

A cura di:



Leonardo
Vanni ¹



Chiara
Sanmartin ¹



Claudio
D'Onofrio ¹



Fabio
Mencarelli ¹



Dario
Montagnani ²

INFLUENZA DELLA DEFOGLIAZIONE SULL'ACCUMULO DI QUERCETINA IN UVE SANGIOVESE

L'obiettivo di questa sperimentazione è stato quello di indagare se defogliazioni effettuate in momenti diversi possano avere un differente impatto sull'accumulo in quercetina-3-glucoside, responsabile di fenomeni di precipitazione in bottiglia in vini prodotti con uve Sangiovese

La quercetina è un flavonolo appartenente alla classe dei flavonoidi. Questa molecola negli ultimi anni ha creato problemi soprattutto in vini di pregio, in quanto può andare incontro a precipitazione in bottiglia anche dopo molto tempo dal momento dell'imbottigliamento, causando quindi danni economici consistenti per le aziende interessate dal problema. I vini prodotti da uve Sangiovese sono particolarmente ricchi in quercetina rispetto a vini ottenuti da altre varietà, rendendo tali vini più suscettibili a fenomeni di precipitazione in bottiglia (Marchi *et al.*, 2019). Una delle pratiche che favorisce un alto contenuto in quercetina nelle uve e nei vini da esse prodotte, è la defogliazione. Tale pratica di potatura verde, che consiste nell'asportare le foglie basali localizzate attorno alla zona dei grappoli ha molti benefici, quali una migliore aerazione della zona produttiva con conseguente minor rischio di malattie fungine e una migliore esposizione dei grappoli alla luce che favorisce la maturazione fenolica, allo stesso tempo, però, la defogliazione favorirebbe anche l'accumulo di quercetina-3-glucoside, la forma glicosilata della quercetina localizzata nei vacuoli delle

cellule bucce delle uve, in quanto la sua sintesi è favorita dalla radiazione luminosa (Downey *et al.*, 2004). Questa sperimentazione, svoltasi nel vigneto sperimentale di Colignola (PI) del DiSAAA-a, Università di Pisa, Pisa, nel 2020, ha avuto l'obiettivo di indagare se defogliazioni effettuate in momenti diversi della stagione potessero avere un impatto diversificato sull'accumulo in quercetina-3-glucoside.

Materiali e metodi

La prova è stata effettuata in un vigneto sperimentale di Sangiovese del Dipartimento di Scienze Agrarie e Agro-ambientali situato a Colignola (43°43'56.7"N 10°27'59.7"E). Il vigneto, al primo anno di produzione, si trova in una zona pianeggiante e le file sono orientate in direzione nord-est/sud-ovest sud-ovest, è allevato a Guyot. Il filare preso in considerazione presentava piante con espressione vegetativa contenuta ed eterogenea. Il filare è stato diviso in nove blocchi, ad ogni blocco è stata assegnata una tesi scelta tra controllo (CTRL), defogliazione post-allegagione (SPA), defogliazione ad invaiatura (SI) in maniera da compensare l'eterogeneità di espressione vegetativa

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentarie Agro-ambientali, Università di Pisa

²Enologo

Tab. 1 - Andamento dei parametri Brix°, pH, acidità titolabile (AT), diametro e peso degli acini. I dati sono la media di misurazioni effettuate su campioni di 20 acini ± la deviazione standard. Lettere differenti in ogni colonna indicano una significativa differenza per p < 0.05; dove non riportate non vi è differenza statistica

| | CTRL | | | SPA | | | SI | | |
|---------------------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| | 26-ago | 02-set | 09-set | 26-ago | 02-set | 09-set | 26-ago | 02-set | 09-set |
| Brix° | 21,3 ± 2,0 | 22,3 ± 2,2 | 23,8 ± 1,4 | 22,2 ± 2,2 | 22 ± 2,0 | 23,8 ± 2,0 | 22,5 ± 1,3 | 22,5 ± 2,3 | 23,6 ± 2,4 |
| pH | 3,36 ± 0,04 | 3,37 ± 0,04 | 3,26 ± 0,03 | 3,38 ± 0,04 | 3,31 ± 0,03 | 3,30 ± 0,03 | 3,36 ± 0,03 | 3,27 ± 0,02 | 3,28 ± 0,03 |
| AT (g/L ac. tartarico) | 7,24 ± 0,43a | 6,53 ± 0,35cd | 6,32 ± 0,23de | 7,20 ± 0,32a | 6,23 ± 0,32e | 6,38 ± 0,24de | 7,52 ± 0,25a | 6,53 ± 0,35cd | 6,82 ± 0,28bc |
| Diametro medio acini (mm) | | | 15,1 ± 1,1a | | | 12,9 ± 1,0b | | | 13,9 ± 1,0b |
| Peso 100 acini (g) | 170 ± 11 | 168 ± 10 | 176 ± 8 | 140 ± 10 | 148 ± 10 | 137 ± 11 | 160 ± 9 | 154 ± 10 | 154 ± 9 |

tra le varie porzioni. Si avevano a disposizione 26 piante per ogni tesi. La defogliazione post-allegagione è stata effettuata il 15 giugno 2020, mentre la defogliazione ad invaiatura è stata effettuata ad invaiatura completata in data 12 agosto 2020. L'operazione di defogliazione ha consistito nel rimuovere le prime sei foglie basali in modo da lasciare esposta alla luce diretta del sole la zona dei grappoli. I campionamenti effettuati sono stati cinque, il primo a invaiatura completata, l'ultimo a maturazione tecnologica raggiunta (12 agosto 2020, 20 agosto 2020, 26 agosto 2020, 2 settembre 2020, 9 settembre 2020). Ogni volta sono stati prelevati in maniera randomizzata 100 acini per tesi (CTRL, SPA, SI) e porta-

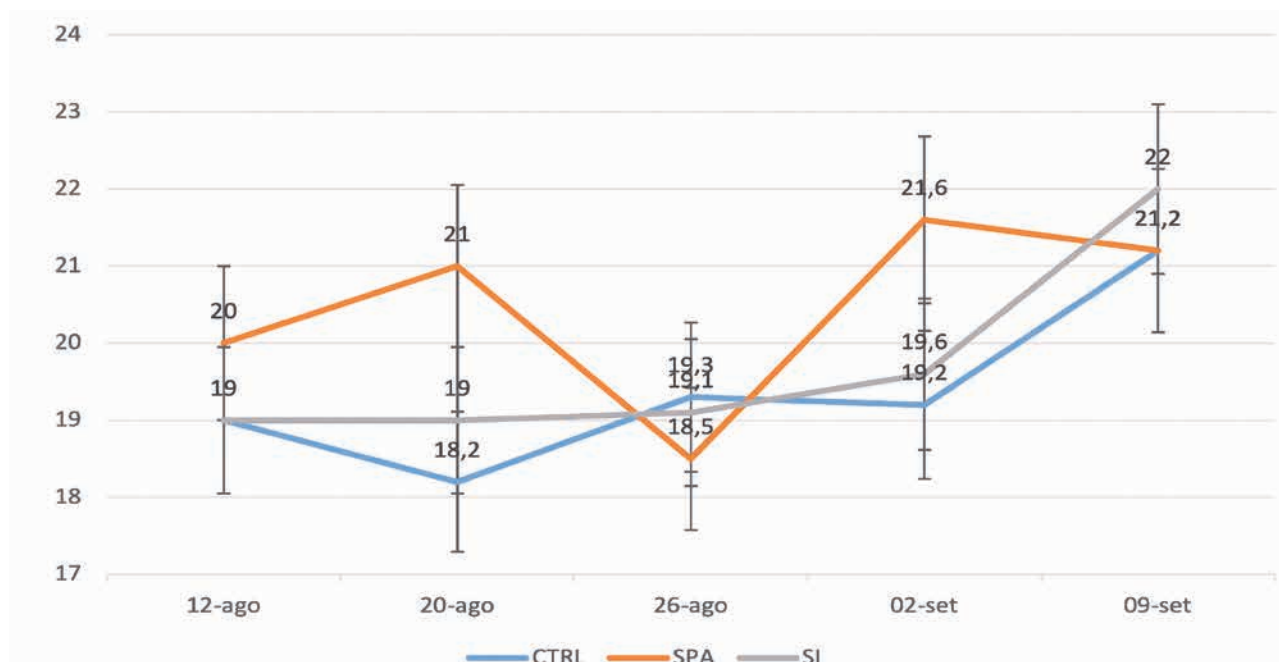
ti nei laboratori del DiSAAA-a di Pisa, per l'analisi dei parametri enochimici. Successivamente, presso il laboratorio Enolab Service s.r.l., 80 acini sono stati pestati e uniti ad una soluzione estraente idroalcolica al 12,5% v/v in beute da 250 ml saturate con azoto e sigillate. Queste sono state poi tenute per quattro giorni a macerare al buio in modo da facilitare l'estrazione della quercetina-3-glucoside poco solubile in acqua. Al termine dei quattro giorni è stata prelavata la soluzione macerata da ogni beuta ed è stata centrifugata e filtrata. Successivamente una parte del campione così ottenuto è stato sottoposto ad analisi con il Winescan (FOSS Italia, Padova) per l'analisi dell'intensità colorante (IC) e della tonalità; tramite

spettrofotometro è stata invece determinata la D.O. 280. Un'altra parte di campione è stata analizzata tramite HPLC per la determinazione del contenuto in quercetina-3-glucoside.

Risultati e discussione

Per quanto riguarda i parametri relativi alla maturità tecnologica, si nota come riportato in **Tab. 1**, che il °Brix a maturità non presenta differenze significative tra le tesi, indice del fatto che la defogliazione non ha influenzato l'equilibrio source-sink; infatti, l'operazione di defogliazione va a interessare le foglie basali che, proce-

Fig. 1 - Andamento della D.O. 280



dendo con la maturazione, ricoprono un ruolo minoritario ai fini fotoassimilativi in quanto si trovano in una fase di senescenza (Pastore *et al.*, 2013).

Il pH, nonostante i valori siano molto simili considerando la DS (deviazione standard), tende a diminuire in tutte le tesi andando avanti con la maturazione invece che aumentare, come ci si aspetterebbe; comunque, a maturità il valore più basso si riscontra nella tesi CTRL che maggiormente ha beneficiato dell'ombreggiamento, mentre il valore più alto a maturità si riscontra nella tesi SPA.

Anche l'acidità totale tende a diminuire durante la maturazione per tutte le tesi; nonostante non siano state effettuate analisi separate per la determinazione dell'acido malico e dell'acido tartarico, possiamo comunque supporre che la diminuzione sia imputabile principalmente alla degradazione dell'acido malico in quanto viene respirato in quantità maggiori dall'acino in risposta all'aumento della temperatura (Ruffner, 1982). A maturità è la tesi SI che mostra il valore più alto di acidità totale invece della tesi CTRL come ci si aspetterebbe. Da evidenziare che alla seconda data di campionamento (02.09), i campioni defogliati presentano un valore particolarmente basso che poi aumenta nuovamente nell'ultimo campionamento. Questo potrebbe esser dovuto alle temperature di agosto che, a livello di acino, hanno favorito l'ossidazione dell'acido malico il quale, però, successivamente la cellula è stata in grado di risintetizzare.

Per quanto riguarda il diametro medio degli acini, si nota una differenza significativa tra le tesi defogliate e il controllo; la tesi SPA mostra una riduzione del diametro degli acini del 14% rispetto alla tesi CTRL e dell'8% rispetto a SI, confermando i dati riportati da altri studi che indicano che la defogliazione post allegagione provoca uno stress con conseguenti acini più piccoli (Poni *et al.* 2006). Infatti, anche il peso di 100 acini a maturazione nella tesi SPA è minore del 22% rispetto alla tesi CTRL e dell'11% rispetto alla tesi SI.

Per ciò che riguarda le analisi effettuate sul campione ottenuto dalla macerazione delle uve in soluzione

idroalcolica, notiamo che la D.O. 280 (Fig.1) che è correlata alla concentrazione in fenoli totali, è influenzata dalle operazioni di defogliazione ma la grande DS (deviazione standard) impedisce di dare significatività alle differenze. Soprattutto la tesi SPA evidenzia valori più elevati rispetto alle altre tesi anche se al campionamento del 26.08, si nota una significativa diminuzione dovuta probabilmente a un errore di campionamento. I dati sulla tonalità (Fig.2), mostrano come le tesi defogliate SI e SPA evidenzino valori maggiori di tonalità rispetto a CTRL. Anche in questo caso l'alto valore di DS non permette di avere significatività.

Riguardo ai risultati dell'intensità colorante (I.C.) (Fig.3), a parte il valore basso al 26.08, si può notare un'estrema variabilità con deviazioni standard elevate, certo è che i campioni SPA hanno in media valori più elevati, anche se con elevate DS. Riferendosi ai dati termometrici del mese di agosto, si notano temperature massime che superano i 30°C con una media max di 30,7°C, che sono nella media stagionale per questa zona.

Per quanto riguarda i dati ottenuti sulla quercetina-3-glucoside (Fig.4), è possibile notare come le tesi defogliate SI e SPA mostrino, almeno nelle prime fasi della maturazione,

un significativo aumento del contenuto in quercetina-3-glucoside, come è evidenziato anche dal picco che si ha al campionamento del 20 agosto per la tesi SPA. Procedendo, però, con la maturazione, i valori tendono ad uniformarsi e a maturità non si hanno differenze significative tra le tesi. Comunque vogliamo enfatizzare il fatto che l'aumento significativo di quercetina nei campioni defogliati avviene subito dopo l'invaiaatura, evento che non avviene nel campione non defogliato. L'effetto luce risulta quindi evidente nella stimolazione dei flavonoli che va a scapito della sintesi antocianica avendo lo stesso precursore, il diidroflavonolo. Con il progredire della maturazione la via di biosintesi antocianica prende il sopravvento anche nei campioni defogliati, come evolutivamente naturale al fine di sviluppare una maggior colorazione. Infatti, nel controllo non defogliato i valori rimangono stabili nel tempo.

Considerazioni conclusive

Dai risultati ottenuti da questo primo anno di sperimentazione e su un vigneto al primo anno di produzione, è possibile evincere che le pratiche di defogliazione con la conseguente maggiore esposizione alla luce dei

Fig. 2 - Andamento della tonalità

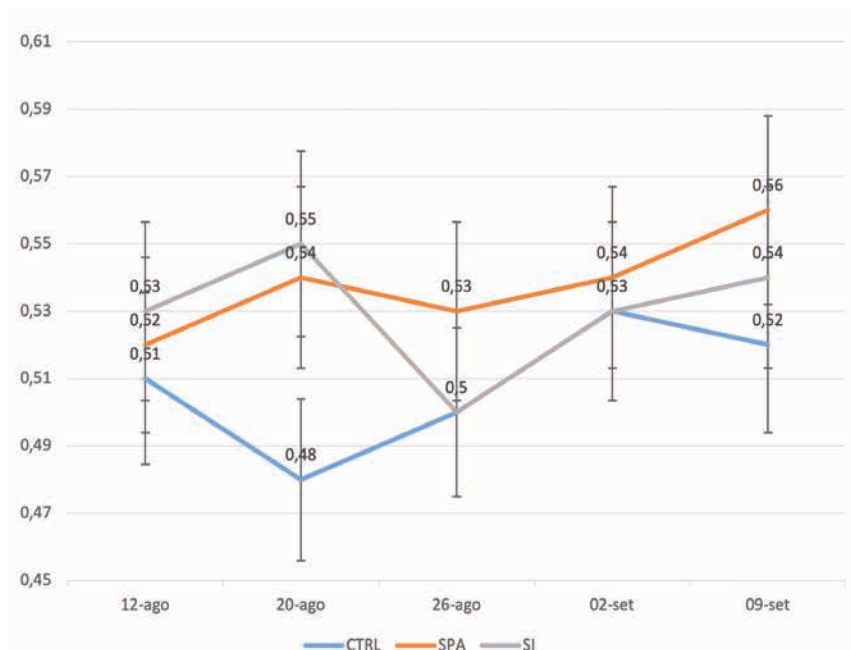
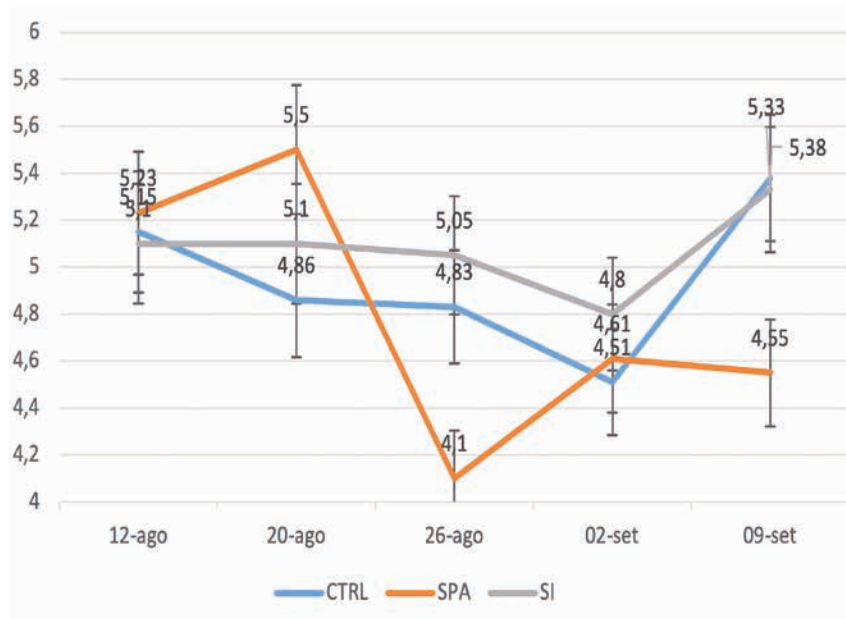


Fig. 3 - Andamento dell'intensità colorante

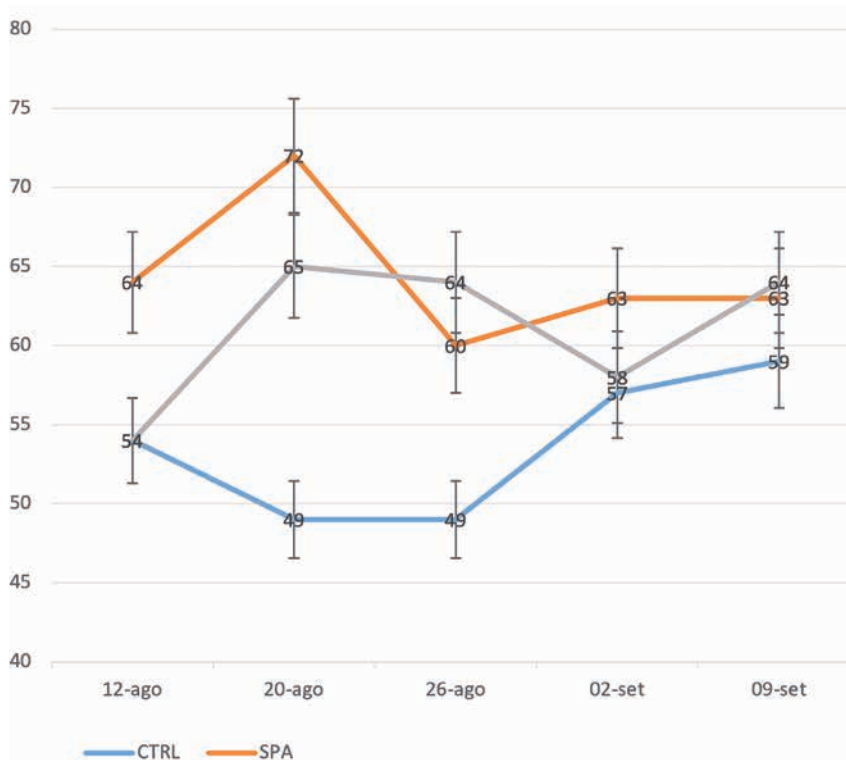


grappoli e il diverso rapporto source-sink, hanno un effetto significativo su parametri quali acidità totale, dimensione e peso degli acini, senza interferire però con l'accumulo in zuccheri, ma soprattutto mostrano un'influenza significativa sull'accumulo di flavonoli nelle bucce delle uve. In particolare, sia la defogliazione

post-allegagione che la defogliazione all'invaiaatura, hanno favorito la sintesi di quercetina-3-glucoside almeno nelle prime fasi della maturazione, ciò conferma l'effetto positivo della defogliazione e quindi dell'esposizione alla luce diretta del sole sull'accumulo in flavonoli. Nonostante ciò, a maturazione non si sono riscontrate

differenze significative tra il controllo e le tesi defogliate ma dobbiamo ancora una volta enfatizzare che è una prova di un anno, preliminare, e su un vigneto al primo anno di produzione. È evidente, inoltre, che la defogliazione post-allegagione ha avuto un effetto negativo sull'accumulo di antocianine, come confermato dai risultati dell'I.C., contrariamente a quanto riportato da altri studi, ma anche questo risultato potrebbe esser dovuto alla giovanilità delle piante e quindi a una maggior sensibilità di risposta. In conclusione, questa sperimentazione ha evidenziato che le operazioni di defogliazione effettuate hanno avuto un effetto significativo sui parametri fisico-chimici delle uve e in particolare hanno evidenziato un effetto significativamente consistente sulla quercetina soprattutto nelle prime fasi di maturazione del grappolo, post-invaiaatura, con valori dei campioni defogliati più alti alla raccolta ma non statisticamente differenti. Pur essendo i risultati del primo anno di sperimentazione e in un vigneto di prima produzione, i dati evidenziano l'estrema dinamicità cellulare a livello di sintesi fenolica.

Fig. 4 - Andamento della quercetina-3-glucoside (mg/L)



Bibliografia

- Downey, M.O., Harvey, J.S., Robinson, S.P. (2004). The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation on Shiraz grapes. *Aust. J. Grape Wine Res.* 10, 55-73.
- Marchi, D., Lanati, D., Cascio, P. e Giacomo M. (2019). Influenza della sfogliatura sulla sintesi della quercetina in Sangiovese. Ulteriori acquisizioni sui precipitati di quercetina nei vini. *BIO Web Conf.* 15 02010
- Pastore, C., Zenoni, S., Fasoli, M., Pezzotti, M., Torielli, G.B., Filippetti I. (2013). Selective defoliation affects plant growth, fruit transcriptional ripening program and flavonoid metabolism in grapevine. *BMC Plant Biology* 2013 13:30.
- Poni, S., Casalini, L., Bernizzoni, F., Civardi, S., Intrieri, C. (2006). Effects of Early Defoliation on Shoot Photosynthesis, Yield Components, and Grape Composition. *Am J Enol Vitic.* 57:397-407.
- Ruffner, H.P. (1982). Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*. *Vitis* 21, 346-358.