

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELY PINTO PEREIRA

**FISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DA DORMÊNCIA DE GEMAS DE CAQUIZEIRO  
'FUYU'**

CURITIBA

2017

GABRIELY PINTO PEREIRA

**FISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DA DORMÊNCIA DE GEMAS DE CAQUIZEIRO  
'FUYU'**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Zanette  
Co-Orientadores: Prof. Dr. Luiz Antonio Biasi e Prof. Dr. Ruy Inacio Neiva de Carvalho

CURITIBA

2017

P436 Pereira, Gabriely Pinto

Fisiologia e bioquímica da dormência de gemas de caquizeiro  
Fuyu / Gabriely Pinto Pereira. Curitiba: 2017.  
100 f. il.

Orientador: Flávio Zanette

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.  
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação  
em Agronomia – Produção Vegetal.

1. Caqui. 2. Dormência em plantas. 3. Fisiologia vegetal.  
I. Zanette, Flávio. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de  
Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia –  
Produção Vegetal. III. Título.

CDU 634.45:581.54



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
Setor CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL)

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **GABRIELY PINTO PEREIRA** intitulada: **FISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DA DORMÊNCIA DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU'**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

Curitiba, 20 de Fevereiro de 2017.

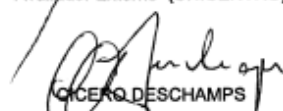


FLAVIO ZANETTE

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



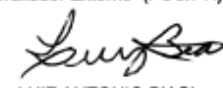
RENATO VASCONCELOS BOTELHO  
Avaliador Externo (UNICENTRO)



CICERO DESCHAMPS  
Avaliador Interno (UFPR)



RUY INÁCIO NEIVA DE CARVALHO  
Avaliador Externo (PUC/PR)



LUIZ ANTONIO BIASI  
Avaliador Interno (UFPR)

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por me conceder a vida, saúde e sempre iluminar meus passos!

Aos meus pais Gilda e Geraldo e ao meu irmão Guilherme que, mesmo estando longe, sempre se fazem presentes apoiando meus sonhos!

Ao meu namorado Felipe pela ajuda nas coletas a campo, nas instalações de experimento e análises, por toda a amizade, companheirismo e compreensão desde o primeiro ano de doutorado!

Ao professor Flávio Zanette pela orientação na execução desta tese e por compartilhar suas experiências profissionais!

Aos professores Ruy Inacio Neiva de Carvalho e Luiz Antonio Biasi por aceitarem participar da comissão de orientação, pelo auxílio e contribuições!

Ao professor Cicero Deschamps por disponibilizar a utilização do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal para análises bioquímicas e pela participação no exame de qualificação!

Ao professor Renato Vasconcelos Botelho por disponibilizar a utilização do Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças e reagentes para as análises enzimáticas!

À Aline pela amizade e ajuda durante as análises enzimáticas e à sua família pelo carinho e acolhimento!

Aos professores Lucimeres, Lino, Larissa e Francine pela disponibilização de equipamentos para a realização do trabalho!

À Beti e família pela amizade e por sempre nos receberem com carinho e por permitirem a coleta de ramos no Sítio São Marcos!

Aos funcionários da Universidade Lucimara, Carlos, Maria Emília, Edson, Virgínea, Josélia, Valdete e Irena que sempre estavam dispostos a ajudar!

Aos amigos Lais, Valdeci, Ollyver e Tuany pela ajuda nas coletas a campo!

À Embrapa Florestas, em especial à pesquisadora Juliana Degenhardt Goldbach, por disponibilizar o Laboratório de Biologia Molecular e reagentes para a realização de análises moleculares, que não foram acrescentadas na tese!

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade!

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos!

A todos que de alguma forma ajudaram no desenvolvimento deste trabalho!

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a temperatura efetiva para superação da dormência e os processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na dormência de gemas de caqui cv. Fuyu. Amostras de ramos foram coletadas em Campina Grande do Sul, Paraná, Brasil. Foram realizados dois experimentos, sendo a dormência das gemas avaliada pelo teste biológico de estacas de nós isolados, a 25 °C e fotoperíodo de 16 h. O primeiro experimento, que objetivou determinar a temperatura efetiva para a brotação, foi realizado com ramos coletados em três datas em 2013 e 2014. Os ramos foram mantidos em quatro temperaturas constantes de 3, 6, 9 e 12 °C em câmara de crescimento (BOD). Para cada temperatura, foram estudadas cinco quantidades de horas de frio (HF) adicionais (0, 240, 384, 528 e 672 HF). No segundo experimento, que objetivou determinar alterações fisiológicas e bioquímicas nas gemas, ramos foram coletados entre março e agosto de 2015. Em cada data de coleta foram separadas gemas para avaliação da umidade ponderal, açúcares redutores, atividade respiratória, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e peroxidação lipídica. Quando as plantas estavam na transição da paradormência para endodormência, a manutenção dos ramos em temperaturas frias de 3, 6, 9 e 12 °C induziu a endodormência das gemas. As temperaturas de 3 e 6 °C foram mais eficientes para a superação da dormência que 9 e 12 °C quando as gemas estavam na transição da paradormência para endodormência. Quando as gemas estavam endodormentes, as temperaturas de 3, 6, 9 e 12 °C são efetivas para a superação da dormência. A temperatura de 12 °C é capaz de induzir e superar a dormência, porém mais lentamente, necessitando de maior número de horas de frio. No final de março de 2015 as plantas já estavam dormentes, as folhas e frutos presentes sugerem efeito de paradormência. A indução da endodormência pode ter ocorrido em junho de 2015, quando iniciou o acúmulo de HF abaixo de 7,2 °C e maior acúmulo de HF abaixo de 12 °C, que induziram a diminuição da umidade e da atividade respiratória, aumento dos açúcares redutores, diminuição da atividade da SOD, CAT, APX e PPO e aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Após acúmulo de 553 HF abaixo de 12 °C em agosto de 2015, a capacidade de brotação aumentou, as gemas apresentaram aumento da umidade, diminuição do teor de açúcares redutores, aumento da atividade respiratória, baixa atividade da SOD, CAT, APX e POD e elevados teores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Palavras-chave: *Diospyros kaki*. Paradormência. Endodormência. Horas de frio. Atividade metabólica. Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

The present work had as objective to evaluate the effective temperature to overcome the dormancy and the physiological and biochemical processes involved in the bud dormancy of persimmon cv. Fuyu. Samples of branches were collected in Campina Grande do Sul, Paraná, Brazil. Two experiments were realized, and bud dormancy was evaluated the biological test of single node cutting isolated, at 25 °C and photoperiod of 16 h. The first experiment, which aimed to determine the effective temperature for budburst, was realized with branches collected at three dates in 2013 and 2014. The branches were maintained at four constant temperatures of 3, 6, 9 and 12 °C in a growth chamber (GC). For each temperature, five additional cold hours (CH) (0, 240, 384, 528 and 672 CH) were studied. In the second experiment, which aimed to determine physiological and biochemical changes in the buds, branches were collected between March and August, 2015. At each collection date, buds were separated to evaluate the water content, reducing sugars, respiratory activity, enzyme activity superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and lipid peroxidation. When the plants were in the transition from paradormancy to endodormancy the maintenance of the branches in cold temperatures of 3, 6, 9 and 12 °C induced the bud endodormancy. Temperatures of 3 and 6 °C were more efficient to overcome dormancy than 9 and 12 °C when the buds were in transition from paradormancy to endodormancy. When the buds were in endodormancy, temperatures of 3, 6, 9 and 12 °C were effective for overcoming bud dormancy. Temperature of 12 °C is able to induce and overcome dormancy, but more slowly, requiring more cold hours. At the end of March 2015, the plants were already dormant, the leaves and fruits present suggest paradormancy effect. Induction of endodormancy may have occurred in June 2015, when the accumulation of CH below 7.2 °C and higher CH below 12 °C, which induced decrease in water content and respiratory activity, increase reducing sugars, decrease of SOD, CAT, APX and PPO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increase. After accumulation of 553 CH below 12 °C in August 2015, budburst capacity increased, the buds showed increase water content, decrease reducing sugars, increase respiratory activity, low activity of SOD, CAT, APX and POD and high H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contents.

Key-words: *Diospyros kaki*. Paradormancy. Endodormancy. Cold hours. Metabolic activity. Oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PRODUÇÃO MUNDIAL DE CAQUI DE 1961 A 2012. ....	15
FIGURA 2 - PRODUÇÃO (t) E ÁREA PLANTADA DE CAQUI NO BRASIL DE 1961 A 2012.....	16
FIGURA 3 – ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E CAMINHOS DE CONVERSÃO EM PLANTAS (ADAPTADO DE BAKER E ORLANDI, 1995). ....	23
FIGURA 4 - TEMPERATURA MÉDIA DIÁRIA E FOTOPERÍODO REGISTRADOS NO PERÍODO DE MAIO A JULHO DE 2013 E 2014, NA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, EM PINHAIS, PARANÁ.....	35
FIGURA 5 - TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO FUYU EM ABRIL, JUNHO E JULHO EM 2013 E 2014.	43
FIGURA 6 – ESTACAS DE CAQUIZEIRO MANTIDAS EM VASOS COM VERMICULITA E EM SACOS DE POLIETILENO EM SALA DE CRESCIMENTO.....	53
FIGURA 7 – GEMA DORMENTE DE CAQUIZEIRO (BARRA = 2 mm) (A), CORTE LONGITUDINAL DA GEMA (B), GEMAS EM SOLUÇÃO DE TETRAZÓLIO (C), GEMA APÓS DUAS HORAS EM SOLUÇÃO DE TETRAZÓLIO (D), GEMAS EM SOLUÇÃO DE ÁLCOOL ETÍLICO (E) E ÁLCOOL ETÍLICO ANTES E APÓS UMA HORA EM CONTATO COM GEMAS QUE FORAM MANTIDAS EM SOLUÇÃO DE TETRAZÓLIO (F).....	55
FIGURA 8 – MACERAÇÃO DAS GEMAS DE CAQUIZEIRO (A), HOMOGENATO CONTENDO GEMAS MACERADAS E TAMPÃO FOSFATO DE POTÁSSIO (B), HOMOGENATO MANTIDO EM GELO ANTES DA CENTRIFUGAÇÃO (C), HOMOGENATO APÓS CENTRIFUGAÇÃO (D) E EXTRATO ENZIMÁTICO (E). ....	56
FIGURA 9 - TEMPERATURAS MÁXIMA E MÍNIMA DIÁRIAS REGISTRADAS NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015 NA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, LOCALIZADA EM PINHAIS, PARANÁ. ....	61
FIGURA 10 - TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO	

DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ. ....	62
FIGURA 11 - UMIDADE PONDERAL DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.....	64
FIGURA 12 - TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES EM GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.....	67
FIGURA 13 - ATIVIDADE RESPIRATÓRIA (ABSORBÂNCIA) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.....	69
FIGURA 14 - ATIVIDADE DAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASE (A), CATALASE (B), GUAIACOL PEROXIDASE (C), ASCORBATO PEROXIDASE (D) E POLIFENOLOXIDASE (E) E TEOR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (F) EM GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.....	72
FIGURA 15 – PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.....	75

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM ABRIL DE 2013. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ. ....	34
TABELA 2 - HORAS DE FRIO ABAIXO OU IGUAIS A 7,2 °C E 12 °C E UNIDADES DE FRIO, CALCULADAS PELO MODELO CAROLINA DO NORTE MODIFICADO, REGISTRADAS PELA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, EM PINHAIS, PARANÁ. ....	35
TABELA 3 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM JUNHO DE 2013. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ. ....	37
TABELA 4 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM JULHO DE 2013. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ. ....	38
TABELA 5 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM ABRIL DE 2014. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ. ....	39
TABELA 6 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM JUNHO DE 2014. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ. ....	41
TABELA 7 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM JULHO DE 2014. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ. ....	42
TABELA 8 - HORAS DE FRIO ABAIXO OU IGUAIS A 7,2°C E 12°C REGISTRADAS NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015 NA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, LOCALIZADA EM PINHAIS, PARANÁ. ....	62

TABELA 9 – COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON PARA TEMPERATURA MÁXIMA (T. MÁX.) E MÍNIMA (T. MÍN.) DIÁRIA ENTRE DATAS DE COLETA, HORAS DE FRIO (HF) ABAIXO OU IGUAIS A 7,2 °C E 12 °C ACUMULADAS, TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB), TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF), UMIDADE PONDERAL (UP), TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES (AR), ATIVIDADE RESPIRATÓRIA (RESP), ATIVIDADE DAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD), CATALASE (CAT), GUAIACOL PEROXIDASE (POD), ASCORBATO PEROXIDASE (APX) E POLIFENOLOXIDASE (PPO), TEOR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (PL) EM GEMAS DE CAQUIZEIRO ‘FUYU’ NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.....	76
---	----

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1	CAQUIZEIRO .....	15
2.2	DORMÊNCIA DE GEMAS.....	17
2.2.1	Exigência em frio e modelos de quantificação do frio.....	18
2.2.2	Dinâmica da água nas gemas durante a dormência.....	19
2.2.3	Dinâmica de carboidratos nas gemas durante a dormência.....	20
2.2.4	Estresse oxidativo nas gemas .....	22
2.2.5	Superação artificial da dormência.....	26
2.2.6	Avaliação da dormência .....	27
<b>3</b>	<b>TEMPERATURA EFETIVA PARA A SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE GEMAS DE CAQUIZEIRO CV. FUYU .....</b>	<b>29</b>
3.1	INTRODUÇÃO.....	30
3.2	MATERIAL E MÉTODOS .....	31
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.4	CONCLUSÕES.....	46
	REFERÊNCIAS.....	46
<b>4</b>	<b>ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM GEMAS DE CAQUIZEIRO CV. FUYU DURANTE A DORMÊNCIA .....</b>	<b>50</b>
4.1	INTRODUÇÃO.....	51
4.2	MATERIAL E MÉTODOS .....	52
4.2.1	Dormência de gemas.....	53
4.2.2	Teor de água das gemas.....	54
4.2.3	Atividade respiratória das gemas .....	54
4.2.4	Estresse oxidativo nas gemas .....	56
4.2.4.1	Teor de açúcares redutores.....	57
4.2.4.2	Teor de proteínas .....	57
4.2.4.3	Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) .....	57
4.2.4.4	Atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6) .....	58
4.2.4.5	Atividade da guaiacol peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) .....	59
4.2.4.6	Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) .....	59
4.2.4.7	Atividade de polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1).....	59

4.2.4.8	Teor de peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	60
4.2.4.9	Peroxidação lipídica.....	60
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61
4.3.1	Dormência de gemas.....	62
4.3.2	Teor de água das gemas.....	63
4.3.3	Teor de açúcares redutores.....	66
4.3.4	Atividade respiratória das gemas .....	68
4.3.5	Estresse oxidativo nas gemas .....	71
4.4	CONCLUSÕES.....	77
	REFERÊNCIAS.....	77
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>86</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>87</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>90</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O caquizeiro (*Diospyros kaki* L.) pertence à família das Ebenáceas e é originário da Ásia, onde é cultivado principalmente na China e Japão. No Brasil, a cultura foi introduzida por volta de 1890, sua expansão ocorreu a partir de 1920 com a chegada dos imigrantes japoneses (SATO; ASSUMPÇÃO, 2002).

Entre 1961 e 2012, a área plantada com caquizeiro no Brasil aumentou de 2,5 mil para 8 mil ha, e a produção de 15 mil para 158 mil t, tornando-se o quarto maior produtor mundial de caqui (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2016). No período de janeiro de 2012 a junho de 2014, o Brasil exportou em média US\$ 714.586,00 em caqui por ano (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS, 2016).

Com o crescimento da produção de caqui, existe maior demanda de conhecimento sobre a cultura que, por ser uma espécie de clima subtropical, apresenta dormência de gemas como forma de sobrevivência em condições desfavoráveis ao crescimento (SAMISH, 1954; YAKUSHIJI; NAKATSUKA, 2007).

A dormência de gemas compreende as fases de paradormência, endodormência e ecodormência. Na endodormência a brotação é reprimida por fatores endógenos da gema e requer frio para iniciar novo ciclo de crescimento (LANG et al., 1987). Esta fase é preocupante para o produtor, pois a má brotação pode comprometer tanto a produção, com frutos desuniformes e de baixa qualidade, quanto a distribuição dos ramos na planta (ATKINSON et al., 2013; JONES et al., 2013).

A liberação da dormência é determinada pelo tempo e intensidade de exposição a temperaturas baixas, variável entre espécie ou cultivar (NAOR et al., 2003; ROHDE; BHALERAO, 2007). O modelo tradicionalmente utilizado para medição do frio ocorrido é o somatório de Horas de Frio (HF) com temperaturas inferiores ou iguais a 7,2 °C, durante o período hibernar (WEINBERGER, 1950). No entanto, este método não considera temperaturas em uma faixa mais ampla, podendo ser impreciso para condições climáticas com inverno ameno e grandes oscilações térmicas como regiões subtropicais (LINSLEY-NOAKES; ALLAN, 1994; RUIZ et al., 2007).

Quando o frio ocorrido é insuficiente para superação natural da dormência, é necessária a utilização de produtos químicos como a cianamida hidrogenada

(H<sub>2</sub>CN<sub>2</sub>), utilizada com sucesso na quebra da dormência de gemas de caqui (AYUB et al., 2009), porém, este é um produto de classe toxicológica I (SETTIMI et al., 2005). Produtos alternativos à H<sub>2</sub>CN<sub>2</sub>, como o extrato de alho, têm sido testados em gemas de macieira e videira (BOTELHO, 2007; BOTELHO et al., 2009).

A dormência de gemas é amplamente estudada com o objetivo de compreender os eventos que ocorrem desde a sua instalação até a liberação. A temperatura e o fotoperíodo são os principais fatores ambientais relacionados, mas a dinâmica da dormência também envolve fatores internos à planta como balanço dos promotores e inibidores de crescimento (STAFSTROM, 2000; ZHENG et al., 2015), metabolismo de proteínas e carboidratos (TAMURA et al., 1998; MARQUAT et al., 1999; RADY; EL-YAZAL, 2013), atividade respiratória (TREJO-MARTÍNEZ et al., 2009), teor de água (MARAFON et al., 2011; SCHMITZ et al., 2015) e metabolismo antioxidativo (NIR et al., 1986; PÉREZ; LIRA, 2005).

Diante dos cenários futuros de mudança climática global, torna-se importante o conhecimento da dinâmica da dormência em caqui para se estimar sua adaptação às regiões com inverno ameno. São poucas as informações sobre os mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos da indução e superação da dormência de gemas de caqui, assim como o seu desenvolvimento em regiões subtropicais.

O conhecimento dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na dormência de gemas de caqui poderá auxiliar na compreensão da dormência de gemas da espécie em região de baixa ocorrência de frio e contribuir com a tomada de decisão quanto aos tratamentos culturais a campo de forma a possibilitar a exploração do máximo potencial produtivo, além de subsidiar futuras pesquisas.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a temperatura efetiva para superação da dormência e os processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na dormência de gemas de caqui cv. Fuyu.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CAQUIZEIRO

O caquizeiro, *Diospyros kaki* L., é uma espécie perene, caducifolia, pode alcançar 12 m de altura e 7 m de diâmetro de copa, pertence à família das Ebenáceas e é originário da Ásia (FERRI et al., 2002; XIE et al., 2015). É uma fruteira tipicamente subtropical que se adapta a diversas condições edafoclimáticas (MOWAT et al., 1995; SINGH; JOSHI, 2011). Foi introduzido no Brasil por volta de 1890, porém só a partir de 1920, com a chegada dos japoneses, a cultura se expandiu (SATO; ASSUMPÇÃO, 2002).

Os principais produtores mundiais de caqui são a China com 3.386 mil t, a Coreia do Sul com 401 mil t, o Japão com 253 mil t e o Brasil com 158 mil t (FIGURA 1). O Brasil possui a segunda maior produtividade de 19,4 t ha<sup>-1</sup>, ficando atrás apenas da Itália (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2016).

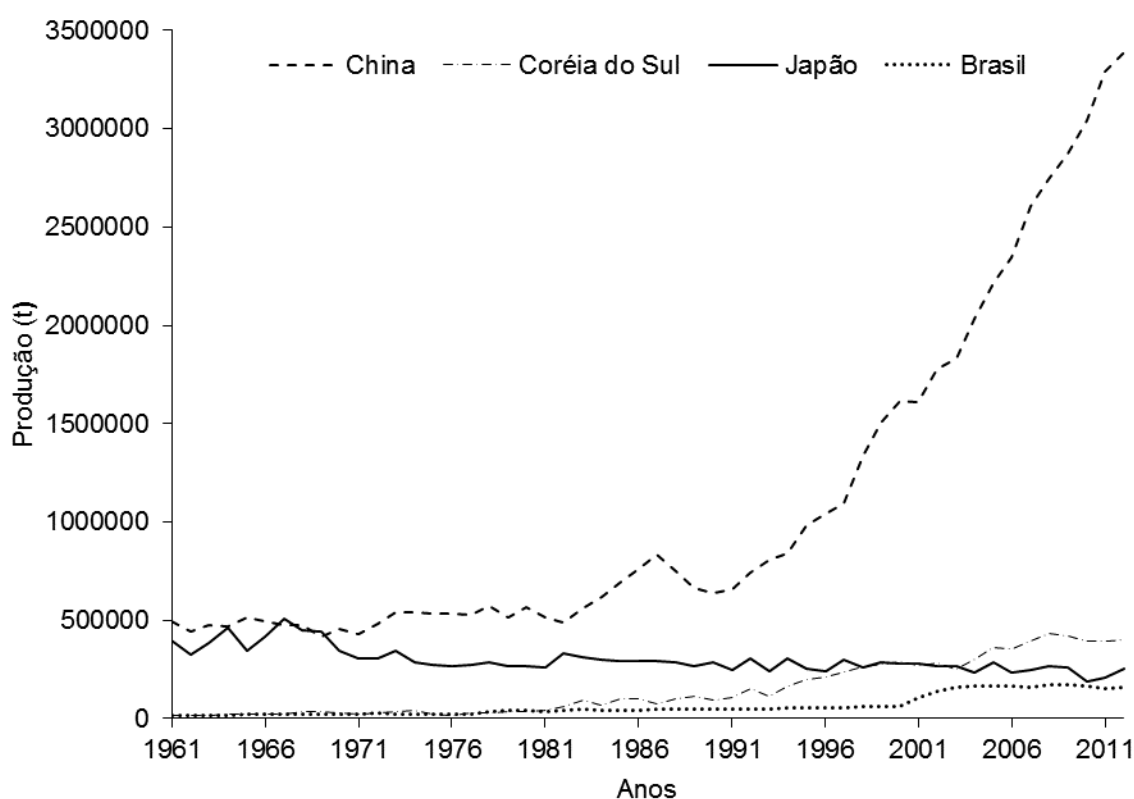


FIGURA 1 - PRODUÇÃO MUNDIAL DE CAQUI DE 1961 A 2012.

Fonte: (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2016).

Houve aumento da área plantada e da produção de caqui no Brasil entre o período de 1961 a 2012 (FIGURA 2), o que permitiu ao país realizar exportações de de caqui nos últimos anos. No período de janeiro de 2012 a junho de 2016, a quantidade média exportada foi de 274,4 t ano<sup>-1</sup> com o valor de US\$ 714.586 por ano. Os principais países importadores foram Holanda, Canadá, Alemanha e França (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS, 2016). O crescimento das exportações é um fator de incentivo aos produtores, na medida em que o mercado se amplia e a remuneração tende a ser maior (FIORAVANÇO; PAIVA, 2007).

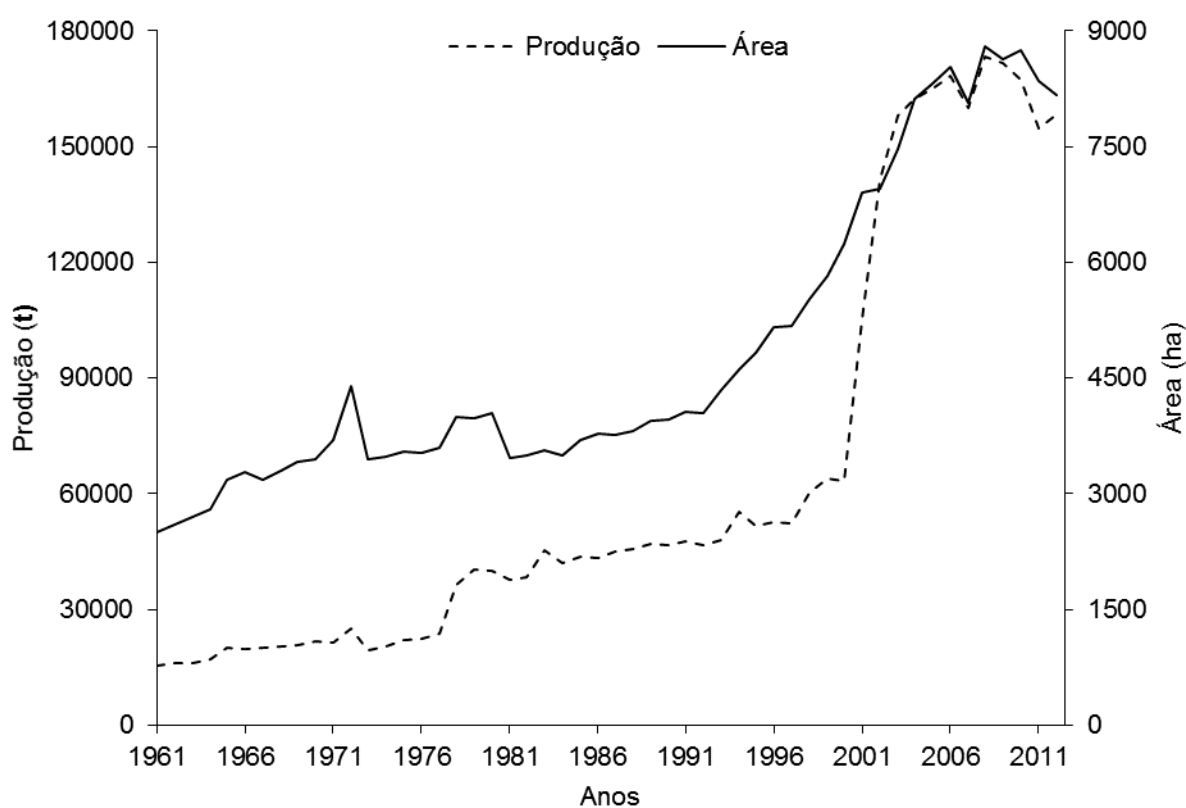


FIGURA 2 - PRODUÇÃO (t) E ÁREA PLANTADA DE CAQUI NO BRASIL DE 1961 A 2012. Fonte: (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2016).

O cultivo ocorre principalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil (CAMARGO FILHO et al., 2003). Os principais estados produtores no país no ano de 2012 foram São Paulo com 79,7 mil t, seguido pelo Rio Grande do Sul com 34,1 mil t, Rio de Janeiro com 14,8 mil t e Paraná com 14,3 mil t (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2016).

Os frutos apresentam boa aceitação dos consumidores e elevada qualidade nutricional, constituindo-se fonte de fibras, carboidratos, vitaminas, sais minerais e

antioxidantes, tais particularidades garantem a boa aceitação do fruto no mercado (CAMARGO FILHO et al., 2003; ELIAS et al., 2008; GEORGE; REDPATH, 2008). Os frutos são climatéricos e possuem tempo de prateleira entre 15 e 20 dias, o que facilita a comercialização (SARRIA, 1998).

As principais cultivares plantadas no sul do Brasil são Fuyu e Kioto. A cultivar Fuyu é a principal para exportação, pois produz frutos de tamanho grande e firmes, com polpa não adstringente e de coloração alaranjada quando bem madura (FIORAVANÇO; PAIVA, 2007).

O ciclo de crescimento do caquizeiro inicia no final do inverno com a brotação das gemas após a liberação da dormência (CARBONELL et al., 2002; CORSATO et al., 2005). O caquizeiro se adapta bem a condições de cultivo subtropicais e tropicais, no entanto sob condições de inverno ameno, as plantas apresentam baixa fixação de frutos. A aplicação de cianamida hidrogenada padroniza e aumenta a frutificação e a qualidade dos frutos e adianta a produção entre 10 e 12 semanas (AYUB et al., 2009), sendo possível obter melhores preços fora do período tradicional de produção (CAMARGO FILHO et al., 2003).

## 2.2 DORMÊNCIA DE GEMAS

O caquizeiro apresenta dormência de gemas durante outono e inverno, um processo complexo de pré-condicionamento que lhe confere resistência às temperaturas de congelamento de regiões de clima temperado ou subtropical (HORVATH et al., 2003; KIM et al., 2007).

A dinâmica da dormência de gemas é influenciada por fatores morfológicos, fisiológicos e ambientais (FAUST et al., 1997). Uma gema dormente é um broto embrionário constituído por um meristema apical, nós internos e folhas rudimentares com gemas ou primórdios de gemas florais nas axilas, todos envolvidos por brácteas que previnem o dessecamento e restringem o movimento de oxigênio para dentro da gema, isolando-a da perda de calor (RAVEN, 2014).

Durante o processo de dormência as gemas diminuem seu teor de água e concentram solutos como açúcares, sais e proteínas para diminuir a formação de cristais de gelo e diminuir seu potencial hídrico e evitar danos causados pela perda de água para o apoplasto (KASUGA et al., 2007).

A primeira forma de dormência de gemas é a paradormência, imposta por outros tecidos como as folhas (LANG et al., 1987; FAUST et al., 1997). Com a diminuição do fotoperíodo e das temperaturas, é instalada a endodormência, chamada de dormência verdadeira, mecanismo endógeno da gema que impede sua brotação (LANG et al., 1987; HORVATH et al., 2003).

Os mecanismos fisiológicos da endodormência compreendem fatores como balanço hormonal (STAFSTROM, 2000; ZHENG et al., 2015), metabolismo de proteínas e carboidratos (TAMURA et al., 1998; MARQUAT et al., 1999; RADY; EL-YAZAL, 2013), atividade respiratória (TREJO-MARTÍNEZ et al., 2009), teor de água (MARAFON et al., 2011; SCHMITZ et al., 2015) e metabolismo antioxidativo (NIR et al., 1986; PÉREZ; LIRA, 2005).

A indução à endodormência pode ocorrer em resposta ao fotoperíodo, temperatura ou ambos (LI et al., 2003; HEIDE; PRESTRUD, 2005; HEIDE, 2011).

A superação da endodormência e a retomada da capacidade de brotação das gemas são determinadas pelo tempo e pela intensidade de exposição das plantas a temperaturas baixas, variáveis em função da espécie ou cultivar (NAOR et al., 2003; ROHDE; BHALERAO, 2007).

A última fase da dormência é chamada de ecodormência, quando a gema apresenta aumento da capacidade de brotação, no entanto as condições ambientais desfavoráveis, como déficit hídrico e frio, impedem a brotação (LANG et al., 1987). Quando as condições ambientais são favoráveis ao crescimento ocorre a brotação das gemas (COOKE et al., 2012).

A fisiologia da dormência de frutíferas de clima temperado é ainda pouco compreendida e cada espécie e cultivar podem apresentar diferentes dinâmicas de dormência e respostas ao frio (FAUST et al., 1997; HORVATH et al., 2003).

### 2.2.1 Exigência em frio e modelos de quantificação do frio

A insuficiência de frio pode inviabilizar o cultivo de espécies de clima temperado, pois o baixo percentual e a heterogeneidade da brotação das gemas diminui a produtividade e a qualidade dos frutos (FAUST et al., 1997; ATKINSON et al., 2013; JONES et al., 2013).

O modelo de determinação da quantidade de frio tradicionalmente utilizado é o somatório de Horas de Frio (HF) com temperaturas iguais ou abaixo de 7,2 °C

(WEINBERGER, 1950). Neste modelo, cada hora com temperatura igual ou abaixo de 7,2 °C é somada, contabilizando o total de horas abaixo desta temperatura durante o outono e inverno.

Algumas espécies e cultivares de frutíferas de clima temperado exigem menor intensidade de frio para liberação da dormência, ou seja, temperaturas acima de 7,2 °C podem ser efetivas para a liberação da dormência, como 12 e 15 °C (CITADIN et al., 2002; HEIDE; PRESTRUD, 2005).

Outros modelos foram desenvolvidos para estimar o requerimento de frio de frutíferas de clima temperado, como o modelo Utah (RICHARDSON et al., 1974) e Carolina do Norte (SHALTOUT; UNRATH, 1983), que consideram que temperaturas negativas não acumulam frio e temperaturas acima de 12 °C anulam o frio acumulado.

Estes modelos foram desenvolvidos para regiões de clima temperado e espécies com alta exigência em frio, podendo não serem precisos para locais que apresentam inverno ameno e espécies de baixa exigência em frio (LINSLEY-NOAKES; ALLAN, 1994; RUIZ et al., 2007). Algumas tentativas de novos modelos foram desenvolvidas, como o modelo Dinâmico e adaptação dos modelos de Utah e Carolina do Norte para regiões com pouco acúmulo de frio (FISHMAN et al., 1987a, 1987b; PETRI et al., 1996).

### 2.2.2 Dinâmica da água nas gemas durante a dormência

Durante o período de dormência, a diminuição da atividade metabólica das plantas coincide com a translocação de água dos tecidos meristemáticos das gemas, que são suscetíveis ao congelamento, para brácteas da gema e ramos adjacentes (MARAFON et al., 2011).

A diminuição do teor de água aumenta a concentração de solutos como açúcares, reduzindo o ponto de congelamento da água e evitando a desidratação causada pela formação de cristais de gelo no apoplasto (ARORA et al., 2003).

A dormência de gemas foi associada a restrições no movimento de água inter e intracelular (TANINO et al., 2010). Em pópulus e bétula, as aberturas dos poros dos simplastos ficam menores após alguns dias de exposição a dias curtos (RINNE et al., 1998). A passagem de água e solutos diminui durante a dormência e, após o acúmulo de horas de frio, os bloqueios do simplasto são degradados e a capacidade

de dreno das gemas aumenta (RINNE et al., 2001).

Faust et al. (1991) e Erez (1998) verificaram que durante a endodormência a água pode estar ligada a macromoléculas hidrofílicas, enquanto gemas que se encontram em paradormência e ecodormência apresentam a água em estado livre.

Durante a superação da dormência, há aumento do teor de água na gema, o que permite a ativação de uma série de enzimas e a ativação do metabolismo. O aumento do teor de água nas gemas dormentes é indicativo de superação da dormência e é passível de caracterizar o nível de atividade metabólica (FAY et al., 2000; ARORA et al., 2003; LEITE et al., 2006; MARAFON et al., 2011).

### 2.2.3 Dinâmica de carboidratos nas gemas durante a dormência

As plantas utilizam a fotossíntese para concentração de energia em ligações químicas, com acúmulo de carbono, dando origem a carboidratos monossacarídeos (SHARKEY et al., 2012). Estes carboidratos com baixo número de átomos, entre dois a sete carbonos, são solúveis em água e não sofrem hidrólise. As hexoses (6C) mais importantes são glicose e frutose, açúcares redutores que não são transportados nas plantas a longas distâncias por serem reativos (LOESCHER et al., 1990; MAUREL et al., 2004).

Com a união de duas a dez moléculas de monossacarídeos são formados os polissacarídeos, sendo mais importantes os dissacarídeos, como a sacarose, um açúcar não redutor utilizado para transporte no floema, e maltose e lactose, açúcares redutores (SHARKEY et al., 2012). Os monossacarídeos e polissacarídeos participam de diversas reações como fonte de energia e estruturas de reserva, além de participarem das relações osmóticas das células (WANG et al., 2014).

A união de centenas de hexoses forma carboidratos insolúveis como a celulose (estrutural) e o amido (carboidrato de reserva), que não são transportados entre as células (LOESCHER et al., 1990) e praticamente não possuem efeito osmótico (WANG et al., 2014).

A dinâmica dos carboidratos nas células é fundamental para os ciclos vegetativos. Nas espécies de clima temperado, com a senescência das folhas, os carboidratos são translocados para ramos e gemas. Durante a dormência, a concentração de carboidratos nas gemas varia, podendo aumentar ou diminuir, de acordo com a espécie ou cultivar, em resposta às temperaturas baixas e fotoperíodo

curto (TANINO et al., 2010).

Quando há temperaturas propícias ao congelamento da planta, pode ocorrer formação de cristais de gelo no apoplasto e a consequente desidratação das células (KASUGA et al., 2007). Dentre os mecanismos anticongelamento e de regulação osmótica das plantas, a concentração de açúcares solúveis é uma das formas mais importantes para diminuir o potencial hídrico das células e evitar a desidratação (MORIN et al., 2007).

Desta forma, parte das espécies de clima temperado apresentam translocação de carboidratos solúveis dos tecidos adjacentes para as gemas ao longo da dormência, e a hidrólise do amido para formação de monossacarídeos e dissacarídeos como mecanismo de aumento da concentração de solutos, diminuição do potencial hídrico e defesa das células à desidratação provocada pelo congelamento (WAMPLE; BARY, 1992; GONZÁLEZ-ROSSIA et al., 2008).

Além do mecanismo de osmorregulação, os carboidratos solúveis são importantes como fonte de energia e substrato para retomada do metabolismo e brotação das gemas (JONES et al., 1999; MAUREL et al., 2004). Há aumento da respiração celular e elevada exigência em açúcares para a brotação de gemas em espécies de clima temperado (MCPHERSON et al., 1997).

Em macieira, os teores de sorbitol e sacarose diminuem e o teor de amido aumenta na entrada da endodormência, enquanto na saída da dormência ocorre o inverso, pois carboidratos solúveis são necessários para o desenvolvimento das gemas. O aumento da concentração de carboidratos solúveis nas gemas é um indício de quebra de dormência em macieira, e pode ser resultado da hidrólise do amido ou da translocação de sorbitol e sacarose dos tecidos adjacentes (CARVALHO; ZANETTE, 2004, 2006).

Em videira, a concentração de carboidratos solúveis aumenta no período de liberação da dormência e pode ser um sinalizador da capacidade de brotação das gemas (GUIMARÃES, 2013). No entanto, durante a dormência, pode haver aumento da atividade da enzima alfa-amilase em resposta ao frio e consequente hidrólise de amido e aumento da concentração de carboidratos solúveis, possivelmente como estratégia de proteção das células à desidratação pelo frio (WAMPLE; BARY, 1992; BERBEZY et al., 1997).

Em pessegueiro, há acúmulo de carboidratos solúveis nas gemas durante o inverno (MARQUAT et al., 1999). Maurel et al. (2004) encontraram alta correlação

entre a concentração de hexoses e a capacidade de gemas de pessegueiro brotarem.

Acúmulo de horas de frio insuficiente no inverno pode diminuir o teor de açúcares solúveis nas gemas de pessegueiro e prejudicar a brotação, pois induz translocação de carboidratos para as estruturas adjacentes e diminui a capacidade das gemas hidrolisarem amido e metabolizarem açúcares solúveis no final da dormência (BONHOMME et al., 2005).

González-Rossia et al. (2008) verificaram alterações na concentração de carboidratos nas gemas de ramos de pessegueiro, nectarineira, ameixeira e damasqueiro tratados com frio artificial e encontraram diminuição da concentração de amido e açúcares não redutores e aumento da concentração de açúcares redutores, possivelmente como mecanismo de resistência ao frio.

Em noqueira, há aumento da atividade da enzima alfa-amilase nas gemas ao longo do inverno, o que resulta na diminuição da concentração de amido e aumento da concentração de carboidratos solúveis nas gemas, tornando-as mais resistentes à desidratação ocasionada pelo congelamento e possibilita adequada brotação pela disponibilidade de substrato para respiração (CITADIN et al., 2009).

Não foram encontradas pesquisas sobre teor de carboidratos em gemas de caquizeiro, no entanto, Corsato et al. (2008) avaliaram o teor de carboidratos insolúveis e solúveis em ramos e raízes ao longo do ciclo de produção da cultivar Rama Forte e verificaram que durante a dormência houve diminuição da concentração de amido e aumento da concentração de açúcares solúveis nos ramos. Estes autores evidenciaram que o aumento do teor de carboidratos solúveis nos ramos ocorreu por meio da hidrólise do amido contido nos ramos.

#### 2.2.4 Estresse oxidativo nas gemas

O estresse oxidativo ocorre devido a um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes como as espécies reativas de oxigênio (EROs) e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante. As EROs são produzidas principalmente nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos a partir de reações redox. Seu acúmulo pode ser extremamente tóxico às plantas, porém também pode servir como sinalizador em resposta a diferentes tipos de estresse (BOWLER et al., 1992; GRANT; LOAKE, 2000; PÉREZ; LIRA, 2005)

As EROs podem se apresentar tanto na forma de radicais livres como na forma molecular de um não radical, podem ocorrer como resultado de excitação que forma oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ) ou de sucessivas adições de elétrons ao oxigênio molecular ( $\text{O}_2$ ), que é reduzido ao radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), radical hidroperoxila ( $\text{HO}_2^{\cdot}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e radical hidroxila ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) (FIGURA 3) (BAKER; ORLANDI, 1995).

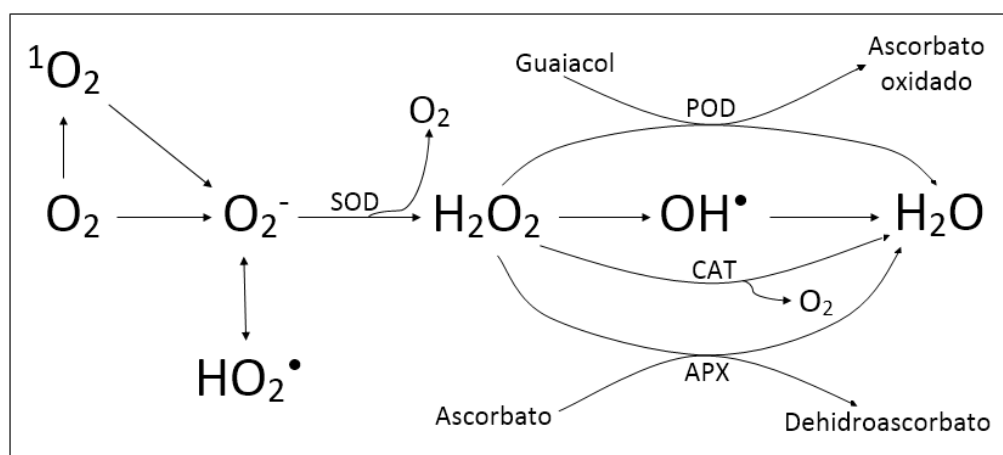


FIGURA 3 – ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E CAMINHOS DE CONVERSÃO EM PLANTAS (ADAPTADO DE BAKER E ORLANDI, 1995).

As plantas possuem mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos como ascorbato, glutatona e compostos fenólicos capazes de neutralizar a toxicidade das EROs para evitar danos celulares. As principais enzimas antioxidantes são superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e guaiacol peroxidase (POD), que estão envolvidas na geração e degradação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (FIGURA 3) (SHULMAN et al., 1986; ABASSI et al., 1998), ERO que apresenta níveis elevados em gemas de videira no fim da endodormência (PÉREZ; LIRA, 2005).

A SOD pode ser encontrada no apoplasto, cloroplasto, citosol, mitocôndria e peroxissoma e é responsável por catalisar a dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (WANG et al., 1991a; ABASSI et al., 1998; MITTLER, 2002).

A CAT, também chamada de hidropoxidase, pode ser localizada nos peroxissomas e glioxissomas (MITTLER, 2002) e é responsável pela quebra da molécula de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em água e oxigênio (OR et al., 2002; PÉREZ; LIRA, 2005).

A enzima APX é localizada no apoplasto, cloroplasto, citosol, mitocôndria e peroxissoma (MITTLER, 2002), onde desintoxica  $\text{H}_2\text{O}_2$  usando ascorbato como

substrato que doa elétron para  $H_2O_2$ , produzindo dehidroascorbato e água (AHMAD et al., 2010).

A POD utiliza como substrato o guaiacol para doar elétrons ao  $H_2O_2$  e formar ascorbato oxidado e água, é encontrada na parede celular, citosol e vacúolo (MITTLER, 2002; ASADA, 2006).

A atividade das enzimas peroxidases e da SOD geralmente diminui sob condições de baixa temperatura. Assim, durante o inverno há aumento da concentração de EROs, principalmente no período de superação da endodormência (NIR et al., 1986; PÉREZ; LIRA, 2005).

Os mecanismos pelos quais o aumento da concentração de EROs resulta na superação da endodormência ainda são desconhecidos, no entanto parece haver uma complexa sinalização hormonal, como a inativação de auxinas e indução da produção de etileno, por exemplo, e liberação de barreiras físicas para passagem de água e solutos (OMRAN, 1980; WANG et al., 1991a; ZHENG et al., 2015). A hipóxia também pode estar envolvida neste processo em videira (VERGARA et al., 2012).

A expressão dos genes relacionados com a produção de peroxidases são regulados, em parte, pela concentração de  $H_2O_2$  nas células (POLIDOROS; SCANDALIOS, 1999; WANG et al., 2010) e sob condições de baixas temperaturas, inibição da atividade da CAT e aumento da concentração de  $H_2O_2$ , pode haver aumento da atividade das demais peroxidases (WANG et al., 1991a), o que permite a obtenção de respostas diferentes da atividade de peroxidases diante das condições climáticas em diferentes espécies.

Pérez e Lira (2005) avaliaram a atividade de peroxidases em videiras em diferentes condições climáticas. Durante a dormência em invernos temperados, gemas de videira apresentam diminuição da atividade da catalase, o que leva ao aumento da concentração de  $H_2O_2$ , superação da endodormência e a brotação das gemas quando há condições climáticas favoráveis. Em locais de invernos amenos houve aumento da atividade da catalase durante o início da dormência e apenas no final da dormência houve diminuição de 70% na atividade da catalase, aumento da concentração de  $H_2O_2$  e superação da dormência.

Nir et al. (1986) e Ozden et al. (2009) avaliaram a dinâmica da catalase em videira e seu efeito na dormência de gemas. Em condições de clima temperado a catalase apresentou sua máxima atividade no outono e menor atividade no inverno, devido à diminuição da temperatura. O fornecimento de frio artificial também induziu

a diminuição da atividade da catalase. A mesma resposta foi encontrada em cultivares de damasqueiro (BARTOLINI et al., 2006; VITI et al., 2012).

Em macieiras, Abassi et al. (1998) encontraram diminuição da atividade da SOD, CAT, POD e APX e aumento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante a dormência de gemas e o inverso durante os estádios de ponta verde e brotação. Da mesma forma, em limoeiro foi encontrada menor atividade da POD durante baixas temperaturas e aumento durante e após a brotação das gemas (KASRAOUI et al., 2014). Também foi encontrada diminuição da atividade da CAT em resposta ao frio em gemas de álamo (AHN et al., 1989) e em gramíneas do gênero *Zoysia* (WANG et al., 2010).

A enzima polifenoloxidase (PPO) é estudada principalmente na área de tecnologia de alimentos por ser responsável pelo escurecimento em frutos (CLEMENTE; PASTORE, 1998) e em fitopatologia por estar envolvida nos mecanismos de defesa das plantas contra patógenos (LI; STEFFENS, 2002).

Em gemas dormentes de árvores são encontrados compostos fenólicos como naringenina, floridzina, ácido cafeico e quercitrina que raramente estão livres nas células, pois encontram-se ligados a glicosídeos e podem ser oxidados pela PPO. Grande parte possui atividade biológica conhecida como estrutural, defesa contra estresse oxidativo, defesa contra patógenos e fitoalexinas (VAUGHN; DUKE, 1984; CODIGNOLA et al., 1988; ZAHRA et al., 2009).

Em frutíferas de clima temperado a PPO é associada à oxidação de compostos fenólicos responsáveis pela eliminação de EROs (ZAHRA et al., 2009; AHMAD et al., 2010). Compostos fenólicos podem inibir a brotação de gemas e a germinação de sementes por diversos mecanismos, dentre eles, pela degradação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> responsável pela sinalização para a superação de dormência (WANG et al., 1991b; VIEIRA et al., 2008).

A atividade da PPO apresenta relação inversa às peroxidases e à concentração de compostos fenólicos, sendo mais alta no período precedente a liberação da dormência em macieira (WANG et al., 1991b) e pistacheiro (ZAHRA et al., 2009). Já em sementes de arroz, a atividade da enzima foi decrescente até a superação da dormência (VIEIRA et al., 2008).

Condições de estresse, como baixas temperaturas, que diminuem a atividade das enzimas SOD, POD, CAT e APX e antioxidantes como compostos fenólicos, resultam no aumento da concentração de EROs e da peroxidação lipídica

(QUEIROZ et al., 1998; LOPES et al., 2005).

A peroxidação lipídica é um dos principais resultados do estresse oxidativo. As EROs capturam elétrons dos ácidos graxos insaturados das membranas plasmáticas, aumentando a relação entre ácidos graxos saturados e insaturados, o que resulta na diminuição da fluidez, modificação na permeabilidade iônica, diminuição da atividade de enzimas e transportadores ligados à membrana, podendo levar as células à morte (QUEIROZ et al., 1998; LOPES et al., 2005; JUVANY et al., 2015). Em abeto, sob condições de baixas temperaturas, a peroxidação lipídica é o primeiro dano ocorrido pela concentração de EROs e diminui a resistência das plantas ao congelamento (KAMINSKA-ROZEK; PUKACKI, 2005).

#### 2.2.5 Superação artificial da dormência

A maioria das cultivares de espécies frutíferas de clima temperado necessita de frio para adequada brotação das gemas com qualidade e homogeneidade. A falta de frio decorrente dos invernos amenos das regiões subtropicais e tropicais brasileiras, como vale do rio São Francisco, exige a utilização de reguladores que auxiliem na superação da dormência (LEÃO, 2002; CAMARGO et al., 2011).

O principal regulador utilizado para superar dormência em frutíferas de clima temperado é a cianamida hidrogenada, pela alta eficiência em diversas espécies e cultivares, por meio da indução de estresse oxidativo, promove a brotação das gemas com homogeneidade. A cianamida hidrogenada atua por meio do rápido bloqueio da atividade da CAT, que leva ao acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e a sinalização homogênea da brotação das gemas (NIR et al., 1986; OR et al., 2002; PÉREZ; LIRA, 2005).

Em busca de diversificar as opções de tratamento para superar a dormência e evitar o uso da cianamida hidrogenada, têm-se pesquisado produtos químicos e extratos vegetais com sucesso, como nitrato de potássio, nitrato de cálcio, tioureia (EL-YAZAL et al., 2014) e thidiazuron (TDZ), uma fenilureia com atividade de citocinina (WANG et al., 1986).

No Brasil, várias pesquisas buscam alternativas à cianamida hidrogenada, principalmente com extrato de alho e óleo mineral para macieira, videira e ameixeira (MARODIN; ROMÁN, 1997; BOTELHO, 2007; BOTELHO et al., 2009), além de extratos de plantas como *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms (MAIA et al., 2013).

Para o caquizeiro, o uso de cianamida hidrogenada aumenta a brotação das gemas, possibilita maior produtividade e qualidade de frutos, além de possibilitar a antecipação da colheita em até 13 semanas (MIZOBUTSI et al., 2004; AYUB et al., 2009).

#### 2.2.6 Avaliação da dormência

Os métodos mais conhecidos para avaliação da dormência são os testes biológicos e os testes bioquímicos. O teste biológico de avaliação da dormência fundamenta-se no tempo necessário para a brotação de gemas isoladas em fragmentos do ramo e submetidas a temperatura de 20 e 25 °C e dias longos. Este método permite a avaliação da dormência por meio da análise da evolução do tempo necessário para brotação de uma população de gemas num determinado período (RAGEAU, 1978). É baseado no princípio da inibição correlativa, em que uma gema tem ação sobre a outra. Entretanto, quando se utilizam estacas contendo uma única gema, formadas a partir de hastes, este efeito é eliminado e a gema pode desenvolver todo o seu potencial (CHAMPAGNAT, 1983).

Os testes bioquímicos são baseados na capacidade de síntese de adenosina trifosfato (ATP) por gemas vegetativas (BONHOMME et al., 1999, 2000). Um novo método de avaliação da dormência, fundamentado na respiração da gema, por meio do uso do teste de tetrazólio foi proposto por Carvalho et al. (2010), para a avaliação da dormência a partir da atividade metabólica das gemas.

O teste de tetrazólio é um método desenvolvido para estimar a viabilidade de sementes em poucas horas e fundamenta-se na característica oxidante e redutora do sal de tetrazólio (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio) que atua como receptor de íons hidrogênio liberados durante o processo de respiração celular, refletindo assim a atividade das enzimas desidrogenases, particularmente a desidrogenase do ácido málico que reduz o sal de tetrazólio nos tecidos vivos das sementes, onde íons de H<sup>+</sup> são transferidos para o referido sal. Desta forma, pela hidrogenação do tetrazólio é produzida no interior das células vivas uma substância vermelha, estável, insolúvel e não difusível, denominada trifênil formazan. Este evento possibilita a distinção das partes vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas que mantêm a sua cor (BRASIL, 2009).

Por ser o teste baseado na captura de íons de hidrogênio provenientes da respiração celular, qualquer tecido vivo que for submetido à solução de tetrazólio pode formar a coloração vermelha de formazan, que posteriormente pode ser solubilizada em solução alcoólica. A intensidade da cor da solução obtida pode ser avaliada por espectrofotometria e está relacionada com a permeabilidade do tecido para o sal, o qual, devido aos níveis de permeabilidade diferentes, podem receber mais ou menos íons de hidrogênio (CARVALHO et al., 2010).

### 3 TEMPERATURA EFETIVA PARA A SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE GEMAS DE CAQUIZEIRO CV. FUYU

#### RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a temperatura efetiva para a superação da dormência de gemas de caqui cv. Fuyu. As amostras de ramos foram coletadas em três datas em 2013 e 2014. Os ramos foram mantidos em quatro temperaturas constantes de 3, 6, 9 e 12 °C em câmara de crescimento (BOD). Para cada temperatura, foram estudadas cinco quantidades de horas de frio adicionais (0, 240, 384, 528 e 672 HF). O delineamento experimental adotado foi o completamente casualizado, com arranjo fatorial 5x4 (horas de frio x temperaturas) com quatro repetições de 10 estacas por unidade experimental. A manutenção dos ramos em temperaturas frias de 3 a 12 °C intensificou a endodormência das gemas quando as plantas estavam no início da endodormência. As temperaturas de 3 e 6 °C foram as mais eficientes para a superação da dormência quando as gemas estavam na transição da paradormência para endodormência. Quando as gemas já estavam endodormentes as temperaturas de 3, 6, 9 e 12 °C foram efetivas para o acúmulo de frio e superação da dormência. O aumento do número de horas de frio de 3 a 12 °C induziu a brotação das gemas. Temperatura de 12 °C foi capaz de induzir e superar a dormência das gemas, porém mais lentamente.

Palavras-chave: *Diospyros kaki*. Paradormência. Endodormência. Horas de frio. Brotação.

#### ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effective temperature to overcome the dormancy of persimmon cv. Fuyu. The samples of stems were collected on three in 2013 and 2014. The stems were maintained in at 3, 6, 9 and 12 °C in a growth chamber. For each temperature were studied five amounts of additional chilling hours (0, 240, 384, 528 and 672 CH). The experimental design was completely randomized in a factorial arrangement 5x4 (chilling hours x temperatures) with four replications with 10 cuttings. The maintenance of branches in cold temperatures from 3 to 12 °C intensified endodormancy buds when the plants were at the beginning of endodormancy. Temperatures of 3 to 6 °C were the most effective to overcome dormancy when the buds were in transition from paradormência to endodormancy. When the buds were already in endodormancy temperatures of 3, 6, 9 and 12 °C were effective for the accumulation of cold and overcome dormancy. The increase in the number of hours of cold from 3 to 12 °C induces bud sprouting. Temperature of 12 °C was capable of induce and overcome the dormancy of the buds, but more slowly.

Key-words: *Diospyros kaki*. Paradormancy. Endodormancy. Chilling hours. Budburst.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A dormência de gemas compreende as fases de paradormência, endodormência e ecodormência. Na endodormência, chamada dormência verdadeira, a brotação é reprimida por fatores endógenos da gema que requer frio para iniciar um novo ciclo de crescimento (LANG et al., 1987). O início e a homogeneidade da brotação são determinados pelo tempo e pela intensidade de exposição das plantas a temperaturas baixas, variáveis em função da espécie ou cultivar (NAOR et al., 2003; ROHDE; BHALERAO, 2007).

Para mensurar a quantidade de frio necessária para superar a dormência das gemas, o modelo tradicionalmente utilizado é o somatório de Horas de Frio (HF) com temperaturas inferiores ou iguais a 7,2 °C, durante o período hibernal (WEINBERGER, 1950). Outros modelos, Utah (RICHARDSON et al., 1974) e Carolina do Norte (SHALTOUT; UNRATH, 1983), também são utilizados para estimar o requerimento em frio. Estes modelos são imprecisos para condições climáticas com inverno ameno e grandes oscilações térmicas como regiões subtropicais, pois foram desenvolvidos para regiões com invernos constantes e regulares e não consideram temperaturas moderadas como efetivas para requerimento em frio (LINSLEY-NOAKES; ALLAN, 1994; RUIZ et al., 2007).

Para regiões de inverno ameno foi desenvolvido o modelo Dinâmico (FISHMAN et al., 1987a, 1987b), que considera efeito sinérgico de temperaturas superiores e inferiores a 7,2 °C na quebra da dormência, e realizadas modificações nos modelos Utah (RICHARDSON et al., 1974) e Carolina do Norte (SHALTOUT; UNRATH, 1983) para restringir o efeito das unidades de frio (UF) negativas acumuladas acima de 96 horas após o último frio ocorrido (PETRI et al., 1996).

A importância do conhecimento da exigência em frio de uma cultivar e do frio disponível em determinada região tem aumentado diante dos cenários futuros de mudança climática global. O frio insuficiente poderá causar a má brotação das gemas, comprometer tanto a produção, com frutos desuniformes e de baixa qualidade, quanto a distribuição dos ramos na planta (ATKINSON et al., 2013; JONES et al., 2013).

A necessidade de horas de frio em caquizeiro (*Diospyros kaki* L.) cv. Fuyu foi quantificada (FAQUIM et al., 2007), no entanto intensidades de exposição das gemas a diferentes temperaturas baixas durante o tratamento com frio não foram

consideradas. Segundo Putti et al. (2003), a variabilidade genética entre as diversas cultivares limita a determinação das exigências em frio se não forem conhecidas as temperaturas efetivas para superar a dormência.

Considerando-se que temperatura efetiva para superação da dormência é a temperatura capaz de induzir a brotação máxima das gemas e que diferentes níveis de temperatura abaixo de 12 °C apresentam efeito positivo na superação da dormência (HEIDE; PRESTRUD, 2005), o conhecimento da temperatura efetiva para brotação de gemas de caquizeiro poderá auxiliar na determinação da exigência em frio e no zoneamento agrícola de cultivares, além de permitir a projeção dos efeitos causados pelas alterações climáticas.

O objetivo do trabalho foi avaliar a temperatura efetiva para a superação da dormência de gemas de caquizeiro cv. Fuyu.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, Paraná, Brasil. Amostras de ramos de um ano de idade, situados na posição oblíqua da copa, com 30 a 40 cm de comprimento, íntegros e sadios de caquizeiro cv. Fuyu foram coletadas em três datas (quarta semana de abril, terceira semana de junho e quarta semana de julho de 2013 e 2014).

Os ramos foram coletados de plantas matrizes adultas de 17 anos de idade, no pomar orgânico comercial Sítio São Marcos localizado em Campina Grande do Sul (latitude 25°18' Sul, longitude 49°03' Oeste e altitude de 918 m), Paraná, Brasil. Para a avaliação do frio natural ocorrido, a partir de 01 de abril de 2013 e 2014 até a data da última coleta de ramos, foram calculados o número de horas de frio abaixo ou iguais a 7,2 e 12 °C (WEINBERGER, 1950) e as unidades de frio de acordo com o modelo Carolina do Norte modificado no qual certa temperatura registrada por uma hora equivale a uma determinada quantidade de unidade de frio adimensional (SHALTOUT; UNRATH, 1983), com base nos dados meteorológicos fornecidos pelo Simepar.

As amostras de ramos, embaladas em papel jornal umedecido e em sacos de polietileno transparentes, foram mantidas em câmaras de crescimento (BOD) no escuro e submetidas a quatro temperaturas constantes de 3, 6, 9 e 12 °C. Para cada

temperatura, foram estudadas cinco quantidades de horas de frio adicionais à temperatura ambiente (0, 240, 384, 528 e 672 HF), para a avaliação da brotação das gemas por meio do teste biológico.

O delineamento experimental adotado foi o completamente casualizado, com arranjo fatorial 5 x 4 (horas de frio x temperaturas) com quatro repetições de 10 estacas por unidade experimental. As épocas de coleta e os anos foram avaliados individualmente.

Os ramos permaneceram nas câmaras de crescimento por até 672 HF, somatório de frio superior a 504 HF que é a exigência em frio de gemas da cv. Fuyu para a brotação (FAQUIM et al., 2007). Para cada época de coleta foi instalado um tratamento controle, com o preparo e manutenção das estacas em sala de crescimento imediatamente após a coleta.

Os testes biológicos foram realizados em salas de crescimento a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 h. A porção superior dos ramos foi dividida em estacas de 6 cm de comprimento, mantendo-se nas mesmas apenas a gema vegetativa lateral superior (RAGEAU, 1978). As estacas foram pulverizadas com fungicida Cercobin® (Tiofanato Metílico: na dosagem de 1 g L<sup>-1</sup>) e mantidas em vasos com vermiculita umedecida, cobertos com sacos de polietileno transparentes para a manutenção da umidade.

As estacas foram avaliadas individualmente a cada dois dias, por um período de até 40 dias após a instalação do experimento, de acordo com a escala internacional BBCH (Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) para os parâmetros de crescimento "Ponta Verde" (PV) (BBCH 07 - aparecimento de modificações na coloração da gema, com o ápice esverdeado e primeiras folhas visíveis) e "Gema Aberta" (GAb) (BBCH 10 - aparecimento de folhas abertas) (GARCÍA-CARBONELL et al., 2002).

Com base nestes parâmetros, foram calculados o tempo médio para brotação (TMB), que representa o número médio de dias passados entre a instalação do experimento e a detecção do estágio PV, a taxa final de brotação (TF) que representa a porcentagem de estacas com gemas que atingiram PV, a taxa de brotações vigorosas (TBV), que representa a porcentagem de estacas com gemas que apresentaram o estágio PV e evoluíram até o estágio GAb [TBV = (% de estacas com gemas no estágio GAb) x 100/TF] e a velocidade de brotação (VB) que avalia a ocorrência de brotação das gemas em função do tempo para a brotação

dada pela equação  $VB = \sum (ni/ti)$  (gemas/dia) em que  $ni$  = número de gemas que atingiram o estágio PV no tempo “i”, e  $ti$  = tempo após instalação do teste ( $i = 1 \rightarrow 40$ ).

As variáveis TBV e VB foram analisadas para utilização no cálculo do índice de dormência (ID) de gemas, que enquadra a resposta obtida da brotação das gemas em classes de endodormência por meio da equação  $ID = TMB.(k.TF+w.VB+TBV)^{-1}$ , sendo as constantes  $k$  e  $w$  iguais a 4 e 1, respectivamente, para o caquizeiro (CARVALHO; BIASI, 2012).

Segundo Carvalho e Biasi (2012), a dormência de gemas de caquizeiro é classificada em ausente quando o ID é menor que 2,50; fraca quando o ID é maior que 2,51 e igual a 4,50; moderada quando o ID é maior que 4,51 e igual a 8,00; intensa quando o ID é maior que 8,01 e igual a 12,00; e profunda quando o ID é maior que 12,00.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. Os valores da variável ID não apresentaram homogeneidade de variâncias na segunda coleta de 2013 e, por isso, foram transformados para  $\log(x)$ . As médias dos tratamentos com diferença significativa pelo teste F na análise de variância foram submetidas ao teste Scott-Knott ao nível de 1% de probabilidade de erro. Utilizou-se o programa estatístico Assistat versão 7.7 beta.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar transição não bem definida da paradormência para a endodormência em caquizeiro. As baixas temperaturas atuaram de forma diferente nestas duas fases, pois induziram a dormência quando as plantas ainda apresentavam paradormência e estimularam a brotação das gemas quando as plantas já estavam endodormentes.

Em abril de 2013, as gemas que não receberam frio adicional apresentaram índice de dormência (ID) maior que 8,0 e tempo médio para brotação (TMB) de 34,12 dias (TABELA 1), valores que indicam dormência intensa (BONHOMME et al., 1999; CAMPOY et al., 2011b; CARVALHO; BIASI, 2012; YAACOUBI et al., 2016).

Esta limitação de crescimento pode não ter ocorrido em resposta à endodormência das gemas, pois a intensidade da dormência determinada pelo ID e TMB não diminuíram com maior tempo de permanência das gemas a temperaturas

frias entre 240 e 672 HF. Caso fosse endodormência, o acúmulo de frio deveria ter superado a dormência (WEINBERGER, 1950; RICHARDSON et al., 1974; SHALTOUT; UNRATH, 1983), com diminuição do TMB (CAMPOY et al., 2011b, 2011c; ABBOTT et al., 2015) e ID. Em abril de 2013, as gemas não haviam recebido frio abaixo de 7,2 °C (TABELA 2) e, neste caso, apenas a diminuição do fotoperíodo (FIGURA 4) deve ter atuado como fator ambiental para a paralização do crescimento da planta.

TABELA 1 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM ABRIL DE 2013. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

Horas de Frio	Temperaturas (°C)				Médias
	3	6	9	12	
	ID				
0	8,05 aA	8,05 aA	8,05 aA	8,05 aA	8,05
240	5,18 bA	4,31 bA	5,27 bA	4,93 bA	4,92
384	7,69 aA	7,96 aA	6,42 bB	5,74 bB	6,95
528	7,49 aA	7,32 aA	5,98 bB	4,72 bB	6,38
672	7,19 aB	4,84 bC	8,57 aA	5,47 bC	6,52
Médias	7,12	6,50	6,86	5,78	
CV(%)	14,65				
	TMB (dias)				
0	34,12	34,12	34,12	34,12	34,12 a
240	22,92	21,86	23,48	22,41	22,67 b
384	22,86	20,84	22,25	22,12	22,02 c
528	22,81	23,92	24,03	22,38	23,29 b
672	20,69	19,63	24,00	20,98	21,33 c
Médias	24,68 <sup>ns</sup>	24,07	25,58	24,40	
CV(%)	7,54				
	TF (%)				
0	77,50	77,50	77,50	77,50	77,50 a
240	82,50	92,50	85,00	85,00	86,25 a
384	43,33	37,50	52,50	60,00	48,33 b
528	46,67	50,25	62,50	87,50	61,73 b
672	50,00	60,00	47,50	72,50	57,50 b
Médias	60,00 B	63,55 B	65,00 B	76,50 A	
CV(%)	28,19				

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ).

<sup>ns</sup> Não significativo.

A menor brotação das gemas pode ter sido influenciada, principalmente, pela paradormência ainda instalada, que limitou a brotação das gemas logo após a coleta dos ramos. Segundo Lang et al. (1987), a paradormência antecede a endodormência e é caracterizada pela suspensão do crescimento visível das gemas regulada por outro órgão da planta sobre a gema. Por isso, a diminuição do ID e TMB e TF elevada com o acúmulo de 240 HF adicionais pode ter ocorrido devido à paralização do efeito da paradormência, pois estas gemas permaneceram mais

tempo isoladas da planta até serem mantidas em condições ótimas ao crescimento, quando comparadas com as gemas que não receberam frio adicional.

TABELA 2 - HORAS DE FRIO ABAIXO OU IGUAIS A 7,2 °C E 12 °C E UNIDADES DE FRIO, CALCULADAS PELO MODELO CAROLINA DO NORTE MODIFICADO, REGISTRADAS PELA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, EM PINHAIS, PARANÁ.

Períodos	Horas de frio $\leq 7,2$ °C		Horas de frio $\leq 12$ °C		Unidades de Frio	
	Entre as datas	Acumuladas	Entre as datas	Acumuladas	Entre as datas	Acumuladas
2013						
01/04 a 23/04	0	0	44	44	4	4
24/04 a 17/06	36	36	257	301	14	18
18/06 a 30/07	113	149	411	712	93	111
2014						
01/04 a 22/04	0	0	0	0	0	0
23/04 a 16/06	21	21	204	204	26,5	26,5
17/06 a 29/07	37	58	344	548	75	101,5

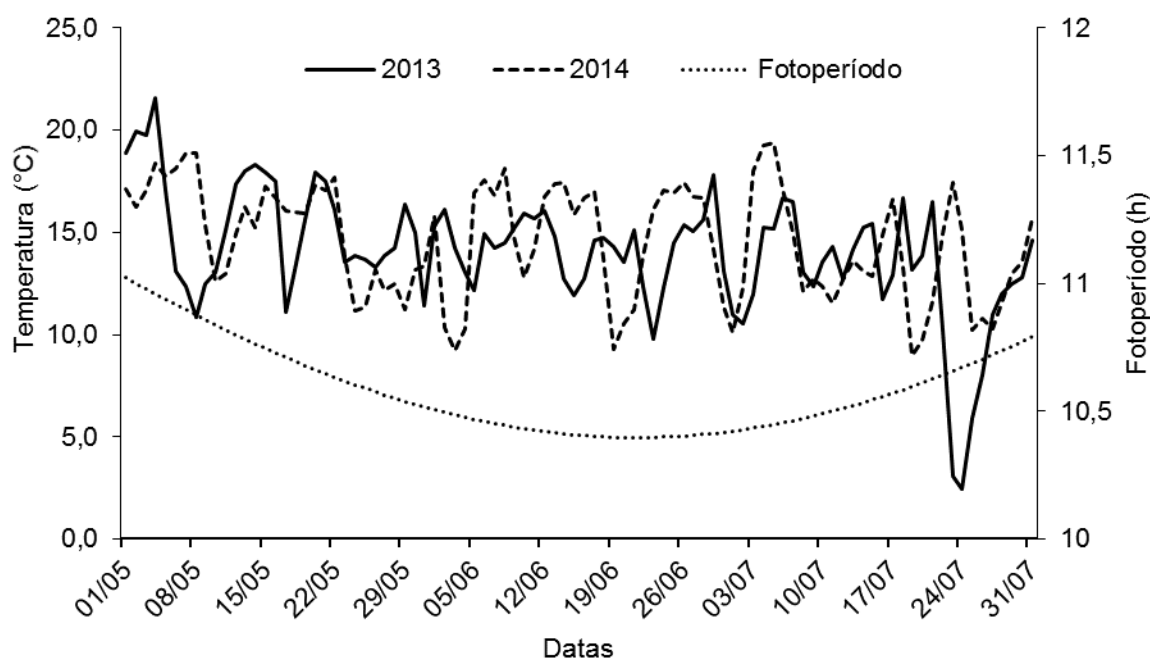


FIGURA 4 - TEMPERATURA MÉDIA DIÁRIA E FOTOPERÍODO REGISTRADOS NO PERÍODO DE MAIO A JULHO DE 2013 E 2014, NA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, EM PINHAIS, PARANÁ.

O maior tempo de permanência das gemas em temperaturas frias entre 240 e 672 HF adicionais não foi suficiente para promover potencial de brotação das gemas próximo a valores de ID indicativos de ausência de dormência. O acúmulo de frio até 672 HF adicionais pode ter induzido as gemas a entrarem em endodormência, pois as baixas temperaturas apresentam dupla função, iniciar e terminar a dormência

(BALANDIER et al., 1993; JACOBS et al., 2002; HEIDE; PRESTRUD, 2005; CAMPOY et al., 2011b, 2011c; BILAVČÍK et al., 2012).

O elevado valor de TMB e TF sem frio adicional não está de acordo com períodos de endodormência em fruteiras de clima temperado, pois a tendência é ser inversa a relação entre TMB e TF (YAACOUBI et al., 2016). Com o acúmulo de 384 HF adicionais a TF diminuiu e manteve-se baixa até 672 HF adicionais, mesmo sendo supridas as 504 HF que é a exigência do caquizeiro para a liberação da dormência (FAQUIM et al., 2007). O acúmulo de 672 HF adicionais deveria ter aumentado o número de gemas brotadas, se a planta realmente estivesse em endodormência.

As temperaturas de 3, 6, 9 e 12 °C induziram a endodormência, no entanto 3 e 6 °C foram mais eficientes na indução da endodormência do que as temperaturas de 9 e 12 °C, pois as gemas apresentaram maior ID com 384 e 528 HF adicionais. As gemas mantidas a 12 °C apresentaram maior TF, indicando que temperaturas mais altas podem induzir a endodormência, porém mais lentamente que temperaturas mais frias. Quando macieiras foram mantidas a 12 °C, maior tempo de exposição nesta temperatura foi necessário para a planta entrar e sair da dormência do que as plantas mantidas a 6 e 9 °C (HEIDE; PRESTRUD, 2005).

Em junho de 2013, as gemas que não receberam frio adicional apresentaram menor ID e TMB (TABELA 3) quando comparados com abril de 2013. Possivelmente o acúmulo de frio a campo de 36 HF abaixo de 7,2 °C (TABELA 2) e a diminuição do fotoperíodo (FIGURA 4) induziram a planta a entrar em endodormência.

Nesta época, ainda se observou efeito residual de paradormência, pois as gemas mantiveram ou diminuíram o ID e TMB com TF elevada entre 0 e 240 HF adicionais (TABELA 3). O fornecimento de 384 a 528 HF adicionais aumentou o ID e TMB e diminuiu a TF, conforme observado em abril de 2013, indicando que as gemas estavam no início da endodormência e que a manutenção dos ramos em temperaturas frias intensificou a endodormência (BALANDIER et al., 1993; JACOBS et al., 2002; HEIDE; PRESTRUD, 2005; CAMPOY et al., 2011b, 2011c; BILAVČÍK et al., 2012).

TABELA 3 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUJU' EM JUNHO DE 2013. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

Horas de Frio	Temperaturas (°C)				Médias
	3	6	9	12	
	ID				
0	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01 c
240	5,19	4,07	3,90	4,73	4,47 c
384	14,09	12,28	26,86	17,47	17,68 a
528	11,90	14,96	8,73	8,78	11,09 b
672	4,54	3,91	7,33	6,41	5,55 c
Médias	8,35 <sup>ns</sup>	8,25	10,56	8,68	
CV(%)	21,61				
	TMB (dias)				
0	25,00 bA	25,00 bA	25,00 cA	25,00 aA	25,00
240	20,05 bA	19,54 cA	20,20 dA	23,18 aA	20,74
384	30,23 aA	25,65 bB	33,15 aA	28,23 aB	29,32
528	30,83 aA	32,07 aA	25,35 cB	23,83 aB	28,02
672	23,20 bB	19,88 cB	28,38 bA	25,88 aA	24,33
Médias	25,86	24,43	26,42	25,22	
CV(%)	12,49				
	TF (%)				
0	85,00	85,00	85,00	85,00	85,00 a
240	82,50	92,50	95,00	95,00	91,25 a
384	50,00	47,50	23,34	20,00	35,21 c
528	62,50	56,67	70,00	62,50	62,92 b
672	95,00	95,00	72,50	77,50	85,00 a
Médias	75,00 <sup>ns</sup>	75,33	69,17	68,00	
CV(%)	25,38				

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ).

<sup>ns</sup> Não significativo.

O acúmulo de 672 HF adicionais aumentou a capacidade de brotação das gemas, pois foi observada diminuição do ID e TMB e aumento da TF. As temperaturas mais eficientes para a indução da brotação nesta condição foram 3 e 6 °C, pois proporcionaram menor TMB de 23,20 e 19,88 dias, respectivamente, com baixo ID e TF elevada.

Em julho de 2013, as gemas que não receberam frio adicional mantiveram a intensidade de dormência moderada, ID igual a 6,70 (TABELA 4), conforme observado em junho de 2013. No entanto, o frio acumulado a campo de 149 HF abaixo de 7,2 °C (TABELA 2) pode ter intensificado a endodormência das plantas, pois o fornecimento de frio adicional proporcionou aumento da capacidade de crescimento das gemas.

Nesta época, a ação do frio na superação da dormência foi melhor visualizada, pois o aumento do tempo de permanência das gemas em temperaturas frias proporcionou menor TMB de 13,94 dias e maior TF de 96,26% com ID indicativo de dormência fraca. Estes resultados confirmam que o acúmulo de frio

quando as plantas já estão em endodormência proporciona a superação mais eficiente da dormência (BALANDIER et al., 1993; JACOBS et al., 2002; CAMPOY et al., 2011c; YAMANE, 2014). Segundo Carvalho et al. (2010), considera-se que a obtenção de TMB abaixo de 14 dias seja indicativa de ausência de endodormência em caquizeiro Fuyu, em especial se aliada a TF acima de 90%.

TABELA 4 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM JULHO DE 2013. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

Horas de Frio	Temperaturas (°C)				Médias
	3	6	9	12	
	ID				
0	6,70	6,70	6,70	6,70	6,70 a
240	5,72	4,50	5,59	7,01	5,70 b
384	3,86	3,65	4,37	4,31	4,05 c
528	3,56	2,58	2,73	2,79	2,92 d
672	3,38	2,53	2,83	2,63	2,84 d
Médias	4,65 <sup>ns</sup>	4,19	4,44	4,69	
CV(%)	20,77				
	TMB (dias)				
0	24,80	24,80	24,80	24,80	24,80 a
240	25,70	23,10	25,33	25,78	24,98 a
384	20,48	19,93	21,43	20,55	20,59 b
528	14,95	13,95	12,75	14,13	13,94 c
672	17,55	14,20	15,20	14,25	15,30 c
Médias	20,70 <sup>ns</sup>	19,20	19,90	19,90	
CV(%)	12,07				
	TF (%)				
0	70,03	70,03	70,03	70,03	70,03 c
240	90,15	95,05	85,08	72,53	85,70 b
384	97,55	100,00	95,05	92,45	96,26 a
528	90,03	95,08	77,53	90,03	88,16 b
672	92,53	99,90	92,53	92,53	94,37 a
Médias	88,06 A	92,01 A	84,04 B	83,51 B	
CV(%)	11,01				

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ).

<sup>ns</sup> Não significativo.

As temperaturas de 3, 6, 9 e 12 °C foram eficientes na superação da dormência em julho de 2013, não houve diferença significativa entre as temperaturas para o ID e TMB. Apenas a TF apresentou diferença significativa entre as temperaturas, com maior número de brotação de gemas mantidas a 3 e 6 °C.

Em abril de 2014, as gemas que não receberam frio adicional apresentaram apenas 5% de brotações (TABELA 5) e, por isso, não foram analisadas estatisticamente. A ausência de brotação pode ter ocorrido em resposta à paradormência, pois durante a coleta as plantas ainda possuíam folhas e frutos que podem ter inibido o crescimento (LANG et al., 1987). Conforme Carvalho et al.

(2010), a paradormência do caquizeiro é intensa e de difícil superação, pois em condições naturais a inibição só é superada pela colheita ou queda natural das folhas.

TABELA 5 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM ABRIL DE 2014. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

Horas de Frio	Temperaturas (°C)				Médias
	3	6	9	12	
	ID				
0*	89,19	89,19	89,19	89,19	89,19
240	12,66 cA	5,27 bD	6,92 cC	8,27 aB	8,28
384	14,75 bB	12,68 aC	20,67 aA	3,76 cD	12,97
528	18,07 aA	4,98 bD	15,58 bB	8,35 aC	11,75
672	3,95 dB	3,11 cB	3,74 dB	5,47 bA	4,07
Médias	12,36	6,52	11,73	6,46	
CV(%)	8,08				
	TMB (dias)				
0*	38,00	38,00	38,00	38,00	38,00
240	32,48 aA	26,15 bB	30,25 bA	29,83 aA	29,68
384	29,33 bB	31,75 aA	33,19 aA	20,43 cC	28,68
528	26,00 cB	23,36 cB	30,14 bA	24,89 bB	26,10
672	19,75 dB	16,98 dC	19,68 cB	24,43 bA	20,21
Médias	26,89	24,56	28,31	24,89	
CV(%)	6,62				
	TF (%)				
0*	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
240	57,53 bB	92,53 aA	87,58 aA	67,53 cB	76,29
384	30,15 cC	53,33 bB	30,03 cC	100,00 aA	53,42
528	20,00 cC	87,53 aA	45,03 bB	50,00 dB	50,64
672	92,53 aA	97,58 aA	97,58 aA	87,53 bA	93,81
Médias	50,05	82,74	65,05	76,30	
CV(%)	12,63				

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ).

\* Tratamento não analisado devido à baixa TF encontrada.

O fornecimento de 240 HF adicionais superou parcialmente a paradormência, com diminuição do ID e TMB e aumento da TF (TABELA 5), como foi observado em abril de 2013. No entanto, os valores do ID e TMB ainda altos até o acúmulo de 528 HF adicionais, demonstram menor capacidade de brotação das gemas. Este comportamento indica que a manutenção dos ramos em temperaturas frias induziu a endodormência (BALANDIER et al., 1993; JACOBS et al., 2002; HEIDE; PRESTRUD, 2005; CAMPOY et al., 2011b, 2011c; BILAVČÍK et al., 2012), pois até a coleta dos ramos foi acumulado a campo 0 HF abaixo de 7,2 °C (TABELA 2), a planta ainda não havia recebido estímulos de baixa temperatura para a diminuição do crescimento, com estímulo ambiental apenas do fotoperíodo decrescente (FIGURA 4).

Após 672 HF adicionais, as gemas apresentaram ID indicativo de dormência fraca, com menor TMB quando foram mantidas a 3, 6 e 9 °C. Nesta condição, a temperatura de 6 °C foi mais eficiente para a brotação das gemas, pois proporcionou o menor TMB de 16,98 dias.

A temperatura de 12 °C foi capaz de induzir a endodormência, porém mais lentamente que as temperaturas mais baixas, pois apenas após 528 HF adicionais o ID aumentou novamente para dormência intensa. Nesta condição, maior fornecimento de frio seria necessário para aumento da capacidade de crescimento das gemas, sendo que com 672 HF adicionais as gemas ainda apresentaram dormência moderada, com ID igual a 5,47.

Em junho de 2014, as plantas poderiam estar na transição da paradormência para a endodormência, estimulada pelo acúmulo a campo de 36 HF abaixo de 7,2 °C (TABELA 2) e fotoperíodo curto (FIGURA 4). Ainda foi observado efeito de paradormência, pois as gemas que não receberam frio adicional apresentaram elevada TF quando o ID ainda indicava dormência moderada e alto TMB de 24,78 dias (TABELA 6). O acúmulo de frio até 384 HF adicionais diminuiu ou manteve os valores de ID e TMB, e com 528 HF adicionais o ID e o TMB aumentaram e a TF diminuiu, indicando que as temperaturas baixas induziram as gemas a entrar em endodormência (BALANDIER et al., 1993; JACOBS et al., 2002; HEIDE; PRESTRUD, 2005; CAMPOY et al., 2011b, 2011c; BILAVČÍK et al., 2012).

A manutenção dos ramos a 672 HF adicionais estimulou a brotação das gemas, pois foi observado aumento da TF com diminuição do ID e TMB (TABELA 6), conforme observado em junho de 2013. A temperatura de 6 °C foi a mais eficiente para a superação da dormência, pois 100% das gemas brotaram com TMB de 10,53 dias e ID igual a 1,77, que classifica a dormência como ausente.

As gemas mantidas a 12 °C apresentaram ID indicativo de dormência moderada e diminuição da TF de 87,58% para 52,53% após 672 HF adicionais (TABELA 6). Este comportamento pode ser explicado pela dupla ação que temperaturas altas como 12 °C podem ter na dormência, pois pode ter inibido o crescimento das gemas pelo estímulo de frio mesmo que mais lentamente, sendo preciso nesta condição acúmulo de frio superior a 672 HF adicionais, ou pode ter estimulado o crescimento com fornecimento de calor para a retomada da atividade metabólica. As gemas podem ter mantido atividade respiratória mais elevada com maior demanda energética que as gemas mantidas em temperaturas mais frias, com

maior consumo de reservas locais para a manutenção do metabolismo em detrimento da brotação (SØNSTEBY; HEIDE, 2014).

TABELA 6 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM JUNHO DE 2014. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

Horas de Frio	Temperaturas (°C)				Médias
	3	6	9	12	
	ID				
0	5,67 bA	5,67 aA	5,67 aA	5,67 cA	5,67
240	5,11 cA	3,38 bB	3,76 bB	5,27 cA	4,38
384	3,37 dA	3,52 bA	3,79 bA	3,43 dA	3,53
528	7,50 aB	5,76 aC	6,43 aC	8,53 aA	7,05
672	3,99 dB	1,77 cC	3,99 bB	6,25 bA	4,00
Médias	5,13	4,02	4,73	5,83	
CV(%)				11,03	
	TMB (dias)				
0	24,78 aA	24,78 aA	24,78 aA	24,78 aA	24,78
240	18,96 cA	17,58 cA	17,99 bA	19,45 cA	18,50
384	17,55 cA	17,29 cA	18,28 bA	16,63 dA	17,44
528	21,96 bA	21,54 bA	22,14 aA	22,06 bA	21,92
672	17,58 cA	10,53 dB	18,82 bA	18,47 cA	16,35
Médias	20,17	18,34	20,40	20,28	
CV(%)				6,89	
	TF (%)				
0	87,58 aA	87,58 aA	87,58 aA	87,58 aA	87,58
240	70,00 bB	97,58 aA	87,58 aA	67,53 bB	80,67
384	95,05 aA	87,53 aA	87,53 aA	87,53 aA	89,41
528	52,58 cB	70,03 bA	65,03 bA	42,53 cB	57,54
672	80,05 aB	100,00 aA	87,53 aB	52,53 cC	80,06
Médias	77,05	88,57	83,04	67,54	
CV(%)				11,62	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ).

Em julho de 2014, o frio ambiente de 58 HF abaixo de 7,2 °C (TABELA 2) não foi suficiente para diminuir o ID observado em junho de 2014, pois as gemas que não receberam frio adicional apresentaram ID indicativo de dormência moderada (TABELA 7).

Com o fornecimento de 240 HF adicionais o ID diminuiu para dormência fraca ou ausente, porém com 384 HF adicionais o ID aumentou novamente para dormência moderada a 3, 6 e 9 °C ou intensa a 12 °C, pois o TMB aumentou e a TF diminuiu. Nesta época, as condições ambientais a campo podem não ter sido suficientes para que as plantas estivessem em completa endodormência, e o fornecimento de 384 HF adicionais diminuiu a capacidade de crescimento das gemas.

TABELA 7 - ÍNDICE DE DORMÊNCIA (ID), TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' EM JULHO DE 2014. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

Horas de Frio	Temperaturas (°C)				Médias
	3	6	9	12	
	ID				
0	6,77 aA	6,77 aA	6,77 aA	6,77 bA	6,77
240	2,70 dA	2,31 cA	2,27 cA	2,60 cA	2,47
384	5,46 bA	7,32 aB	7,89 aB	9,18 aA	7,46
528	1,76 dB	4,02 bA	4,14 bA	3,70 cA	3,41
672	3,95 cA	2,90 cA	3,08 cA	3,79 cA	3,43
Médias	4,13	4,66	4,83	5,21	
CV(%)	18,64				
	TMB (dias)				
0	18,31 bA	18,31 cA	18,31 bA	18,31 bA	18,31
240	13,55 cA	12,79 dA	12,48 dA	12,30 cA	12,78
384	24,52 aA	25,04 aA	21,43 aB	26,92 aA	24,48
528	10,55 cB	20,40 bA	17,50 bA	17,55 bA	16,50
672	19,75 bA	16,15 cB	15,84 cB	16,25 bB	16,99
Médias	17,34	18,54	17,11	18,26	
CV(%)	12,42				
	TF (%)				
0	50,08 cA	50,08 cA	50,08 cA	50,08 bA	50,08
240	87,53 bB	97,58 aA	97,58 aA	80,08 aB	90,68
384	87,53 bA	65,03 bB	50,00 cC	57,58 bB	65,03
528	100,00 aA	95,08 aA	72,52 bC	82,58 aB	87,58
672	92,53 bA	100,00 aA	90,00 aA	75,08 aB	89,48
Médias	83,56	81,58	72,07	69,07	
CV(%)	8,34				

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ).

Após 528 HF adicionais as gemas apresentaram ID indicativo de dormência fraca, com maior TF e diminuição do TMB, embora o TMB não tenha diminuído muito em relação às gemas que não receberam frio adicional.

A condição fisiológica inicial das gemas foi diferente entre os anos. Na primeira coleta de ramos em 2013 as gemas estavam menos dormentes, possivelmente na transição da paradormência para a endodormência. Em 2014, as gemas estavam mais dormentes na primeira coleta de ramos, cuja presença de folhas e frutos indicou paradormência.

Embora tenha sido diferente a condição fisiológica inicial das gemas de 2013 para 2014, a resposta das gemas ao frio foi semelhante, porém ocorreu em épocas de coleta distintas entre os anos. A dinâmica de variação do TMB das gemas com HF adicionais em junho de 2014 foi semelhante a dinâmica de variação do TMB das gemas em abril de 2013 (FIGURA 5). A tendência do comportamento ao frio manteve-se entre as coletas seguintes, com a dinâmica de variação do TMB das gemas em julho de 2014 semelhante a dinâmica de variação do TMB das gemas em junho de 2013 (FIGURA 5).

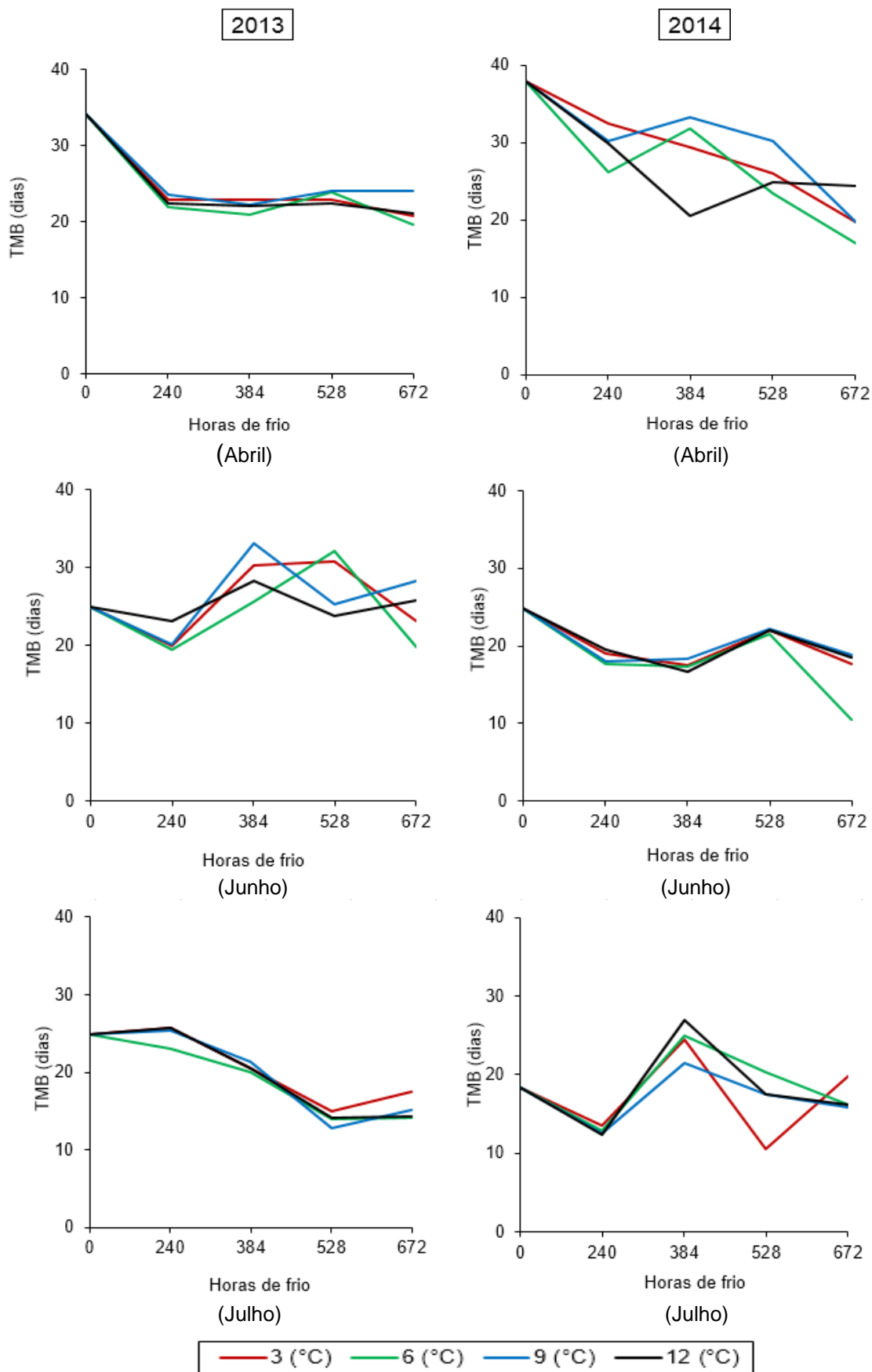


FIGURA 5 - TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO FUYU EM ABRIL, JUNHO E JULHO EM 2013 E 2014.

As alterações observadas entre os anos para a primeira coleta de ramos realizada em abril podem ter ocorrido devido às condições ambientais distintas como temperatura, radiação solar e disponibilidade de água, que podem ter influenciado o estágio fisiológico da planta e interferido na época de desfolha e colheita. O acúmulo de frio em 2014 foi menor que em 2013 (TABELA 2), pode ser por este motivo que nas coletas de 2014 as plantas apresentaram estágio fisiológico mais atrasado quando comparadas com as mesmas coletas de 2013.

Em 2013 e 2014 o frio a campo de 149 e 58 HF, respectivamente, abaixo de 7,2 °C (TABELA 2) foi inferior à exigência para brotação de gemas de caquizeiro Fuyu (FAQUIM et al., 2007). Mesmo com o uso do modelo Carolina do Norte modificado obteve-se até final de julho apenas 111 UF em 2013 e 101,5 UF em 2014 (TABELA 2).

A elevada flutuação da temperatura média diária no período entre maio e julho de 2013 e 2014 (FIGURA 4) pode ter influenciado o baixo acúmulo de HF e UF e, conseqüentemente, comprometido a superação natural da dormência a campo, pois temperaturas acima de 16,5 °C podem anular o frio acumulado (SHALTOU; UNRATH, 1983). Por este motivo os modelos de quantificação de frio ainda são imprecisos para regiões de inverno ameno e com grandes oscilações térmicas (LINSLEY-NOAKES; ALLAN, 1994; RUIZ et al., 2007), mesmo com modelos já adaptados para condições subtropicais como o modelo Carolina do Norte modificado (PETRI et al., 1996). Segundo Campoy et al. (2011a), para maior confiabilidade destes modelos devem ser consideradas variáveis como fotoperíodo, tempo de aplicação da temperatura e combinação de frio e calor.

A paradormência prolongada em caquizeiro até junho em 2013 e até julho em 2014, com as gemas ainda em transição para endodormência, pode ter ocorrido devido ao baixo acúmulo de frio e oscilações térmicas. Condições de inverno ameno induzem dormência superficial com estabelecimento da paradormência, e quando as gemas são mantidas em temperaturas abaixo de 12 °C segue-se o aumento de processos de inibição que podem estar associados com fraca endodormência (MALAGI et al., 2015). Para estes autores, cultivares de baixa exigência em frio como a macieira 'Eva' cultivadas nestas condições ambientais apresentam apenas paradormência. O comportamento indicativo de endodormência foi observado apenas em julho de 2013, pois após acúmulo de HF o TMB apresentou-se próximo a 14 dias (FIGURA 5) indicativo de ausência de dormência (CARVALHO et al., 2010).

Temperaturas abaixo de 12 °C atuam como somatório de frio para a indução e superação da dormência (HEIDE; PRESTRUD, 2005). Verificou-se que a campo ocorreram 712 e 548 HF abaixo de 12 °C em 2013 e 2014 (TABELA 2), respectivamente, e que para o caquizeiro podem ter sido suficientes para a brotação natural das gemas. Segundo Jacobs et al. (2002), a progressão da dormência é mais precisamente descrita quando o frio é calculado pelo número de horas abaixo de 13 °C. O aumento do fotoperíodo também pode ter contribuído para a superação da dormência do caquizeiro a campo conforme observado em pessegueiro e damasqueiro, em que a liberação da dormência é favorecida por dias longos (EREZ et al., 1966; CAMPOY et al., 2011a).

O conhecimento do estágio de dormência é importante para interpretação do efeito das diferentes temperaturas e do acúmulo de frio na brotação. Quando as gemas estavam na transição da paradormência para endodormência as temperaturas de 3 e 6 °C foram mais eficientes na superação da dormência. No entanto, em julho de 2013, quando as gemas já estavam em endodormência não foi observada diferença significativa do efeito das temperaturas de 3 a 12 °C no ID e TMB após acúmulo de 672 HF (TABELA 4), estas temperaturas foram igualmente eficientes na liberação da dormência das gemas. Jacobs et al. (2002) também não encontraram diferenças entre as temperaturas de 1, 4, 7, 10 e 13 °C para brotação de gemas endodormentes de macieira e pereira. Segundo Campoy et al. (2011b), o efeito positivo de altas temperaturas na superação da dormência só é evidente depois de acúmulo parcial de frio a campo. Em julho de 2013 as plantas haviam acumulado a campo 149 HF abaixo de 7,2 °C e 712 HF abaixo de 12 °C.

Em julho de 2013, o acúmulo de frio a campo e o fornecimento de frio adicional de 712 e 672 HF abaixo de 12 °C, respectivamente, totalizando 1384 HF abaixo de 12 °C diminuiu a intensidade de dormência das gemas, porém o ID ainda indicou dormência fraca. Desta forma, a quebra natural da dormência de gemas de caquizeiro a campo pode ocorrer, porém a brotação ainda pode ser inferior a capacidade da planta em condição climática de suprimento das exigências em frio. As regiões subtropicais e as mudanças climáticas previstas podem atrasar a superação da dormência, causar má brotação das gemas, com pouca distribuição de ramos na planta e comprometimento da produção (ATKINSON et al., 2013; JONES et al., 2013).

### 3.4 CONCLUSÕES

Quando as plantas estão na transição da paradormência para endodormência, a manutenção dos ramos em temperaturas frias de 3, 6, 9 e 12 °C induz a endodormência de gemas de caquizeiro cv. Fuyu.

As temperaturas de 3 e 6 °C são mais eficientes para a superação da dormência de caquizeiro Fuyu do que 9 e 12 °C quando as gemas estão na transição da paradormência para endodormência.

Quando as gemas estão endodormentes, as temperaturas de 3, 6, 9 e 12 °C são efetivas para a superação da dormência.

Temperatura de 12 °C é capaz de induzir e superar a dormência, porém mais lentamente, necessitando de maior número de horas de frio.

### REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A.; ZHEBENTYAYEVA, T.; BARAKAT, A.; LIU, Z. Chapter six – The genetic control of bud-break in trees. **Advances in Botanical Research**, Londres, v. 74, p. 201-228, 2015.
- ATKINSON, C. J.; BRENNAN, R. M.; JONES, H. G. Declining chilling and its impact on temperate perennial crops. **Environmental and Experimental Botany**, Kidlington, v. 91, p. 48-62, 2013.
- BALANDIER, P.; GENDRAUD, M.; RAGEAU, R.; BONHOMME, M.; RICHARD, J. P.; PARISOT, E. Bud break delay on single node cuttings and bud capacity for nucleotide accumulation as parameters for endo- and paradormancy in peach trees in a tropical climate. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 55, n. 3, p. 249-261, 1993.
- BILAVČÍK, A.; ZÁMEČNÍK, J.; GROSPIETSCH, M.; FALTUS, M.; JADRNÁ, P. Dormancy development during cold hardening of in vitro cultured *Malus domestica* Borkh. plants in relation to their frost resistance and cryotolerance. **Trees**, Heidelberg, v. 26, n. 4, p. 1181-1192, 2012.
- BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; RICHARD, J. P.; EREZ, A.; GENDRAUD, M. Influence of three contrasted climatic conditions on endodormant vegetative and floral peach buds: analyses of their intrinsic growth capacity and their potential sink strength compared with adjacent tissues. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 80, n. 3-4, p. 157-171, 1999.

- CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; COOK, N.; ALLDERMAN, L.; EGEE, J. Clinal variation of dormancy progression in apricot. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 3, p. 618-630, 2011a.
- CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; COOK, N.; ALLDERMAN, L.; EGEE, J. High temperatures and time to budbreak in low chill apricot 'Palsteyn'. Towards a better understanding of chill and heat requirements fulfilment. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 129, n. 4, p. 649-655, 2011b.
- CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; EGEE, J. Seasonal progression of bud dormancy in apricot (*Prunus armeniaca* L.) in a Mediterranean climate: a single-node cutting approach. **Plant Biosystems**, Oxon, v. 145, n. 3, p. 596-605, 2011c.
- CARVALHO, R. I. N.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; RENDOKÉ, J. C.; SANTOS, J. M.; PEREIRA, G. P. Dinâmica da dormência de gemas de caquizeiro Fuyu em região de baixa ocorrência de frio. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 57-63, 2010.
- CARVALHO, R. I. N.; BIASI, L. A. Índice para a avaliação da intensidade de dormência de gemas de fruteiras de clima temperado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 936-940, 2012.
- EREZ, A.; SAMISH, R. M.; LAVÉE, S. The role of light in leaf and flower bud break of the peach (*Prunus persica*). **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 19, n. 3, p. 650-659, 1966.
- FAQUIM, R.; SILVA, I. D.; CARVALHO, R. I. N. Necessidade de frio para quebra de dormência de gemas de caquizeiro 'Fuyu'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 438-444, 2007.
- FISHMAN, S.; EREZ, A.; COUVILLON, G. A. The temperature dependence of dormancy breaking in plants: computer simulation of processes studied under controlled temperatures. **Journal of Theoretical Biology**, Londres, v. 126, n. 3, p. 309-321, 1987a.
- FISHMAN, S.; EREZ, A.; COUVILLON, G. A. The temperature dependence of dormancy breaking in plants: mathematical analysis of a two-step model involving a cooperative transition. **Journal of Theoretical Biology**, Londres, v. 124, n. 4, p. 473-483, 1987b.
- GARCÍA-CARBONELL, S.; YAGÜE, B.; BLEIHOLDER, H.; HACK, H.; MEIER, U.; AUGUSTÍ, M. Phenological growth stages of the persimmon tree (*Diospyros kaki*). **Annals of Applied Biology**, Hoboken, v. 141, n. 1, p. 73-76, 2002.
- HEIDE, O. M.; PRESTRUD, A. K. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. **Tree Physiology**, Oxford, v. 25, p. 109-114, 2005.

JACOBS, J. N.; JACOBS, G.; COOK, N. C. Chilling period influences the progression of bud dormancy more than does chilling temperature in apple and pear shoots. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 77, n. 3, p. 333-339, 2002.

JONES, H. G.; HILLIS, R. M.; GORDON, S. L.; BRENNAN, R. M. An approach to the determination of winter chill requirements for diferente *Ribes* cultivars. **Plant Biology**, Hoboken, v. 15, n. 1, p. 18-27, 2013.

LANG, G. A.; EARLY, J. D.; MARTIN, G. C.; DARNELL, R. L. Endo-, para- and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. **Hortscience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 371-178, 1987.

LINSLEY-NOAKES, G. C.; ALLAN, P. Comparison of two models for the prediction of rest completion in peaches. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 107-113, 1994.

MALAGI, G.; SACHET, M. R.; CITADIN, I.; HERTER, F. G.; BONHOMME, M.; REGNARD, J. L.; LEGAVE, J. M. The comparison of dormancy dynamics in apple trees grown under temperate and mild winter climates imposes a renewal of classical approaches. **Trees**, Heidelberg, v. 29, n. 5, p. 1365-1380, 2015.

NAOR, A.; FLAISHMAN, M.; STERN, R.; MOSHE, A.; EREZ, A. Temperature effects on dormancy completion of vegetative buds in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 128, n. 5, p. 636-641, 2003.

PETRI, J. L.; PALLADINI, L. A.; SCHUCK, E.; DUCROQUET, J. P.; MATOS, C. S.; POLA, A. C. **Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado**. Florianópolis: EPAGRI, 1996. 110 p. (EPAGRI. Boletim Técnico, 75).

PUTTI, G. L.; PETRI, J. L.; MENDEZ, M. E. Temperaturas efetivas para a dormência da macieira (*Malus domestica* Borkh.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 210-212, 2003.

RAGEAU, R. Croissance et débourrement des bourgeons végétatifs de pêcher (*Prunus persica* L. Batsch) au cours d'un test classique de dormance. **CR Academy Science**, Paris, v. 287, p. 1119-1122, 1978.

RICHARDSON, E. A.; SEELEY, S. D.; WALKER, D. R. A model for estimating the completion of rest for 'Redhaven' and 'Elbert' peach trees. **HortScience**, Alexandria, v. 9, n. 4, p. 331-332, 1974.

ROHDE, A.; BHALERAO, R. P. Plant dormancy in the perennial context. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 12, n. 5, p. 217-223, 2007.

RUIZ, D.; CAMPOY, J. A.; EGEA, J. Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. **Environmental and Experimental Botany**, Kidlington, v. 61, n. 3, p. 254-263, 2007.

SHALTOUT, A. D.; UNRATH, C. R. Rest completion prediction model for 'Starkrimson Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 6, p. 957-961, 1983.

SØNSTEBY, A.; HEIDE, O. M. Chilling requirements of contrasting black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars and the induction of secondary bud dormancy. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 179, p. 256-265, 2014.

WEINBERGER, J. H. Chilling requirements of peach varieties. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 56, p. 122-128, 1950.

YAACOUBI, A. E.; MALAGI, G.; OUKABLI, A.; CITADIN, I.; HAFIDI, M.; BONHOMME, M.; LEGAVE, J. Differentiated dynamics of bud dormancy and growth in temperate fruit trees relating to bud phenology adaptation, the case of apple and almond trees. **International Journal of Biometeorology**, New York, v. 60, n. 11, p. 1695-1710, 2016.

YAMANE, H. Regulation of bud dormancy and bud break in japanese apricot (*Prunus mume* Siebold & Zucc.) and peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: A summary of recent studies. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v. 83, n. 3, p. 187-202, 2014.

#### 4 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM GEMAS DE CAQUIZEIRO CV. FUYU DURANTE A DORMÊNCIA

##### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi identificar alterações fisiológicas e bioquímicas em gemas de caqui cv. Fuyu durante a dormência. Ramos foram coletados entre março e agosto de 2015, em Campina Grande do Sul, Paraná, Brasil. A dormência foi avaliada pelo teste biológico de estacas de nós isolados, a 25 °C e fotoperíodo de 16 h. Em cada data de coleta foram separadas gemas laterais para avaliação da umidade ponderal, teor de açúcares solúveis, atividade respiratória, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO), teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e peroxidação lipídica. No final de março de 2015 as plantas já estavam dormentes, as folhas e frutos presentes indicam efeito de paradormência. A indução da endodormência pode ter ocorrido em junho de 2015, quando iniciou acúmulo de horas de frio (HF) abaixo de 7,2 °C e maiores HF abaixo de 12 °C, que induziu diminuição da umidade e da atividade respiratória, aumento dos açúcares redutores, diminuição da atividade da SOD, CAT, APX e PPO e aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Após acúmulo de 553 HF abaixo de 12 °C em agosto de 2015, a capacidade de brotação aumentou, as gemas apresentaram aumento da umidade, diminuição do teor de açúcares redutores, aumento da atividade respiratória, baixa atividade da SOD, CAT, APX e POD e elevados teores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Palavras-chave: *Diospyros kaki*, brotação, atividade metabólica, umidade, estresse oxidativo.

##### ABSTRACT

The objective of this work was to identify physiological and biochemical changes in buds of persimmon cv. Fuyu during dormancy. Branches were collected between March and August 2015, in Campina Grande do Sul, Paraná, Brazil. The dormancy was evaluated by the biological test of single node cutting isolated, at 25 °C and photoperiod of 16 h. At each collection date, lateral buds were separated to evaluate the water content, reducing sugars, respiratory activity, enzyme activity superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and lipid peroxidation. At the end of March 2015, the plants were already dormant, the leaves and fruits present suggest paradormancy effect. Induction of endodormancy may have occurred in June 2015, when the accumulation of cold hours (CH) below 7.2 °C and higher CH below 12 °C, which induced decrease in water content and respiratory activity, increase reducing sugars, decrease of SOD, CAT, APX and PPO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increase. After accumulation of 553 CH below 12 °C in August 2015, budburst capacity increased, the buds showed increase water content, decrease reducing sugars, increase respiratory activity, low activity of SOD, CAT, APX and POD and high H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contents.

Key-words: *Diospyros kaki*. Budburst. Metabolic activity. Water content. Oxidative stress.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O caquizeiro é uma frutífera de clima subtropical, originário da China, que apresenta dormência de gemas nos meses de outono e inverno (YAKUSHIJI; NAKATSUKA, 2007). A dormência de gemas é um mecanismo adaptativo das plantas que possibilita sua sobrevivência em condições climáticas adversas e baseia-se na suspensão temporária do crescimento visível (SAMISH, 1954), embora as atividades metabólicas essenciais continuem a ocorrer (SAURE, 1985).

A dormência de gemas compreende as fases de paradormência, em que a brotação é inibida por influência de outras estruturas da planta sobre a gema, de endodormência, quando fatores endógenos da gema inibem a brotação, e de ecodormência, na qual fatores ambientais desfavoráveis limitam a brotação das gemas (LANG et al., 1987). Para início de novo ciclo vegetativo, em condições naturais, as plantas precisam ser expostas a períodos de baixas temperaturas, variáveis de acordo com a espécie ou cultivar (NAOR et al., 2003; ROHDE; BHALERAO, 2007).

Os eventos que ocorrem desde a instalação até a liberação da endodormência das gemas ainda não estão totalmente esclarecidos (HALALY et al., 2008). A dinâmica da dormência envolve fatores externos como temperatura e fotoperíodo (FENNELL; HOOVER, 1991; TANINO et al., 2010; HEIDE, 2011), e fatores internos como balanço dos promotores e inibidores de crescimento (STAFSTROM, 2000; ZHENG et al., 2015), metabolismo de proteínas e carboidratos (TAMURA et al., 1998; MARQUAT et al., 1999; RADY; EL-YAZAL, 2013), atividade respiratória (TREJO-MARTÍNEZ et al., 2009), teor de água (MARAFON et al., 2011; SCHMITZ et al., 2015) e metabolismo antioxidativo (PÉREZ; LIRA, 2005).

Durante a dormência, a água migra das gemas para tecidos menos sensíveis ao frio como os catáfilos das gemas e tecidos adjacentes do ramo. Esta desidratação protege os tecidos meristemáticos da gema dos danos causados pelas baixas temperaturas (KALBERER et al., 2006; YOOYONGWECH et al., 2008). Após a liberação da dormência, o aumento do teor de água nas gemas influencia a atividade metabólica (FAY et al., 2000; ARORA et al., 2003). O teor de água das gemas pode ser um indicador fisiológico do nível de atividade metabólica das células e do potencial de crescimento das gemas mesmo antes dos primeiros sinais morfológicos de brotação (LEITE et al., 2006; MARAFON et al., 2011).

O estresse causado pelas baixas temperaturas e pela diminuição da atividade respiratória no período hibernar induz o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como superóxido ( $O_2^-$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que em concentrações elevadas podem ser tóxicas para as plantas e causar estresses oxidativos como peroxidação de lipídeos da membrana (PÉREZ; LIRA, 2005; VERGARA et al., 2012). O principal mecanismo de defesa antioxidante nas plantas compreende as enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidases (MITTLER, 2002).

O envolvimento de EROs e antioxidantes no controle da dormência de gemas tem sido estudado em videira. A atividade da catalase diminui durante a exposição a baixas temperaturas e ocasiona o aumento dos níveis de peróxido de hidrogênio nas gemas, que inicia um processo de transdução de sinais, cujo resultado é a brotação das gemas (NIR et al., 1986; PÉREZ; LIRA, 2005; SUDAWAN et al., 2016).

As alterações na hidratação das gemas associadas ao estresse respiratório e oxidativo temporário podem ser parte do mecanismo de indução e liberação da dormência (LEITE et al., 2006; HALALY et al., 2008). Em caquizeiro, no entanto, pouco se conhece sobre o envolvimento destes mecanismos bioquímicos na dinâmica da dormência. O conhecimento das alterações fisiológicas e bioquímicas que ocorrem em gemas dormentes de caquizeiro poderá auxiliar na compreensão da dormência de gemas da espécie e subsidiar futuras pesquisas.

O objetivo deste trabalho foi identificar as alterações fisiológicas e bioquímicas em gemas de caquizeiro cv. Fuyu durante a dormência.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Ramos de um ano de idade, situados na posição oblíqua da copa, com 30 a 40 cm de comprimento, íntegros e sadios de caquizeiro cv. Fuyu foram coletados em 10 datas a cada 14 dias, de 31 de março a 04 de agosto de 2015, entre às 9 e 11 h da manhã, de plantas matrizes adultas de 19 anos de idade, no pomar orgânico comercial Sítio São Marcos localizado em Campina Grande do Sul (latitude  $25^{\circ}18'$  Sul, longitude  $49^{\circ}03'$  Oeste e altitude de 918 m), Paraná, Brasil.

O clima do município, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfb – subtropical úmido mesotérmico. Para a avaliação do frio natural ocorrido durante a coleta de ramos, foram calculados o número de horas de frio abaixo ou iguais a

7,2 °C (WEINBERGER, 1950) e 12 °C, com base nos dados meteorológicos fornecidos pelo Simepar.

Utilizou-se o programa estatístico Assistat, versão 7.7 beta.

#### 4.2.1 Dormência de gemas

A dormência de gemas foi estudada por meio do teste biológico de estacas de nós isolados (RAGEAU, 1978) em sala de crescimento a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 h, no Laboratório de Micropropagação de Plantas da Universidade Federal do Paraná. A metade superior dos ramos foi dividida em estacas de 6 cm de comprimento, mantendo-se apenas a gema vegetativa lateral superior. Foi realizada a pulverização das estacas com fungicida Cercobin® (Tiofanato Metílico: 1g L<sup>-1</sup>).

As estacas foram mantidas em vasos com vermiculita umedecida, cobertos com sacos de polietileno transparentes para a manutenção da umidade (FIGURA 6) e avaliadas individualmente a cada dois dias, por um período de até 40 dias após a instalação do experimento, de acordo com a escala internacional BBCH (Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) para o parâmetro de crescimento "Ponta Verde" (PV) (BBCH 07 - aparecimento de modificações na coloração da gema, com o ápice esverdeado e primeiras folhas visíveis) (GARCÍA-CARBONELL et al., 2002).



FIGURA 6 – ESTACAS DE CAQUIZEIRO MANTIDAS EM VASOS COM VERMICULITA E EM SACOS DE POLIETILENO EM SALA DE CRESCIMENTO.

Com base neste parâmetro, foram calculados o tempo médio para brotação (TMB) que representa o número médio de dias passados entre a instalação do experimento e a detecção do estágio PV e a taxa final de brotação (TF) que representa a porcentagem de estacas com gemas que atingiram PV.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos (datas de coleta) e quatro repetições de 10 estacas por unidade experimental. As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As médias dos tratamentos com diferença significativa pelo teste F na análise de variância foram submetidas ao teste Scott-Knott ao nível de 1% de probabilidade de erro.

#### 4.2.2 Teor de água das gemas

O teor de água das gemas foi analisado por meio da umidade ponderal (MARAFON et al., 2011) no Laboratório de Micropropagação de Plantas da Universidade Federal do Paraná. Amostras de 0,5 g de gemas vegetativas laterais foram coletadas da metade superior dos ramos e pesadas em balança analítica de precisão, para a obtenção da massa fresca (MF). As gemas foram mantidas em estufa a 65 °C sob ventilação forçada, até atingir massa constante, quando foram pesadas novamente para o registro da massa seca (MS).

A umidade ponderal (UP) foi determinada por meio da fórmula:  $UP = (MF - MS)/MS$ .

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos (datas de coleta) e cinco repetições. As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As médias dos tratamentos com diferença significativa pelo teste F na análise de variância foram submetidas à análise de regressão ao nível de 1% de probabilidade de erro.

#### 4.2.3 Atividade respiratória das gemas

A atividade respiratória das gemas foi analisada por meio do teste de tetrazólio (CARVALHO et al., 2010b) no Laboratório de Micropropagação de Plantas da Universidade Federal do Paraná.

As gemas vegetativas laterais (FIGURA 7a) da metade superior dos ramos foram coletadas e divididas ao meio por um corte longitudinal de forma a expor seus tecidos internos (FIGURA 7b). A massa de gemas amostradas para realização de cada teste foi de 0,5 g. As gemas foram imediatamente utilizadas para execução do teste para evitar sua oxidação. Com uma amostra de 0,5 g de gemas foi

determinada a umidade por meio da secagem em estufa a 65 °C até massa constante.

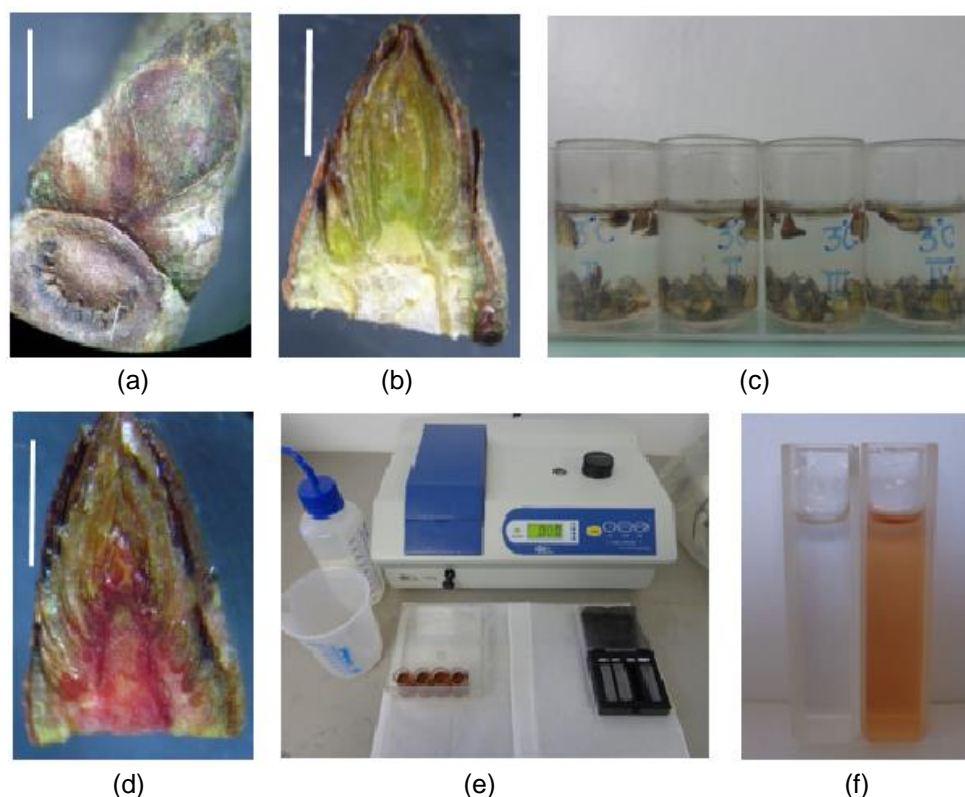


FIGURA 7 – GEMA DORMENTE DE CAQUIZEIRO (BARRA = 2 mm) (A), CORTE LONGITUDINAL DA GEMA (B), GEMAS EM SOLUÇÃO DE TETRAZÓLIO (C), GEMA APÓS DUAS HORAS EM SOLUÇÃO DE TETRAZÓLIO (D), GEMAS EM SOLUÇÃO DE ÁLCOOL ETÍLICO (E) E ÁLCOOL ETÍLICO ANTES E APÓS UMA HORA EM CONTATO COM GEMAS QUE FORAM MANTIDAS EM SOLUÇÃO DE TETRAZÓLIO (F).

As amostras de gemas foram mantidas em 5 mL de solução de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio a 1% (m/v) em frascos fechados (FIGURA 7c) e mantidos em sala de crescimento a 25 °C por duas horas para coloração dos tecidos vivos. Em seguida, as gemas coloridas (FIGURA 7d) foram retiradas desta solução e mantidas em 6 mL de álcool etílico absoluto (PA) (FIGURA 7e) a temperatura ambiente por uma hora para extração da coloração vermelha das gemas (FIGURA 7f). A leitura da intensidade da cor obtida na solução de álcool etílico foi feita por espectrofotometria por absorvância a 560 nm. Para retirar o efeito da umidade da gema na interpretação dos resultados, o valor de absorvância obtido foi corrigido para absorvância por 100 mg de massa seca de gemas.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos (datas de coleta) e cinco repetições. As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As médias dos

tratamentos com diferença significativa pelo teste F na análise de variância foram submetidas à análise de regressão ao nível de 1% de probabilidade de erro.

#### 4.2.4 Estresse oxidativo nas gemas

As gemas vegetativas laterais foram retiradas dos ramos imediatamente após a coleta dos ramos ainda no pomar, foram envolvidas em papel-alumínio, colocadas em garrafas térmicas contendo nitrogênio líquido e transportadas ao Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Florestas, em Colombo, Paraná, onde ficaram armazenadas em freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro) campus Cedeteg, em Guarapuava, Paraná. As amostras foram transportadas em caixa de isopor contendo gelo seco e posteriormente armazenadas em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da maceração das mesmas.

Para a obtenção do extrato enzimático, foram macerados 0,13 g de gemas em almofariz com nitrogênio líquido (FIGURA 8a). As gemas maceradas foram transferidas para tubos falcon previamente resfriados, onde foram adicionados 2 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) gelado, contendo 0,1 mM EDTA e 1% (p/p) de PVP (polivinilpirrolidona). A solução foi agitada em agitador magnético durante 20 segundos, transferida para ependorf de 2 mL (FIGURA 8b) e mantida em caixas de isopor com gelo em escamas até a centrifugação (FIGURA 8c). O homogenato foi centrifugado a 5.000 rpm durante 30 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sendo o sobrenadante obtido (FIGURA 8d) coletado e considerado como extrato enzimático (FIGURA 8e), o qual foi armazenado em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para posterior determinação da atividade enzimática (KAR; MISHRA, 1976).

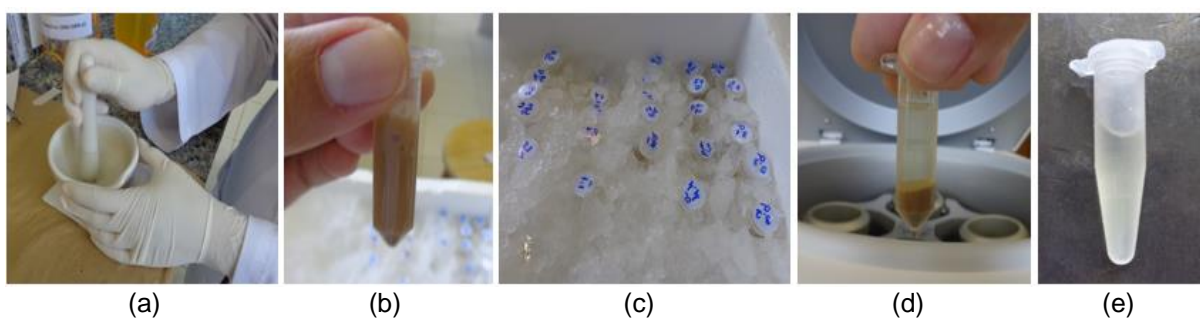


FIGURA 8 – MACERAÇÃO DAS GEMAS DE CAQUIZEIRO (A), HOMOGENATO CONTENDO GEMAS MACERADAS E TAMPÃO FOSFATO DE POTÁSSIO (B), HOMOGENATO MANTIDO EM GELO ANTES DA CENTRIFUGAÇÃO (C), HOMOGENATO APÓS CENTRIFUGAÇÃO (D) E EXTRATO ENZIMÁTICO (E).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos (datas de coleta) e cinco repetições. As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As médias dos tratamentos com diferença significativa pelo teste F na análise de variância foram submetidas ao teste Scott-Knott ao nível de 1% de probabilidade de erro para a peroxidação lipídica e as demais variáveis foram submetidas à análise de regressão.

#### 4.2.4.1 Teor de açúcares redutores

Os açúcares redutores foram quantificados pelo método de Lever (1972). Foram adicionados 3 mL de hidrazida do ácido p-hidroxibenzoico em 10 µL de extrato enzimático, a solução foi homogeneizada em agitador magnético durante 2 segundos e mantida em banho-maria a 100 °C para a reação. Em seguida, a mistura foi resfriada em banho de gelo e sua absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 410 nm. A concentração de açúcares redutores, expressa em µg mL<sup>-1</sup> de amostra, foi determinada utilizando-se curva-padrão de concentrações de glucose de 0 a 25 µg mL<sup>-1</sup>.

#### 4.2.4.2 Teor de proteínas

A determinação do conteúdo proteico foi realizada conforme Bradford (1976), como preliminar para quantificação da atividade enzimática. Foram adicionados 40 µL do extrato enzimático em 1 mL do reagente de Bradford, sob agitação por 2 segundos em agitador magnético. Após 5 minutos, foi efetuada a leitura da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro. A concentração de proteínas, expressa em mg mL<sup>-1</sup> de amostra (mg proteína mL<sup>-1</sup>), foi determinada utilizando-se a curva-padrão de concentrações de albumina de soro bovino (BSA) de 0 a 1,0 mg mL<sup>-1</sup>. A curva-padrão de albumina de soro bovina obtida pelo método de Bradford foi  $y = -0,0003 + 0,8995x$ .

#### 4.2.4.3 Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da superóxido dismutase foi avaliada conforme proposto por Giannopolitis e Ries (1977), com algumas modificações, por meio da capacidade

enzimática de inibição da fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT). O meio de reação foi composto de tampão fosfato de potássio 52,5 mM, pH 7,8, EDTA 0,1 mM, NBT 0,075 mM, metionina 13 mM e riboflavina 2  $\mu$ M. Para a reação, foram adicionados 15  $\mu$ L do extrato enzimático e 3 mL de meio de reação em placas de cultivo de células com 24 poços e fundo chato com capacidade máxima de 3,5 mL, no escuro. A reação iniciou-se com a manutenção das placas contendo o meio de reação e o extrato enzimático sob lâmpada fluorescente de 15 W durante 10 minutos. Após este período a luz foi apagada e a reação paralisada.

O branco consistiu de meio de reação sem a adição de extrato. Para cada amostra foi preparado um controle com meio de reação (3 mL) e extrato enzimático (15  $\mu$ L) que permaneceu no escuro. A leitura da absorbância foi realizada em cubetas de polipropileno em espectrofotômetro a 560 nm. Foi considerada uma unidade de SOD a quantidade de enzima capaz de inibir 50% da fotorredução do NBT nas condições do presente estudo. A atividade da enzima foi expressa em unidades por miligrama de proteína ( $U\ mg\ prote\acute{a}na^{-1}$ ).

#### 4.2.4.4 Atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi quantificada pelo método de Góth (1991), modificado por Tománková et al. (2006), por meio complexo estável formado pelo molibdato de amônio com o peróxido de hidrogênio. O extrato enzimático (0,1 mL) foi incubado em 1 mL de mistura de reação contendo 60 mM de peróxido de hidrogênio em tampão fosfato de potássio 60 mM pH 7,4, a 38 °C, por 4 minutos em banho-maria. Após 4 minutos de incubação, foi adicionado 1 mL de molibdato de amônio 32,4 mM para deter o consumo de peróxido de hidrogênio pela enzima presente no extrato.

Foi preparado um branco para cada amostra por meio da adição de molibdato de amônio à mistura de reação, omitindo o período de incubação. O complexo amarelo de molibdato e de peróxido de hidrogênio foi medido em espectrofotômetro a 405 nm de absorbância. A diferença entre a absorbância do branco e a amostra incubada indicou a quantidade de peróxido de hidrogênio utilizado pela enzima. A concentração de  $H_2O_2$  foi determinada utilizando-se o coeficiente de extinção  $\epsilon = 0,0655\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ . A atividade da enzima foi expressa em  $\mu mol\ min^{-1}\ mg\ prote\acute{a}na^{-1}$ .

#### 4.2.4.5 Atividade da guaiacol peroxidase (POD, EC 1.11.1.7)

A atividade da guaiacol peroxidase foi determinada segundo Lusso e Pascholati (1999), por meio da medição da conversão do guaiacol em tetraguaiacol. Para a solução de reação, foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático e 1 mL de solução composta por 250  $\mu\text{L}$  de guaiacol (97%), 306  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (34%) e 100 mL de tampão fosfato de potássio 0,01M (pH 6,0), que estava mantida a 30 °C em banho-maria.

A atividade da peroxidase de guaiacol foi determinada por meio do acompanhamento do aumento da absorbância a 470 nm em espectrofotômetro, por um período de 150 segundos, com leituras a cada 10 segundos. A diferença entre a leitura aos 150 segundos e a leitura aos 40 segundos foi utilizada para a determinação da atividade, pois este foi o período de maior atividade na leitura. Os resultados foram expressos em absorbância  $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína.

#### 4.2.4.6 Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada segundo o método adaptado de Nakano e Asada (1981). Para a solução de reação, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático, 1,850 mL de solução composta por tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), EDTA 0,108 mM e ácido ascórbico 0,2162 mM, mantida em banho-maria a 30 °C, e 50  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio.

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada por meio do acompanhamento da diminuição da absorbância a 290 nm em espectrofotômetro, por um período de 60 segundos, com leituras a cada 10 segundos. A diferença entre a leitura aos 60 segundos e a leitura aos 20 segundos foi utilizada para a determinação da atividade, pois este foi o período de maior atividade na leitura. Para cálculo da atividade da ascorbato peroxidase foi utilizado o coeficiente de extinção de  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Os resultados foram expressos em absorbância por minuto por mg de proteína ( $\text{abs min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  proteína).

#### 4.2.4.7 Atividade de polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1)

A atividade da polifenoloxidase foi determinada segundo metodologia proposta por Duangmal e Apenten (1999). A mistura da solução consistiu de 0,960 mL de

solução contendo 1,1101 g de catecol em 50 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,8), mantida em banho-maria a 30 °C, e 40 µL de extrato enzimático. A atividade da polifenoloxidase foi determinada por meio do acompanhamento do aumento da absorbância a 420 nm em espectrofotômetro, por um período de 150 segundos, com leituras a cada 10 segundos. A diferença entre a leitura aos 150 segundos e a leitura aos 40 segundos foi utilizada para a determinação da atividade, pois este foi o período de maior atividade na leitura. A atividade da enzima foi expressa em absorbância por minuto por mg de proteína ( $\text{abs min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{proteína}$ ).

#### 4.2.4.8 Teor de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

A determinação do teor de peróxido de hidrogênio seguiu metodologia descrita por Loreto e Velikova (2001), com algumas modificações. Foram macerados 0,2 g de gemas em nitrogênio líquido em almofariz. As gemas maceradas foram transferidas para microtubos de centrífuga, ao qual foram adicionados 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (p/v). A solução de reação foi homogeneizada manualmente por 10 segundos e mantida em caixa de isopor contendo gelo em escamas. O homogenato foi centrifugado a 12.000 rpm a 4 °C, por 15 minutos. 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 foi determinado por meio da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 390 nm. A curva padrão foi realizada a partir de solução estoque de peróxido de hidrogênio 250 µM, com concentrações entre 0 e 100 µmol mL<sup>-1</sup> de peróxido de hidrogênio. O teor de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi expresso em µmol g<sup>-1</sup> de massa fresca.

#### 4.2.4.9 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi avaliada segundo metodologia proposta por Velikova et al. (2000), por meio da produção de metabólitos reativos a ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), principalmente malondialdeído (MDA).

Foram utilizados 0,1 mg de gemas maceradas em 1,5 mL de ácido tricloroacético (0,1%) contendo aproximadamente 20% PVPP (polivinil polipirrolidona), sem nitrogênio líquido em banho de gelo. O homogenato foi centrifugado a 5.000 rpm durante 5 minutos a 4 °C. Foi adicionado 1 mL de ácido

tricloroacético (20%), contendo 0,5% de ácido tiobarbitúrico, em 0,5 mL do sobrenadante. A solução de reação foi mantida em banho-maria a 95 °C durante 30 minutos. Em seguida a solução foi retirada do banho-maria, mantida em banho de gelo para rápido resfriamento e novamente centrifugada a 5.000 rpm durante 5 minutos a 4 °C.

As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 532 e 600 nm. Os resultados foram expressos em conteúdo de malondialdeído (MDA) ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa fresca), usando coeficiente de extinção de  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

#### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve elevada flutuação da temperatura diária durante o período de dormência das gemas de caquizeiro, de final de março a início de agosto de 2015 (FIGURA 9). O número de horas de frio abaixo de 7,2 °C ocorrido até a última coleta de ramos, em 04 de agosto, foi de apenas 27 HF (TABELA 8), valor abaixo da exigência em frio de caquizeiro cv. Fuyu que é de 504 HF abaixo de 7,2 °C para a liberação da dormência (FAQUIM et al., 2007).

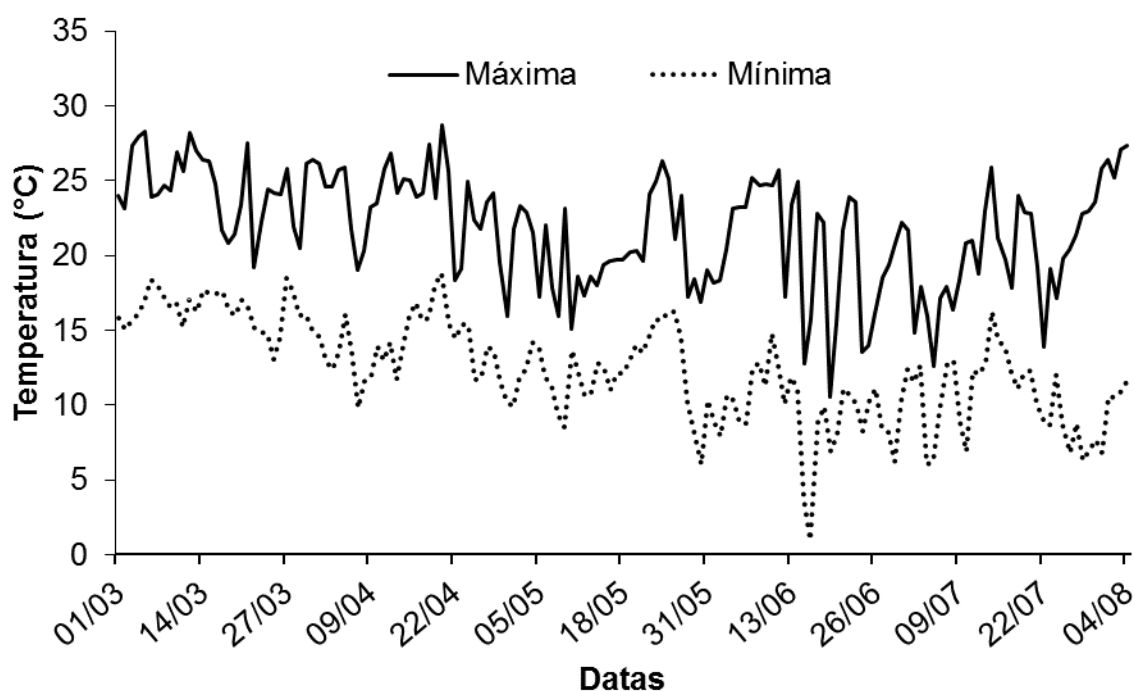


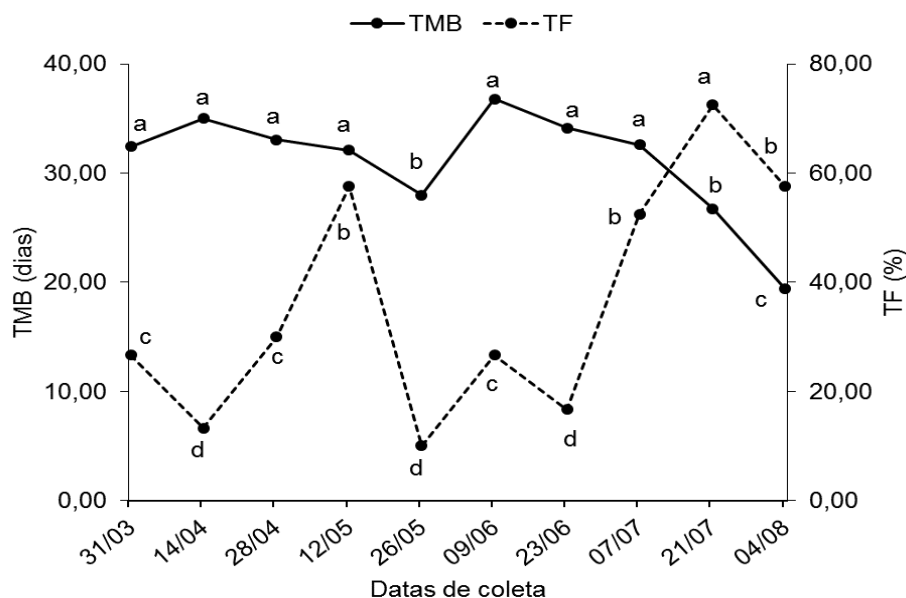
FIGURA 9 - TEMPERATURAS MÁXIMA E MÍNIMA DIÁRIAS REGISTRADAS NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015 NA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, LOCALIZADA EM PINHAIS, PARANÁ.

TABELA 8 - HORAS DE FRIO ABAIXO OU IGUAIS A 7,2°C E 12°C REGISTRADAS NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015 NA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO SIMEPAR, LOCALIZADA EM PINHAIS, PARANÁ.

Períodos 2015	Horas de frio $\leq 7,2^{\circ}\text{C}$		Horas de frio $\leq 12^{\circ}\text{C}$	
	Entre as datas	Acumuladas	Entre as datas	Acumuladas
01/03 a 31/03	0	0	0	0
01/04 a 14/04	0	0	4	4
15/04 a 28/04	0	0	0	4
29/04 a 12/05	0	0	43	47
13/05 a 26/05	0	0	13	60
27/05 a 09/06	3	3	98	158
10/06 a 23/06	15	18	124	282
24/06 a 07/07	6	24	136	418
08/07 a 21/07	0	24	20	438
22/07 a 04/08	3	27	115	553

#### 4.3.1 Dormência de gemas

No início do experimento, as gemas já se encontravam com forte inibição do crescimento. O elevado TMB de 32,22 dias e a baixa TF de 26,67% dos ramos coletados em 31/03 (FIGURA 10) indicam que a planta estava em dormência de gemas (BONHOMME et al., 1999; CAMPOY et al., 2011b; YAACOUBI et al., 2016). Esta resposta pode ter sido obtida pela instalação da endodormência, mas também pode estar relacionada com o efeito da paradormência devido à presença de folhas e frutos nas plantas.



Médias seguidas de mesma letra minúscula entre datas de coletas em cada curva não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ ).

FIGURA 10 - TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB) E TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

A paradormência refere-se à influência de outras estruturas da planta sobre a gema (LANG et al., 1987) e cessa quando é eliminado o fator que causa a inibição, como as folhas que podem competir com as gemas por água e nutrientes (CRABBÉ; BARNOLA, 1996). No entanto, mesmo após a colheita dos frutos e a queda de folhas no final de abril, o TMB manteve-se alto com valores superiores a 30 dias até 07/07 e a TF foi baixa, embora tenham sido observadas oscilações com diferenças significativas para o número de brotações no período. Nesta época, pode ter ocorrido maior influência da endodormência já instalada do que efeito da paradormência, pois foi observada baixa capacidade de brotação das gemas em condições favoráveis ao crescimento.

O TMB diminuiu para 26,75 dias a partir de 21/07, quando foi obtida a maior TF de 72,50%. Na última data de coleta de ramos, realizada em 04/08, as gemas apresentaram o menor TMB de 19,38 dias, indicando que a planta estava mais apta para brotação ou com menor intensidade de dormência, pois se considera indicativo de ausência de dormência em caqui cv. Fuyu valores de TMB abaixo de 14 dias e TF acima de 90% (CARVALHO et al., 2010a).

Em abril, quando não havia estímulo de baixas temperaturas para a diminuição do metabolismo, as plantas já se encontravam em dormência. Esta dinâmica pode estar relacionada com o efeito do fotoperíodo, cuja diminuição neste período pode ter contribuído para o estabelecimento da dormência.

As condições ambientais com horas de frio abaixo de 7,2 °C consideradas insuficientes para a cultivar Fuyu não foram limitantes para a indução da superação natural da dormência. Em macieiras, temperaturas abaixo de 12 °C, e não apenas abaixo de 7,2 °C, podem acumular frio para a indução da brotação de gemas (HEIDE; PRESTRUD, 2005). Na região de Campina Grande do Sul, onde os ramos foram coletados, ocorreram 553 HF abaixo de 12 °C (TABELA 8) que, juntamente com o aumento do fotoperíodo, podem ter estimulado a liberação da dormência de gemas de caqui (EREZ et al., 1966; CAMPOY et al., 2011a).

#### 4.3.2 Teor de água das gemas

No início da coleta dos ramos, as gemas apresentaram baixa umidade ponderal de 0,69 em 31/03 (FIGURA 11) que pode ter ocorrido por influência da

paradormência ainda instalada. As folhas e frutos presentes competem com as gemas durante a distribuição dos fotoassimilados e pode ter ocorrido maior transporte de água para estas estruturas em detrimento das gemas (LEMOINE et al., 2013; ZANON et al., 2015).

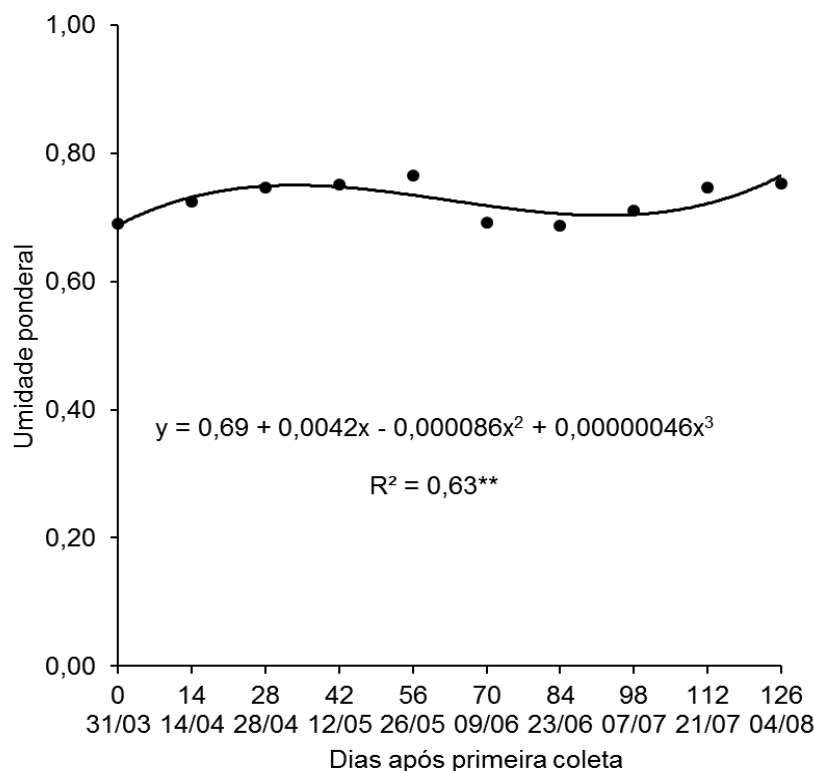


FIGURA 11 - UMIDADE PONDERAL DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

Com a queda das folhas e a colheita dos frutos até o final de abril, observou-se aumento da umidade ponderal das gemas de até 0,77 em 26/05. A diminuição do efeito da paradormência pode ter aumentado o fluxo de água para as gemas devido a eliminação dos fatores que condicionavam a inibição. Durante este período observou-se aumento da TF de 13,28% em 14/04 para 57,50% em 12/05 (FIGURA 10), que pode ter ocorrido pela maior hidratação das gemas e mudanças no estado físico das membranas (WELLING; PALVA, 2006; YOOYONGWECH et al., 2008). No entanto, o aumento da brotação não foi acompanhado pela diminuição do TMB. O maior teor de água nas gemas e maior TF não superou a dormência por ser este um período de transição para a endodormência, que associado às flutuações de temperatura (FIGURA 9) podem ter induzido alterações no metabolismo da planta.

A partir de 09/06 a umidade ponderal diminuiu para 0,69 e manteve-se baixa até 23/06, esta diminuição da umidade ocorreu na época que a planta começou a

acumular HF a campo abaixo de 7,2 °C e maiores valores de HF abaixo de 12 °C entre datas de coleta (TABELA 8). O frio pode ter intensificado a endodormência, pois a TF diminuiu e estratégias de resistência como migração da água das gemas para os ramos podem ter sido estabelecidas (ARORA et al., 2003; YOOYONGWECH et al., 2008). Marafon et al. (2011) encontraram diminuição da umidade ponderal de gemas de pereira durante a dormência e aumento do teor de água nos tecidos adjacentes como os ramos, que são menos sensíveis às temperaturas baixas.

A diminuição do teor de água nos tecidos meristemáticos aumenta a concentração de solutos e diminui o ponto de congelamento das células, mecanismos que evitam a formação de cristais de gelo e o rompimento das células para possibilitar maior resistência destas estruturas ao frio (ARORA et al., 2003).

Durante a dormência, o transporte de água entre células pela via simplasto pode ser dificultado pelo bloqueio dos plasmodesmas, causado pela deposição de 1,3- $\beta$ -d-glucano. Após a liberação da dormência e suficiente acúmulo de frio, o plasmodesma readquire sua capacidade de transportar água, íons, nucleotídeos e pequenos metabólitos como aminoácidos e açúcares. Quando as plantas não são submetidas ao frio, a comunicação entre as células não é reestabelecida completamente, ocasionando irregularidades na brotação (RINNE et al., 2001).

Mudanças no estado da água nas células permite diferenciar as fases da dormência de gemas. A ressonância magnética demonstrou que gemas de macieira e pessegueiro em paradormência e ecodormência apresentam água na forma livre, enquanto em gemas endodormentes a água encontra-se principalmente na forma ligada a macromoléculas hidrofílicas e, após supridas as exigências em frio e liberação da endodormência, a água encontra-se no seu estado livre (FAUST et al., 1991; EREZ et al., 1998).

Durante a endodormência, quando as gemas apresentam desidratação celular induzidas por baixas temperaturas, a maior quantidade de água ligada está relacionada ao aumento de proteínas hidrofílicas como as deidrininas, que permitem a tolerância da planta à desidratação por meio da proteção das membranas e estabilização de macromoléculas, como ácidos nucleicos e proteínas, contra danos celulares (WELLING; PALVA, 2006, WISNIEWSKI et al., 2006).

A umidade ponderal das gemas aumentou a partir de 07/07, com valor de 0,75 na última coleta de ramos em 04/08. No mesmo período, a capacidade de

brotação das gemas aumentou para 72,50%, após o acúmulo de 438 HF abaixo de 12 °C, indicando menor intensidade de endodormência nesta época. O maior teor de água nas gemas pode ter proporcionado hidrólise de macromoléculas armazenadas e aumento do metabolismo da planta para a brotação das gemas (FAY et al., 2000).

O transporte de água é facilitado nas células vegetais por aquaporinas, proteínas integrais de membranas que formam canais seletivos à água nas membranas (JOHANSSON et al., 2000), e que estão envolvidas no transporte de nutrientes, sinalização celular e respostas ao estresse como baixas temperaturas observadas no período de dormência de gemas (ARORA et al., 2003; MAUREL, 2007). Em pessegueiro, o aumento na transcrição de aquaporinas está relacionada com a liberação da endodormência e aumento do teor de água das gemas (YOOYONGWECH et al., 2008).

A dinâmica da água é importante em frutíferas de clima temperado durante o período de dormência e indução da brotação, pois atua nos processos de mobilização de carboidratos e ativação do metabolismo. Bonhomme et al. (2005) verificaram que os teores de sacarose e sorbitol em gemas floríferas de pessegueiro aumentaram após a liberação da dormência, porém com menor concentração, que pode ter ocorrido devido ao maior fluxo de água nas gemas.

#### 4.3.3 Teor de açúcares redutores

Durante a dormência, a concentração de carboidratos de reserva varia na planta, podendo aumentar ou diminuir, de acordo com a espécie ou cultivar, em resposta às baixas temperaturas e fotoperíodo curto (TANINO et al., 2010). Carboidratos de reserva geralmente incluem substâncias solúveis e insolúveis, como açúcares solúveis e amido, respectivamente (LOESCHER et al., 1990). O aumento do teor de açúcares redutores como as hexoses glicose e frutose, que são açúcares solúveis de baixa mobilidade no floema devido sua propriedade redutora, apresentam importante função na liberação da dormência de gemas (JONES et al., 1999; MAUREL et al., 2004).

Variações significativas foram observadas no conteúdo de açúcares redutores entre as datas de coleta de ramos. Os menores teores de açúcares redutores foram obtidos entre 31/03 e 26/05 (FIGURA 12), quando a planta estava na transição da

paradormência para endodormência, com diminuição do metabolismo e inibição da brotação das gemas.

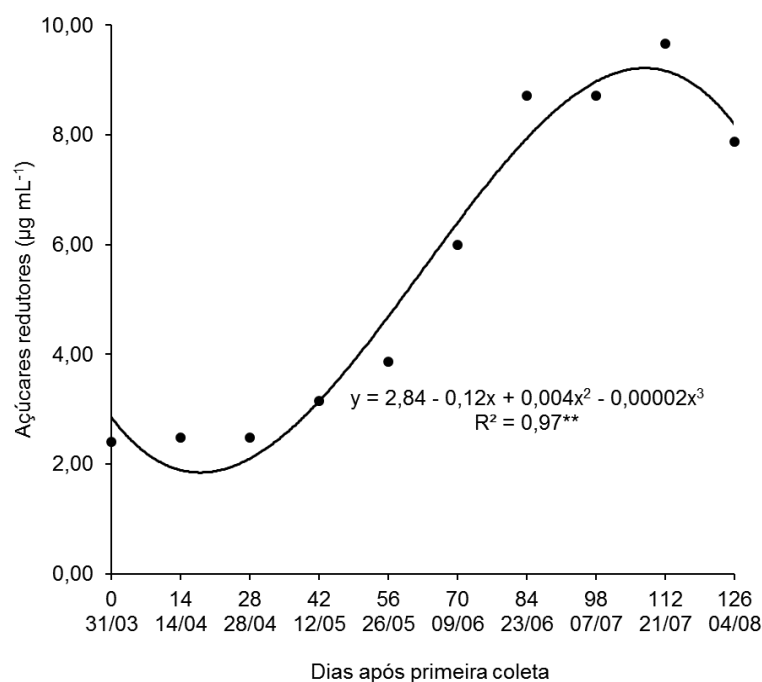


FIGURA 12 - TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES EM GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

O teor de açúcares redutores aumentou a partir de 26/05, quando as plantas haviam acumulado 60 HF abaixo de 12 °C. González-Rossia et al. (2008) verificaram alterações em carboidratos induzidas pelo frio artificial em gemas de pessegueiro, nectarineira, ameixeira e damasqueiro. Com a entrada em dormência e com tratamento de frio, houve diminuição da concentração de amido e açúcares não redutores e aumento da concentração de açúcares redutores, como forma de resistência ao frio. Gemas de pereira submetidas a temperaturas baixas também apresentam aumento de açúcares redutores (MARAFON et al., 2011).

Condições de frio abaixo de 0 °C podem provocar a formação de cristais de gelo extracelular que pode causar desidratação e injúrias físicas na célula. A concentração de carboidratos solúveis pode diminuir a temperatura de congelamento e o potencial hídrico para evitar a desidratação das células. Em *Betula platyphylla* há aumento da concentração de glicose e frutose (açúcares redutores) e sacarose, rafinose e estaquiose (açúcares não redutores) quando mantidas em temperaturas baixas (KASUGA et al., 2007).

Na coleta realizada em 21/07, as gemas apresentaram o maior teor de açúcares redutores, que coincidiu com o aumento da TF, diminuição do TMB (FIGURA 10) e aumento do teor de água (FIGURA 10). Em 04/08 foi observada diminuição dos açúcares redutores, que pode ter ocorrido devido ao aumento da atividade metabólica das gemas e consumo dos açúcares redutores para produção de energia para a brotação.

Algumas espécies como macieira, pessegueiro, nectarineira, ameixeira e damasqueiro apresentam diminuição do teor de açúcares solúveis totais e aumento de açúcares redutores na gema durante a dormência (CARVALHO; ZANETTE, 2004; BONHOMME et al., 2005; GONZÁLEZ-ROSSIA et al., 2008). Em quivizeiro, pereira e noqueira ocorre hidrólise de amido e aumento da concentração de açúcares redutores e não redutores nas gemas no período de dormência, com diminuição dos açúcares não redutores e aumento dos açúcares redutores antes da brotação das gemas (CITADIN et al., 2009; RICHARDSON et al., 2010; MARAFON et al., 2011; COOKE et al., 2012).

Para o caquizeiro não foram encontradas informações sobre a concentração de carboidratos nas gemas, no entanto Corsato et al. (2008) encontraram diminuição da concentração de amido e aumento da concentração de carboidratos solúveis durante a dormência em ramos de caquizeiro cv. Rama Forte, e evidenciaram que esse comportamento indica que para o aumento do metabolismo e início de um novo ciclo de crescimento foi necessária a mobilização das reservas de amido contido nos ramos. O aumento do teor de açúcar redutor observado nas gemas de caquizeiro cv. Fuyu pode ter ocorrido a partir da degradação do amido e translocação a curta distância.

#### 4.3.4 Atividade respiratória das gemas

A atividade respiratória é essencial para a manutenção do metabolismo, que continua a ocorrer durante a dormência, embora em menor intensidade (SAURE, 1985; LI et al., 2011). No início da coleta dos ramos, em 31/03, as gemas apresentaram a maior atividade respiratória do período estudado (FIGURA 13). Nesta época a limitação à brotação das gemas já estava instalada, com elevado TMB e baixa TF, e pode ter ocorrido mais em resposta à paradormência do que

devido à indução da endodormência, pois as gemas ainda apresentavam alta atividade metabólica.

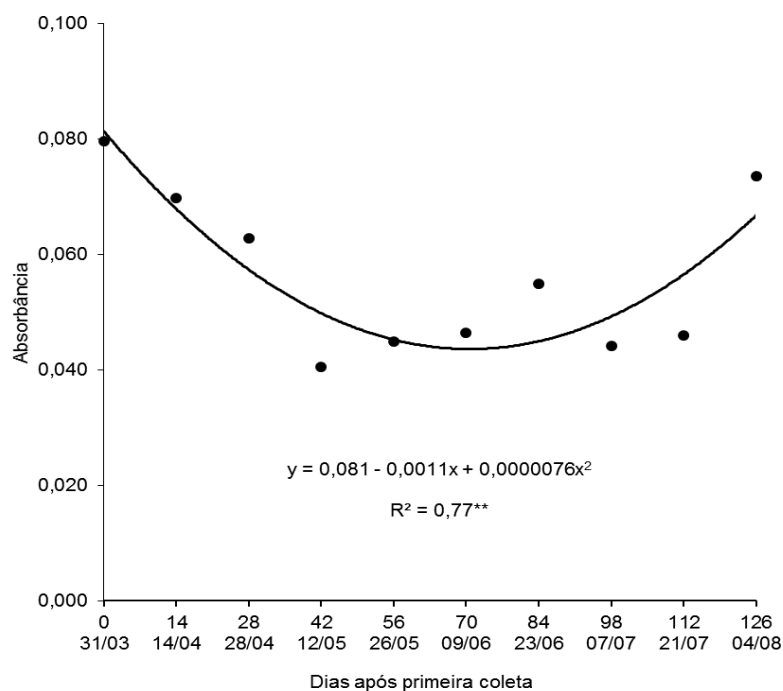


FIGURA 13 - ATIVIDADE RESPIRATÓRIA (ABSORVÂNCIA) DE GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

A atividade respiratória diminuiu de 14/04 a 12/05, período que foi observada diminuição da temperatura (FIGURA 9), com início do acúmulo de HF abaixo de 12 °C (TABELA 8) e diminuição do fotoperíodo, que induzem a diminuição do metabolismo da planta e entrada em endodormência (HEIDE; PRESTRUD, 2005; LI et al., 2011).

A taxa respiratória manteve-se baixa de 12/05 até 21/07, quando foram obtidos os menores valores de absorvância e indução da endodormência. Segundo Carvalho et al. (2010a), a endodormência em caqui se inicia a partir da metade de maio a início de junho. Durante a endodormência, a taxa respiratória em caqui diminui e se mantém baixa até a liberação da dormência, quando se observa o aumento da respiração e do metabolismo para a brotação das gemas (McPhearson et al., 1997). Estas alterações na atividade respiratória durante a dormência também foram observadas em videiras (PÉREZ et al., 2008), nectarineiras (TAN et al., 2010; LI et al., 2011) e macieiras (CARVAJAL-MILLÁN et al., 2007).

A dormência de gemas em nectarineiras é causada pela diminuição do fotoperíodo, que induz a transição das vias respiratórias da glicólise e do ácido tricarbóxico para a via das pentoses fosfato (LI et al., 2011). Após acúmulo de frio suficiente, ocorre diminuição da via das pentoses fosfato e ativação das vias da glicólise e do ácido tricarbóxico, que caracteriza a superação da dormência (TAN et al., 2010).

As alterações respiratórias transitórias que inibem a atividade de enzimas da via da glicólise e do ciclo dos ácidos tricarbóxicos, com favorecimento da via fermentativa e reorientação do fluxo de carbono ao ciclo das pentoses fosfato, ocasionam o aumento da relação adenosina monofosfato (AMP)/adenosina trifosfato (ATP) intracelular, que induz a expressão de proteínas quinases do tipo SNF (sacarose não fermentante), as quais formam parte do sistema de transferência do sinal que conduz à superação da dormência das gemas (OR et al., 2000; 2002).

Durante a dormência também pode ocorrer interrupção do transporte de elétrons da via do citocromo para uma via alternativa (via do cianeto) (YU et al., 2008). Esta interrupção da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial pode ocorrer em condição de hipóxia ou de frio e produzir peróxido de hidrogênio, que acumulado em concentrações elevadas pode ocasionar estresses oxidativos que também causam distúrbios respiratórios transitórios e preparam a planta para período de alta atividade metabólica (PÉREZ et al., 2008; LEI et al., 2010; VERGARA et al., 2012).

A via alternativa pode desempenhar função de tolerância às baixas temperaturas por ser uma via não fosforilada, desperdiça dois dos três sítios de recepção de energia, que são parte da via do citocromo, e a energia residual é liberada como calor (VANLERBERGHE; McINTOSH, 1997), que podem aumentar a temperatura em torno da mitocôndria e auxiliar na tolerância ao estresse causado pelo frio nas gemas (MA et al., 2013).

Na última coleta, realizada em 04/08, as gemas aumentaram a atividade respiratória. Este comportamento indica que no período de endodormência as gemas apresentaram diminuição da atividade metabólica e após o acúmulo de 553 HF abaixo de 12 °C, aumento da umidade e teores elevados de açúcares redutores, as gemas retomaram atividade metabólica, com aumento da atividade respiratória para brotação das gemas.

#### 4.3.5 Estresse oxidativo nas gemas

A atividade das enzimas SOD, CAT, POD e APX diminuiu durante o período avaliado (FIGURA 14a,b,c,d). As enzimas CAT e POD apresentaram baixa atividade após 09/06, quando as plantas iniciaram acúmulo de horas de frio abaixo de 7,2 °C e foram induzidas à endodormência (TABELA 8). Condições de baixas temperaturas no inverno diminuiram a atividade destas enzimas antioxidantes com aumento da quantidade de EROs em macieiras, limoeiros e videiras (ABASSI et al., 1998; PÉREZ; LIRA, 2005; KASRAOUI et al., 2014).

As plantas possuem sistema de controle do estresse oxidativo causado pela formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). A superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima do sistema enzimático antioxidativo, pois converte o superóxido ( $O_2^-$ ), produzido a partir da transferência de elétrons para o oxigênio molecular ( $O_2$ ), em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (WANG et al., 1991a; ABASSI et al., 1998).

O  $H_2O_2$  é produzido em vários compartimentos celulares e quando presente em elevadas concentrações pode ser tóxico e causar peroxidação lipídica da membrana, oxidação de proteínas, inibição de enzimas e danos no DNA e RNA (MITTLER, 2002). A principal enzima que degrada o  $H_2O_2$  é a catalase (CAT), também chamada de hidroperoxidase, converte  $H_2O_2$  em água e oxigênio. As peroxidases do guaiacol (POD) e do ascorbato (APX) também degradam o  $H_2O_2$  (POLIDOROS; SCANDALIOS, 1999; SHULMAN et al., 1986; PÉREZ; LIRA, 2005).

O acúmulo de EROs pode representar ameaça para as células, mas também está envolvido na via de transdução de sinal para a liberação da dormência. O processo pelo qual o  $H_2O_2$  induz a brotação das gemas e as concentrações favoráveis e tóxicas para as plantas ainda não estão esclarecidos, mas tem sido discutida a relação do metabolismo de EROs na superação da dormência de gemas, pois o fim da endodormência e a brotação das gemas coincidem com o período de aumento dos teores de  $H_2O_2$  nas gemas (WANG et al., 1991a; PÉREZ; LIRA, 2005).

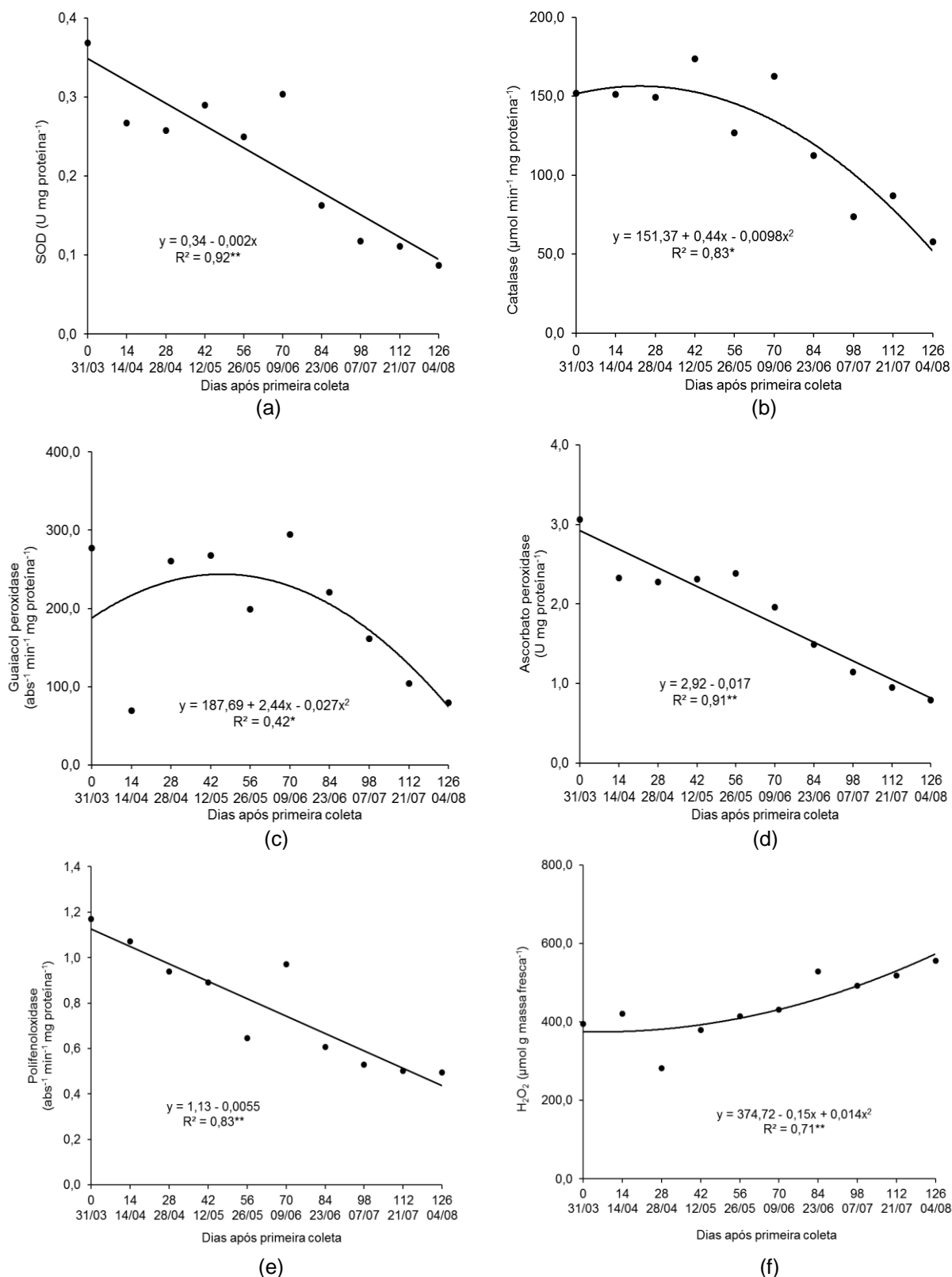


FIGURA 14 - ATIVIDADE DAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASE (A), CATALASE (B), GUAICOL PEROXIDASE (C), ASCORBATO PEROXIDASE (D) E POLIFENOLOXIDASE (E) E TEOR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (F) EM GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

A diminuição da atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, POD e APX foi acompanhada do aumento do teor de  $H_2O_2$  (FIGURA 14f). Pode-se observar que a indução à liberação da dormência das gemas, com diminuição do TMB e aumento da TF em 21/07 e 04/08, ocorreu quando os teores de  $H_2O_2$  estavam mais altos, que sugere possível envolvimento desta molécula na liberação da dormência de gemas em caquizeiro.

Em regiões subtropicais, com temperaturas mais elevadas durante o inverno, a quebra da dormência ocorre de forma desuniforme, com diminuição na produção de frutos. O baixo acúmulo de frio nestas regiões pode inibir o funcionamento do sistema oxidativo, sendo necessário a utilização de reguladores vegetais para estimular e uniformizar a brotação das gemas. O principal produto utilizado é a cianamida hidrogenada, que inibe a atividade das enzimas antioxidantes e, conseqüentemente, o teor de  $H_2O_2$  aumenta, garantindo a quebra da dormência (NIR et al., 1986; OR et al., 2002). Videiras cultivadas no Chile, em condições de inverno ameno, apresentaram diminuição da atividade da CAT apenas no final da dormência e baixa brotação de gemas (PÉREZ; LIRA, 2005).

A CAT pode ser uma das principais enzimas antioxidantes envolvidas no processo de dormência de gemas videiras, pois tratamentos com frio e cianamida hidrogenada diminuíram a atividade apenas da CAT e não das demais peroxidases (NIR et al., 1986; SHULMAN et al., 1986; OR et al., 2002).

O estresse oxidativo pode ser combatido não apenas pelas enzimas antioxidantes, pois moléculas antioxidantes e proteínas também podem neutralizar a ação das EROs. Videiras tratadas com prolina, um aminoácido altamente solúvel com função de regulador osmótico celular entre citoplasma e vacúolo, apresentam menor teor de  $H_2O_2$  e menos peroxidação lipídica que plantas que não receberam prolina (OZDEN et al., 2009).

A polifenoloxidase (PPO) oxida compostos fenólicos (ZAHRA et al., 2009), que também são moléculas antioxidantes, pois sua maior concentração nas células auxilia na defesa ao estresse oxidativo (AHMAD et al., 2010). Compostos fenólicos estão envolvidos na manutenção da dormência, pois apresentam função de inibição da brotação das gemas (CODIGNOLA et al., 1988).

A atividade da PPO diminuiu de 31/03 a 04/08 (FIGURA 14e) e sugere aumento dos teores de compostos fenólicos na gema no período de dormência. Pode ser que os compostos fenólicos em maior quantidade tenham contribuído para

que os níveis de EROs não atingissem níveis tóxicos, e, conseqüentemente, o aumento dos teores de  $H_2O_2$  pode ter ocorrido apenas até concentrações favoráveis à superação da dormência, sem causar danos à planta.

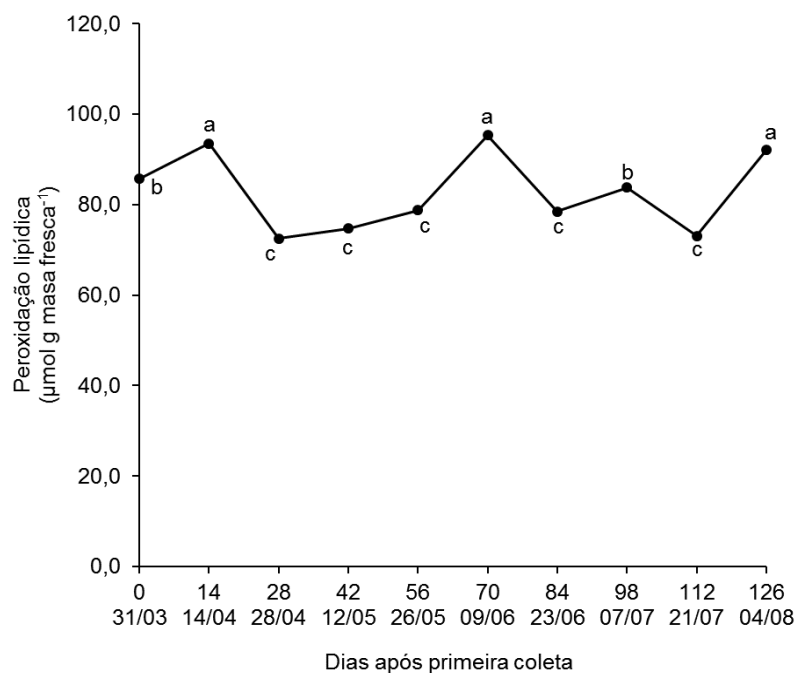
Gemas dormentes de macieira também apresentam baixa atividade de PPO (WANG et al., 1991b). Em gemas de pistacheiro a atividade da PPO também foi baixa até a brotação das gemas, quando se observou aumento da atividade desta enzima (ZAHRA et al., 2009).

A peroxidação lipídica é o processo no qual as EROs oxidam os ácidos graxos insaturados das membranas plasmáticas das células e formam hidroperóxidos de lipídeos, que diminuem a fluidez e modificam a permeabilidade iônica das membranas, causando interferência nas funções das proteínas, redução do suprimento de energia, liberação acentuada de íons e diminuição da seletividade para entrada ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula (AHMAD et al., 2010; MA et al., 2013).

Observou-se flutuação dos valores da peroxidação lipídica durante o período estudado (FIGURA 15), porém sem uma tendência definida com relação às fases da dormência e sem correlação com as demais variáveis analisadas (TABELA 9), o que permite sugerir que em caquizeiro a peroxidação lipídica pode não estar relacionada com a dinâmica da dormência.

Não foram encontradas informações referentes ao envolvimento da peroxidação lipídica durante a dormência de gemas em outras espécies, no entanto Wang e Jiao (2001) verificaram que a peroxidação lipídica em amora preta ocorreu em resposta ao aumento dos teores de  $H_2O_2$  e diminuição da atividade da CAT, SOD, POD e APX.

Observou-se correlação negativa entre a atividade das enzimas SOD, CAT, APX e PPO e as HF abaixo ou iguais a 7,2 °C e 12 °C (TABELA 9), confirmando o efeito do acúmulo de frio na diminuição da atividade destas enzimas antioxidantes. Os teores de  $H_2O_2$  apresentaram correlação positiva com o acúmulo de HF abaixo ou iguais a 7,2 °C e 12 °C e correlação negativa com a atividade das enzimas SOD, CAT, APX e PPO (TABELA 9), quanto maior o acúmulo de frio menor a atividade das enzimas antioxidantes e maior o acúmulo de  $H_2O_2$  em gemas de caquizeiro.



Médias seguidas de mesma letra minúscula entre dias após primeira coleta não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,01$ )

FIGURA 15 – PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

O acúmulo de frio também influenciou o aumento dos teores de açúcares redutores, com correlação positiva entre HF e açúcares redutores. Em condições de baixas temperaturas o caqui aumenta os teores de açúcares redutores que pode ocorrer como forma de proteção ao congelamento dos tecidos das gemas, pois a correlação foi negativa entre açúcares redutores e temperaturas mínimas diárias (TABELA 9).

A análise de correlação entre horas de frio abaixo de 7,2 °C e 12 °C apresentou resultados semelhantes quanto às demais variáveis analisadas (TABELA 9), confirmando que temperaturas abaixo de 12 °C apresentam o mesmo efeito de frio para superação da dormência de gemas de caqui que temperaturas abaixo de 7,2 °C. Flutuações térmicas durante o outono e inverno influenciam na dinâmica da dormência, pois a atividade respiratória apresentou correlação positiva com temperaturas máximas, quanto maior a temperatura durante a dormência maior a taxa respiratória das gemas (TABELA 9).

TABELA 9 – COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON PARA TEMPERATURA MÁXIMA (T. MÁX.) E MÍNIMA (T. MÍN.) DIÁRIA ENTRE DATAS DE COLETA, HORAS DE FRIO (HF) ABAIXO OU IGUAIS A 7,2 °C E 12 °C ACUMULADAS, TEMPO MÉDIO PARA BROTAÇÃO (TMB), TAXA FINAL DE BROTAÇÃO (TF), UMIDADE PONDERAL (UP), TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES (AR), ATIVIDADE RESPIRATÓRIA (RESP), ATIVIDADE DAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD), CATALASE (CAT), GUAIACOL PEROXIDASE (POD), ASCORBATO PEROXIDASE (APX) E POLIFENOLOXIDASE (PPO), TEOR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (PL) EM GEMAS DE CAQUIZEIRO 'FUYU' NO PERÍODO DE MARÇO A AGOSTO DE 2015. UFPR, CAMPINA GRANDE DO SUL, PARANÁ.

	TMB	TF	UP	AR	RESP	SOD	CAT	POD	APX	PPO	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	PL
T. MÁX.	-0,03 ns	-0,42 ns	0,10 ns	-0,59 ns	0,77 **	0,43 ns	0,34 ns	-0,08 ns	0,46 ns	0,58 ns	-0,40 ns	0,24 ns
T. MÍN.	0,20 ns	-0,34 ns	0,20 ns	-0,77 **	0,36 ns	0,66 *	0,54 ns	0,28 ns	0,78 **	0,64 *	-0,76 **	-0,30 ns
HF≤7,2 °C	-0,56 ns	0,61 ns	-0,03 ns	0,92 **	-0,08 ns	-0,93 **	-0,93 **	-0,56 ns	-0,94 **	-0,84 **	0,86 **	0,01 ns
HF≤12 °C	-0,62 ns	0,64 *	0,02 ns	0,92 **	-0,12 ns	-0,91 **	-0,92 **	-0,55 ns	-0,96 **	-0,85 **	0,86 **	0,09 ns
TMB		-0,51 ns	-0,59 ns	-0,35 ns	-0,19 ns	0,60 ns	0,70 *	0,55 ns	0,53 ns	0,62 ns	-0,49 ns	0,05 ns
TF			0,27 ns	0,51 ns	-0,25 ns	-0,54 ns	-0,48 ns	-0,27 ns	-0,62 ns	-0,48 ns	0,35 ns	-0,26 ns
UP				-0,16 ns	-0,19 ns	-0,25 ns	-0,15 ns	-0,38 ns	-0,12 ns	-0,32 ns	-0,17 ns	-0,42 ns
AR					-0,34 ns	-0,85 **	-0,80 **	-0,38 ns	-0,91 **	-0,84 **	0,86 **	-0,03 ns
RESP						0,18 ns	-0,03 ns	-0,20 ns	0,24 ns	0,41 ns	-0,05 ns	0,41 ns
SOD							0,92 **	0,68 *	0,95 **	0,92 **	-0,75 *	0,12 ns
CAT								0,66 *	0,86 **	0,86 **	-0,78 **	-0,03 ns
POD									0,59 ns	0,49 ns	-0,58 ns	-0,22 ns
APX										0,87 **	-0,79 **	-0,02 ns
PPO											-0,72 *	0,26 ns
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>												0,28 ns

\* e \*\* significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

ns não significativo

#### 4.4 CONCLUSÕES

Gemas de caquizeiro em endodormência, estimuladas pelo início do acúmulo de horas de frio, apresentam diminuição da umidade e da atividade respiratória, aumento dos açúcares redutores, diminuição da atividade das enzimas SOD, CAT, APX e PPO e aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Quando se inicia a liberação da endodormência, as gemas apresentam aumento do teor de água, diminuição do teor de açúcares redutores, aumento da atividade respiratória, baixa atividade das enzimas SOD, CAT, APX e POD e teores elevados de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### REFERÊNCIAS

- ABASSI, N. A.; KUSHAD, M. M.; ENDRESS, A. G. Active oxygen-scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 74, n. 3, p. 183-194, 1998.
- AHMAD, P.; JALEEL, C. A.; SALEM, M. A.; NABI, G.; SHARMA, S. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. **Critical Reviews in Biotechnology**, Oxon, v. 30, n. 3, p. 161-175, 2010.
- ARORA, R.; ROWLAND, L. J.; TANINO, K. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. **HortScience**, Alexandria, v. 38, p. 911-921, 2003.
- BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; RICHARD, J. P.; EREZ, A.; GENDRAUD, M. Influence of three contrasted climatic conditions on endodormant vegetative and floral peach buds: analyses of their intrinsic growth capacity and their potential sink strength compared with adjacent tissues. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 80, n. 3-4, p. 157-171, 1999.
- BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; LACOINTE, A.; GENDRAUD, M. Influences of cold deprivation during dormancy on carbohydrate contents of vegetative and floral primordia and nearby structures of peach buds (*Prunus persica* L. Batch). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 223-240, 2005.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 72, p. 248-254, 1976.

- CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; COOK, N.; ALLDERMAN, L.; EGEE, J. Clinal variation of dormancy progression in apricot. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 77, n. 3, p. 618-630, 2011a.
- CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; COOK, N.; ALLDERMAN, L.; EGEE, J. High temperatures and time to budbreak in low chill apricot 'Palsteyn'. Towards a better understanding of chill and heat requirements fulfilment. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 129, n. 4, p. 649-655, 2011b.
- CARVAJAL-MILLÁN, E.; GARDEA, A. A.; RASCÓN-CHU, A.; OROZCO, J. A.; LEÓN, N. P. de; MÁRQUEZ-ESCALANTE, J. A.; CHACÓN, A. R.; GUERRERO, V. M. Respiratory response of apple buds treated with budbreaking agents. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 457, n. 1-2, p. 109-112, 2007.
- CARVALHO, R. I. N.; ZANETTE, F. Conteúdo de carboidratos em gemas e ramos de macieira durante o outono e inverno em região de baixa ocorrência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 202-205, 2004.
- CARVALHO, R. I. N.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; RENDOKE, J. C.; SANTOS, J. M.; PEREIRA, G. P. Dinâmica da dormência de gemas de caqui Fuyu em região de baixa ocorrência de frio. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 57-63, 2010a.
- CARVALHO, R. I. N.; RENDOKE, J. C.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Metabolic activity evaluation of temperate tree fruit buds by using the tetrazolium test. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 872, p. 89-96, 2010b.
- CITADIN, I.; GUILLIOT, A.; BONHOMME, M.; RAGEAU, R. Atividade de enzimas relacionadas com a mobilização de carboidratos durante a dormência da noqueira (*Juglans regia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 305-313, 2009.
- CODIGNOLA, A.; MAFFEI, M.; FIESCHI, M. Phenols and bud dormancy. **New phytologist**, Hoboken, v. 110, n. 4, p. 473-477, 1988.
- COOKE, J. E. K.; ERIKSSON, M. E.; JUNTILA, O. The dynamic nature of bud dormancy in trees: environmental control and molecular mechanisms. **Plant, Cell & Environment**, v. 35, n. 10, p. 1707-1728, 2012.
- CORSATO, C. E.; FILHO, S.; ALEXIO, J.; SALES, E. C. J. Teores de carboidratos em órgãos lenhosos do caqui em clima tropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 414-418, 2008.
- CRABBÉ, J.; BARNOLA, P. A. New conceptual approach to bud dormancy in woody plants. In: LANG, G. A. (Ed.) **Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology**. CAB International, USA, 1996. p.83-113.
- DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, Oxon, v. 64, p. 351-359, 1999.

EREZ, A.; SAMISH, R. M.; LAVEE, S. The role of light in leaf and flower bud break of the peach (*Prunus persica*). **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 19, n. 3, p. 650-659, 1966.

EREZ, A.; FAUST, M.; LINE, M. J. Changes in water status in peach buds on induction, development and release from dormancy. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 73, n. 2-3, p. 111–123, 1998.

FAQUIM, R.; SILVA, I. D.; CARVALHO, R. I. N. Necessidade de frio para quebra de dormência de gemas de caqui 'Fuyu'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 438-444, 2007.

FAUST, M.; LIU, D.; MILLARD, M. M.; STUTTE, G. W. Bound versus free water in dormant apple buds - a theory for endodormancy. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 7, p. 887-890, 1991.

FAY, E.; VACHER, V.; HUMBERT, F. Water-related phenomena in winter buds and twigs of *Picea abies* L. (Karst.) until bud-burst: a biological, histological and NMR study. **Annals of Botany**, Oxford, v. 86, n. 6, p. 1097-1107, 2000.

FENNELL, A.; HOOVER, E. Photoperiod influences growth, bud dormancy, and cold acclimation in *Vitis labruscana* and *V. riparia*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 116, n. 2, p. 270-273, 1991.

GARCÍA-CARBONELL, S.; YAGÜE, B.; BLEIHOLDER, H.; HACK, H.; MEIER, U.; AUGUSTÍ, M. Phenological growth stages of the persimmon tree (*Diospyros kaki*). **Annals of Applied Biology**, Hoboken, v. 141, n. 1, p. 73-76, 2002.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GONZÁLEZ-ROSSIA, D.; REIG, C.; DOVIS, V.; GARIGLIO, N.; AGUSTÍ, M. Changes on carbohydrates and nitrogen content in the bark tissues induced by artificial chilling and its relationship with dormancy bud break in *Prunus* sp. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 118, n. 4, p. 275-281, 2008.

GÓTH, L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 196, n. 2-3, p. 143-151, 1991.

HALALY, T.; PANG, X.; BATIKOFF, T.; CRANE, O.; REREN, A.; VENKATESWARI, J.; OGRODOVITCH, A.; SADKA, A.; LAVEE, S.; OR, E. Similar mechanisms might be triggered by alternative external stimuli that induce dormancy release in grape buds. **Planta**, Nova York, v. 228, n. 1, p. 79-88, 2008.

HEIDE, O. M.; PRESTRUD, A. K. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. **Tree Physiology**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 109-114, 2005.

HEIDE, O. M. Temperature rather than photoperiod controls growth cessation and dormancy in *Sorbus species*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 15, p. 5397-5404, 2011.

JOHANSSON, I.; KARLSSON, M.; JOHANSON, U.; LARSSON, C.; KJELLBOM, P. The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1465, n. 1-2, p. 324–342, 2000.

JONES, K. S.; PAROSCHY, J.; MCKERSIE, B. D.; BOWLEY, S. R. Carbohydrate composition and freezing tolerance of canes and buds in *Vitis vinifera*. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 155, n. 1, p. 101-106, 1999.

KALBERER, S. R.; WISNIEWSKI, M.; ARORA, R. Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: current understanding and emerging concepts. **Plant Science**, Clare, v. 171, p. 3-16, 2006.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 57, p. 315-319, 1976.

KASRAOUI, F.; DUQUESNOY, I.; WINTERTON, P.; LAMAZE, T. Activities of peroxidase (soluble and cell wall bound) and of other H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes are markers of the flower bud development stage in lemon. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, Gottingen, v. 87, p. 1-8, 2014.

KASUGA, J.; ARAKAWA, K.; FUJIKAWA, S. High accumulation of soluble sugars in deep supercooling Japanese white birch xylem parenchyma cells. **New Phytologist**, Hoboken, v. 174, n. 3, p. 569-579, 2007.

LANG, G. A.; EARLY, J. D.; MARTIN, G. C.; DARNELL, R. L. Endo-, para- and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. **Hortscience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 371-178, 1987.

LEI, T.; FENG, H.; SUN, X.; DAI, Q.-L.; ZHANG, F.; LIANG, H.-G.; LIN, H.-H. The alternative pathway in cucumber seedlings under low temperature stress was enhanced by salicylic acid. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 60, p. 35-42, 2010.

LEITE, G. B.; BONHOMME, M.; PUTTI, G. L.; PETEL, G.; PETRI, J. L.; RAGEAU, R. Physiological and biochemical evolution of peach leaf buds during dormancy course. **International Journal of Horticultural Science**, Budapest, v. 12, n. 4, p. 15-19, 2006.

LEMOINE, R.; LA CAMERA, S.; ATANASSOVA, R.; DÉDALDÉCHAMP, F.; ALLARIO, T.; POURTAU, N.; BONNEMAIN, J.-L.; LALOI, M.; COUTOS-THÉVENOT, P.; MAUROUSSET, L.; FAUCHER, M.; GIROUSSE, C.; LEMONNIER, P.; PARRILLA, J.; DURAND, M. Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. **Frontiers in Plant Science**, Lausana, v. 4, p. 1-21, 2013.

LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 47, n. 1, p. 273-279, 1972.

LI, D.; LI, L.; TAN, Y.; CHEN, X.; ZHANG, H.; GAO, D.; LI, J. Effect of photoperiod on key enzyme activities of respiration in nectarine buds during dormancy induction. **Agricultural Sciences in China**, Oxon, v. 10, n. 7, p. 1026-1031, 2011.

LOESCHER, W. H.; MCCAMANT, T.; KELLER, J. D. Carbohydrate reserves, translocation, and storage in woody plant roots. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 3, p. 274-281, 1990.

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.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, n. 3, p. 244-249, 1999.

MA, H.; LYU, D.; LIU, G.; QIN, S. Mitochondrial response in the apical and lateral flower buds of the Hanfu apple to cold stress during the dormancy stage. **Acta Ecologica Sinica**, v. 33, n. 1, p. 52-58, 2013.

MARAFON, A. C.; HERTER, F. G.; HAWERROTH, F. H. Umidade ponderal em tecidos de pereira durante o período de dormência sob condições de inverno ameno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 9, p. 1006-1012, 2011.

MARQUAT, C.; VANDAMME, M.; GENDRAUD, M.; PÉTEL, G. Dormancy in vegetative buds of peach: relation between carbohydrate absorption potentials and carbohydrate concentration in the bud during dormancy and its release. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 79, n. 3-4, p.151-162, 1999.

MAUREL, K.; LEITE, G. B.; BONHOMME, M.; GUILLIOT, A.; RAGEAU, R.; PÉTEL, G.; SAKR, S. Trophic control of bud break in peach (*Prunus persica*) trees: a possible role of hexoses. **Tree Physiology**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 579-588, 2004.

MAUREL, C. Plant aquaporins: novel functions and regulation properties. **FEBS Letters**, Hoboken, v. 581, n. 12, p. 2227-2236, 2007.

MCPHERSON, H. G.; SNELGAR, W. P.; MANSON, P. J.; SNOWBALL, A. M. Bud respiration and dormancy of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 411-418, 1997.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

NAKANO, Y.; ASSADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, p. 867-880, 1981.

- NAOR, A.; FLAISHMAN, M.; STERN, R.; MOSHE, A.; EREZ, A. Temperature effects on dormancy completion of vegetative buds in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 128, n. 5, p. 636-641, 2003.
- NIR, G.; SHULMAN, Y.; FANBERSTEIN, L.; LAVEE, S. Changes in the activity of catalase (EC 1.11.1.6) in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 81, n. 4, p. 1140-1142, 1986.
- OR, E.; VILOZNY, I.; EYAL, Y.; OGRODOVITCH, A. 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, n. 4, p. 483-494, 2000.
- OR, E.; VILOZNY, I.; FENNEL, A.; EYAL, Y.; OGRODOVITCH, A. Dormancy in grape buds: isolation and characterization of catalase cDNA and analysis of its expression following chemical induction of bud dormancy release. **Plant Science**, Clare, v. 162, n. 1, p. 121-130, 2002.
- OZDEN, M.; DEMIREL, U.; KAHRAMAN, A. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 119, n. 2, p. 163-168, 2009.
- PÉREZ, F. J.; LIRA, W. Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, n. 3, p. 301-308, 2005.
- PÉREZ, F. J.; VERGARA, R.; RUBIO, S. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is involved in the dormancy-breaking effect of hydrogen cyanamide in grapevine buds. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 149-155, 2008.
- POLIDOROS, A. N.; SCANDALIOS, J. G. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione s-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 106, n. 1, p. 112-120, 1999.
- RADY, M. M.; EL-YAZAL, M. A. Response of "Anna" apple dormant buds and carbohydrate metabolism during floral bud break to onion extract. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 155, p. 78-84, 2013.
- RAGEAU, R. Croissance et débourrement des bourgeons végétatifs de pêcher (*Prunus persica* L. Batsch) au cours d'un test classique de dormance. **CR Academy Science**, Paris, v.287, p.1119-1122, 1978.
- RICHARDSON, A. C.; WALTON, E. F.; MEEKINGS, J. S.; BOLDINGH, H. L. Carbohydrate changes in kiwifruit buds during the onset and release from dormancy. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 124, n. 4, p. 463-468, 2010.
- RINNE, P. L. H.; KAIKURANTA, P. M.; VAN DER SCHOOT, C. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy. **Plant Journal**, Hoboken, v. 26, n. 3, p. 249-264, 2001.

ROHDE, A.; BHALERAO, R. P. Plant dormancy in the perennial context. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 12, n. 5, p. 217-223, 2007.

SAMISH, R. M. Dormancy in woody plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.5, p.183-204, 1954.

SAURE, M. C. Dormancy release in deciduous fruit trees. In: JANICK, J. (Ed.). **Horticultural Reviews**. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 1985. p. 239-300.

SCHMITZ, J. D.; HERTER, F. G.; REGNARD, J. L.; LEITE, G. B.; BONHOMME M.; COCHARD H.; LAURI P. E. Is acrotonic budburst pattern in spring a typical behavior of the low-chilling apple cultivar 'Eva' in mild winter conditions? An approach combining ex planta single-node cutting test and in planta bud water content during dormancy. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 188, p.84-88, 2015.

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

STAFSTROM, J. P. Regulation of growth and dormancy in pea axillary buds. In: VIÉMONT, J.-D.; CRABBÉ, J. (Ed.). **Dormancy in plants: from whole plant behaviour to cellular control**. Cambridge: University Press, 2000. p.331-346.

SUDAWAN, B.; CHANG, C.; CHAO, H.; KU, M. S. B.; YEN, Y. Hydrogen cyanamide breaks grapevine bud dormancy in the summer through transient activation of gene expression and accumulation of reactive oxygen and nitrogen species. **BMC Plant Biology**, Londres, v. 16, p.1-18, 2016.

TAMURA, F.; TANABE, K.; ITAI, A.; TANAKA, H. Protein changes in the flower buds of japanese pear during breaking of dormancy by chilling or high-temperature treatment. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.123, n.4, p.532-536, 1998.

TAN, Y.; GAO, D.; LI, L.; CHEN, X.; XU, A. Respiratory response of dormant nectarine floral buds on chilling deficiency. **Agricultural Sciences in China**, Oxon, v. 9, n. 10, p. 1448-1454, 2010.

TANINO, K. K.; KALCSITS, L.; SILIM, S.; KENDALL, E.; GRAY, G. R. Temperature-driven plasticity in growth cessation and dormancy development in deciduous woody plants: a working hypothesis suggesting how molecular and cellular function is affected by temperature during dormancy induction. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 73, n. 1, p. 49-65, 2010.

TOMÁNKOVÁ, K.; LUHOVÁ, L.; PETŘIVALSKÝ, M.; PEČ, P.; LEBEDA, A. Biochemical aspects of reactive oxygen species formation in the interaction between *Lycopersicon* spp. and *Oidium neolycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Londres, v. 68, n. 1-3, p. 22-32, 2006.

- TREJO-MARTÍNEZ, M. A.; OROZCO, J. A.; ALMAGUER-VARGAS, G.; CARVAJAL-MILLÁN, E.; GARDEA, A. A. Metabolic activity of low chilling grapevine buds forced to break. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 481, p. 28-31, 2009.
- VANLERBERGHE, G. C.; MCINTOSH, L. Alternative oxidase: from gene to function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, n. 1, p. 703-734, 1997.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, Clare, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.
- VERGARA, R.; PARADA, F.; SEBASTIÁN, R.; PÉREZ, F. J. Hypoxia induces H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and activates antioxidant defence system in grapevine buds through mediation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and ethylene. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n.11, p. 4123-4131, 2012.
- WANG, S. Y.; FAUST, M.; JIAO, H. J. Changes in superoxide dismutase activity during thidiazuron-induced lateral budbreak of apple. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 9, p. 1202-1204, 1991a.
- WANG, S. Y.; JIAO, H. J.; FAUST, M. Changes in the activities of catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase in apple buds during bud break induced by thidiazuron. **Journal of Plant Growth Regulation**, Nova York, v. 10, n. 1-4, p. 33, 1991b.
- WANG, S. Y.; JIAO, H. Changes in oxygen-scavenging systems and membrane lipid peroxidation during maturation and ripening in blackberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 3, p. 1612-1619, 2001.
- WEINBERGER, J. H. Chilling requirements of peach varieties. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 56, p. 122-128, 1950.
- WELLING, A.; PALVA, E. T. Molecular control of cold acclimation in trees. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 127, n. 2, p. 167-181, 2006.
- WISNIEWSKI, M. E.; BASSETT, C. L.; RENAUT, J.; FARRELL, R.; TWORKOSKI, T.; ARTLIP, T. S. Differential regulation of two dehydrin genes from peach (*Prunus persica*) by photoperiod, low temperature and water deficit. **Tree Physiology**, Oxford, v. 26, n. 5, p. 575-584, 2006.
- YAACOUBI, A. E.; MALAGI, G.; OUKABLI, A.; CITADIN, I.; HAFIDI, M.; BONHOMME, M.; LEGAVE, J. Differentiated dynamics of bud dormancy and growth in temperate fruit trees relating to bud phenology adaptation, the case of apple and almond trees. **International Journal of Biometeorology**, New York, v. 60, n. 11, p.1695-1710, 2016.
- YAKUSHIJI, H.; NAKATSUKA, A. Recent persimmon research in Japan. **Japanese Journal of Plant Science**, Hiroshima, v. 1, n.2, p. 42-62, 2007.

YOOYONGWECH, S.; HORIGANE, A. K.; YOSHIDA, M.; YAMAGUCHI, M.; SEKOZAWA, Y.; SUGAYA, S.; GEMMA, H. Changes in aquaporin gene expression and magnetic resonance imaging of water status in peach tree flower buds during dormancy. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 134, p. 522-533, 2008.

YU, Q.; GAO, D.; XU, X.; LI, J.; XU, C. Relation between endodormancy induction and changes in two main electron transport pathways of nectarine buds. **Agricultural Sciences in China**, Oxford, v. 7, n. 10, p. 1203-1209, 2008.

ZAHRA, P.; MAJID, R.; AMIN, B. Seasonal changes of peroxidase, polyphenol oxidase enzyme activity and phenol content during and after rest in pistachio (*Pistacia vera* L.) flower buds. **World Applied Sciences Journal**, v. 6, n. 9, p. 1193-1199, 2009.

ZANON, L.; FALCHI, R.; SANTI, S.; VIZZOTTO, G. Sucrose transport and phloem unloading in peach fruit: potential role of two transporters localized in different cell types. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 154, n. 2, p. 179-193, 2015.

ZHENG, C.; HALALY, T.; ACHEAMPONG, A. K.; TAKEBAYASHI, Y.; JIKUMARU, Y.; KAMIYA, Y.; OR, E. Abscisic acid (ABA) regulates grape bud dormancy, and dormancy release stimuli may act through modification of ABA metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 1527-1542, 2015.

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

Quando as plantas estão na transição da paradormência para endodormência a manutenção dos ramos em temperaturas frias de 3, 6, 9 e 12 °C induz a endodormência de gemas de caquizeiro cv. Fuyu.

As temperaturas de 3 e 6 °C são mais eficientes para a superação da dormência de caquizeiro cv. Fuyu do que 9 e 12 °C quando as gemas estão na transição da paradormência para endodormência.

Quando as gemas estão endodormentes, as temperaturas de 3, 6, 9 e 12 °C são efetivas para a superação da dormência.

Temperatura de 12 °C é capaz de induzir e superar a dormência, porém mais lentamente, necessitando de maior número de horas de frio.

Gemas de caquizeiro em endodormência, estimuladas pelo início do acúmulo de horas de frio, apresentam diminuição da umidade e da atividade respiratória, aumento dos açúcares redutores, diminuição da atividade das enzimas SOD, CAT, APX e PPO e aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Quando se inicia a liberação da endodormência, as gemas apresentam aumento do teor de água, diminuição do teor de açúcares redutores, aumento da atividade respiratória, baixa atividade das enzimas SOD, CAT, APX e POD e teores elevados de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O caquizeiro apresenta paradormência prolongada, que pode ocorrer devido à maior permanência das folhas e frutos próximo ao período que as plantas começam a receber os estímulos ambientais para indução da endodormência. Trabalhos que estudem o tempo de permanência de folhas e frutos nos ramos, como sua remoção em diferentes datas antes da indução da endodormência poderiam ajudar na compreensão do efeito destas estruturas na dormência de gemas de caquizeiro.

A paradormência prolongada também pode ter ocorrido devido ao baixo acúmulo de frio e oscilações térmicas observadas. Alguns pesquisadores têm discutido que em regiões de inverno ameno, a dormência manifesta-se de forma superficial, com predominância da paradormência, e que cultivares de baixa exigência em frio apresentam apenas paradormência quando cultivadas nestas condições. Pode ser que caquizeiro responda desta forma, apresentando maior efeito de paradormência que endodormência, pois quando mantido em temperaturas baixas em épocas de pouco acúmulo de frio a endodormência foi induzida. Seriam interessantes trabalhos que comparassem a evolução da dormência da espécie em regiões de inverno ameno com regiões cujo inverno apresenta temperaturas baixas constantes e com maior acúmulo de horas de frio.

A região de Campina Grande do Sul apresenta pouco acúmulo de horas de frio e, de 2013 a 2015, observou-se que as horas de frio até início de agosto diminuiriam bastante. Em 2013, 2014 e 2015 foram acumuladas 149, 58 e 27 HF abaixo de 7,2 °C, respectivamente, no entanto este baixo acúmulo de horas de frio não impede a brotação natural das gemas a campo. O que se observa são variações de brotação entre os anos, com anos em que as gemas brotam mais e anos com menor brotação.

Por não ter sido observada diferença entre as temperaturas de 3, 6, 9 e 12 °C para a liberação da dormência, quando a planta se encontra em endodormência, pode-se verificar que o caquizeiro não precisa de temperaturas muito baixas para a superação da dormência. Seria interessante estudar o efeito de temperaturas acima de 12 °C no período de dormência de gemas.

Não foi encontrada informação referente aos fatores ambientais que induzem a diminuição do crescimento da planta e indução da dormência. Sabe-se que a diminuição da temperatura e do fotoperíodo induz a dormência em várias frutíferas

de clima temperado, no entanto há espécies em que apenas a diminuição do fotoperíodo já é suficiente para a indução da dormência, mesmo que a temperatura se mantenha elevada, e espécies em que apenas a diminuição da temperatura sem efeito do fotoperíodo influencia na entrada da dormência. Seria interessante estudar o efeito destes fatores ambientais tanto na indução da dormência como, também, na indução da brotação das gemas em caquizeiro.

Com relação às temperaturas de 3 a 12 °C estudadas para a superação da dormência, não foi possível analisar o efeito de combinação de ciclos diários com temperaturas altas e baixas, que simulam a flutuação térmica que ocorre a campo. Em pesquisas futuras, este assunto poderia ser estudado em caquizeiro, pois as respostas seriam mais próximas ao que se obtém nos pomares. A discussão da dinâmica da dormência seria mais enriquecida com resultados obtidos em condições controladas que simulam a realidade de regiões de clima subtropical e das previsões das mudanças climáticas para regiões de clima temperado.

O tempo de avaliação das estacas no teste biológico poderia ser superior a 40 dias para o caquizeiro, pois foi observado que em algumas épocas grande número de gemas brotou muito próximo a 40 dias e posterior a este período também. Seria interessante analisar o metabolismo de carboidratos e oxidativo em gemas e porções dos ramos durante o teste biológico, em diferentes intervalos desde a instalação do teste até o fim do período de avaliação da brotação. Assim, poderia ser analisado o efeito do tempo após a coleta dos ramos a campo no metabolismo da gema que fica mantida em condições controladas de temperatura e fotoperíodo que estimulam a brotação durante o teste biológico.

O conhecimento dos processos fisiológicos e bioquímicos que ocorrem durante a dinâmica da dormência é essencial para se compreender a resposta da planta a diversos estímulos como frio, fotoperíodo e indutores de brotação. Considera-se que seria importante avaliar o efeito de tratamentos como temperaturas (baixas, moderadas, ciclos de temperatura baixa e alta), fotoperíodos, disponibilidade de água e diferentes indutores de brotação (químicos ou naturais) em caquizeiros, por meio de análises que permitam analisar os eventos fisiológicos e bioquímicos que possam ocorrer em resposta aos estímulos aplicados.

Os resultados encontrados nesta tese foram muito interessantes, pois se pode comprovar em caquizeiro alguns resultados que têm sido relatados para outras espécies com relação à dinâmica da dormência, como o efeito que temperaturas

abaixo de 12 °C apresentam para o acúmulo de frio, paradormência prolongada em condição de inverno ameno, diminuição do metabolismo durante a dormência com baixa umidade e atividade respiratória das gemas, assim como aumento de açúcares redutores e de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com diminuição das enzimas antioxidantes.

O estresse oxidativo poderia ser estudado de forma mais aprofundada em caquizeiro, uma vez que já se confirmou aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e diminuição da atividade das enzimas SOD, CAT, APX e POD durante a endodormência. Poderiam ser estudados os teores de outras EROs além do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como o superóxido e radical hidroxila, por exemplo, e também a identificação dos níveis que seriam tóxicos para as plantas e os níveis que seriam favoráveis para a superação da dormência e brotação das gemas.

Para melhor compreensão da dormência em caquizeiro poderia, também, ser estudado de forma mais aprofundada o metabolismo de carboidratos e o processo de translocação de reservas. A ferramenta da biologia molecular também poderá auxiliar na compreensão da dinâmica da dormência da espécie, através do estudo da expressão de genes envolvidos diretamente na dormência de gemas e no metabolismo de carboidratos e antioxidativo.

## REFERÊNCIAS

- ABASSI, N. A.; KUSHAD, M. M.; ENDRESS, A. G. Active oxygen-scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 74, n. 3, p. 183-194, 1998.
- AHMAD, P.; JALEEL, C. A.; SALEM, M. A.; NABI, G.; SHARMA, S. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. **Critical Reviews in Biotechnology**, Oxon, v. 30, n. 3, p. 161-175, 2010.
- AHN, Y.-H.; YOO, W.-H.; LEE, K.-Y. Changes of catalase and peroxidase activities with indole acetic acid in the dormant bark of *Populus euramericana* cv. Gelrica. **Journal of the Korean Wood Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 61-66, 1989.
- ARORA, R.; ROWLAND, L. J.; TANINO, K. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. **HortScience**, Alexandria, v. 38, p. 911-921, 2003.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, Jena, v. 141, n. 2, p. 391-396, 2006.
- ATKINSON, C. J.; BRENNAN, R. M.; JONES, H. G. Declining chilling and its impact on temperate perennial crops. **Environmental and Experimental Botany**, Kidlington, v. 91, p. 48-62, 2013.
- AYUB, R. B.; BIUM, J.; MALGARIM, M. B. Época e princípios ativos para a quebra de dormência de caqui cv. Fuyu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 3, p. 644-649, 2009.
- BAKER, C. J.; ORLANDI, E. W. Active oxygen in plant pathogenesis. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 299-321, 1995.
- BARTOLINI, S.; ZANOL, G. C.; VITI, R. Changes in antioxidant compounds in flower buds of two apricot cultivars during winter season. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 701, p. 69-74, 2006.
- BERBEZY, P.; LEGENDRE, L.; MAUJEAN, A. Alpha-amylase isoform pattern changes during the winter season in the winter-resting stem inter-nodes of *Vitis vinifera*. **Plant physiology and biochemistry**, Paris, v. 35, n. 9, p. 685-691, 1997.
- BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; GENDRAUD, M. Dynamics of ATP and NTP contents during the dormancy period in vegetative and floral buds of peach trees, influence of a cold deprivation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT DORMANCY, 2., 1999, Angers, France. **Book of Abstracts**. Angers: Angers University, 1999. p. 46.
- BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; GENDRAUD, M. ATP, ADP and NTP contents in vegetative and floral peach buds during winter: are they useful for characterizing the type of dormancy? In: VIÉMONT, J.-D.; CRABBÉ, J. (ed.). **Dormancy in plants:**

**from whole plant behaviour to cellular control.** Cambridge: University Press, 2000. p. 245-257.

BONHOMME, M.; RAGEAU, R.; LACOINTE, A.; GENDRAUD, M. Influences of cold deprivation during dormancy on carbohydrate contents of vegetative and floral primordia and nearby structures of peach buds (*Prunus persica* L. Batch). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 223-240, 2005.

BOTELHO, R. V. Efeito do extrato de alho na quebra de dormência de gemas de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 403-405, 2007.

BOTELHO, R. V.; MAIA, A. J.; PIRES, E. J. P.; TERRA, M. M. Efeito do extrato de alho na quebra de dormência de gemas de videiras e no controle *in vitro* do agente causal da antracnose (*Elsinoe ampelina* Shear). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 96-102, 2009.

BOWLER, C.; MONTAGU, M. V.; INZE, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 43, n. 1, p. 83-116, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 2009. 395 p.

CAMARGO FILHO, W. P.; MAZZEI, A. R.; ALVES, H. S. Mercado de caqui: variedades, estacionalidade e preços. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 81-87, 2003.

CAMARGO, U. A.; TONIETTO, J.; HOFFMANN, A. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 144-149, 2011.

CARBONELL, S. G.; YAGÜE, B.; BLEIHOLDER, H.; HACK, H.; MEIER, U.; AGUSTÍ, M. Phenological growth stages of the persimmon tree (*Diospyros kaki*). **Annals of Applied Biology**, Hoboken, v. 141, n. 1, p. 73-76, 2002.

CARVALHO, R. I. N.; ZANETTE, F. Conteúdo de carboidratos em gemas e ramos de macieira durante o outono e inverno em região de baixa ocorrência de frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 202-205, 2004.

CARVALHO, R. I. N.; ZANETTE, F. Variações do conteúdo de glucose, frutose e sorbitol em gemas e ramos de macieira durante a dormência. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1916-1919, 2006.

CARVALHO, R. I. N.; RENDOKE, J. C.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Metabolic activity evaluation of temperate tree fruit buds by using the tetrazolium test. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 872, p. 89-96, 2010.

CHAMPAGNAT, P. Quelques réflexions sur la dormance des bourgeons des végétaux ligneux. **Physiologie Végétale**, Paris, v.21, p.607-618, 1983.

CITADIN, I.; RASEIRA, M. C. B.; HERTER, F. G.; SILVEIRA, C. A. P. Avaliação da necessidade de frio em pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 703-706, 2002.

CITADIN, I.; GUILLIOT, A.; BONHOMME, M.; RAGEAU, R. Walnut enzyme activity related with carbohydrate mobilization during dormancy period. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 305-313, 2009.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G. M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 2, p. 167-171, 1998.

CODIGNOLA, A.; MAFFEI, M.; FIESCHI, M. Phenols and bud dormancy. **New phytologist**, Hoboken, v. 110, n. 4, p. 473-477, 1988.

COOKE, J. E. K.; ERIKSSON, M. E.; JUNTILA, O. The dynamic nature of bud dormancy in trees: environmental control and molecular mechanisms. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 35, n. 10, p. 1707-1728, 2012.

CORSATO, C. E.; SCARPARE FILHO, J. A.; VERDIAL, M. F. Fenologia do caqui "Rama Forte" em clima tropical. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 323-329, 2005.

CORSATO, C. E.; FILHO, S.; ALEXIO, J.; SALES, E. C. J. Teores de carboidratos em órgãos lenhosos do caqui em clima tropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 414-418, 2008.

ELIAS, N. F.; BERBERT, P. A.; MOLINA, M. A. B.; VIANA, A. P.; DIONELLO, R. G.; QUEIROZ, V. A. V. Nutritional and sensory evaluation of osmo-convective dried Fuyu persimmons. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 322-328, 2008.

EL-YAZAL, M. A. S.; EL-YAZAL, S. A. S.; RADY, M. M. Exogenous dormancy-breaking substances positively change endogenous phytohormones and amino acids during dormancy release in "Anna" apple trees. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 72, n. 3, p. 211-220, 2014.

EREZ, A.; FAUST, M.; LINE, M. J. Changes in water status in peach buds on induction, development and release from dormancy. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 73, n. 2-3, p. 111-123, 1998.

FAUST, M.; LIU, D.; MILLARD, M. M.; STUTTE, G. W. Bound versus free water in dormant apple buds - a theory for endodormancy. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 7, p. 887-890, 1991.

FAUST, M.; EREZ, A.; ROWLAND, L. J.; WANG, S. Y.; NORMAN, H. A. Bud Dormancy in perennial fruit trees: physiological basis for dormancy induction, maintenance, and release. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 4, p. 623-629, 1997.

FAY, E.; VACHER, V.; HUMBERT, F. Water-related phenomena in winter buds and twigs of *Picea abies* L. (Karst.) until bud-burst: a biological, histological and NMR study. **Annals of Botany**, Oxford, v. 86, n. 6, p. 1097-1107, 2000.

FERRI, V. C.; RINALDI, M. M.; LUCHETTA, L.; ROMBALDI, C. V. Qualidade de caquis Fuyu tratados com cálcio em pré-colheita e armazenados sob atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 385-388, 2002.

FIORAVANÇO, J. C.; PAIVA, M. C. Cultura do caquizeiro no Brasil e no Rio Grande do Sul: situação, potencialidade e entraves para o seu desenvolvimento. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 43-51, 2007.

FISHMAN, S.; EREZ, A.; COUVILLON, G. A. The temperature dependence of dormancy breaking in plants: computer simulation of processes studied under controlled temperatures. **Journal of Theoretical Biology**, Londres, v. 126, n. 3, p. 309-321, 1987a.

FISHMAN, S.; EREZ, A.; COUVILLON, G. A. The temperature dependence of dormancy breaking in plants: mathematical analysis of a two-step model involving a cooperative transition. **Journal of Theoretical Biology**, Londres, v. 124, n. 4, p. 473-483, 1987b.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 13 dez. 2016.

GEORGE, A. P.; REDPATH, S. Health and medicinal benefits of persimmon fruit: a review. **Advances in Horticultural Science**, Florença, v. 22, n. 4, p. 244-249, 2008.

GONZÁLEZ-ROSSIA, D.; REIG, C.; DOVIS, V.; GARIGLIO, N.; AGUSTÍ, M. Changes on carbohydrates and nitrogen content in the bark tissues induced by artificial chilling and its relationship with dormancy bud break in *Prunus* sp. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 118, n. 4, p. 275-281, 2008.

GRANT, J. J.; LOAKE, G. J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. **Plant Physiology**, Jena, v. 124, n. 1, p. 21-30, 2000.

GUIMARÃES, J. C. **Liberção da dormência e dinâmica de carboidratos em gemas de videiras Niagara Rosada (*Vitis labrusca* L.) em região tropical**. 74 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes, 2013.

HEIDE, O. M.; PRESTRUD, A. K. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. **Tree Physiology**, Orford, v. 25, n. 1, p. 109-114, 2005.

HEIDE, O. M. Temperature rather than photoperiod controls growth cessation and dormancy in *Sorbus species*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 15, p. 5397-5404, 2011.

HORVATH, D. P.; ANDERSON, J. V.; CHAO, W. S.; FOLEY, M. E. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 8, n. 11, p. 534-540, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Lavouras permanentes**. Disponível em:

<[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2013/default\\_perm\\_ods.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2013/default_perm_ods.shtm)>. Acesso em: 13 dez. 2016.

JONES, K. S.; PAROSCHY, J.; MCKERSIE, B. D.; BOWLEY, S. R. Carbohydrate composition and freezing tolerance of canes and buds in *Vitis vinifera*. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 155, n. 1, p. 101-106, 1999.

JONES, H. G.; HILLIS, R. M.; GORDON, S. L.; BRENNAN, R. M. An approach to the determination of winter chill requirements for diferente *Ribes* cultivars. **Plant Biology**, Hoboken, v. 15, n. 1, p. 18-27, 2013.

JUVANY, M.; MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Bud vigor, budburst lipid peroxidation, and hormonal changes during bud development in healthy and moribund beech (*Fagus sylvatica* L.) trees. **Trees**, Heidelberg, v. 29, n. 6, p. 1781-1790, 2015.

KAMINSKA-ROZEK, E.; PUKACKI, P. M. Effect of freezing desiccation on cold hardiness, ROS, membrane lipid levels and antioxidant status in spruce seedlings. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Varsóvia, v. 74, n. 3, p. 219-228, 2005.

KASRAOUI, F.; DUQUESNOY, I.; WINTERTON, P.; LAMAZE, T. Activities of peroxidase (soluble and cell wall bound) and of other H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes are markers of the flower bud development stage in lemon. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, Gottingen, v. 87, p. 1-8, 2014.

KASUGA, J.; ARAKAWA, K.; FUJIKAWA, S. High accumulation of soluble sugars in deep supercooling japanese white birch xylem parenchyma cells. **New Phytologist**, Hoboken, v. 174, n. 3, p. 569-579, 2007.

KIM, H. C.; BAE, K. S.; BAE, J. H.; KIM, T. C. Freezing hardiness according to dormancy level and low temperature in persimmon (*Diospyros kaki*). **Journal of Bio-Environment Control**, v. 16, n. 3, p. 269-273, 2007.

LANG, G. A.; EARLY, J. D.; MARTIN, G. C.; DARNELL, R. L. Endo-, para- and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. **Hortscience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 371-178, 1987.

LEÃO, P. S. Comportamento de cultivares de uva sem sementes no submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 734-737, 2002.

LEITE, G. B.; BONHOMME, M.; PUTTI, G. L.; PETEL, G.; PETRI, J. L.; RAGEAU, R. Physiological and biochemical evolution of peach leaf buds during dormancy course. **International Journal of Horticultural Science**, Budapest, v. 12, n. 4, p. 15-19, 2006.

LI, L.; STEFFENS, J. C. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. **Planta**, Nova York, v. 215, n. 2, p. 239-247, 2002.

LI, C.; JUNTILLA, O.; ERNSTSEN, A.; HEINO, P.; PALVA, E. T. Photoperiodic control of growth, cold acclimation and dormancy development in silver birch (*Betula pendula*) ecotypes. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 117, n. 2, p. 206-212, 2003.

LINSLEY-NOAKES, G. C.; ALLAN, P. Comparison of two models for the prediction of rest completion in peaches. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 107-113, 1994.

LOESCHER, W. H.; MCCAMANT, T.; KELLER, J. D. Carbohydrate reserves, translocation, and storage in woody plant roots. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 3, p. 274-281, 1990.

LOPES, M. J.; SOUZA, I. R.; MAGALHÃES, P.; GAMA, E. E.; ALVES, J.; MAGALHÃES, M. Oxidação protéica e peroxidação lipídica em plantas de seleção do milho "Saracura", sob encharcamento contínuo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 362-373, 2005.

MAIA, A. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BOTELHO, R. V.; JARDINETTI, V. A.; FARIA, C. M. D. R.; BATISTA, A. F.; COSTA, W. F. Bud break and enzymatic activity in buds of grapevines cv. Ives treated with *Gallesia integrifolia* hydrolate. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 35, n. 9, p. 2727-2735, 2013.

MARAFON, A. C.; HERTER, F. G.; HAWERROTH, F. H. Umidade ponderal em tecidos de pereira durante o período de dormência sob condições de inverno ameno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 9, p. 1006-1012, 2011.

MARODIN, G.; ROMÁN, A. A cianamida hidrogenada, o óleo mineral e o extrato de alho na quebra de dormência e produção da ameixeira 'Shiro' em Texcoco-México. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 3, n. 2, p. 177-181, 1997.

MARQUAT, C.; VANDAMME, M.; GENDRAUD, M.; PÉTEL, G. Dormancy in vegetative buds of peach: relation between carbohydrate absorption potentials and carbohydrate concentration in the bud during dormancy and its release. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 79, n. 3-4, p.151-162, 1999.

MAUREL, K.; LEITE, G. B.; BONHOMME, M.; GUILLIOT, A.; RAGEAU, R.; PÉTEL, G.; SAKR, S. Trophic control of bud break in peach (*Prunus persica*) trees: a possible role of hexoses. **Tree Physiology**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 579-588, 2004.

MCPHERSON, H. G.; SNELGAR, W. P.; MANSON, P. J.; SNOWBALL, A. M. Bud respiration and dormancy of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 411-418, 1997.

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS. **Alice Web**. Disponível em: <<http://aliceweb.mdic.gov.br/>>. Acesso em: 13 dez. 2016.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MIZOBUTSI, G. P.; BRUCKNER, C. H.; SALOMÃO, L. C. C.; NEVES, J. C. L. Antecipação da colheita de caqui 'Costata' através da quebra de dormência com cianamida hidrogenada e óleo mineral. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 209-211, 2004.

MORIN, X.; AMÉGLIO, T.; AHAS, R.; KURZ-BESSON, C.; LANTA, V.; LEBOURGEOIS, F.; MIGLIETTA, F.; CHUINE, I. Variation in cold hardiness and carbohydrate concentration from dormancy induction to bud burst among provenances of three european oak species. **Tree Physiology**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 817-825, 2007.

MOWAT, A. D.; COLLINS, R. J.; GEORGE, A. P. Cultivation of persimmon (*Diospyros kaki* L.) under tropical conditions. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 409, p. 141-150, 1995.

NAOR, A.; FLAISHMAN, M.; STERN, R.; MOSHE, A.; EREZ, A. Temperature effects on dormancy completion of vegetative buds in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 128, n. 5, p. 636-641, 2003.

NIR, G.; SHULMAN, Y.; FANBERSTEIN, L.; LAVEE, S. Changes in the activity of catalase (EC 1.11.1.6) in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 81, n. 4, p. 1140-1142, 1986.

OMRAN, R. G. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. **Plant Physiology**, Jena, v. 65, n. 2, p. 407-408, 1980.

OR, E.; VILOZNY, I.; FENNELL, A.; EYAL, Y.; OGRODOVITCH, A. Dormancy in grape buds: isolation and characterization of catalase cDNA and analysis of its expression following chemical induction of bud dormancy release. **Plant Science**, Clare, v. 162, n. 1, p. 121-130, 2002.

OZDEN, M.; DEMIREL, U.; KAHRAMAN, A. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 119, n. 2, p. 163-168, 2009.

PÉREZ, F. J.; LIRA, W. Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, n. 3, p. 301-308, 2005.

PETRI, J. L.; PALLADINI, L. A.; SCHUCK, E.; DUCROQUET, J. P.; MATOS, C. S.; POLA, A. C. **Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado**. Florianópolis: EPAGRI, 1996. 110 p. (EPAGRI. Boletim Técnico, 75).

POLIDOROS, A. N.; SCANDALIOS, J. G. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione s-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 106, n. 1, p. 112-120, 1999.

QUEIROZ, C. G. S.; ALONSO, A.; MARES-GUIA, M.; MAGALHÃES, A. C. Chilling-induced changes in membrane fluidity and antioxidant enzyme activities in *Coffea arabica* L. roots. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 41, n. 3, p. 403-413, 1998.

RADY, M. M.; EL-YAZAL, M. A. Response of "Anna" apple dormant buds and carbohydrate metabolism during floral bud break to onion extract. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 155, p. 78-84, 2013.

RAGEAU, R. Croissance et débourrement des bourgeons végétatifs de pêcher (*Prunus persica* L. Batsch) au cours d'un test classique de dormance. **CR Academy Science**, Paris, v. 287, p. 1119-1122, 1978.

RAVEN, P. H. **Biologia vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2014. 856 p.

RICHARDSON, E. A.; SEELEY, S. D.; WALKER, D. R. A model for estimating the completion of rest for 'Redhaven' and 'Elbert' peach trees. **HortScience**, Alexandria, v. 9, n. 4, p. 331-332, 1974.

RINNE, P. L.; VAN DER SCHOOT, C. Symplasmic fields in the tunica of the shoot apical meristem coordinate morphogenetic events. **Development**, Cambridge, v. 125, n. 8, p. 1477-1485, 1998.

RINNE, P. L. H.; KAIKURANTA, P. M.; VAN DER SCHOOT, C. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy. **Plant Journal**, Hoboken, v. 26, n. 3, p. 249-264, 2001.

ROHDE, A.; BHALERAO, R. P. Plant dormancy in the perennial context. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 12, n. 5, p. 217-223, 2007.

RUIZ, D.; CAMPOY, J. A.; EGEEA, J. Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. **Environmental and Experimental Botany**, Kidlington, v. 61, n. 3, p. 254-263, 2007.

SAMISH, R. M. Dormancy in woody plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.5, p.183-204, 1954.

SARRIA, S. D. **Comportamento pos-colheita de caqui (*Diospyros kaki*): avaliação física e química**. 72 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

SATO, G. S.; ASSUMPÇÃO, R. Caqui: uma opção para a produção familiar no estado de São Paulo. **Instituto de Economia Agrícola**, 2002. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=112>>. Acesso em: 13 dez. 2016.

SCHMITZ, J. D.; HERTER, F. G.; REGNARD, J. L.; LEITE, G. B.; BONHOMME M.; COCHARD H.; LAURI P. E. Is acrotonic budburst pattern in spring a typical behavior of the low-chilling apple cultivar 'Eva' in mild winter conditions? An approach combining ex planta single-node cutting test and in planta bud water content during dormancy. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 188, p.84-88, 2015.

SETTIMI, L.; DAVANZO, F.; FARAONI M. G.; RICHMOND, D.; CALVERT, G. M. Update: Hydrogen cyanamide-related illnesses-Italy, 2002-2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 54, n. 16, p. 405-408, 2005.

SHALTOOT, A. D.; UNRATH, C. R. Rest completion prediction model for 'Starkrimson Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 6, p. 957-961, 1983.

SHARKEY, T. D.; DUCRUET, J. M.; PARRY, M. A. J. **Biochemistry and photochemistry of terrestrial photosynthesis**: a synopsis. 2012. Disponível em: <<http://eprints.lancs.ac.uk/76184/>>. Acesso em: 13 dez. 2016.

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

SINGH, S.; JOSHI, H. *Diospyros kaki* (Ebenaceae): a review. **Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 3, p. 55-58, 2011.

STAFSTROM, J. P. Regulation of growth and dormancy in pea axillary buds. In: VIÉMONT, J.-D.; CRABBÉ, J. (Ed.). **Dormancy in plants**: from whole plant behaviour to cellular control. Cambridge: University Press, 2000. p.331-346.

TAMURA, F.; TANABE, K.; ITAI, A.; TANAKA, H. Protein changes in the flower buds of japanese pear during breaking of dormancy by chilling or high-temperature treatment. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.123, n.4, p.532-536, 1998.

TANINO, K. K.; KALCSITS, L.; SILIM, S.; KENDALL, E.; GRAY, G. R. Temperature-driven plasticity in growth cessation and dormancy development in deciduous woody plants: a working hypothesis suggesting how molecular and cellular function is affected by temperature during dormancy induction. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 73, n. 1, p. 49-65, 2010.

TREJO-MARTÍNEZ, M. A.; OROZCO, J. A.; ALMAGUER-VARGAS, G.; CARVAJAL-MILLÁN, E.; GARDEA, A. A. Metabolic activity of low chilling grapevine buds forced to break. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 481, p. 28-31, 2009.

VAUGHN, K. C.; DUKE, S. O. Function of polyphenol oxidase in higher plants. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 60, n. 1, p. 106-112, 1984.

VERGARA, R.; PARADA, F.; SEBASTIÁN, R.; PÉREZ, F. J. Hypoxia induces H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and activates antioxidant defence system in grapevine buds through mediation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and ethylene. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n.11, p. 4123-4131, 2012.

VIEIRA, A. R.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, E. V. R. V.; PEREIRA, C. E.; CLEMENTE, A. C. S. Isoenzymatic marker for seed dormancy in rice. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 81-89, 2008.

VITI, R.; BARTOLINI, S.; ZANOL, G. C. Biological changes and active oxygen-scavenging enzymes activities in apricot (*Prunus armeniaca* L.) flower buds during dormancy transitions. **Acta Horticulturae**, Wageningen v. 940, p. 331-339, 2012.

WAMPLE, R. L.; BARY, A. Harvest date as a factor in carbohydrate storage and cold hardiness of Cabernet Sauvignon grapevines. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 1, p. 32-36, 1992.

WANG, S. Y.; STEFFENS, G. L.; FAUST, M. Breaking bud dormancy in apple with a plant bioregulator, thidiazuron. **Phytochemistry**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 311-317, 1986.

WANG, S. Y.; FAUST, M.; JIAO, H. J. Changes in superoxide dismutase activity during thidiazuron-induced lateral budbreak of apple. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 9, p. 1202-1204, 1991a.

WANG, S. Y.; JIAO, H. J.; FAUST, M. Changes in the activities of catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase in apple buds during bud break induced by thidiazuron. **Journal of Plant Growth Regulation**, Nova York, v. 10, n. 1-4, p. 33-39, 1991b.

WANG, Y.; LI, J.; WANG, J.; LI, Z. Exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> improves the chilling tolerance of manilagrass and mascarenegrass by activating the antioxidative system. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 61, n. 2, p. 195-204, 2010.

WANG, L.; YANG, X.; REN, Z.; WANG, X. Regulation of photoassimilate distribution between source and sink organs of crops through light environment control in greenhouses. **Agricultural Sciences**, v. 5, n. 4, p. 250-256, 2014.

WEINBERGER, J. H. Chilling requirements of peach varieties. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 56, p. 122-128, 1950.

XIE, C.; XIE, Z.; XU, X.; YANG, D. Persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves: a review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 163, p. 229-240, 2015.

YAKUSHIJI, H.; NAKATSUKA, A. Recent persimmon research in Japan. **Japanese Journal of Plant Science**, Hiroshima, v. 1, n.2, p. 42-62, 2007.

ZAHRA, P.; MAJID, R.; AMIN, B. Seasonal changes of peroxidase, polyphenol oxidase enzyme activity and phenol content during and after rest in pistachio (*Pistacia vera* L.) flower buds. **World Applied Sciences Journal**, v. 6, n. 9, p. 1193-1199, 2009.

ZHENG, C.; HALALY, T.; ACHEAMPONG, A. K.; TAKEBAYASHI, Y.; JIKUMARU, Y.; KAMIYA, Y.; OR, E. Abscisic acid (ABA) regulates grape bud dormancy, and dormancy release stimuli may act through modification of ABA metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 1527-1542, 2015.