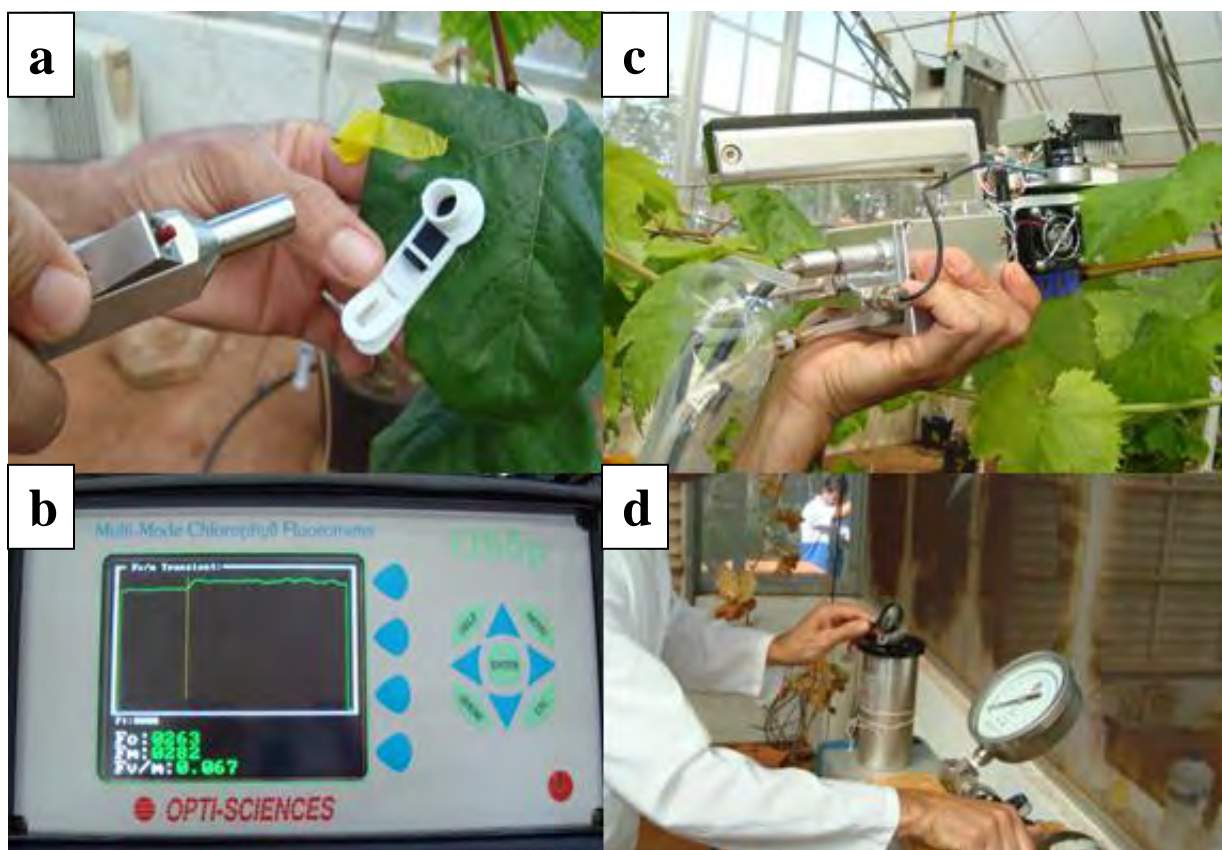


Figura 2. Fluorômetro (a e b) usado para avaliar a fluorescência da clorofila a, IRGA (c) usado para mensurar as trocas gasosas e câmara de pressão (d) utilizada para mensurar o potencial hídrico da folha. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.

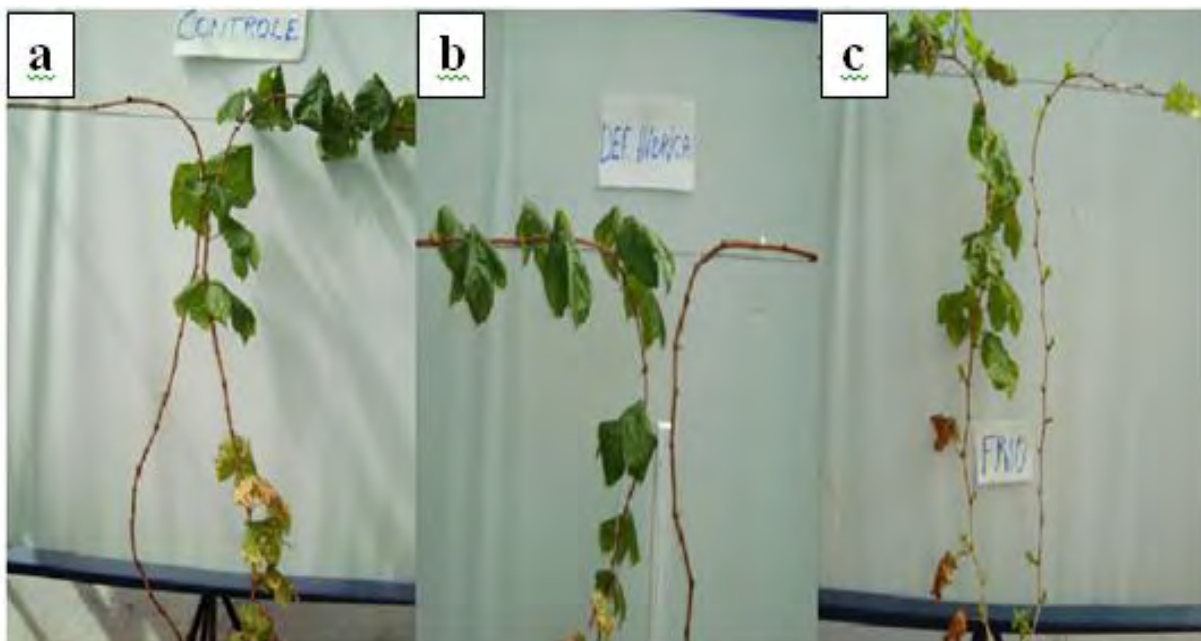


Figura 3. Plantas do controle (a), dos tratamentos com deficiência hídrica (b) e por frio (c) após 45 dias sob os tratamentos, destacando-se o tratamento por frio com maior número de brotos por ramo. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2009.