

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Dissertação

**Atividade da enzima Catalase durante a fase de repouso hibernar em
pereiras cultivadas na região Sul do Brasil**

THIAGO AUGUSTO HENZ

Pelotas, 2019

Thiago Augusto Henz

Atividade da enzima Catalase durante a fase de repouso hibernar em pereiras cultivadas na região Sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fruticultura.

Orientador Prof. Dr. Paulo Celso de Mello Farias

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Soares Chaves

Coorientador: Prof. Dr. Robson Ryu Yamamoto

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

H493a Henz, Thiago Augusto

Atividade da enzima Catalase durante a fase de repouso hibernar em pereiras cultivadas na região Sul do Brasil / Thiago Augusto Henz ; Paulo Celso de Mello Farias, orientador ; Ana Lúcia Soares Chaves, Robson Rui Yamamoto, coorientadores. — Pelotas, 2019.

64 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Pera. 2. Enzimas. 3. Repouso hibernar. 4. Metabolismo. 5. Dormência. I. Farias, Paulo Celso de Mello, orient. II. Chaves, Ana Lúcia Soares, coorient. III. Yamamoto, Robson Rui, coorient. IV. Título.

CDD : 634.13

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Thiago Augusto Henz

ATIVIDADE DA ENZIMA CATALASE DURANTE A FASE DE REPOUSO
HIBERNAL EM PEREIRAS CULTIVADAS NA REGIÃO SUL DO BRASIL

Data da defesa: 11 de março de 2019, às 08 horas e 30 minutos.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Celso de Mello Farias (Orientador)

Doutor em Ciências pela Universidade de São Paulo

Dra. Doralice Lobato de Oliveira Fischer

Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Flavio Gilberto Herter

Doutor em Agronomia pela Université Blaise Pascal Clermont Ferrand, França

Prof. Dr. Sidnei Deuner

Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras

Dedico

À minha família

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, pela presença constante em minha vida.

À minha Família pelo amor e apoio incondicional.

Ao Professor Paulo Celso pela dedicação, conhecimento repassado nestes dois anos de trabalho.

Ao professor Flávio Gilberto Herter pelo fundamental suporte e orientação.

A todos os professores do curso de mestrado que contribuíram para a ampliação do meu conhecimento técnico e científico.

A professora Ana Chaves, pelas valiosas informações concedidas, contribuindo para o enriquecimento deste trabalho.

Ao professor Luciano do Amarante do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos – CCQFA Universidade Federal de Pelotas - UFPel, pelo grande apoio!

A todos os amigos e colegas, em especial ao grupo da fruticultura.

Ao grupo do laboratório de bioquímica, pelas boas discussões e muitos cálculos. Estagiários, mestrandos, doutorandos e Pós- doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (laboratório de bioquímica), pelos ensinamentos e debates.

À Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Aos funcionários da Universidade que de alguma forma também contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

À Capes pela concessão da bolsa.

Agradecimentos sinceros a todos que de alguma forma, contribuíram para minha formação pessoal e profissional, e para que este trabalho fosse realizado!

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver.”

Dalai Lama

RESUMO GERAL

HENZ, Thiago Augusto **Atividade da enzima Catalase durante a fase de repouso hibernar em pereiras cultivadas na região Sul do Brasil**. 2019. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O principal problema da expansão é a questão da adaptação dessa frutífera em condições de inverno ameno. Onde o principal problema é a questão da adaptação dessa frutífera em condições de inverno ameno. Com base nisso é fundamental o estudo que vise compreender a dinâmica da dormência, com intuito de selecionar cultivares que melhor se adaptem às condições de inverno ameno encontradas no Brasil, assim como seu comportamento fisiológico quando não houver o requerimento em número de horas de frio atendido. Portanto, objetivou-se estudar a enzima Catalase e relacionar seu comportamento com a dinâmica de três cultivares (Século XX, Shinseiki e Santa Maria), cultivadas em Pelotas, RS, visando uma melhor adaptação da cultura. . No período de maio a setembro/2017 foram realizadas coletas de segmentos de plantas adultas com x anos, contendo de duas a quatro gemas. Posteriormente esse material vegetal foi levado para o Laboratório de Bioquímica da UFPel, onde foram realizadas extrações e quantificação da enzima Catalase. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, com três cultivares e cinco épocas de coleta, com três repetições, sendo cada repetição constituída de três plantas.

Concluiu-se que existe claramente influência do fator genético na atividade da Catalase entre as cultivares testadas e que frequentes oscilações de temperatura, características do estado do Rio Grande do Sul, são o motivo pelo qual as gemas de pera não entram em dormência profunda durante o inverno. O desenvolvimento do presente trabalho permitiu compreender que em condições de variabilidade no tempo, o ingresso das gemas ao estágio de dormência varia com a cultivar, constituindo informação importante para a tomada de decisões na seleção das cultivares.

Palavras-chave: pera; enzimas; repouso hibernar; metabolismo; dormência

ABSTRACT

HENZ, Thiago Augusto **Activity of the Catalase enzyme during a hibernal rest period in pear trees cultivated in southern Brazil**. 2019. 64 p. Thesis (Master's in Agronomy) – Graduate Program in Agronomy, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel (FAEM), Federal University of Pelotas, Pelotas

The main problem of expansion is the question of adapting this fruit in mild winter conditions. Where the main problem is the question of adapting this fruit in mild winter conditions. Based on this, it is fundamental to study the dynamics of dormancy, in order to select cultivars that best adapt to the mild winter conditions found in Brazil, as well as their physiological behavior when there is no requirement in the number of cold hours served. The aim of this study was to study the enzyme Catalase and to relate its behavior to the dynamics of three cultivars (20th century, Shinseiki and Santa Maria) cultivated in Pelotas, RS, aiming at a better adaptation of the culture. In the period from May to September / 2017 collections of segments of adult plants with x years were carried out, containing from two to four buds. Later this plant material was taken to the Biochemistry Laboratory of UFPel, where extractions and quantification of the enzyme Catalase were carried out. The experimental design was completely randomized blocks, with three cultivars and five collection seasons, with three replicates, each replicate consisting of three floors.

It was concluded that there is a clear influence of the genetic factor on the activity of Catalase among the cultivars tested and that frequent temperature fluctuations, characteristic of the state of Rio Grande do Sul, are the reason why the pear buds do not fall into deep dormancy during the Winter. The development of the present work allowed to understand that in conditions of variability in the time, the entrance of the gems to the dormancy stage varies with the cultivar, being important information for the decision making in the selection of the cultivars.

Key-words: pear; enzymes winter rest; metabolism; numbness

Lista de Figuras

CAPÍTULO I

Figura 1. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 25 a 31 de maio de 2017.....	38
Figura 2. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 24 a 30 de junho de 2017.....	38
Figura 3. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 25 a 31 de julho de 2017.....	39
Figura 4 Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 25 a 31 de agosto de 2017.....	40
Figura 5 Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 24 a 30 de setembro de 2017.....	40
Figura 6 Atividade enzimática da catalase em gemas de três cultivares de pereiras Santa Maria, Século XX e Shinseiki durante o período de avaliação de maio a setembro de 2017. Pelotas, 2019.....	43
Figura 7 Temperatura média mínima e máxima durante o período de cinco dias antecedente à data de coleta.....	45
Figura 8. Precipitação acumulada durante o período de cinco dias antecedentes à data de coleta.....	46
Figura 9. Atividade da enzima Catalase na cultivar europeia Santa Maria.....	47
Figura 10. Atividade da enzima Catalase na cultivar asiática Século XX.....	47
Figura 11. Atividade da enzima Catalase na cultivar asiática Shinseiki.....	48

Anexos

Anexo A - Pomar de pereiras da cultivar Santa Maria.....	59
Anexo B- Pomar de exemplares das cultivares Século XX.....	60
Anexo C- Pomar da cultivar Shinseiki.....	61
Anexo D- Coleta das gemas no pomar experimental.....	61
Anexo E- Extração enzimática na câmara fria.....	62
Anexo F- Temperaturas máximas (Temp Máx), temperaturas mínimas diárias (Temp min) (°C), Horas de sol, Umidade Relativa (U.R.) média (%) e Precipitação (mm) durante o período de condução do experimento (20 de maio a 30 de setembro de 2017).....	63
Anexo G- Horas de frio ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$) Maio Setembro/2017.....	63
Anexo H-Gráfico climatológico de 2017.....	64

Lista de tabelas

CAPÍTULO I

Tabela 1- Atividade enzimática da catalase em gemas de duas cultivares de pereiras japonesas (<i>Pyrus pyrifolia</i>) e uma cultivar de pereira europeia (<i>Pyrus communis</i>) durante o período de avaliação.	42
Tabela 2- Dados de temperatura média mínima e máxima, precipitação acumulada, e atividade da enzima Catalase.....	44
Tabela 3- Quadro de análise (correlação de Pearson).....	49

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CAPÍTULO I.....	34
1. Introdução.....	34
2. Material e métodos.....	38
3. Resultados.....	41
4. Discussão.....	48
5. Conclusões.....	51
6. Referências bibliográficas.....	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
ANEXOS.....	58

INTRODUÇÃO GERAL

A fruticultura é um segmento muito importante na agricultura brasileira, diversas frutas são cultivadas em todos os estados, com grande importância econômica e social, pois se estima que mais de cinco milhões de pessoas trabalhem de forma direta e indireta no setor (FACHINELLO et al., 2011). No Brasil predominam regiões tropicais, e por consequência a fruticultura tropical, porém existe espaço para a fruticultura de clima temperado, sendo que em 2011 o país possuía mais de 150000 ha de pomares com espécies frutíferas de clima temperado (FACHINELLO et al., 2011).

As espécies frutíferas de clima temperado apresentam hábito caducifólio, tendo apenas um único surto de crescimento anual, apresentando resistência a baixas temperaturas, adaptam-se de melhor forma em regiões com temperatura média anual entre 5°C e 15°C para o crescimento e desenvolvimento. Essas frutíferas também possuem a necessidade de acúmulo de número de horas frio abaixo de 7,2°C para superação do estágio de dormência (FACHINELLO et al. 2008).

A pereira (*Pyrus communis* L.), cultivada há muitos anos, pertence à família botânica Rosaceae, que compreende mais de vinte espécies, todas da Europa e da Ásia (OLIVEIRA et al., 2017). O Brasil é o 46º maior produtor mundial de peras, tendo uma produção anual de apenas 22.078 t. Essa produção não atende ao consumo interno brasileiro, tornando a pera a fruta mais importada do país (OLIVEIRA et al., 2017). A alta demanda por peras no Brasil representa uma oportunidade promissora para os produtores brasileiros (OLIVEIRA et al., 2017).

Em relação às condições climáticas para o cultivo da pereira, estas são pouco atendidas nas regiões produtoras do País, tornando-se entraves importantes, pois dificultam o cultivo de cultivares de qualidade elevada e favorecem a produção de frutos de baixa qualidade. A pereira, por ser uma frutífera típica de clima temperado, possui um alto requerimento de horas de frio para o seu melhor desenvolvimento e frutificação. De acordo com Penteadó (1986), ela exige no período de inverno horas de frio para entrar em repouso hibernar e um período vegetativo, com dias quentes e claros, considerando-se

adequados os locais com climas frescos e temperaturas médias anuais de 20°C. Segundo Campo-Dall'Orto et al. (1996), nas principais regiões produtoras do mundo ela é cultivada sob invernos bem rigorosos, embora possa ser plantada em regiões de clima bem mais ameno; nesse caso, conforme Ribeiro et al. 1991, ela pode apresentar problemas de adaptação climática, tais como: brotação e floradas deficientes, floração muito prolongada, baixa formação de órgãos de frutificação e baixo “pegamento” dos frutos. Tais fatores fazem com que, a produtividade e a qualidade dos frutos sejam baixas.

Camelatto et al. (2000), por outro lado, afirmam que a flutuação da temperatura em períodos sucessivos durante o inverno não é causa do abortamento de gemas florais e que o número de horas de frio durante o inverno não é o único fator causador do fenômeno. Para eles o problema está relacionado a fatores que causam estresse às plantas durante a diferenciação e o desenvolvimento das gemas florais. Outras hipóteses estão relacionadas com a nutrição da planta e desequilíbrios no período vegetativo (FAORO, 2001).

Outros fatores apontados como causadores de insucesso e entraves para a expansão da cultura da pereira são: indefinição e pouco conhecimento em relação às cultivares adaptada às diferentes regiões potencialmente produtoras (SIMONETTO; GRELLMANN, 1999); suscetibilidade às doenças (NAKASU; LEITE, 1992); deficiência de tecnologias de manejo (BECKER, 2004; TREVISAN et al., 2005); consideração por parte de alguns produtores do Sul do Brasil que a pera e a maçã são frutas concorrentes entre si pelo mesmo mercado; falta de crédito e de políticas de apoio ao investimento de longo prazo, com carência de pelo menos cinco anos, pois a pereira demora cerca de 4 a 5 anos para entrar em produção comercial; falta de mudas/porta-enxertos em quantidade e livres de vírus para venda com preço acessível; e falta de investimentos em pesquisa na cultura e de assistência técnica (FAORO, 2001).

A utilização das espécies *Pyrus calleryana* e *Pyrus betulaefolia* como porta-enxertos, por apresentarem grande rusticidade, constitui uma qualidade desejável frente a ambientes adversos, tais como áreas úmidas e mal drenadas, temperaturas elevadas, pragas e doenças do solo (MAEDA et al., 1997) e proporcionarem maior produtividade às pereiras enxertadas

(BARBOSA et al., 1994). Porém outro problema da cultura é que estes porta-enxertos imprimem grande vigor à planta, dificultando a realização de tratamentos culturais importantes, como poda, raleio de frutos, tratamentos fitossanitários e colheita, e proporcionam pomares desuniformes e tardios para entrarem em produção. Além disso, a pereira apresenta problemas de incompatibilidade com determinados porta-enxertos de outros gêneros e espécies. Segundo Leite et al. (2001), a incompatibilidade é variável, dependendo da copa e do porta-enxerto, sendo bastante severa entre a pereira japonesa e o marmeleiro, fato que pode, inclusive, levar à morte da copa.

A pereira tem como o seu centro de origem três regiões: a China, a Ásia Central e o Oriente Médio. A partir destes centros de origem obtiveram-se dois grupos gerais desta espécie: orientais, nativas do leste e nordeste da Ásia e ocidentais, nativas da Europa e noroeste da Ásia (INGELS et al., 2007). Esta frutífera de clima temperado pertence à ordem Rosales, família Rosacea e gênero *Pyrus*. As pereiras denominadas europeias são da espécie *Pyrus communis*, as asiáticas da espécie, *Pyrus pyrolifolia* e as siberianas, *Pyrus ussuriensis* – esta última utilizada no cruzamento interespecífico para produção de cultivares de peras híbridas.

Sendo a planta de pereira, uma espécie lenhosa e com origem de regiões de clima temperado, surge a importância de se conhecer os seus mecanismos internos de indução e superação nestes períodos de adversidade climática.

A dormência em espécies frutíferas de clima temperado é uma fase do desenvolvimento que permite as plantas sobreviverem a condições desfavoráveis como as baixas temperaturas e redução do fotoperíodo durante o inverno (CASTRO et al., 2012). A atividade fisiológica durante a dormência, que não é paralisada totalmente, afeta o subsequente desenvolvimento potencial e o crescimento (CAMPOY et al., 2011).

Em meados do século XX, Chouard (1956) classificou as diferentes causas de inibição do crescimento observadas em espécies lenhosas de clima temperado, definindo os seguintes grupos: quiescência, inibição correlativa e dormência. Posteriormente, estes mecanismos foram definidos como

dormência imposta, pré-dormência e dormência verdadeira (SAURE, 1985), dentre muitos outros sinônimos.

Lang et al. (1987) propuseram uma classificação que é a mais utilizada atualmente, na qual se agrupam os diferentes sinônimos e dividiu-se a dormência em três fases: ecodormência (ocorre normalmente no final do inverno e é imposta por condições ambientais desfavoráveis ao crescimento); paradormência (é a influência causada por diferentes órgãos ou estruturas da planta); e endodormência (controlada endogenamente pelo órgão ou estrutura afetada). Esse último estágio, também conhecido como dormência profunda ou de inverno, é considerado a dormência genuína, que caracteriza plantas lenhosas em zonas temperadas, e tem sido alvo de inúmeros estudos, os quais têm mostrado a sua enorme complexidade (CAMPOY et al., 2011).

Considerando apenas os componentes climáticos, os requerimentos para superação de cada um dos estádios da dormência poderiam ser sintetizados como sendo: redução da temperatura e fotoperíodo, que resulta na senescência das folhas (um dos órgãos que causam a inibição correlativa), servindo para a passagem da paradormência para a endodormência; acúmulo de baixas temperaturas e encurtamento do fotoperíodo para a superação da endodormência; a elevação da temperatura e o prolongamento do fotoperíodo resultam na superação da ecodormência, proporcionando a retomada do crescimento com a floração e brotação (LANG et al., 1987; DENNIS, 1994; FAUST et al., 1997; CITADIN et al., 2001; ARORA et al., 2003;; HEIDE; PRESTRUD, 2005;).

A dormência em espécies perenes de clima temperado tem sido bastante estudada em termos fisiológicos há algum tempo. Entretanto, os componentes moleculares e genéticos das vias de sinalização que regulam a dormência e a floração passaram a ser estudados muito recentemente (PEREIRA, et al., 2012). A interação entre os demais componentes bióticos e abióticos afetará no metabolismo (energia, ciclo do carbono, balanço hídrico, nutrientes, etc), provocando alterações no desenvolvimento e sobrevivência das plantas (CHMURA et al., 2011). Além disso, a insuficiência no acúmulo de frio, que é associada a condições de inverno ameno, resulta em padrões

anormais de brotação, floração e desenvolvimento de espécies frutíferas de clima temperado (MAUGET; RAGEAU, 1988).

Um maior entendimento dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na dormência das gemas de pereira permitirá ajudar no entendimento da dormência de gemas da espécie nas regiões insuficiência de horas de frio e contribuir com a tomada de decisão quanto aos tratamentos culturais, de forma a permitir o máximo potencial produtivo, e também fomentar futuras pesquisas.

Durante a dormência, assim como em outros processos fisiológicos vegetais, ocorre a modulação espacial e temporal da atividade de inúmeros sistemas enzimáticos, havendo redução da atividade de algumas enzimas e aumento da atividade de outras (BUCHANAN et al., 2000).

Wang et al. (1991a) estudaram as mudanças na atividade enzimática, durante a dormência e a superação da dormência induzida por Thidiazuron, em gemas laterais de macieira. As enzimas pesquisadas fazem de rotas metabólicas como a via das pentoses fosfato [glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e 6-fosfato gliconato desidrogenase (6PGDH)], ciclo de Krebs [isocitrato desidrogenase (ICDH)] e via glicolítica [piruvato quinase (PK) e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH)]. Durante a dormência das gemas, a atividade das enzimas da via glicolítica e do ciclo de Krebs foi baixa, quando comparadas com sua atividade em gemas que não estavam em dormência.

A atividade destas enzimas aumentou após a superação da dormência, tendo seu pico oito dias após o tratamento com Thidiazuron (logo antes do estágio de expansão rápida), decrescendo a partir deste momento. Em contrapartida, a atividade das enzimas relacionadas à via das pentoses fosfato foi mais alta nas gemas em dormência do que nas não dormentes, decrescendo logo a seguir. Estes dados corroboram com a informação de que a atividade enzimática sofre variações durante a dormência.

A produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) é uma resposta comum em condições de estresses abióticos, incluindo as baixas temperaturas. Esta é caracterizada pelo acúmulo de moléculas tóxicas como $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 e OH^- nos tecidos, as quais são capazes de causar danos às membranas

celulares e a certas macromoléculas. Os vegetais possuem várias estratégias antioxidantes, por exemplo, enzimas de limpeza de ROS como a superóxido dismutase (SOD), diferentes peroxidases (PODs), catalase (Cat), e glutathione redutase (GR) (BUCHANAN et. al., 2000; HUSSAIN et al., 2011).

Wang e Faust (1992) estudaram a atividade da enzima ácido ascórbico oxidase (AAO) em gemas de macieira durante a superação da dormência induzida por Thidiazuron. Nas gemas em estado de dormência a atividade da AAO foi reduzida, quando comparada a gemas tratadas e que retomaram o crescimento. Estes dados mostram que um aumento na atividade da AAO começa no momento da transição metabólica entre a dormência e a superação da dormência, indicando mudanças importantes do metabolismo oxidativo vegetal frente a estes processos fisiológicos.

Pesquisas realizadas posteriormente confirmaram a ocorrência de mudanças importantes nos sistemas antioxidantes associados ao processo de superação da dormência em gemas de macieira (WANG; FAUST, 1994). Os resultados obtidos indicaram que a superação da dormência induzida por frio e aquecimento é associada com a retirada de radicais livres (ROS) através da ativação dos sistemas antioxidantes de retirada de peróxidos.

De fato, Fuchigami e Nee (1987) já haviam especulado que glutathione estaria envolvida na superação da dormência em espécies lenhosas de clima temperado. Adicionalmente, Wang et al. (1991b) e Siller-Cepeda et al. (1992) obtiveram resultados que vão ao encontro desta afirmação. Estes concluíram que o aumento de glutathione reduzida (GSH) durante a fase de acúmulo de frio estaria associado à superação da dormência em gemas de pessegueiro, e aqueles, relataram um aumento nos níveis de ascorbato, glutathione total e na atividade de enzimas correlacionadas ao ciclo ascorbato-glutathione (ascorbato peroxidase, desidroascorbato redutase, glutathione redutase, superóxido dismutase, redutase de radicais livres do ascorbato) em gemas de macieira.

Estes dados sugerem que o término da dormência e a indução da superação da dormência podem requerer a retirada de ânions superóxido e de peróxidos nos tecidos de gemas. Honty et al. (2008) também observaram modificações da atividade das enzimas peroxidase (POD) e polifenol oxidase (PPO) durante a dormência de gemas em pereira.

Entretanto, em condições de inverno ameno, poucos estudos têm sido conduzidos para desvendar a modulação da atividade enzimática durante a dormência em espécies frutíferas de clima temperado. A insuficiência de frio, associada com o inverno ameno, resulta em um comportamento anormal de desenvolvimento e superação da dormência nestas espécies (MAUGET; RAGEAU, 1988), sendo reconhecida como o principal fator do abortamento floral em pereiras no Brasil (PETRI et al., 2002; PETRI ; HERTER, 2002) e na Nova Zelândia (KLINAC; GEDDES, 1995; DO OH; KLINAC, 2003).

O abortamento de gemas floríferas é um dos principais fatores que limitam a produção comercial de pereira na região Sul do Brasil, sendo resultante primordialmente, do acúmulo insuficiente de frio durante o período de dormência. Com o objetivo de investigar os mecanismos adaptativos de espécies frutíferas de clima temperado em condições de inverno ameno, Marafon et al. (2011) relacionaram o efeito da falta de frio durante o período de dormência e a mobilização de carboidratos em pereiras japonesas.

Neste estudo foram comparadas as concentrações de açúcares solúveis totais e açúcares redutores, assim como a atividade das enzimas invertase ácida da parede celular (CWA) e sacarose-fosfato sintase, em ramos lenhosos e gemas floríferas, submetidos a condições de frio durante o período de dormência. Com o estudo, emitiram a hipótese de que a mobilização do amido e os fluxos de carboidratos para as gemas são impedidos em condições de inverno ameno.

Pelo exposto, verifica-se a necessidade de desenvolver e aprofundar pesquisas acerca dos componentes dos sistemas antioxidantes (atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo oxidativo e níveis de metabólitos não enzimáticos como glutatona e ascorbato), durante a dormência em frutíferas de clima temperado, como a pereira, especialmente em situação de inverno ameno, no contexto do aquecimento global.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARORA, R.; ROWLAND, L. J.; TANINO, K. (2003). Induction and release of bud dormancy in woody perennials: A science comes of age. *HortScience*, 38(5), 911-921.
- ALMEIDA, I.R.; ANTUNES, L.E.C. Necessidades climáticas e influência do clima sobre adaptação, produção e qualidade. In: Antunes, L.E.C.; HOFFMANN, A. Pequenas frutas: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa, 2012. 194 p.
- ASANO, S.; OKUNO, T. (1990). Period of breaking the rest and the quantity of chilling requirement of 'Kosui' and 'Hosui' Japanese pear. *Bulletin of Saitama Horticultural Experimental Station*, 17, 41-47.
- CAMPOY, J. A.; RUIZ, D., EGEA, J. (2011). Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Scientia Horticulturae*, 130(2), 357-372.
- CHMURA, D. J.; ANDERSON, P. D.; HOWE, G. T.; HARRINGTON, C. A.; HALOFSKY, J. E.; PETERSON, D. L. (2011). Forest responses to climate change in the northwestern United States: Ecophysiological foundations for adaptive management. *Forest Ecology and Management*, 261(7), 1121-1142.
- CASTRO, B.; MARODIN, G.A.B.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; JUNIOR, A.T.; FERREIRA, P.H.G. Floração, polinização e indução a partenocarpia em pereiras. In: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DA PEREIRA, 4., 2012. Lages, SC. Anais... Lages: CAV, UDESC, 2012, p.66 – 87.
- CHOUARD, P. (1960). Vernalization and its relations to dormancy. *Annual Review of Plant Physiology*, 11(1), 191-238.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Trade. Crops Primary – Pears. Disponível em <http://faostat.fao.org/>. Acessado em: 8 de junho de 2012.
- FACHINELLO, J.C.; PASA, M. S.; SCHIMTZ, J. D.; BETEMPS, D. L.; Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, p.109-120, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v33nspe1/a14v33nspe1.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2013. doi: 10.1590/S0100-29452011000500014

- HERTER, F.G.; VERÍSSIMO, V.; CAMELATTO, D.; GARDIN, J.P.; TREVISAN, R. (2001). Abortamento de gemas florais de pereira no Brasil. In: EPAGRI (ed.). Seminário sobre fruticultura de clima temperado. Florianópolis, p. 106-114.
- HERTER, F.G.; CAMELATTO, D.; TREVISAN, R.; VERÍSSIMO, V.; GARDIN, J.P. (2002). The effects of spur pruning and defoliation in the autumn on the flower bud abortion of pear tree cv. Nijisseiki in Pelotas, RS, Brazil. *Acta Horticulturae*, 587, 369-373.
- HONTY, K., SÁRDI, É, STEFANOVITS-BÁNYAI, É.; TÓTH, M. (2008) Frost induced changes in enzyme activities and carbohydrate content in the spurs of some pear cultivars during the dormancy. *International Journal of Horticultural Science*, 14 (1–2), 41–44.
- HORVATH, D., CHAO, W., SUTTLE, J., THIMMAPURAM, J.,; ANDERSON, J. (2008). Transcriptome analysis identifies novel responses and potential regulatory genes involved in seasonal dormancy transitions of leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). *BMC Genomics*, 9(1), 536.
- HUSSAIN, S.S.; ALI, M.; AHMAD, M. SIDDIQUE, K.H.M. (2011). Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology Advances*, 29, 300–311.
- IBANEZ, C., RAMOS, A., ACEBO, P., CONTRERAS, A., CASADO, R., ALLONA, I., ET AL. (2008). Overall alteration of circadian clock gene expression in the chestnut cold response. *PLoS One*, 3(10), 29.
- JIMÉNEZ, S., REIGHARD, G.,; BIELENBERG, D. (2010). Gene expression of DAM5 and DAM6 is suppressed by chilling temperatures and inversely correlated with bud break rate. *Plant Molecular Biology*, 73(1), 157-167.
- LEIDA, C., TEROL, J., MARTÍ, G., AGUSTÍ, M., LLÁCER, G., BADENES, M. L., ET AL. (2010). Identification of genes associated with bud dormancy release in *Prunus persica* by suppression subtractive hybridization. *Tree Physiology*, 30(5), 655-666.
- LI, Z., REIGHARD, G. L., ABBOTT, A. G., BIELENBERG, D. G. (2009). Dormancy-associated MADS genes from the EVG locus of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] have distinct seasonal and photoperiodic expression patterns. *Journal of Experimental Botany*, 60(12), 3521-3530.

MARAFON, A.C.; CITADIN, I.; AMARANTE, L.; HERTER, F.G., & HAWERROTH, F.J. (2011). Chilling privation during dormancy period and carbohydrate mobilization in Japanese pear trees. *Scientia Agricola*, 68(4), 462-468.

MARAFON, A.C.; HERTER, H.G.; HAWERROTH, F.J.; SILVA, A.S. (2010). Occurrence time and intensity of flower bud necrosis and inflorescence duplication in pear trees 'Housui' (*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nakai) during dormancy period in Pelotas - RS, Brazil. *Acta Horticulturae*, 872, 97-100.

NAKASU, B.H., FAORO, I.D. (2003). Cultivares. In: NAKASU, B.H.; QUEZADA, A.C.; HERTER, F.G. (ed.). *Pera. Produção*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 29-36.

PENFIELD, S. (2008). Temperature perception and signal transduction in plants. *New Phytologist*, 179(3), 615-628.

CAPÍTULO I

Atividade da enzima catalase durante a fase de repouso hibernar em pereiras cultivadas na região Sul do Brasil

1. Introdução

Os maiores produtores mundiais de pera são a China 17300751 ton.ano⁻¹, Estados Unidos 795557 tonano⁻¹. O Brasil está em 46º no ranking mundial, sendo a fruta que o país mais importa, apresentando grande demanda e pouca oferta no mercado nacional (OLIVEIRA et al., 2017).

Existem vários fatores que contribuem para a baixa produção de peras no Brasil, destacando a falta de cultivares bem adaptadas às condições climáticas, acúmulo insuficiente de frio durante o período de repouso hibernar (FAORO; ORTH, 2010). O acúmulo de frio insuficiente é devido à cultura não ficar exposta por um tempo suficiente a temperaturas abaixo de 7,2 °C conforme o requerimento de cada cultivar (OLIVEIRA et al., 2017). A produção de peras no Brasil é predominante justamente nos estados do Sul, região onde ocorre maior período de frio hibernar, onde os maiores produtores são Rio Grande do Sul com 10926 ton.ano⁻¹, Santa Catarina 5427 ton.ano⁻¹ e Paraná 1899 ton.ano⁻¹ (IBGE, 2016; OLIVEIRA et al., 2017).

O período de repouso hibernar que as frutíferas de clima temperado requerem é conhecido como dormência (HAWERROTH et al., 2010). Esse mecanismo é resultante da interação entre fatores ambientais e o metabolismo da planta, sendo esse fenômeno uma fase de desenvolvimento de ocorrência anual (HAWERROTH et al., 2010). A dormência pode ser dividida em três fases, paradormência (inibição correlativa), endodormência e ecodormência (LANG et al., 1987; HAWERROTH et al., 2010).

A evolução das fases da dormência durante o período de repouso hibernar pode ser avaliada de várias maneiras, uma técnica bastante usual em nível de pesquisa é o acompanhamento por meio do metabolismo de carboidratos (CARVALHO; ZANETTE, 2004). O do metabolismo de carboidratos não estruturais durante o período da dormência pode indicar de maneira indireta sua evolução, pois estes estão diretamente ligados a processos fisiológicos que indicam a saída da dormência (CARVALHO;

ZANETTE, 2004). Outra maneira de analisar a evolução da dormência durante o período de repouso hibernar é por meio de estudos da atividade de enzimas, método que mostrou-se eficiente em estudos conduzidos por Wegrzyn et al. (2000) com macieiras e CITADIN et al. (2009) em noqueiras.

A relevância de saber identificar a exigência em frio de uma cultivar e do frio disponível em cada região tem aumentado frente aos cenários futuros de mudança climática global. Quando o frio é insuficiente pode causar a má brotação das gemas, comprometendo 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).

Ao decorrer do processo de dormência as gemas baixam seus teores de água e concentram solutos como açúcares, sais e proteínas para diminuir a formação de cristais de gelo e reduzir seu potencial hídrico evitando assim, danos causados pela perda de água para o apoplasto (KASUGA et al., 2007).

Os processos 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).

O último momento da dormência é chamado de ecodormência, quando a gema apresenta aumento da capacidade de brotação, no entanto as condições ambientais desfavoráveis, tais 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).

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

Quando ocorre insuficiência de horas de frio, pode ser inviável o cultivo de espécies de clima temperado, porque o baixo índice e a heterogeneidade da brotação das gemas diminuem a produtividade e a qualidade dos frutos (FAUST et al., 1997; ATKINSON et al., 2013; JONES et al., 2013).

Nir et al. (1986) e Ozden et al. (2009) avaliaram a dinâmica da catalase em videira e seu efeito na dormência de gemas, onde 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 por Bartolini et al., 2006 e Viti et al., 2012.

Em gemas dormentes de plantas lenhosas são encontrados compostos fenólicos como naringenina, floridzina, ácido cafeico e quercitrina que raramente estão livres nas células, visto que encontram-se ligados a glicosídeos. Dentre estes compostos, a maioria possui atividade biológica conhecida como estrutural, e de defesa contra estresse oxidativo, também pode promover proteção contra patógenos e fitoalexinas (VAUGHN; DUKE, 1984; CODIGNOLA et al., 1988; ZAHRA et al., 2009).

Situações de estresse, como baixas temperaturas, que diminuem a atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD), (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).

Diante do exposto, acredita-se que ao analisar a atividade enzimática em gemas de pereira durante o período do repouso hibernar, permitirá compreender a dinâmica da dormência em diferentes cultivares de pereira de interesse comercial, visando a adaptação da cultura em condições de inverno ameno. Com base nessas informações o presente estudo teve o propósito de estudar a enzima Catalase (CAT- EC 1.11.1.6) e relacionar seu comportamento com a dinâmica de três cultivares de pereira cultivadas na região de Pelotas,RS.

2. Material e métodos

O experimento foi conduzido no período de maio a setembro/2017 em intervalos de aproximadamente 30 dias, com segmentos de ramos contendo de duas a quatro gemas provenientes de plantas adultas de três cultivares, sendo duas do grupo das pereiras japonesas (*Pyrus pyrifolia*) Shinseiki, Século XX e uma do grupo das europeias (*Pyrus communis*) Santa Maria cultivadas no pomar do Centro Agropecuário da Palma, da Universidade Federal de Pelotas (UFPel (31°48' latitude S; 52°30' longitude O; 13 m altitude). O pomar não irrigado, implantado em 2001, com espaçamento de 3,0 m entre linhas e 2,0 m entre plantas, foi mantido sob manejo e tratos culturais tradicionais recomendados para a cultura.

As coletas foram realizadas em gemas floríferas. Para tanto, em três plantas selecionadas aleatoriamente das três cultivares foram realizadas coletas a cada mês (cinco coletas), desde a senescência das folhas até a brotação.

Os dados meteorológicos foram obtidos a partir da Estação Agroclimatológica do Capão do Leão, RS (Embrapa/ETB - Campus da UFPel), com o qual foi possível determinar o acúmulo de horas de frio de acordo com as Figuras de 1 a 5.

A determinação da atividade de enzimas de sistemas antioxidantes vegetais (Wang & Faust, 1994) foi realizada para verificar se e de que forma as mesmas são afetadas pelas condições de inverno ameno, durante os processos de indução e superação da dormência, em pereira.

Foram coletadas duas gemas por planta, em 15 plantas, no período de maio a setembro (cinco coletas). As gemas imediatamente após serem coletadas ficaram acondicionadas em nitrogênio líquido e mantidas em ultrafreezer a aproximadamente -86 °C até o momento da realização das extrações e quantificações das atividades enzimáticas.

2.1. Análise estatística

Para a avaliação das atividades enzimáticas: delineamento em blocos ao acaso, com três repetições, sendo os indivíduos das cultivares, as unidades experimentais.

Os dados serão submetidos a análise de variância, comparando-se as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

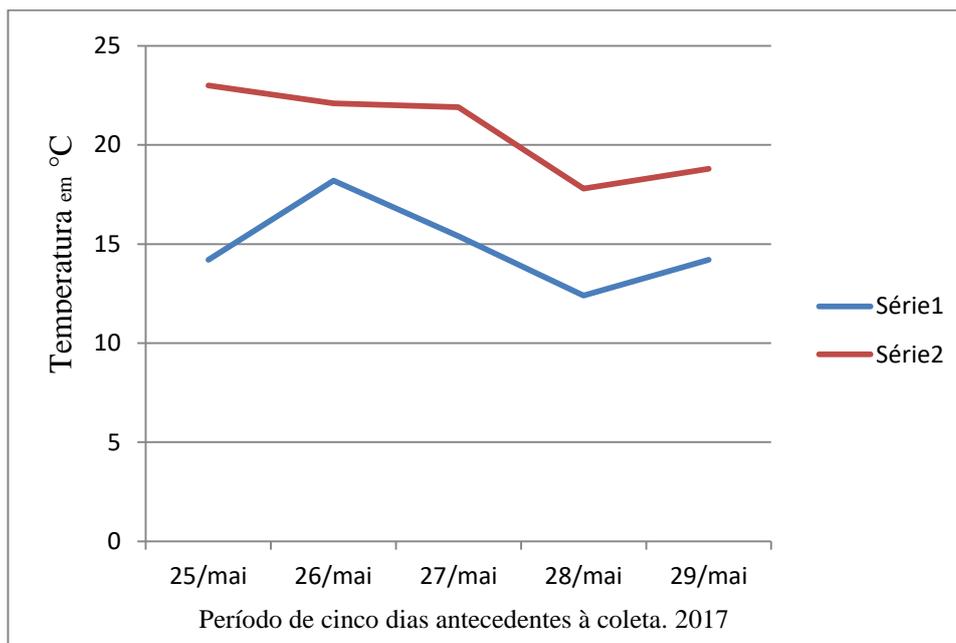


Figura 1. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 25 a 31 de maio de 2017.

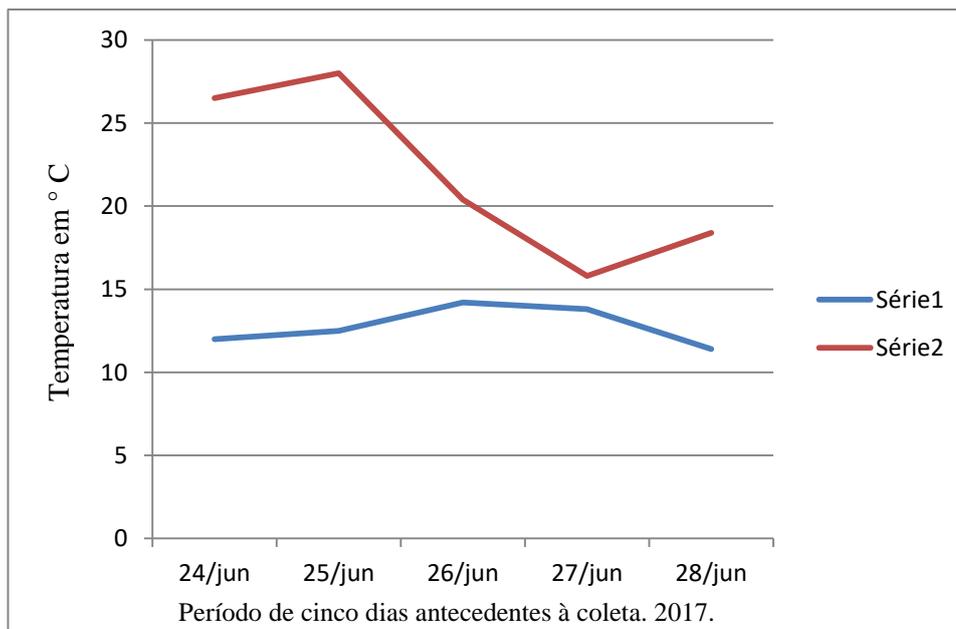


Figura 2. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 24 a 30 de junho de 2017.

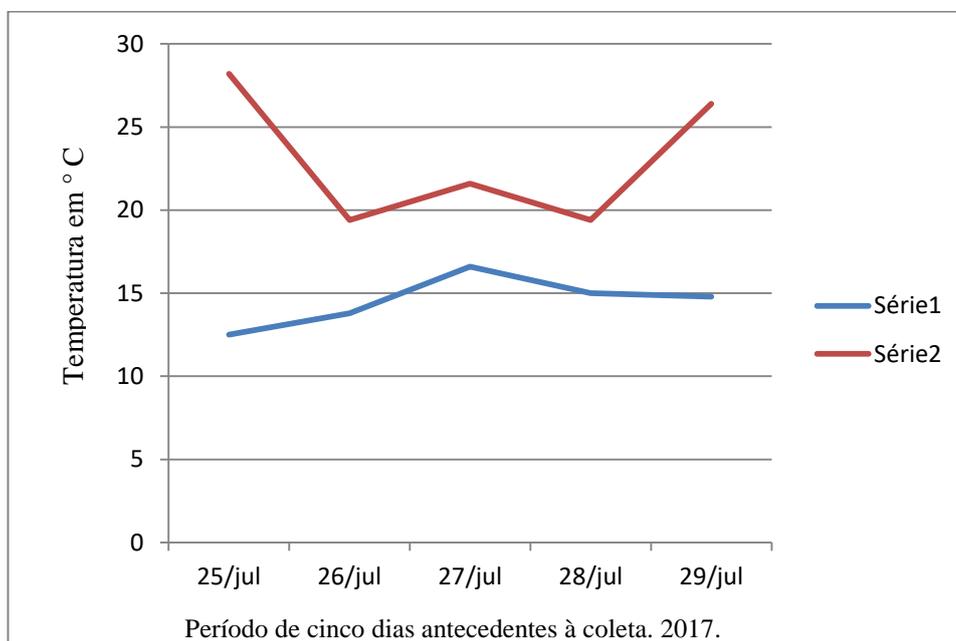


Figura 3. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 25 a 31 de julho de 2017.

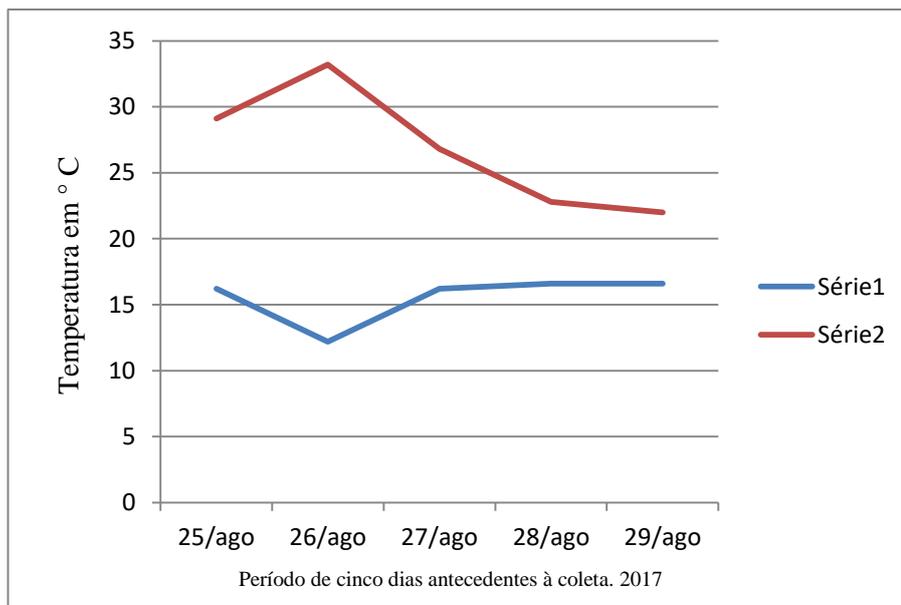


Figura 4. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 25 a 31 de agosto de 2017.

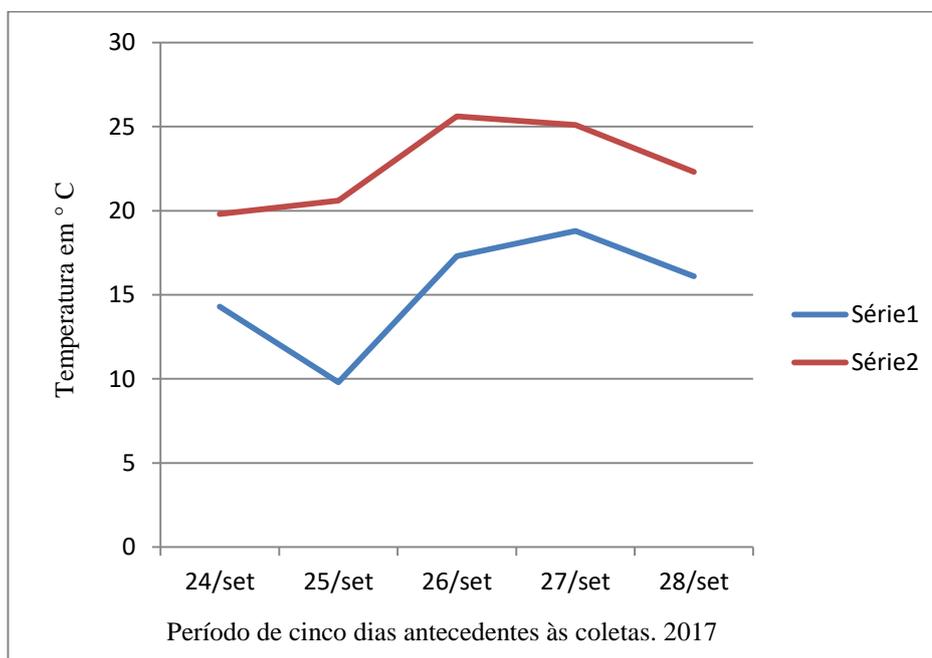


Figura 5. Temperaturas mínimas e máximas coletadas na estação experimental Terras Baixas EMBRAPA, no período de 24 a 30 de setembro de 2017.

Logo após a coleta das gemas , estas foram acondicionadas em garrafas térmicas contendo nitrogênio líquido e imediatamente levadas para o Laboratório de Fisiologia de Plantas Frutíferas no prédio Fachinello, onde foram mantidas em uma temperatura de aproximadamente -80°C até o momento da realização da análise da atividade enzimática (extrações e quantificação), que foi realizada no Laboratório de Bioquímica da UFPel.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com três cultivares (Shinseiki, Século XX e Santa Maria) e cinco épocas de coleta (maio, junho, julho, agosto e setembro) , com três repetições e quinze gemas por parcela.

Para a obtenção dos extratos enzimáticos, foram macerados 0,13 g das gemas de cada cultivar em almofariz com nitrogênio líquido (anexo E). 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) a aproximadamente 4°C , contendo 0,1 mM EDTA e 1% (p/p) de PVP (polivinilpirrolidona). A solução foi transferida para Ependorf de 2 mL e mantida em caixas de isopor com gelo em escamas até a centrifugação (anexo E). O homogenato foi centrifugado a 5.000 rpm durante 30 minutos a 4°C , sendo o sobrenadante obtido, coletado e considerado como extrato enzimático, o qual foi armazenado em freezer a -20°C para posterior determinação da atividade enzimática conforme metodologia de KAR; MISHRA, 1976.

Os dados foram submetidos à análise da variância pelo teste F e, quando significativos, submetidos à comparação entre médias, pelo teste de Duncan, a 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o WinStat, versão 2.0 (Machado & Conceição, 2003).

Avaliou-se a atividade da seguinte enzima: Catalase (CAT- EC 1.11.1.6).

3. Resultados

Na Tabela1, são apresentados os resultados da atividade enzimática da Catalase para cada uma das três cultivares, correspondente a cada uma das datas de coleta. Foi feita a análise da atividade da enzima Catalase nas gemas das plantas de pereira.

Tabela 1. Atividade enzimática da catalase em gemas de três cultivares de pereiras Santa Maria, Século XX e Shinseiki durante o período de avaliação de maio a setembro de 2017. Pelotas, 2019.

µmol H ₂ O ₂ oxid/gMF/min										
Cultivar	Maio		Junho		Julho		Agosto		Setembro	
Santa Maria	0,08	Ac	0,27	Aa	0,06	± Bc	0,15	± Abc	0,21	Aab
Século XX	0,01		0,08		0,01		0,01		0,05	
	0,28	Aa	0,26	Aa	0,25	± Aa	0,15	± Aa	0,29	Aa
	0,16		0,06		0,12		0,11		0,04	
Shinseiki	0,13	Aa	0,06	Ba	0,10	± ABa	0,15	± Aa	0,07	Ba
	0,03		0,03		0,06		0,06		0,06	

Letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre as cultivares numa mesma data de coleta, letras minúsculas na linha indicam diferença significativa entre as diferentes datas de coleta numa mesma cultivar.

Letras minúsculas distintas na coluna e maiúsculas na linha, para cada variável, diferem entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de significância. A atividade da enzima Catalase na cultivar Santa Maria apresentou um aumento em sua atividade, onde inicia em maio, com maior atividade até meados de junho, na sequência, entretanto esse comportamento muda e sofre uma queda abrupta até onde se observa sua mais baixa atividade no final da segunda quinzena de julho. Logo após, o comportamento da enzima mostra sua atividade aumentando novamente até fim do mês de setembro (Figura 6).

Porém na cultivar Século XX, a atividade da enzima Catalase foi distinta, pois, nota-se uma descendência que se inicia no mês de maio quando no mês de julho ocorre uma queda mais acentuada indo até meados do mês de agosto. Logo após o declínio, a atividade aumenta significativamente até o fim do mês decorrente.

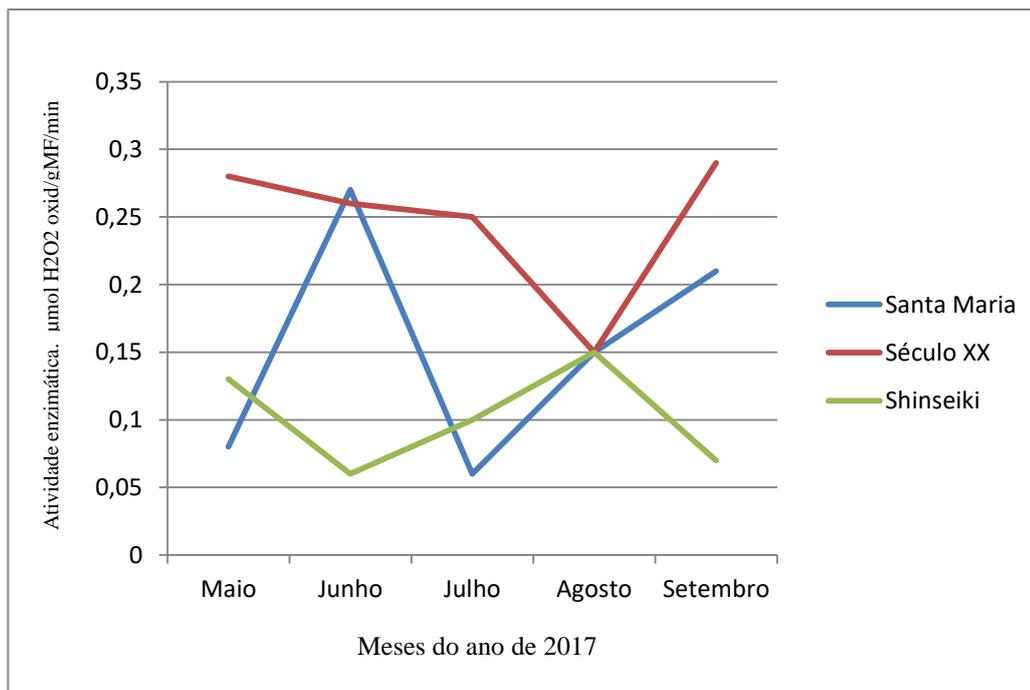


Figura 6. Atividade enzimática da catalase em gemas de três cultivares de pereiras Santa Maria, Século XX e Shinseiki durante o período de avaliação de maio a setembro de 2017. Pelotas, 2019.

A cultivar Shinseiki foi, dentre as cultivares analisadas, a que apresentou a atividade da enzima Catalase mais baixa, e mostrando menor atividade no mês junho, depois mês de, e no mês de julho aumentando a atividade até chegar ao seu máximo valor em agosto, seguindo com uma queda até o fim do mês de setembro.

Nas Figuras 7 e 8 são apresentados os resultados da variabilidade da temperatura mínima e máxima e o total de precipitação acumulada no período de cinco dias antecedentes a data de coleta.

Em relação às temperaturas máximas, observou-se no mês de maio uma temperatura média de 21°C, e em seguida, um aumento constante até atingir seu pico nos dias entre 24 e 28 de agosto com temperaturas que atingiram até 33,2°C. Em seguida foi evidenciada a queda da temperatura máxima até o final de mês de setembro com 22,68°C (Tabela 2).

Tratando-se das temperaturas mínimas, observou-se no mês de maio valores em torno dos 15°C, logo após, no mês seguinte, uma leve queda que

ficou em torno dos 13°C. Em julho a temperatura média mínima ficou em 14,58°C. No mês de agosto também não alterou muito ficando em 15,56°C. E em setembro a temperatura mínima média foi de 15,26°C.

A precipitação acumulada durante o período de cinco dias antecedentes à data de coleta foi muito distinta para os diferentes momentos de retirada das gemas das plantas de pereira. No mês de maio a precipitação foi de 11,2 milímetros. Em junho, foi o mês que mais choveu, com acúmulo precipitado de 38,4. Nos meses seguintes observou-se 0,8 milímetros em julho, zero milímetros em agosto e 8,4 em setembro.

Tabela 2. Dados de temperatura média mínima e máxima, precipitação acumulada, e atividade da enzima Catalase.

	T.mín	T.máx	Precip.	SM	SXX	SK
24-28/05	14,8	20,72	11,2	0,08	0,28	0,13
26-30/06	12,8	21,8	38,4	0,27	0,26	0,06
24-28/07	14,5	23	0,8	0,06	0,25	0,1
24-28/08	15,5	26,8	0	0,15	0,15	0,15
23-27/09	15,3	22,68	8,4	0,21	0,29	0,07

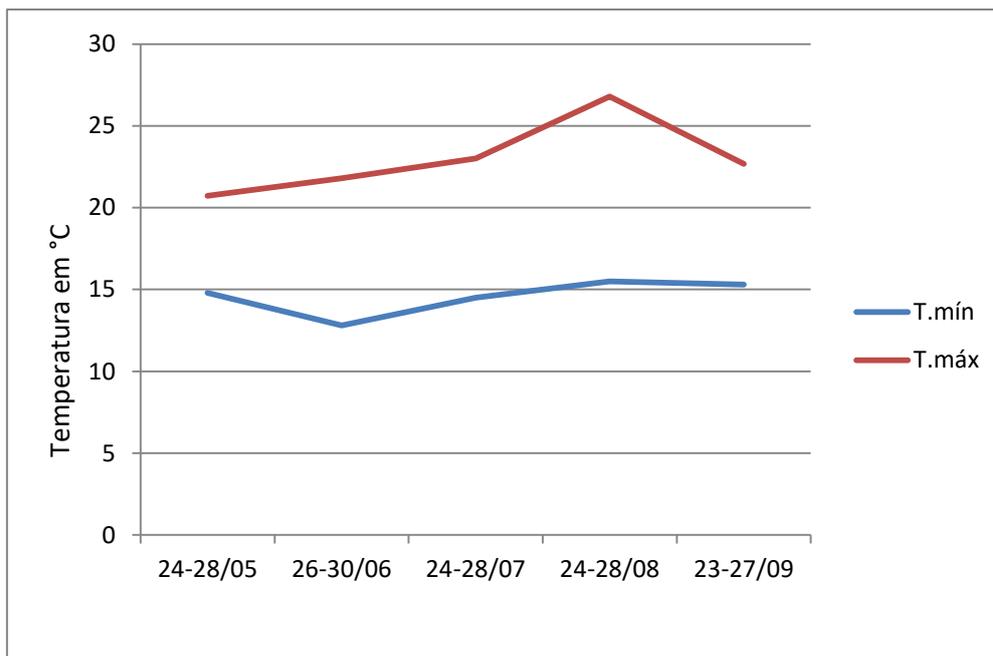


Figura 7. Temperatura média mínima e máxima durante o período de cinco dias antecedente à data de coleta.

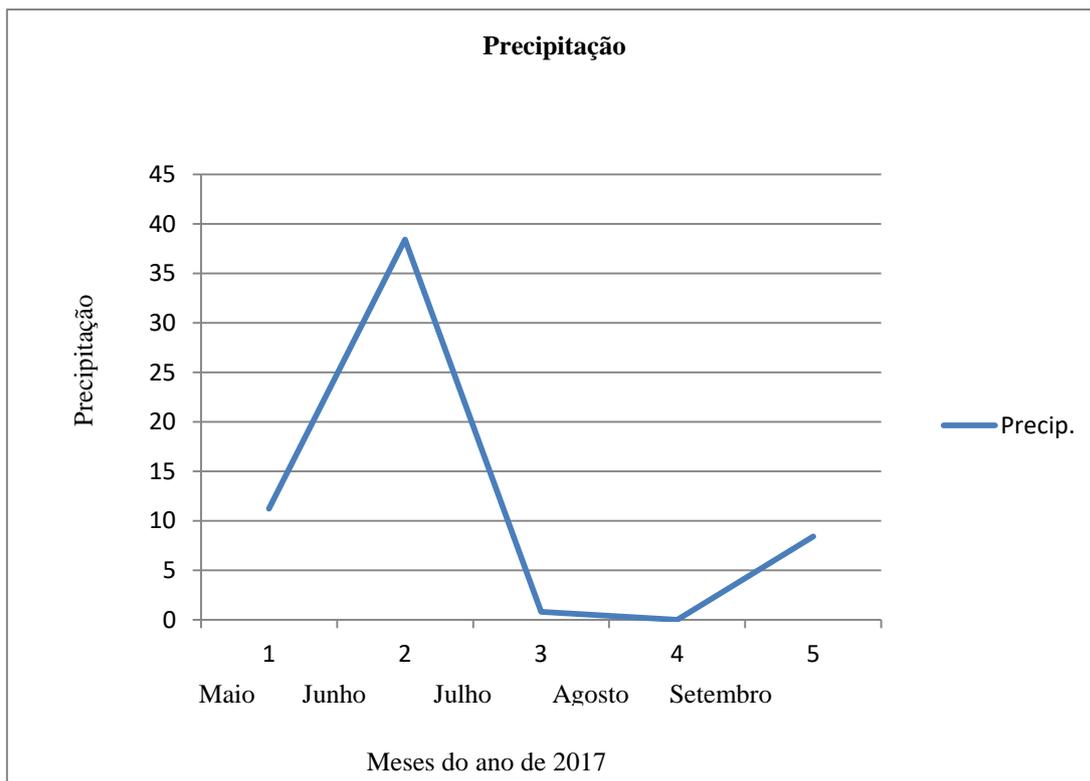


Figura 8. Precipitação acumulada durante o período de cinco dias antecedentes à data de coleta.

As Figuras 9, 10 e 11 apresentam a atividade da enzima Catalase nas cultivares de pereira Santa Maria, Século XX e Shinseiki.

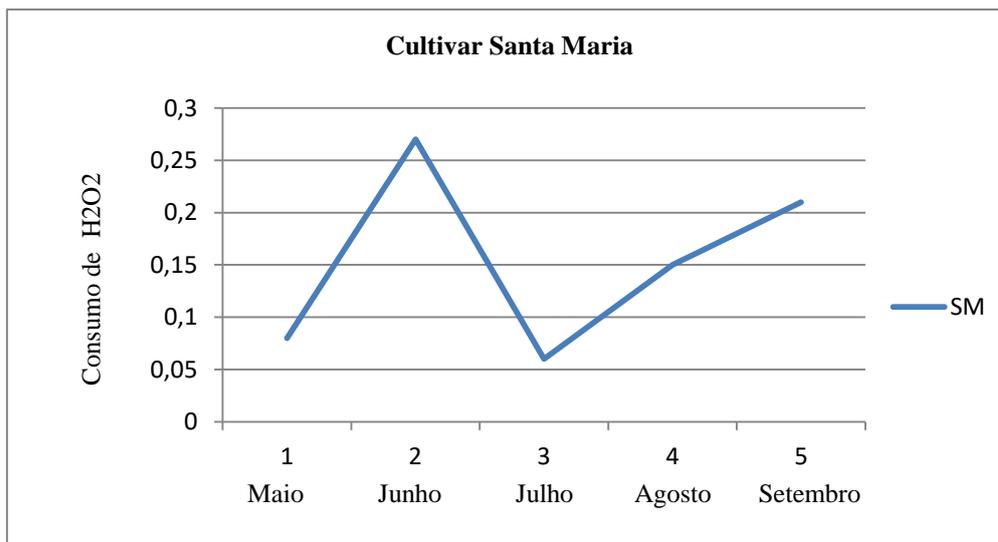


Figura 9. Atividade da enzima Catalase na cultivar europeia Santa Maria.

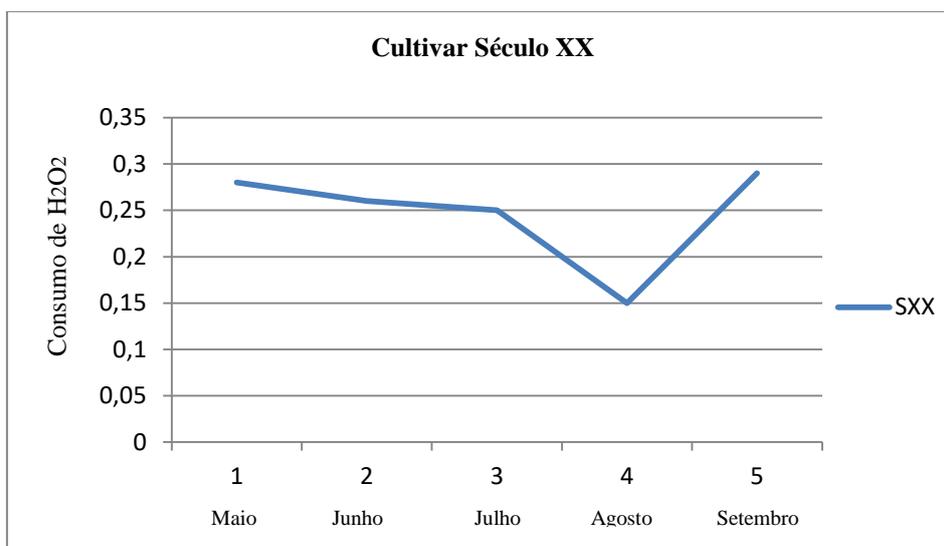


Figura 10. Atividade da enzima Catalase na cultivar asiática Século XX

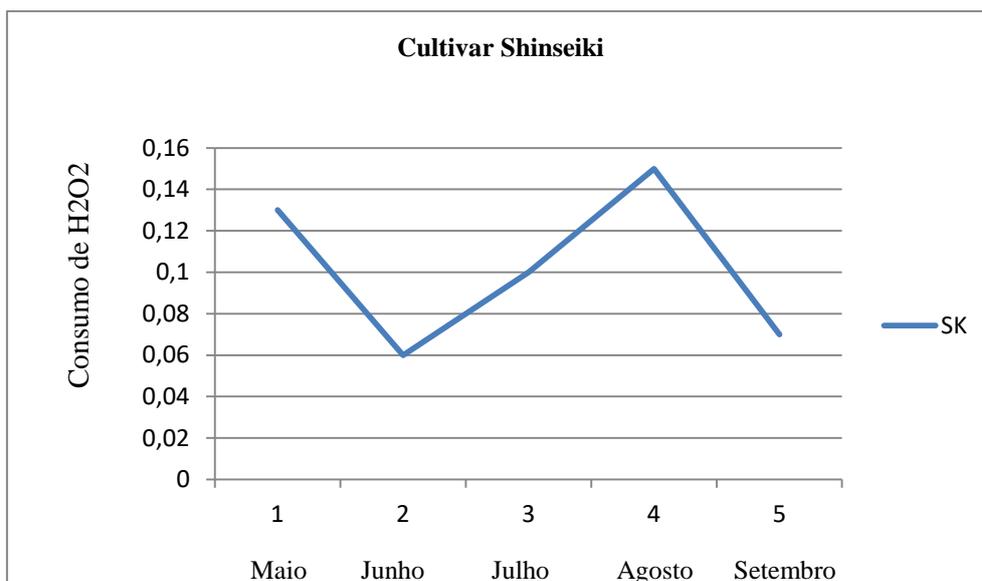


Figura 11. Atividade da enzima Catalase na cultivar asiática Shinseiki

4. Discussão

A atividade da Catalase apresenta dinâmica diferente para cada uma das cultivares como é apresentado na Figura 6, sendo que a cultivar Santa Maria foi a que apresentou a maior variação em relação ao consumo de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂), devido às oscilações de temperatura durante o período de coleta das gemas. A amplitude térmica foi um dos fatores que contribuíram para que a atividade enzimática nesta cultivar fosse elevada em determinados momentos.

Entretanto, na cultivar Século XX, a atividade da Catalase apresentou maior atividade devido à resposta em relação às temperaturas mínimas e produção de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂). Não obstante, quando a temperatura aumentou no mês de agosto a atividade enzimática foi a mais baixa.

A cultivar Shinseiki foi, dentre as cultivares estudadas, a que apresentou menor atividade durante o período de observações, como mostra a Figura 11. Um dos fatores que influenciaram em sua baixa atividade enzimática foi a

temperatura mínima. A atividade da Catalase apresentou relação com a temperatura como mostram as Figuras 6 e 7.

De acordo com a Tabela 3, as correlações com interação mais significativas são observadas na cultivar Século XX, onde a variável amplitude térmica e temperatura máxima foram a de maior relevância em relação à atividade da enzima Catalase.

Tabela 3- Quadro de análise (correlação de Pearson)

	Santa Maria	Século XX	Shinseiki
Temperatura média	-0,128560612 ^{ns}	-0,574154854 ^{**}	0,592161891 ^{**}
Temperatura mínima	-0,663240013 ^{**}	-0,115682579 ^{ns}	0,615118196 ^{**}
Temperatura máxima	0,255383505 ^{ns}	-0,796007437 ^{***}	0,32198029 [*]
Precipitação	-0,213611722 ^{ns}	0,494098092 [*]	0,162531246 ^{ns}
Evaporação	0,621969021 ^{**}	-0,334872002 [*]	-0,219001045 ^{ns}
Radiação solar	0,545193166 ^{**}	-0,413135347 [*]	-0,093487162 ^{ns}
Amplitude térmica	0,583093113 ^{**}	-0,723551352 ^{***}	0,007877875 ^{ns}
Horas de frio	-0,37566921 [*]	-0,316128589 [*]	0,04202259 ^{ns}

ns – interação não significativa

*- interação fraca

** - interação significativa moderada

*** - interação significativa forte

Entretanto, na cultivar Shinseiki, a variável que se mostrou mais significativa, com interação moderada, foi a temperatura mínima.

Para a cultivar Santa Maria as variáveis que interferiram de maneira moderada foram: temperatura mínima, evaporação, radiação solar e amplitude térmica.

Existe claramente influência do fator genético na atividade da Catalase entre as cultivares testadas, sendo que só na cultivar europeia 'Santa Maria' existiram diferenças significativas entre as datas de avaliação para esse parâmetro. Nesta cultivar, observa-se certa relação da atividade enzimática com o comportamento das temperaturas, assim no mês de Julho, a combinação de temperaturas mínimas baixas e o maior acúmulo destas em comparação aos outros meses, ocasionou menor produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) evidenciado pela baixa atividade da Catalase.

Sabe-se que a produção de (H₂O₂) nas células de órgãos não fotossintéticos, como é o caso das gemas, está diretamente relacionado com a respiração celular na mitocôndria (ČERNÝ et al., 2018) e que durante a dormência profunda a taxa de respiração celular é de baixa a nula (MCPHERSON et al., 1997), sendo esta, reativada pela ação de hormônios indutores de crescimento, desencadeando processos metabólicos que culminam no crescimento ativo, na brotação (VOXEUR; HÖFTE, 2016; MANGANO et al, 2017). Assim, podemos deduzir que nos momentos de baixa atividade da Catalase as gemas encontravam-se em repouso ou dormentes.

Por outro lado, Heide e Prestrud (2004) perceberam que temperaturas inferiores a 12°C permitiram o ingresso de gemas de *Pyrus communis* ao estado de dormência profunda. Porém nas nossas condições experimentais normalmente há flutuação constante nas temperaturas, fazendo com que as gemas das plantas avaliadas não entrassem em dormência profunda, fato evidenciado pela presença de brotos verdes durante o inverno. Além disso, o abortamento floral tem sido reportado por diversos autores (HERTER et al., 1994; DE ARRUDA; CAMELATO, 1999; TREVISAN, 2005) no RS, confirmando a incapacidade destas cultivares de permanecerem em estado dormente sob condições de inverno ameno, num lugar de transição climática.

Como mencionado anteriormente, o comportamento do nível de atividade enzimática da Catalase foi diferente para cada cultivar, isto devido às enzimas estarem governadas por genes (ERSHADI et al., 2016), que

determinam a intensidade de dormência de cada cultivar. Desta maneira, foi observado que a susceptibilidade às mudanças de temperatura para cada cultivar, foi maior naquelas com menor requerimento de horas de frio. Neste sentido, a ‘Santa Maria’, devido ao seu menor requerimento (500 hf aprox.) (PASA et al., 2015) foi a mais susceptível, seguido pela ‘Shinseiki’ com 550 hf (FAORO, 2001) e por último a ‘Século XX’ que, com requerimento de frio de 800 horas (TAMURA et al., 1992), permaneceu com maior atividade enzimática durante todo o período de avaliação.

Contudo, podemos sugerir a taxa de atividade da Catalase como um indicador indireto da capacidade da cultivar para entrar em estadio dormente sob influência das baixas temperaturas.

5. Conclusões

A partir da dinâmica da determinação da Catalase é possível concluir que cada uma das três cultivares apresenta um padrão enzimático diferente durante a fase de repouso hiberna, indicando que tanto o caráter genético como ambiental tem importante influência na adaptação de cada uma delas.

No final da fase de repouso, em setembro, a atividade da Catalase discrimina claramente cada uma das cultivares a capacidade para a brotação. No caso da cultivar Século XX por tratar-se de uma cultivar do tipo Spur a partir do padrão enzimático, é a que tem melhores condições para brotar na região onde foi desenvolvido o experimento.

6. Referências bibliográficas

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.

BECKER, W. F. Doenças da pereira japonesa. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 7., 2004, Fraiburgo. Anais... p. 31-39.

CAMPO-DALL'ORTO, F. A. et al. Variedades de pêra para o estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônomo, 1996. 34 p. (Boletim Técnico, 164)

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.

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.3, p.202-205, 2004.

ČERNÝ, M. ;. HABÁNOVÁ, H.; BERKA, E. ; LUKLOVÁ, M.; BRZOBOHATÝ, B. ; Hydrogen Peroxide: Its Role in Plant Biology and Crosstalk with Signalling Networks. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 9, p. 2812, 2018.

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

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.

COOKE, J. E. K.; ERIKSSON, M. E.; JUNTILLA, 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.

DE ARRUDA, J. J. P. ; CAMELATTO, D. ;. Abortamento de gemas florais de cinco cultivares de pereira (*Pyrus* spp., L.) em dois locais do Rio Grande do Sul, Brasil Flower bud abortion in five pear cultivars (*Pyrus* spp., L.), in two localities of Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, n. 4, p. 635-638, 1999.

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.

ERSHADI, A. ; KARIMI, R. ; MAHDEI. K. R. ;Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12 grapevine cultivars. **Acta physiologiae plantarum**, v. 38, n. 1, p. 2, 2016.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT: statistics database. Disponível em: <<http://apps.fao.org/>>. Acesso em: 9 jan. 2019.

FAORO, I. D. Morfologia e fisiologia. In: EPAGRI. Nashi: a pêra japonesa. Florianópolis: **Epagri**. 2001, v.1, p.67-94.

FAORO, I. D.; ORTH, A. I. Qualidade de frutos da pereira-sakura colhidos em duas regiões de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura** , Jaboticabal, v.32, n.1, p.308-315, 2010

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

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.

HAWERROTH, F. J.; HERTER, F. G.; PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; PEREIRA, J. F. M. Dormência em frutíferas de clima temperado. Documento 310, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, p.1-57, 2010.

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**, 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.

HERTER, F. G.; RASEIRA, M. C. B.; NAKASU, B. H. Época de abortamento de gemas florais em pereira e sua relação com temperatura ambiente, em Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 16, n. 1, 1994.

INGELS, C. A.; BURKHART, D. J.; ELKINS, R. B. Propagation and rootstock selection. In: MITCHAM, E. J.; ELKINS, R. B. Pear Production and Handling

Manual. University of California. Agriculture and Natural Resources. n. 3483, v 1, p. 25-31, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Lavouras permanentes**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2013/default_perm_ods.shtm>. Acesso em: 13 dez. 2016.

JONES, H. G.; HILLIS, R. M.; GORDON, S. L.; BRENNAN, R. M. An approach to the determination of winter chill requirements for different *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.

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 H₂O₂ 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.

LANG, G. A.; EARLY, J. A.; MARTIN, G. C.; DARNELL, R. L. Endo-, para-, ecodormancy: Physiological terminology and classification for dormancy research. **HortScience**, Alexandria, v.22, n.3, p. 371-377, 1987.

MCPHERSON, H. G. et al. Bud respiration and dormancy of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). **Annals of Botany**, v. 80, n. 4, p. 411-418, 1997.

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.

MAEDA, J. A.; BARBOSA, W.; LAGO, A. A.; MEDINA, P. F.; DALL'ORTO, F. A. C.; OJIMA M. Métodos para superar a dormência e germinação de sementes da pereira porta-enxerto Taiwan Nashi-C. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 19, n. 2, p. 270-274, 1997.

MANGANO, S.; DENITA-JUAREZ, S. P.; CHOI, H. S.; MARZOL, E.; HWANG, Y.; NADRA, A. D.; DUNAND, C.; CHO, H. T.; ESTEVEZ, J. M.

Molecular link between auxin and ROS-mediated polar growth. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 20, p. 5289-5294, 2017.

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.

MARAFON, A. C.; HERTER, H. G.; HAWERROTH, F. J.; SILVA, A.S. (2010). Occurrence time and intensity of flower bud necrosis and inflorescence duplication in pear trees 'Housui' (*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nakai) during dormancy period in Pelotas - RS, Brazil. **Acta Horticulturae**, 872, 97-100.

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

OLIVEIRA, I. V. M.; LOPES, P. R. C.; SILVA-MATOS, R. R. S.. Phenological characterization of pear trees (*Pyrus communis* L.) 'princesinha' under semiarid conditions in the northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 3, 2017.

PASA, M. S.; FACHINELLO, J. C.; ROSA JÚNIOR, H. F.; FRANCHESCHI, E.; SCHMITZ, J. D.; SOUZA, A. L. K. Performance of 'Rocha' and 'Santa Maria' pears as affected by planting density. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 2, p. 126-131, 2015.

PEREIRA, G. P.; CARVALHO, R. I. N .; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; Dinâmica da dormência de gemas de pessegueiro, ameixeira e caqui na Fazenda Rio Grande, PR. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** , Pernambuco, v. 7, suplemento, p. 820-825, 2012 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.

SIMONETTO, P. R.; GRELMANN, E. O. Comportamento de cultivares de pereira na região serrana do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: FEPAGRO, 1999. 28 p. (Boletim FEPAGRO, 9).

TAMURA, F.; TANABE, K.; BANNO, K. Effect of chilling treatment on intensity of bud dormancy, respiration and endogenous growth regulators in Japanese Pear 'Nijisseiki'. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 60, n. 4, p. 763-769, 1992.

TREVISAN, R. ; CHAVARRIA, G.; HERTER, F. G.; GONÇALVES, E. D.; RODRIGUES, A. C.; VERÍSSIMO, V.; PEREIRA, I. S. Raleio de gemas florais para a redução do abortamento em pereira (*Pyrus pyrifolia*) na região de

Pelotas-RS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 2, n. 3, p. 504-506, 2005.

VOXEUR, A.; HÖFTE, H. Cell wall integrity signaling in plants: "To grow or not to grow that's the question". **Glycobiology**, v. 26, n. 9, p. 950-960, 2016.

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.

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.

WEGRZYN, T.; REILLY, K.; MURPHY, P.; NEWCOMB, R.; GARDNER, R.; MACRAE, E. A novel alpha-amylase gene is transiently upregulated during low temperature exposure in apple fruit. **European Journal of Biochemistry**, Oxford, v.267, p.1313-1322, 2000.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente trabalho permitiu compreender que em condições de variabilidade no tempo, o ingresso das gemas ao estado de dormência varia com a cultivar, constituindo informação importante para a tomada de decisões na seleção das cultivares.

Os valores elevados de desvio padrão em alguns dados sugerem que a amostragem das gemas deva ser feita com maior seletividade, considerando o tamanho destas.

Sugere-se a análise de carboidratos e análise nutricional antes do repouso hibernar e ao início da brotação, a fim de identificar o consumo neste período.

Recomenda-se ainda, outros ensaios com as demais enzimas antioxidantes como a, Ascorbato Peroxidase (APX), e da Superóxido Oxidase (SOD), no intuito de conhecer melhor o comportamento destas enzimas com a perspectiva de mudanças climáticas.

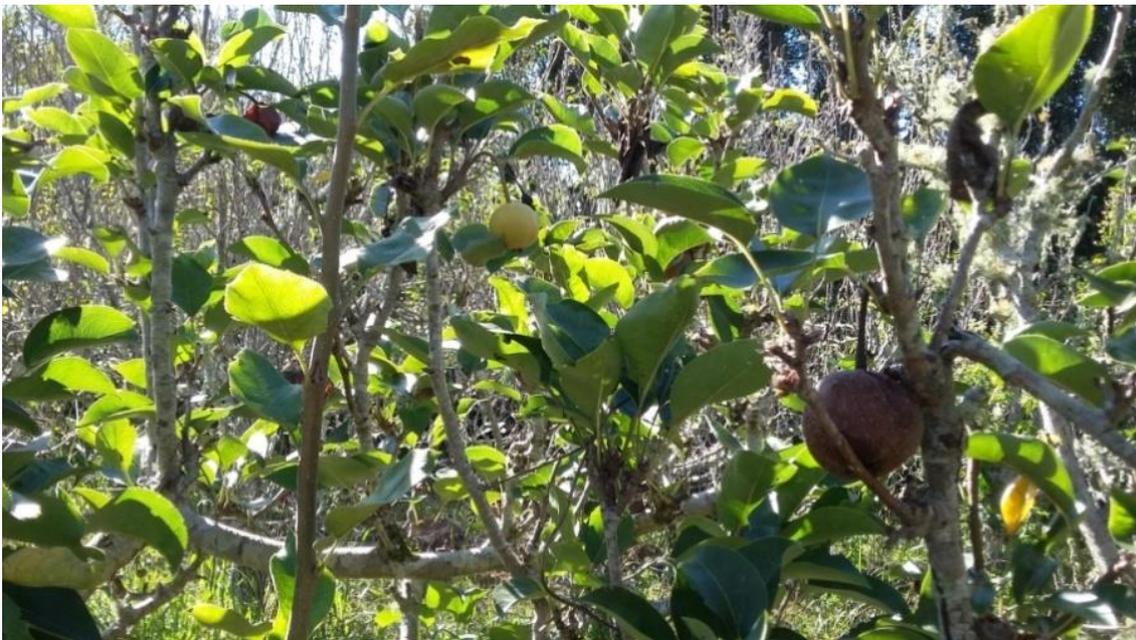
É de fundamental importância que trabalhos semelhantes sejam realizados em regiões onde a necessidade de horas de frio é contemplada.

Enfim, o trabalho cumpriu com o propósito de utilizar um protocolo onde foi possível extrair e quantificar a enzima Catalase em gemas de pereira em região de inverno ameno.

Anexos



Anexo A: Indivíduos da cultivar Santa Maria. Arquivo pessoal.



Anexo B. Indivíduos da cultivar Shinseiki. Arquivo pessoal.



Anexo C: Exemplos da cultivar Século XX. Arquivo pessoal.



Anexo D: Coleta das gemas. Garrafas térmicas com nitrogênio líquido. Arquivo pessoal



Anexo E: Maceração para obtenção do extrato enzimático. Arquivo pessoal.

Anexo F: Temperaturas máximas (Temp Máx), temperaturas mínimas diárias (Temp min) (oC), Horas de sol, Umidade Relativa (U.R.) média (%) e Precipitação (mm) durante o período de condução do experimento (20 de maio a 30 de setembro de 2017).

Data	T med	Tmin	Tmax	Precipitação	Evaporação	Radiação solar
25- maio	20,8	18,2	22,1	88,6	0,7	85
26- maio	17,3	15,4	21,9	15,4	0,6	85
27- maio	15,4	12,4	17,8	0	2	84
28- maio	(1) 17,4	16	18,8	2,6	0,1	84
29- maio	15,3	14,1	18	2,3	0,3	10
30- maio	14	12,2	18	0	1	121
31- maio	13,8	11	18,2	0	1,5	82
24 -junho	19,3	16,4	28,2	0	1,8	250
25- junho	17,4	11,2	28	0	2,7	258
26- junho	17,3	12	26,5	0	2,4	203
27- junho	19,3	12,5	28	0	3	247
28- junho	16,2	14,2	20,4	1,3	1,1	90
29- junho	15	13,8	15,8	33,3	2,3	78
30- junho	(2) 13,8	11,4	18,4	3,8	3,6	273
25- julho	16,7	13,8	19,4	0,3	0,4	90
26- julho	18,3	16,6	21,6	0	0,8	98
27- julho	16,1	15	19,4	0	1,2	141
28- julho	(3) 18	14,8	26,4	0	4,3	202
29- julho	18,4	12	27,2	0	2,2	200
30- julho	19,5	11,2	29,6	0	2,8	272
31- julho	17,3	14,6	22,4	0	1,6	135
25- agosto	21,6	12,2	33,2	0	6,3	365
26- agosto	20,4	16,2	26,8	0	3,5	309
27- agosto	18,6	16,6	22,8	0	2,3	208
28- agosto	(4) 19,1	16,6	22	0	1,6	215
29- agosto	20,6	17,4	25,6	0	2,2	170
30- agosto	15,2	11,6	23,4	0	3,7	240
31- agosto	14,7	10	19,4	0	4,4	370
24- setem	16,5	9,8	20,6	0,2	3,9	373
25- setem	20,7	17,3	25,6	0	4	351
26- setem	20,6	18,8	25,1	0	5,4	258
27- setem	(5) 17,8	16,1	22,3	18,4	1,9	146

28- setem	16,8	15	20,4	0,6	6,4	372
29- setem	16,8	14,4	19,6	1,6	0,4	148
30- setem	18,7	15,8	21,6	14,6	0,7	197

(1) Primeira, (2) segunda, (3) terceira, (4) quarta e (5) quinta data de coleta para análise

Estação Experimental Terras Baixas (ETB) - Capão do Leão

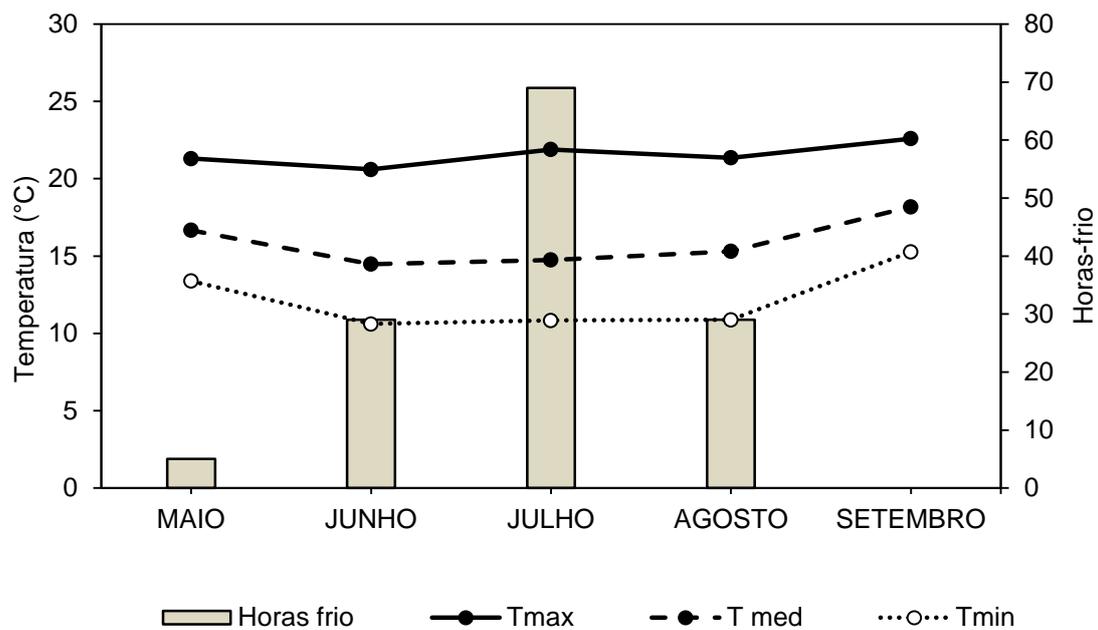
	Semana					Mês	Média histórica ⁽³⁾
	1	2	3	4	5		
Maio	0	5	0	0	0	5	22
Junho	0	0	4	25	0	29	82
Julho	17	0	52	0	0	69	120
Agosto	6	1	5	17	0	29	68
Setembro	0	0	0	0	0	0	29
	Acumulado no ano					132	321

⁽¹⁾ Período: 1984-2010

⁽²⁾ Período: 1954-2010

⁽³⁾ Período: 2006-2010

Anexo G: Horas de acúmulo de frio no ano de 2017



Anexo H: Temperaturas médias e horas de acúmulo de frio por mês no ano de 2017.