

# IL METILJASMONATO NELLA GESTIONE DELL'APPASSIMENTO DELLE UVE

Nell'ambito degli elicitori fisiologici, il metiljasmonato (MeJA) è un fitormone che negli ultimi anni ha riscosso un notevole interesse per la sua attivazione del sistema antiossidante, l'aumento degli antociani e dei polifenoli nonché dei carotenoidi e dell'acido ascorbico. In questo lavoro il metiljasmonato è stato provato come trattamento preappassimento di uve bianche, Trebbiano. I risultati hanno mostrato che questo fitormone accelera la velocità di appassimento, aumentando l'intensità respiratoria delle uve con conseguente attivazione del sistema antiossidante, aumento di polifenoli e flavonoidi e diminuzione dell'attività polifenolossidasi, con grande vantaggio per la qualità finale delle uve.



Di  
**Margherita Modesti<sup>1</sup>**  
**Roberto Forniti<sup>2</sup>**  
**Fabio Mencarelli<sup>3</sup>**  
DIBAF, Università della Tuscia, Viterbo

**Milena Petriccione<sup>4</sup>**  
Unità di ricerca per la frutticoltura - Caserta  
(CREA-FRC), Caserta

## INTRODUZIONE

● Il termine disidratazione indica il principio fisico attraverso il quale, in relazione alle condizioni ambientali, si verifica una progressiva evaporazione dell'acqua dagli acini, nei quali si manifestano processi di senescenza. Nell'uso comune la disidratazione viene anche conosciuta con il termine appassimento anche se questo termine si riferisce ad una disidratazione in tempi lunghi in cui oltre ad uno stress idrico interviene anche la senescenza della bacca.

● Ciò che bisogna sempre tener presente è che gli acini continuano a vivere anche dopo la raccolta, consumando ossigeno e liberando anidride carbonica e calore. Pertanto in un tessuto vegetale a tutti gli

effetti ancora vivente, la perdita d'acqua produce un forte stress idrico e conseguentemente cambiamenti notevoli nel metabolismo cellulare (Mencarelli e Tonutti 2013). L'appassimento delle uve, effettuato con differenti tecnologie, produce effetti diversi e di conseguenza vini differenti (Di Lorenzo, 2007).

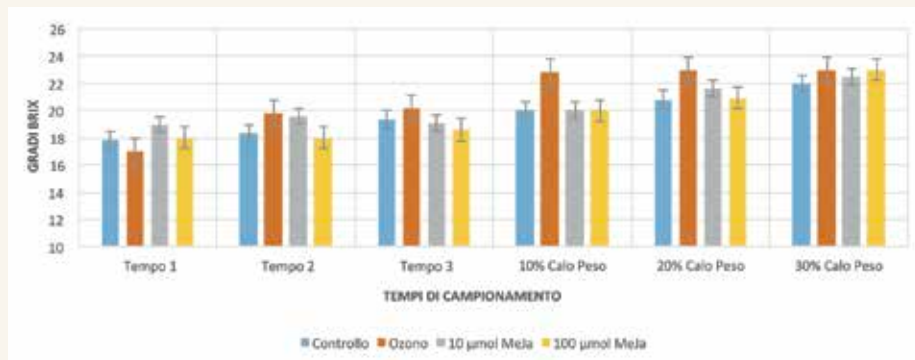
● Nelle uve sottoposte ad appassimento il processo di disidratazione determina, per prima cosa, modifiche sulle caratteristiche strutturali e sulla concentrazione dei solidi solubili. Congiuntamente, possono essere osservate variazioni del metabolismo cellulare con conseguenti variazioni nel rapporto glucosio/fruttosio, acido malico/acido tartarico, zuccheri/acidi e un aumento notevole nella sintesi di polifenoli (Bellincontro *et al.*, 2004). Recentemente al tal riguardo un bellissimo

lavoro molecolare è stato pubblicato da Zenoni *et al.* (2016).

● L'utilizzo di tecnologie che prevedono il controllo totale e continuo dei parametri ambientali, da una parte permette di tenere sotto controllo il tasso di perdita d'acqua e, conseguentemente, la formazione di metaboliti utili per lo sviluppo degli aromi nel vino (Chkaiban *et al.*, 2007, Centioni *et al.*, 2014), dall'altra garantisce la possibilità di prevenire lo sviluppo di muffe e marciumi grazie anche all'impiego dell'ozono (Botondi *et al.*, 2015).

● Attualmente, le strategie di postraccolta usate sulle uve sottoposte a disidratazione controllata hanno lo scopo di mantenere in modo ottimale le caratteristiche fisico-chimiche delle bacche e di ridurre gli effetti negativi dello stress idrico rallentando il processo di perdita di acqua e "accompa-

**Fig. 1** - Concentrazione zuccherina espressa in indice rifrattometrico (°Brix) in uva Var. Romanesco durante l'appassimento postraccolta e a seguito dei trattamenti con metil jasmonato a 10 e 100 µM e ozono. I dati sono la media di 25 acini provenienti da grappoli differenti. MDS(5%) = 1



gnando" la cellula nella senescenza e alla morte cellulare (Ferrari, 2014).

● Il metil jasmonato è un fitormone facente parte della famiglia dei jasmonati. Il MeJA regola importanti aspetti nella fisiologia delle piante (Chen *et al.*, 2006) come ad esempio una migliore attivazione del sistema antiossidante, aumento degli antociani (Ahuja *et al.*, 2012), polifenoli (Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2004), carotenoidi e acido ascorbico (Khan e Singh, 2007).

● E' stato inoltre dimostrato che attiva una resistenza contro i microrganismi patogeni Blanch *et al.*, 2011), anche se i meccanismi coinvolti sono ancora in gran parte sconosciuti. L'ozono è noto essere un potente agente ossidante, già ampiamente utilizzato per i trattamenti di postraccolta di prodotti agroalimentari (Tzortzakidis e Chrysargyris, 2016). Molti studi hanno dimostrato come l'utilizzo dell'ozono mantiene le caratteristiche qualitative dei prodotti trattati e riduce lo sviluppo di funghi (Tzortzakidis *et al.*, 2007; Bialka *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2002). Contrariamente al MeJA l'ozono è già stato utilizzato per trattamenti in postraccolta di uve destinate alla vinificazione, e grazie a esso si è riusciti a incrementare la produzione di sostanze fenoliche su uva da vino (Carbone e Mencarelli, 2015) cambiando, di conseguenza, il profilo aromatico delle uve favorendo la glicosilazione (De Sanctis *et al.*, 2015). Sulla base di queste evidenze scientifiche l'ipotesi di partenza è stata quella per cui un trattamento di preappassimento con metiljasmonato, potesse ridurre la perdita di acqua e quindi rallentare il processo di appassimento, sapendo che la lentezza della perdita d'acqua è un fattore positivo per la qualità dell'uva finale per il vino. Nello stesso tempo si auspicava che il metil jasmonato potesse

migliorare le caratteristiche qualitative della bacca, fisiche (colore, consistenza) ma anche chimiche (polifenoli).

## MATERIALI E METODI

● I campioni di uva (*Vitis vinifera* L. var. Romanesco) sono stati raccolti a maturità tecnologica ovvero ad una concentrazione zuccherina di 17° Brix, concentrazione di solidi solubili molto bassa per delle uve a maturità tecnologica ma caratteristica peculiare della varietà.

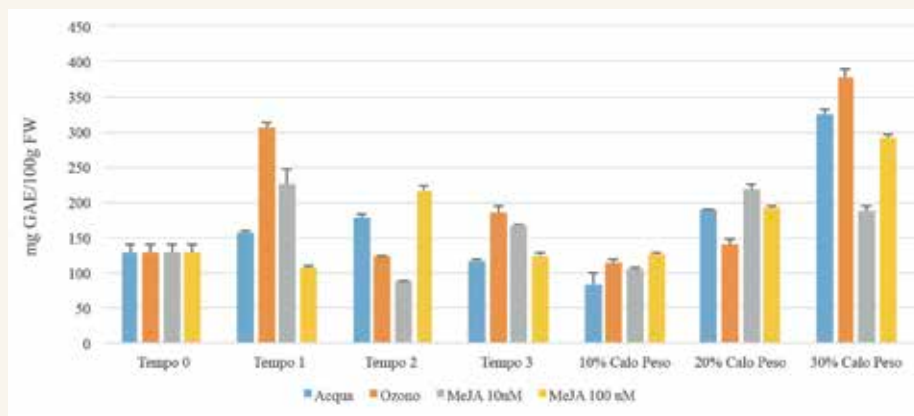
● Le uve sono state raccolte presso il vigneto sperimentale ARSIAL di Montefiascone località La Commenda, in provincia di Viterbo. Nell'area di riferimento la varietà considerata è annoverabile all'interno delle varietà autoctone. I grappoli sono stati raccolti manualmente e selezionati per uniformità di pezzatura e assenza di difetti e alterazioni. Complessivamente, sono stati raccolti 300 Kg di uva e suddivisi in 4 lotti di 75 Kg ciascuno, su cui sono stati eseguiti i seguenti trattamenti postraccolta, predisidratazione: ozono, metil jasmonato 10 µM, metil jasmonato 100

µM; una tesi non trattata ha rappresentato il controllo o testimone sperimentale.

● I campioni di tutte le tesi, dopo i trattamenti, sono stati posti in una cella frigorifera adattata per la disidratazione, in condizioni termogravimetricamente controllate, e avviate al processo di appassimento controllato, impiegando le seguenti condizioni: temperatura di 10 °C, umidità relativa del 70% ed ventilazione pari a 1 m/s.

● Per il trattamento con MeJA le uve sono state poste in cellette a chiusura ermetica all'interno delle quali è stata posta della carta filtrante imbevuta con MeJA (Sigma-Aldrich. Milano, Italia) in quantità tale da raggiungere la concentrazione di 10 µM in una celletta e 100 µM nell'altra. Il trattamento è avvenuto a temperatura ambiente (20±2°C), in modo da permettere al composto di volatilizzare spontaneamente, e ha avuto una durata di 12 ore. Il trattamento con ozono è stato effettuato saturando il volume della cella frigorifera, chiusa ermeticamente, all'interno della quale sono state poste le uve del lotto O<sub>3</sub>, con ozono in fase gassosa a 1 ppm a bassa temperatura (4°C). Il trattamento ha avuto una durata di 12 ore. Per il trattamento gassoso è stato utilizzato un ozonatore dell'azienda PC Engineering (PC Eng Srl, Uggiate Trevano, Italia). Dopo i trattamenti le uve sono state poste nelle condizioni di appassimento sopra indicate. Il campione di controllo non ha ricevuto alcun trattamento. I campioni sono stati prelevati per i campionamenti dopo 1, 2 e 3 giorni dal trattamento e al raggiungimento dei livelli di 10, 20 e 30% del calo peso. Ad ogni campionamento sono state effettuate analisi del colore, analisi reologiche, analisi del metabolismo respiratorio e analisi microbiologiche. Per ogni lotto sono stati

**Fig. 2** - Polifenoli totali in uva Var. Romanesco durante l'appassimento postraccolta e a seguito dei trattamenti con metil jasmonato (100 µM; 10 µM) e ozono. MDS(5%) = 50



contrassegnati 10 grappoli per effettuare il monitoraggio del calo peso.

- Il colore del frutto è stato determinato mediante un colorimetro portatile Minolta C2500 (Konica Minolta, Ramsey, NY) utilizzando lo spazio di colore CIELAB. Ad ogni campionamento sono state analizzate 50 bacche per lotto, preventivamente numerate in modo da effettuare la lettura colorimetrica sugli stessi acini per tutta la durata della prova. I dati sono stati riportati mediante i valori dell'angolo Hue.
- Le analisi reologiche sono state effettuate mediante un test di rottura valutando la resistenza della buccia con puntale di 2 mm di diametro. È stata registrata la forza, espressa in Newton (N), necessaria per la rottura della buccia dell'acino. Le suddette analisi sono state realizzate su 25 acini per ogni tesi utilizzando un Instron Universal Testing Machine (model 3343; Instron Inc., Canton, MA).

- La respirazione è stata misurata mediante l'analizzatore portatile di Gas O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> HELPY (Marvil engineering SRL, Italia) che permette di valutare la percentuale di ossigeno e di anidride carbonica prodotti. Per ogni misurazione sono stati utilizzati circa 200 grammi di uva inseriti in tre barattoli di vetro da 500 ml per ciascuna tesi, chiusi ermeticamente per un'ora a temperatura ambiente.

- Il contenuto di solidi solubili degli acini (25 per tesi ad ogni campionamento) è stato determinato mediante tecnica di rifrattometria digitale (ATAGO, Palette PR-32) ed espresso in gradi Brix.

- L'analisi della polifenolossidasi (PPO) è stata effettuata come precedentemente descritto da Pasquariello *et al.* (2015) mentre l'analisi dei flavonoidi come descritto da Ghasemnezhad *et al.* (2011).

- Per la significatività statistica dei dati è stata condotta un ANOVA e per la differenza tra le medie è stata impiegata la MDS.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

- I risultati ottenuti mostrano che non ci sono differenze nella concentrazione dei solidi solubili tra i trattamenti predisidratazione (Fig. 1). Al termine del processo di appassimento tutti i lotti avevano una concentrazione oscillante tra i 22 e 23° Brix, piuttosto bassi per uva sottoposta a disidratazione ma d'altronde i livelli di partenza erano altrettanto bassi. Non è

Fig. 3 - Perdita di peso in uva Var. Romanesco durante l'appassimento postraccolta e a seguito dei trattamenti con metil jasmonato (100 µM; 10 µM) e ozono. I dati sono la media del peso di 10 grappoli per ogni tesi.

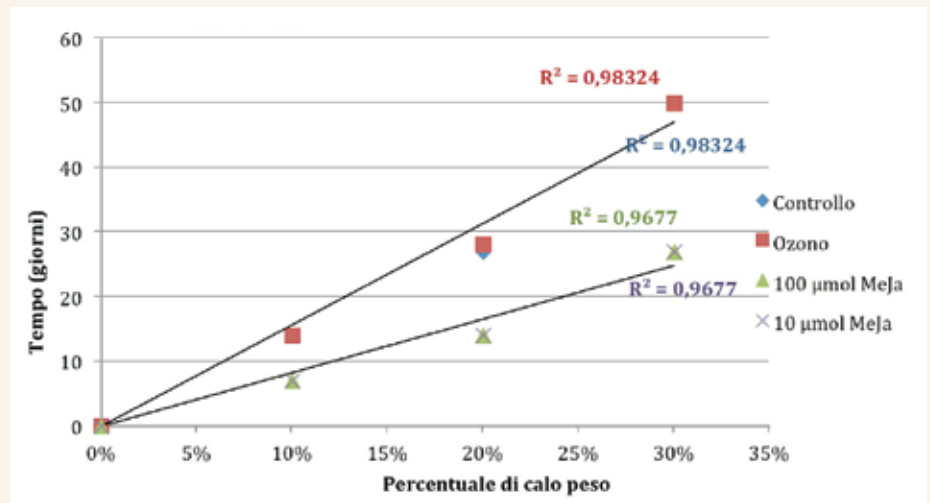
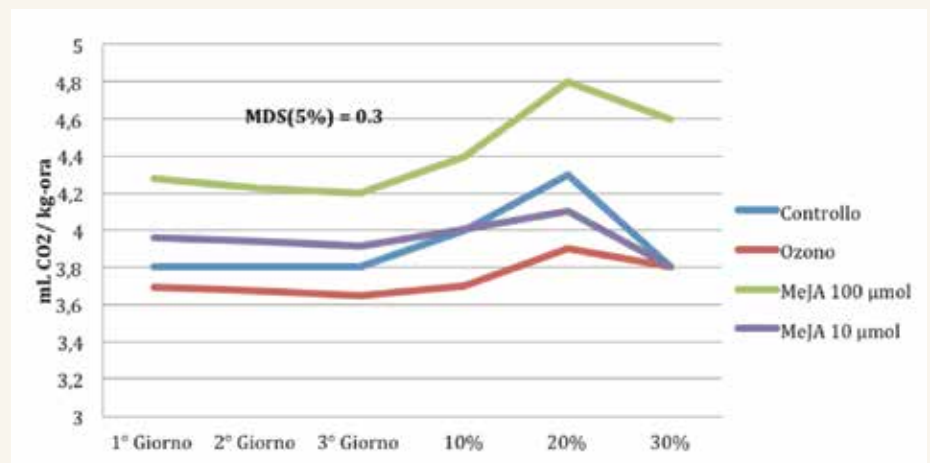


Fig. 4 - Produzione di CO<sub>2</sub> in uva Var. Romanesco durante l'appassimento postraccolta e a seguito dei trattamenti con metil jasmonato (100 µM; 10 µM) e ozono. I dati sono la media dei valori di tre barattoli di vetro con dentro i grappoli di uva.



stata evidenziata alcuna differenza anche nella resistenza della buccia alla rottura (risultati non mostrati).

- La concentrazione polifenolica non ha evidenziato, diversamente da quanto atteso, particolari differenze nelle uve trattate con metil jasmonato rispetto al controllo; mentre si è osservato un aumento nei campioni trattati con ozono (Fig. 2).

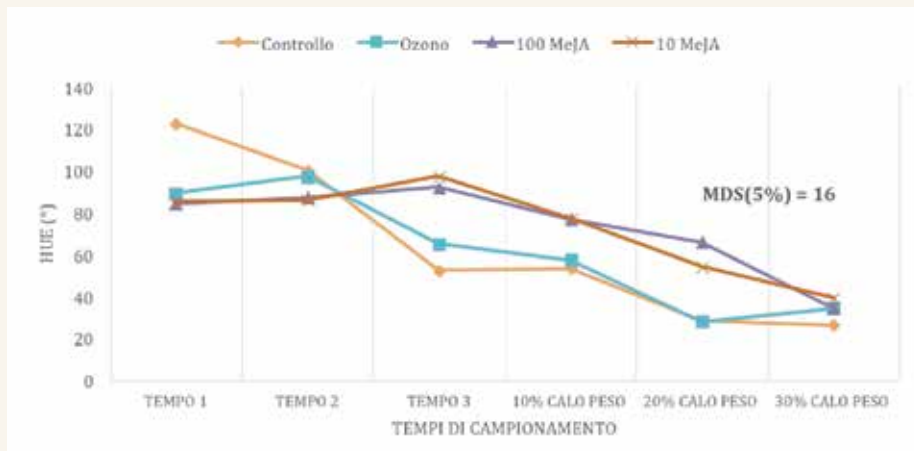
Questo risultato è in accordo con quanto riportato da Carbone e Mencarelli (2015).

- I risultati più interessanti hanno riguardato il tasso di perdita d'acqua, la colorazione, la concentrazione di flavonoidi e l'attività enzimatica. Partendo quindi dal tasso di disidratazione si è visto come i lotti trattati con MeJA, diversamente da quanto atteso, hanno mostrato una perdita d'acqua molto più consistente rispetto ai lotti ozono e controllo (Fig. 3).

- Essi hanno infatti impiegato circa la metà del tempo a raggiungere il 30% del calo peso. È la prima volta che è stato osservato un comportamento del genere per cui non abbiamo trovato riferimenti in letteratura. Data la grande differenza mostrata dai diversi lotti nel tasso di perdita d'acqua è stata misurata l'attività respiratoria ed è stato visto che, nonostante l'andamento dei lotti fosse uguale, i lotti trattati con MeJA avevano un tasso respiratorio immediatamente più alto (Fig. 4).

- Questo poteva dunque spiegare l'aumento di perdita d'acqua essendo, l'attività respiratoria, un'attività che sprigiona calore endogeno e di conseguenza ha aumentato la differenza di temperatura tra esterno e interno dell'acino, fattore che promuove e facilita la disidratazione. Tutti i campioni mostravano un picco

**Fig.5** - Colore della buccia (Hue angle) in uva Var. Romanesco durante l'appassimento postraccolta e a seguito dei trattamenti con metil jasmonato (100 µM; 10 µM) e ozono. I dati sono la media di 50 acini provenienti da grappoli differenti. MDS(5%) = 16



di attività respiratoria al 20% di calo peso come già osservato in altre sperimentazioni di disidratazione (Costantini *et al.*, 2006; Chkaiban *et al.*, 2007). Anche le analisi colorimetriche hanno mostrato risultati interessanti. Infatti è stato visto che le bacche dei lotti trattati con MeJA mostravano una colorazione più gialla a partire dal terzo giorno del trattamento fino al 10% del calo peso (Fig. 5, 6, 7).

● Ozono e controllo mostravano invece un andamento molto simile. Questo risultato ha aperto la strada a due ipotesi. Da una parte potrebbe essere riconducibile a una maggior sintesi di composti coloranti (flavonoli e carotenoidi) come è stato già osservato (Lalel *et al.*, 2003; Perez *et al.*, 1997), probabilmente dovuta a una maggior produzione di etilene a seguito del trattamento (Fan *et al.*, 1997). L'analisi dei composti bioattivi ha mostrato infatti una

maggior concentrazione di flavonoidi sia in quelli trattati con metil jasmonato sia in quelli trattati con ozono nei primi giorni dal trattamento, tempo 3 (Fig. 8). Questo è in accordo con quanto riportato da Flores e Ruiz del Castillo (2016) che hanno evidenziato un aumento dei flavonoli a seguito del trattamento con metil jasmonato sull'uva. È da evidenziare però che al termine della prova non vi erano differenze significative tra i campioni, eccetto per l'ozono che aveva una concentrazione maggiore sia di polifenoli che di flavonoidi. D'altra parte, più verosimile, è l'ipotesi che il miglior mantenimento del colore mostrato dai lotti trattati con MeJA, potrebbe essere riconducibile ad una minor degradazione ossidativa. A conferma di questo, l'attività della PPO, che pur ha mostrato un incremento nel corso della disidratazione, risultava maggiore nei frutti non trattati,

**Fig.6** - Grappoli Var. Romanesco a inizio appassimento.



**Fig.7 - A** - Grappolo var. Romanesco trattato con 100 µM di MeJA al 30% calo peso. **B**- Grappolo var. Romanesco trattato con 10 µM di MeJA al 30% calo peso.



mentre quelli trattati avevano un'attività minore fino al 20% di calo peso. (Fig. 9).

● Per quanto concerne l'analisi microbiologica sia a livello epifitico che endofitico non si è notato nessun controllo da parte del metiljasmonato e neppure dell'ozono. I valori comunque erano bassi di partenza e successivamente si è assistito ad un lieve aumento. Ci si sarebbe aspettato un maggior effetto sanitizzante dell'ozono che non vi è stato, anzi i valori sono stati più elevati che negli altri campioni, forse a causa del fatto che l'ozono agisce immediatamente ma nel tempo non esercita alcun controllo. Proprio il fatto di far una "pulizia" iniziale può favorire il successivo aumento di microorganismi che non trovano competitori.

## CONCLUSIONI

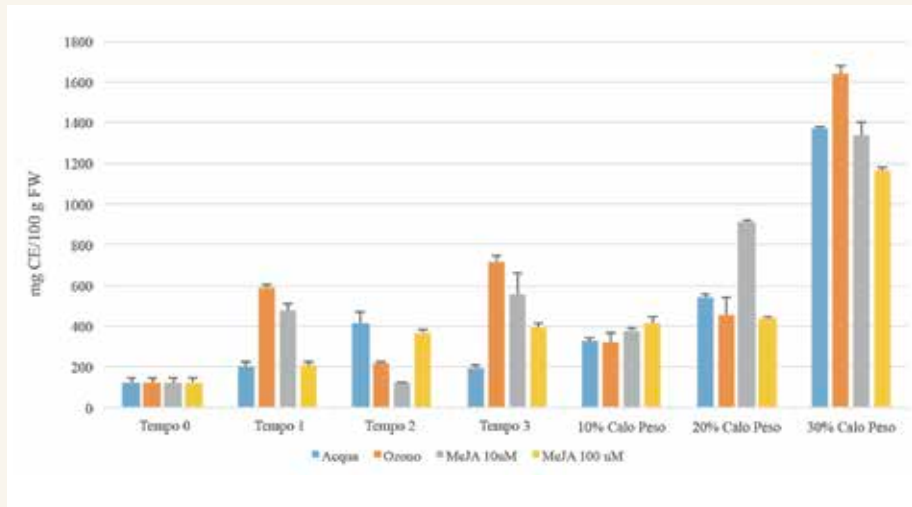
● Concludendo è stato visto che il metil jasmonato, contrariamente a quanto ipotizzato, ha accelerato la perdita di acqua come conseguenza di una più marcata attività respiratoria ma ha svolto un'azione protettiva nei confronti dello stress idrico stesso. In particolare il miglior colore delle bacche a seguito del trattamento con metiljasmonato potrebbe essere dovuto alla sua inibizione sull'attività della PPO e quindi minor ossidabilità del tessuto. ●

## BIBLIOGRAFIA

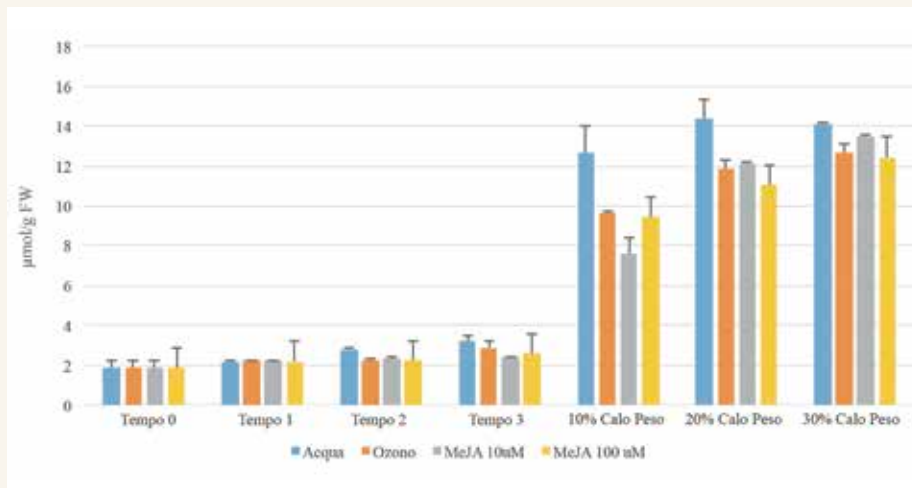
- Ahuja I., Kissen R., Bones A.M. (2012). Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends Plant Sci.*, 17: 73-90.
- Bialka K.L., Demirci A. (2007). Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on blueberries using ozone and pulsed UV-light. *J. Food*



**Fig.8** - Flavonoidi totali in uva Var. Romanesco durante la appassimento postraccolta e a seguito dei trattamenti con metil jasmonato (100 µM; 10 µM) e ozono. MDS(5%) = 90



**Fig.9** - Influenza dei trattamenti con metil jasmonato (100 µM; 10 µM) e ozono sull'attività delle polifenolossidasi (PPO) su uva Var. Romanesco durante l'appassimento postraccolta.



**Tab. 1.** Epifiti ed endofiti presenti in uva Var. Romanesco al termine dell'appassimento postraccolta e a seguito dei trattamenti con metil jasmonato (100 µM; 10 µM) e ozono.

ANALITI	EPIFITI	ENDOFITI
Ozono	3.2 x10 <sup>4</sup>	8.8 x10 <sup>3</sup>
MeJA 100 µM	1.3 x10 <sup>4</sup>	1.4 x10 <sup>3</sup>
MeJA 10 µM	3.3 x10 <sup>4</sup>	4.6 x10
Controllo	1.1 x10 <sup>4</sup>	2.3 x10 <sup>2</sup>

Sci., 72:391-396.

● Blanch G.P., Flores G., Del Castillo M.L.R. (2011). Influence of methyl jasmonate in conjunction with ethanol on the formation of volatile compounds in

berries belonging to the Rosaceae. *Postharvest Biol. Technol.*, 62:168-178.

● Botondi R., De Sanctis F., Moscatelli N., Vetraino A.M., Catelli C., Mencarelli F. (2015). Ozone fumiga-

tion for safety and quality of wine grapes in postharvest dehydration. *Food Chemistry*, 188:641-647.

● Carbone K., Mencarelli F. (2015). Influence of Short-Term Postharvest Ozone Treatments in Nitrogen or Air Atmosphere on the Metabolic Response of White Wine Grapes. *Food Bioprocess Technol.*, 8:1739-1749.

● Chkaiban L., Botondi R., Bellincontro A., et al. (2007). Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities, and on the composition of some volatile compounds of Gewurztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygro-metric conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13:142-149.

● Costantini V., Bellincontro A., De Santis D., Botondi R., Mencarelli F. (2006). Metabolic changes of Malvasia grapes for wine production during postharvest drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(9):3334-3340.

● Di Lorenzo R. (2007). Problematiche dell'appassimento in campo di uve autoctone siciliane per la produzione di vini dolci. Lecture at the 2nd course of Appassimento delle Uve e Qualità dei Vini, Marsala.

● Flores G., Ruiz del Castillo ML. (2016). New Procedure to Obtain Polyphenol-Enriched Grapes Based on the use of Chemical Elicitors. *Plant Foods Hum Nutr.*, 71(3):239-44.

● Ghasemnezhad M., Nezhad M.A., Gerailoo S. (2011). Changes in postharvest quality of loquat (*Eriobotrya japonica*) fruits influenced by chitosan. *Hortic. Environ. Biotechnol.*, 54:40-45.

● Gonzalez-Aguilar G.A., Tiznado-Hernandez M.E., Zavaleta-Gatica R., Martinez-Tellez M.A. (2004). Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defence response of guava fruits. *Biochem Biophys Res Commun.*, 313:694-701.

● Kells S.A., Mason L.J., Maier D.E., Woloshuk C.P. (2001). Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. *J. Stored Prod. Res.*, 37:371-382.

● Khan A.S., Singh Z. (2007). Methyl jasmonate promotes fruit ripening and improves fruit quality in Japanese plum. *J Hortic Sci Biotechnol.*, 82:695-706.

● Lalel H.J.D., Singh Z., Tan S.C. (2003). The role of methyl jasmonate in mango ripening and biosynthesis of aroma volatile compounds. *J Hortic Sci Biotechnol.*, 78:470-484.

● Mencarelli F., Tonutti P. (2013). *Sweet, Reinforced and Fortified Wine: Grape biochemistry, technology and vinification.* Wiley and Blackwell Ltd, pp 357.

● Tzortzakis N., Chrysargyris A. (2016). Postharvest ozone application for the preservation of fruits and vegetables. *Food Reviews International*, DOI: 10.1080/87559129.1175015.

● Pasquariello M., Di Patre D., Mastrobuoni F., Zampella L., Scortichini M., Petriccione M. (2015). Influence of postharvest chitosan treatment on enzymatic browning and antioxidant enzyme activity in sweet cherry fruit. 109:45-56.

● Perez AG, Sanz C, Olias R, Olias JM. (1997). Effect of methyl jasmonate on in vitro strawberry ripening. *J. Agric. Food. Chem.*, 45:3733-3737.

● Singh N., Singh R.K., Bhunia A.K., Stroschine R.L. (2002). Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *LWT-Food. Sci. Technol.*, 35:720-729.

● Tzortzakis N.G., Singleton I., Barnes J. (2007). Deployment of low-level ozone-enrichment for the preservation of chilled fresh produce. *Postharvest Biol. Technol.*, 43:261-270.