

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ISABELA LETICIA PESSENTI**

**REGULADOR VEGETAL E BIOESTIMULANTES NA INFLUÊNCIA DA  
COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS NAS UVAS E  
VINHO DAS CVS. 'CABERNET SAUVIGNON' E 'MERLOT'**

**PONTA GROSSA – PR**

**2021**

**ISABELA LETICIA PESSENTI**

**REGULADOR VEGETAL E BIOESTIMULANTES NA INFLUÊNCIA DA  
COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS NAS UVAS E  
VINHO DAS CVS. 'CABERNET SAUVIGNON' E 'MERLOT'**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em  
Agronomia na Universidade Estadual de Ponta Grossa.  
Área de Concentração: Fitotecnia e Fitossanidade.

Orientador: Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho  
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Ayub

**PONTA GROSSA – PR**

**2021**

P475 Pessenti, Isabela Leticia  
Regulador vegetal e bioestimulantes na influência da composição fenólica e características cromáticas nas uvas e vinho das CVS. 'Cabernet Sauvignon' e 'Merlot' / Isabela Leticia Pessenti. Ponta Grossa, 2021.  
89 f.

Tese (Doutorado em Agronomia - Área de Concentração: Agricultura),  
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho.

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Ayub.

1. Vitis vinifera. 2. Reguladores hormonais. 3. Maturação fenólica. 4.  
Antocianinas. I. Botelho, Renato Vasconcelos. II. Ayub, Ricardo Antonio. III.  
Universidade Estadual de Ponta Grossa. Agricultura. IV.T.

CDD: 634



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Tese: **REGULADOR VEGETAL E BIOESTIMULANTES NA INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS NAS UVAS E VINHO DAS CVS. 'CABERNET SAUVIGNON' E 'MERLOT'**

Nome: **Isabela Leticia Pessenti**

Orientador: **Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho**

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho

Prof. Dr. Alessandro Nogueira

Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Prof. Dr. António Manuel Santos Tomás Jordão

Prof. Dr. Maurilo Monteiro Terra

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Renato Vasconcelos Botelho  
Orientador

Data da Realização: 29 de julho de 2021



Documento assinado eletronicamente por **MAURILO MONTEIRO TERRA, Usuário Externo**, em 29/07/2021, às 15:16, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **António Manuel Santos Tomás Jordão, Usuário Externo**, em 29/07/2021, às 17:18, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **João Domingos Rodrigues, Usuário Externo**, em 29/07/2021, às 19:43, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Alessandro Nogueira, Coordenador(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, em 08/10/2021, às 13:25, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **0564383** e o código CRC **6E26D269**.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela restituição das forças para continuar em frente, mesmo diante das dificuldades e incertezas.

Aos meus pais, Iris e Verginia Pessenti, e ao meu irmão Ismael Pessenti, pelo incentivo, pela força, amparo e torcida sempre.

Aos demais familiares e amigos que compreenderam minha distância e não deixaram de torcer.

Ao Professor Dr. Renato Vasconcelos Botelho, meu orientador, meu sincero agradecimento pela oportunidade, pelo exemplo como professor e pesquisador, pela atenção e confiança no meu trabalho.

Ao Professor Dr. Ricardo Antonio Ayub, meu coorientador, pelo incentivo e apoio diante dos obstáculos e orientação no momento das dúvidas.

Aos colegas e amigos, do Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Fruticultura da Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao Laboratório de Fruticultura Sustentável da Universidade Estadual do Centro Oeste - PR, pela paciência, confiança, pela troca de saberes e pela convivência que tornou menos árdua essa jornada.

Aos Professores Dr. Alessandro Nogueira e Dra. Aline Alberti pela colaboração e disponibilização de espaço no Laboratório de Bebidas Fermentadas da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Aos Professores Dr. César Rombaldi e Dr. Fábio Chaves pela colaboração e disponibilização de espaço no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

À Vinícola Legado e ao José Luiz Marcon Filho pela área experimental concedida e pela ajuda na condução deste trabalho.

A todos os professores e funcionários, em especial Sr. Wilson, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Estadual de Ponta Grossa que contribuíram para meu crescimento e para esta conquista.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa para o desenvolvimento desse trabalho.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a execução deste trabalho.

## RESUMO

O manejo dos vinhedos é imprescindível para a manutenção da qualidade fenólica dos vinhos finos tintos. Sabe-se que o acúmulo de antocianinas é regulado, ao menos em parte, pelo ácido abscísico (S-ABA), sendo que as aplicações exógenas desse regulador vegetal aumentam as concentrações de antocianinas e compostos fenólicos na uva, bem como no vinho. A aplicação de bioestimulantes derivados de extrato de algas e extratos vegetais pode ser uma alternativa para o manejo orgânico da videira. O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito da aplicação do regulador vegetal como o ácido abscísico e dos bioestimulantes como extrato de *Ascophyllum nodosum* (L.) e gel de *Aloe vera* na composição fenólica e nas características cromáticas nas uvas e vinho das cultivares Cabernet Sauvignon e Merlot. Sendo assim, esse trabalho foi composto por 7 tratamentos, incluindo duas concentrações de ácido abscísico, *Ascophyllum nodosum* (AN) e gel de *Aloe vera* (AV), além da testemunha sem tratamento. O experimento foi implantado em uma vinícola comercial em Campo Largo – PR, por duas safras consecutivas (2017/18 e 2018/19), com duas cultivares Cabernet Sauvignon e Merlot. Realizaram-se duas aplicações para AN e gel de AV, quando os cachos tinham 50 e 75% das bagas com coloração. Para o S-ABA, realizou-se uma única aplicação quando os cachos apresentavam 50% de suas bagas com coloração. As avaliações foram as seguintes: teor de antocianinas e polifenóis totais; atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), polifenoloxidase e peroxidase na epiderme. Para o vinho, além do teor de antocianinas e polifenóis totais, foi realizada a análise de cor, de antocianinas individuais e atividade antioxidante. Para a cv. Cabernet Sauvignon, as aplicações de S-ABA incrementaram o teor de antocianinas e polifenóis totais, e a atividade da FAL, na epiderme e o AN aumentou as características fenólicas no vinho. O gel de AV influenciou na coloração do vinho. Para a cv. Merlot, o S-ABA aumentou o teor de antocianinas e polifenóis totais, a atividade de FAL na epiderme das uvas, aumentando também a quantificação de antocianinas monoméricas no vinho. A AN 0,4 mL L<sup>-1</sup>, em condições de campo, aumentou polifenóis e antocianinas totais. O tratamento com AV a 400 mg L<sup>-1</sup> apresentou efeito positivo no aumento dos teores de polifenóis totais e na atividade da enzima polifenoloxidase (PPO). Para as análises do vinho, os tratamentos com gel de AV e extrato de AN aumentaram o teor de antocianinas totais e a atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** *Vitis vinifera*, reguladores hormonais, maturação fenólica, antocianinas.

## ABSTRACT

The management of vineyards is essential for maintaining the phenolic quality of fine red wines. It is known that the accumulation of anthocyanins is regulated, at least in part, by abscisic acid, and the exogenous applications of this hormone increase the concentrations of anthocyanins and phenolic compounds in the grape, as well as in wine. The application of biostimulants derived from algae extract and plant extracts can be an alternative for the organic management of the vine. The objective of this work was to verify the effect of the application of biostimulants such as abscisic acid, *Ascophyllum nodosum* extract (L.) and *Aloe vera* gel on the phenolic quality of grape and wine. Thus, this study consisted of 7 treatments, including 2 concentrations of abscisic acid, *Ascophyllum nodosum* or *Aloe vera* gel, in addition to the control (without treatment). The experiment was carried out in a commercial winery in Campo Largo - PR, for two consecutive harvests (2017/18 and 2018/19), with two cvs. Merlot and Cabernet Sauvignon. Two applications were performed for seaweed extract and Aloe vera gel, when the bunches had 50 and 75% of the berries with coloration. For S-ABA, a single application was performed when the bunches presented 50% of their berries with coloration. The evaluations were as follows: content of anthocyanins and total polyphenols and; activity of the enzymes phenylalanine ammonia lyase, polyphenoloxidase and peroxidase in the epidermis. For the wine, in addition to the content of anthocyanins and total polyphenols, individual color and anthocyanin analysis and antioxidant activity were performed. For the cv. Cabernet Sauvignon, the applications of S-ABA increased the content of anthocyanins and total polyphenols, and the activity of FAL, in the epidermis and *Ascophyllum nodosum*. increased phenolic parameters in wine. *A. vera* gel influenced the color of the wine. For the cv. Merlot, S-ABA increased the content of anthocyanins and total polyphenols, and FAL activity in the epidermis of grapes, also increasing the quantification of monomeric anthocyanins in wine. *Ascophyllum nodosum* 0.4 mL L<sup>-1</sup> under field conditions increased total polyphenols and anthocyanins. Treatment with *A. vera* at 400 mg L<sup>-1</sup> had a positive effect on the increase in total polyphenol contents and PPO enzyme activity. For the analyses of the wine, treatments with *A. vera* gel and *A. nodosum* extract increased the total anthocyanin content and antioxidant activity.

**Keywords:** *Vitis vinifera*, hormone regulators, phenolic maturation, anthocyanins.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação esquemática das diferentes classes de compostos fenólicos. Adaptado de Biala e Jasinski (2018) e Nabavi et al. (2020). ..... 21
- Figura 2 - Apresentação esquemática das vias biossintéticas de flavonoide.....22
- Figura 3 - Estruturas químicas (S)-*cis*-ABA (A) e (R)-*cis*-ABA (B)..... 25
- Figura 4 - Mini tanques para a fermentação alcoólica..... 40
- Figura 5 - Análises de Componentes Principais para as análises fenólicas e de atividade enzimática para uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/18. FAL (Fenilalanina amônia-liase), PPO (Polifenoloxidase), POD (Peroxidase). TEST: testemunha (controle); ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. ..... 47
- Figura 6 - Análises de Componentes Principais para as variáveis fenólicas e enzimáticas para uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2018/19. FAL (Fenilalanina amônia-liase), POD (Peroxidase). TEST: testemunha (controle); ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>..... 48
- Figura 7 - Análises de Componentes Principais para as variáveis fenólicas do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>..... 50
- Figura 8 - Análises de Componentes Principais variáveis fenólicas e de cor do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2018/19. TEST: testemunha; ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04 *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.....51
- Figura 9 - Análises de Componentes Principais para Antocianinas Individuais do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400: 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>;



AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> ..... 53

Figura 10 - Análises de Componentes Principais para as análises de compostos fenólicos e de atividade enzimática de uvas cv. Merlot na safra 2017/18. FAL (Fenilalanina amônia-liase), PPO (Polifenoloxidase), POD (Peroxidase). TEST: testemunha; ABA400:S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> ..... 72

Figura 11-Análises de Componentes Principais das análises de compostos fenólicos e atividades enzimáticas para uvas da cv. Merlot na safra 2018/19. TEST: testemunha; ABA400:S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> ..... 73

Figura 12 -Análises de Componentes Principais das análises de compostos fenólicos e de índices de cor para o vinho de uvas cv. Merlot na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400:S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> ..... 74

Figura 13-Análises de Componentes Principais das análises dos compostos fenólicos e de índices cor para o vinho de uvas da cv. Merlot na safra 2018/19. TEST: testemunha; ABA400:S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> ..... 75

Figura 14 -Análises de Componentes Principais para Antocianinas Individuais no vinho da cv. Merlot na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400:S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> ..... 78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Antocianinas totais ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), polifenóis totais ( $\text{mg eaq } 100 \text{ L}^{-1}$ ), AL ( $\text{U g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), POD ( $\text{U g}^{-1}$ ) e PPO ( $\text{U g}^{-1}$ ) das bagas da cv. Cabernet Sauvignon tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19. ....	46
Tabela 2 – Antocianinas totais ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), polifenóis totais ( $\text{mg eaq } 100 \text{ L}^{-1}$ ), L, croma e ângulo hue do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19. ....	49
Tabela 3 – Antocianinas Individuais do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19. ....	52
Tabela 4 - Antocianinas totais ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), polifenóis totais ( $\text{mg eaq } 100 \text{ L}^{-1}$ ), FAL ( $\text{U g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), POD ( $\text{U g}^{-1}$ ) e PPO ( $\text{U g}^{-1}$ ) das bagas da cv. Merlot tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19. ....	76
Tabela 5 - Antocianinas totais ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), polifenóis totais ( $\text{mg eaq } 100 \text{ L}^{-1}$ ), L, croma, ângulo hue, índice CIRG e capacidade antioxidante DPPH ( $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ ) do vinho da cv. Merlot tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19. ....	76
Tabela 6 - Antocianinas Individuais do vinho da cv. Merlot tratadas em pré-colheita com diferentes produtos na safra 2017/18. ....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS

AN – *Ascophyllum nodosum*

AV - *Aloe vera*

FAL - Fenilalanina Amônia-liase

POD - Peroxidase

PPO - Polifenoloxidase

S-ABA – ácido abscísico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 ESTADO DA ARTE</b> .....	16
3.1 REGIÃO VITIVINÍCOLA ESTUDADA .....	16
3.2 CULTIVARES DE VIDEIRA AVALIADAS .....	16
3.2.1 Cabernet Sauvignon.....	16
3.2.2 Merlot .....	17
3.3 MATURAÇÃO DAS UVAS .....	17
3.4 PRINCIPAIS COMPOSTOS PRESENTES NAS UVAS E NOS VINHOS .....	18
3.4.1 Açúcares .....	19
3.4.2 Ácidos Orgânicos .....	19
3.4.3 Compostos Fenólicos.....	19
3.5 ROTA BIOSINTÉTICA DOS FENILPROPANÓIDES .....	21
3.6 ENZIMAS ANTIOXIDANTES .....	23
3.7 PRODUTOS APLICADOS.....	24
3.7.1 Ácido Abscísico.....	24
3.7.2 Extrato de Alga Marinha <i>Ascophyllum nodosum</i> .....	26
3.7.3 Gel de <i>Aloe vera</i> .....	28
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	30
<b>4 INFLUÊNCIA DE REGULADOR VEGETAL E BIOESTIMULANTES NA COMPOSIÇÃO FENÓLICA E NAS CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DA EPIDERME E DO VINHO DE UVAS ‘CABERNET SAUVIGNON’</b> .....	36
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.2.1 Delineamento Estatístico e Local do Experimento.....	39
4.2.2 Análise dos Compostos Fenólicos e Coloração.....	40

4.2.3 Atividade da Enzimática da Epiderme das Uvas.....	42
4.2.4 Análise da Atividade Antioxidante do Vinho.....	43
4.2.5 Análises das Antocianinas Individuais do Vinho.....	44
4.2.6 Análises Estatísticas .....	45
4.3 RESULTADOS .....	46
4.3.1 Análises Fenólicas, de Cor e Cor e Enzimáticas na Epiderme.....	46
4.3.2. Análises Fenólicas e de Coloração do Vinho .....	48
4.3.3 Antocianinas Individuais no Vinho .....	51
4.4 DISCUSSÃO .....	54
4.4.1 Análise Fenólica, de Cor e Enzimáticas na Epiderme.....	54
4.4.2 Análises Fenólicas e de Cor no Vinho .....	55
4.5 CONCLUSÃO.....	57
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>58</b>
<b>5 COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DA EPIDERMES E DO VINHO DE UVAS cv. MERLOT TRATADAS EM PRÉ-COLHEITA COM REGULADOR VEGETAL E BIOESTIMULANTES .....</b>	<b>62</b>
5.1 INTRODUÇÃO.....	63
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	65
5.2.1 Delineamento Estatístico e Local do Experimento.....	65
5.2.2 Análise dos Compostos Fenólicos e Coloração.....	66
5.2.3 Atividade Enzimática da Epiderme das Uvas.....	68
5.2.4 Análise da Atividade Antioxidante do Vinho.....	69
5.2.5 Análises das Antocianinas Individuais do Vinho.....	69
5.2.6 Análises Estatísticas .....	70
5.3 RESULTADOS .....	71
5.3.1 Compostos Fenólicos E Atividade Enzimática Da Epiderme Das Uvas.....	71
5.3.2 Análises dos Compostos Fenólicos, Índices de Cor e Atividade Antioxidante no Vinho .....	73

5.3.3 Antocianinas Individuais no Vinho .....	75
5.4 DISCUSSÃO .....	79
5.4.1 Compostos Fenólicos e Atividade Enzimática da Epiderme das Uvas .....	79
5.4.2 Análises dos Compostos Fenólicos, Índices de Cor e Atividade Antioxidante no Vinho .....	83
5.5 CONCLUSÃO.....	84
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da videira é influenciada pelas condições ambientais nos estádios fenológicos, principalmente na maturação dos cachos, afetando, conseqüentemente, a qualidade e a produtividade das uvas. Entre os principais fatores podem-se citar: a temperatura e umidade do ar, a precipitação pluviométrica e a radiação solar (FIORILLO et al., 2012). A coloração das bagas de uvas tintas é produzida por um grupo de antocianinas que proporcionam características importantes na elaboração de vinhos tintos de qualidade. Quanto mais intensa a cor, mais interessante se torna do ponto de vista funcional e do processamento em função do maior conteúdo de compostos fenólicos, além da capacidade antioxidante, anticarcinogênica e antiviral (ABE et al., 2007). Além disso, os consumidores preferem vinhos bem estruturados com cores intensas e uma agradável sensação na boca.

Estes tipos de vinhos podem ser feitos de uvas bem amadurecidas com um ótimo nível de maturidade fenólica e de açúcar. No entanto, é um fato conhecido que o clima em mudança pode modificar o processo de amadurecimento de maneiras substanciais (SALVI; BRUNETTI; MATTII, 2019). A introdução de ácido abscísico (*S-ABA*) como ingrediente ativo em um regulador vegetal de plantas (ProTone<sup>®</sup>) levou muitos estudos sobre as cultivares de *Vitis vinifera* (*V. vinifera*) em condições de clima temperado. Tais estudos mostram que a eficácia do *S-ABA* varia com a cultivar, a concentração *S-ABA*, o tempo de aplicação e as condições ambientais (KOYAMA et al., 2018), sendo que as aplicações exógenas desse regulador vegetal podem aumentar as concentrações de antocianinas e compostos fenólicos na uva (BURAN et al., 2012).

Os bioestimulantes derivados das algas marinhas como *Ascophyllum nodosum* (AN) são constituídos por vários fito-hormônios, principalmente auxinas e citocininas. Além disso, giberelinas, ácido abscísico, ácido jasmônico, poliaminas e alginatos também já foram descritos como constituídos por essas substâncias (KHAN et al., 2009; TANOU; ZIOGAS; MOLASSIOTIS, 2017).

O uso de bioestimulantes naturais na agricultura tem aumentado sobretudo devido à demanda da agricultura orgânica que necessita de fertilizantes, produtos fitossanitários e bioestimulantes. O extrato de alga da espécie *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis, membro da ordem Fucales e a família Fuaceae, vem sendo estudada principalmente por ser fonte natural de macro e micronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn, Cu e Zn), aminoácidos, citocininas, auxinas, e ácido abscísico, substâncias que afetam o metabolismo celular das plantas e

conduzem ao aumento do crescimento, bem como ao incremento da produtividade (AYUB et al., 2019; ZHANG; ERVIN, 2004).

Outro bioestimulante natural que vem ganhando espaço, é o gel de *Aloe vera* (AV). Seu uso tem se mostrado promissor como uma ferramenta para melhorar a qualidade e estender a vida pós-colheita de várias frutas. Os revestimentos de AV modificam a atmosfera interna do gás, reduzem a perda de umidade, diminuem a taxa respiratória e a proliferação de microrganismos, retardam o escurecimento oxidativo (KOUSHESH SABA; EMAMIFAR, 2016). Experimentos com altas concentrações de gel AV para verificar o seu efeito na manutenção da qualidade e no desenvolvimento de doenças em uvas de mesa cv. Thompson Seedless mostraram redução no crescimento de fungos e bactérias, elevação do teor de sólidos solúveis totais e da acidez titulável, bem como melhoria da aceitação dos frutos na análise sensorial (CHAUHAN; GUPTA; AGRAWAL, 2014).

A busca por alimentos provenientes de sistemas de produção sustentáveis, é uma tendência que vem se fortalecendo e sendo consolidada mundialmente. Se a aplicação do ácido abscísico, gel AV e do extrato de algo AN promoveram incremento no teor de antocianinas e compostos fenólicos na baga, isso poderá proporcionar vinhos de qualidade superior.



## 2 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos das aplicações de ácido abscísico, gel de *Aloe vera* e do extrato de alga *Ascophyllum nodosum* na composição fenólica e nas características cromáticas da uva e do vinho de cultivares viníferas.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Avaliar os efeitos da aplicação em pré-colheita do ácido abscísico, do extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e do gel de *Aloe vera* sobre o acúmulo de compostos fenólicos e grau de coloração das cascas de uvas das cultivares Cabernet Sauvignon e Merlot;
- ii. Avaliar as características físicas, químicas e atividade enzimática de bagas de uvas das cultivares Cabernet Sauvignon e Merlot submetidas à aplicação de ácido abscísico, extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e do gel de *Aloe vera*;
- iii. Avaliar a coloração, atividade antioxidante e composição fenólica de vinhos elaborados a partir de uvas Cabernet Sauvignon e Merlot, submetidas à aplicação de ácido abscísico, extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e do gel de *Aloe vera*.
- iv. Determinar e quantificar as antocianinas individuais em vinhos elaborados a partir de uvas submetidas à aplicação de ácido abscísico, extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e do gel de *Aloe vera*.

### 3 ESTADO DA ARTE

#### 3.1 REGIÃO VITIVINÍCOLA ESTUDADA

No estado do Paraná a produção de uva é majoritariamente de uvas destinadas ao consumo *in natura*, as uvas de mesa. As cultivares Redglobe, Benitaka, Brasil, Itália, Rubi, Centennial Seedless e Niagara Rosada são as de maior importância econômica (BOLIANI; CORRÊA, 2001). No Brasil, a cultura da videira, ocupa uma área de 74.885 hectares, e está presente em diversas regiões do país, sendo o RS responsável por 60 % da área nacional (IBGE, 2021). A produção paranaense na safra de 2019/20 foi de 48.000 toneladas em 4000 hectares, com uma redução de 11,11 % em relação à safra anterior (IBGE, 2021). A produção paranaense abrange duas regiões distintas: região metropolitana de Curitiba aonde são produzidas uvas americanas e híbridas destinadas à vinificação e ao mercado *in natura* e no norte do Estado, onde a exploração é altamente tecnificada, propiciando duas safras anuais, que somente é possível devido ao clima local e ao uso da cianamida hidrogenada, para homogeneidade da brotação (KISHINO; DE CARVALHO; ROBERTO, 2007).

A Região dos Campos Gerais, abrange vários municípios, incluindo Ponta Grossa, PR (latitude 25° 09' 08''S e longitude 50° 10' 45' W). A altitude é de 840m, com relevo suave ondulado, clima Cfb na classificação de Köppen (subtropical com chuvas bem distribuídas durante o ano, verões amenos) e solo Latossolo Vermelho distrófico de textura argilosa (ALVARES et al., 2013).

#### 3.2 CULTIVARES DE VIDEIRA AVALIADAS

##### 3.2.1 Cabernet Sauvignon

É uma cultivar vinífera clássica, pois é cultivada em todas as regiões vitícolas do mundo (*Vitis vinifera* L.). Proveniente da região de Bordeaux, na França, a 'Cabernet Sauvignon' é resultado de um bem sucedido cruzamento natural entre a cultivar Cabernet Franc com a cultivar Sauvignon Blanc produzida com êxito em muitas regiões vitícolas (LERIN, 2014).

Com o aumento da produção de vinhos varietais tornou-se a vinífera tinta mais importante e com maior área cultivada do Estado do Rio Grande do Sul. É uma cultivar muito vigorosa e medianamente produtiva. Em vinhedos bem conduzidos obtêm-se uvas aptas à elaboração de vinhos típicos, que podem evoluir em qualidade com alguns anos de envelhecimento (LERIN, 2014).

Em Santa Catarina, tem se destacado em regiões de altitudes elevadas, pois seu ciclo é mais longo e devido ao clima frio, sua maturação fica para o mês de abril nessas regiões, com isso, alcança um elevado índice de maturação, em torno de 23,5° Brix, o que vem a proporcionar um vinho nacional de elevada qualidade, como exemplo de regiões de clima frio tem-se São Joaquim-SC. De maturação tardia, sensível ao míldio e à antracnose, seu potencial de maturação é elevado, origina vinhos tintos com coloração vermelho-rubi intenso, aromas herbáceos que evoluem com o envelhecimento, dependendo da safra (BOTELHO; PIRES, 2009).

### 3.2.2 Merlot

Proveniente da região de Bordeaux, na França, a cultivar Merlot foi obtida no cruzamento da ‘Cabernet Franc’ com a ‘Magdeleine Noire des Charentes’. Cultivar de maturação mais precoce que a ‘Cabernet Franc’, sensível ao míldio no cacho na fase de floração, sendo necessário o combate intenso com fungicidas de ação sistêmica. Tem um elevado potencial de maturação, ultrapassando facilmente os 20° Brix, conforme a safra. Seus vinhos são macios, com aromas menos pronunciados que os das Cabernets, com coloração vermelho vivo. Se adaptou muito bem às condições da Serra gaúcha, pois seus cachos são mais soltos que os das Cabernets, fazendo com que a água das chuvas ou de orvalho não fique acumulada entre as bagas, diminuindo o índice de podridões (BOTELHO; PIRES, 2009).

A uva ‘Merlot’ de melhor qualidade cresce em terreno rochoso, árido, mas é bastante adaptável a solos argilosos, mesmo em climas frios e úmidos. Por florescer cedo, a preocupação principal dos produtores é a susceptibilidade à quebra de produção provocada por geada, chuva ou ondas de calor no início da primavera. A baga de Merlot é relativamente fina de pele e um pouco propensa a apodrecer (OLIVEIRA, 2012).

### 3.3 MATURAÇÃO DAS UVAS

O período de maturação das uvas abrange o período que vai da mudança de cor até a colheita, normalmente com duração de 30 a 80 dias, dependendo da cultivar da videira e da região de cultivo (MOTA et al., 2006). Esse período é a consequência de diversos processos fisiológicos e bioquímicos dos frutos, os quais são influenciados pelos fatores ambientais, genéticos e nutricionais (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

A fase I caracteriza-se pelo crescimento das sementes e do pericarpo. Nas primeiras semanas, ocorre a divisão celular e até o final desta fase o número total de células nas bagas é estabilizado, ocorrendo então à expansão do volume das bagas com o acúmulo de solutos

(KENNEDY, 2002). Nesse período predomina o pigmento da clorofila, as bagas apresentam intensa atividade metabólica e acúmulo de ácidos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

O início da fase II caracteriza-se pelo pequeno crescimento do pericarpo e amadurecimento da semente. O conteúdo de clorofila e as taxas de fotossíntese e respiração decrescem. Neste estágio, a baga apresenta altos teores de ácidos, inicia a síntese de açúcar, a perda de clorofila, iniciando o período de mudança de cor (TONIETTO; CARBONNEAU, 1999).

Na fase III ocorre a maturação, sendo o início do amadurecimento das bagas conhecido pela palavra “veraison”, derivada do francês, que mundialmente significa troca de coloração das bagas das uvas. Nessa fase ocorrem profundas modificações fisiológicas como a parada do crescimento dos ramos (dependendo da região), parada temporária do aumento das bagas, mudança de coloração da epiderme, diminuição da acidez, aumento do pH e acúmulo de açúcares, principalmente a glicose e a frutose (KENNEDY, 2002; LE MOIGNE et al., 2008). Segundo Rybéreau-Gayon et al. (2006), as bagas perdem a dureza na consistência, assumindo, progressivamente, a coloração típica da cultivar: do verde, passam ao amarelo nas uvas brancas (pigmentação dos flavonóis) e ao vermelho-violáceo nas uvas tintas (pigmentação das antocianinas).

Durante a maturação da uva é monitorada as variações nos teores de açúcares e de ácidos orgânicos presentes na polpa das bagas, avaliando o momento mais propício para a realização da colheita (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006), estabelecendo assim, a maturação tecnológica. A maturação fenólica também é uma característica importante, sendo o ponto ideal de colheita quando as bagas apresentam elevadas concentrações de antocianinas (KENNEDY, 2002), que são responsáveis pela cor e estrutura dos vinhos (BONGHI et al., 2012).

### 3.4 PRINCIPAIS COMPOSTOS PRESENTES NAS UVAS E NOS VINHOS

A baga da uva é formada pela semente, polpa e casca. A casca representa cerca de 5 a 10% do peso da baga, sendo responsável pela pigmentação, sabor e aroma (LECAS; BRILLOUET, 1994). A polpa constitui aproximadamente, 78% do peso da baga, sendo composta de açúcares (glicose e frutose), ácidos orgânicos (tartárico e málico), cátions minerais (principalmente potássio), compostos nitrogenados (proteínas, amônias e aminoácidos), substâncias pécticas (polímeros de ácido galacturônico) e compostos fenólicos não flavonoides. A semente representa cerca de 4% do peso, sendo responsável pela qualidade final do vinho, pois contribui significativamente com compostos, como as procianidinas, responsáveis pelos atributos de adstringência e amargor (WATSON, 2003).

### 3.4.1 Açúcares

Segundo Dai et al. (2011) os açúcares das uvas apresentam importância tanto na determinação da concentração de álcool após a fermentação, quanto para síntese de ácidos orgânicos, fenólicos e compostos aromáticos. Para a determinação do ponto de colheita, o teor de sólidos solúveis totais na uva é um dos critérios mais importantes, sendo que os açúcares representam aproximadamente 90% deste índice. Existe uma elevada variabilidade genética na composição e na concentração de açúcares na *V. vinifera* L. (DAI et al., 2011).

Na fermentação alcoólica, as leveduras presentes no mosto da uva transformam os açúcares em álcool etílico e gás carbônico. Assim para obtenção de 10º graus Gay-Lussac (GL) no vinho, são necessários 180 gramas de açúcar por litro de mosto, pois sabe-se que, para a obtenção de 1º GL de álcool, são necessários 18 gramas de açúcar da uva (GUERRA, 2002).. Segundo Watson (2003), o potencial alcoólico de um vinho pode ser estimado a partir do teor de sólidos solúveis totais das bagas, multiplicando-se por 0,55 para uvas tintas e 0,60 para uvas brancas.

### 3.4.2 Ácidos Orgânicos

Os ácidos tartárico e málico representam 90% da acidez total, enquanto o ácido cítrico de 5 a 10%. Esses ácidos representam a acidez da uva na sua fase de maturação. O teor de acidez vai diminuindo à medida que a uva vai maturando. Esta diminuição ocorre devido à diluição dos ácidos através da entrada de água nas bagas e pela respiração, em que os principais substratos da respiração são os ácidos málico e tartárico (CONDE et al., 2007).

### 3.4.3 Compostos Fenólicos

São substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais radicais hidroxílicos, nas formas simples ou de polímeros (ANGELO; JORGE, 2007). Entre as frutas, a uva é uma das maiores fontes de compostos fenólicos, os quais são encontrados principalmente na epiderme e na semente, apresentando pouco conteúdo na polpa. Esses compostos são responsáveis por diversos atributos sensoriais nos vinhos, como por exemplo, cor, sabor e aroma (WATSON, 2003).

A formação desses compostos ocorre pelo metabolismo secundário das plantas, através das via glicolíticas e pentose fosfato da respiração (GONZÁLEZ-NEVES et al., 2011). Nas plantas, os açúcares provenientes da fotossíntese podem seguir duas distintas rotas metabólicas: a via dos metabólitos primários, que é destinada a respiração celular e produção de ATP e a

segunda rota que é a via da síntese dos metabólitos secundários específicos para composto formado, sendo os fenólicos formado pelas vias do ácido chiquímico e malônico. As antocianinas e flavonóis, que são fenólicos, formados de cadeia de 15 carbonos, sendo 6 carbonos oriundos da rota do ácido malônico e 6 vindos da rota do ácido chiquímico (CONDE et al., 2007).

Os compostos fenólicos apresentam grande importância para o crescimento e a reprodução das plantas, atuando também como antioxidantes (condições de estresse, como infecções, ferimentos) e proteção contra as radiações (RUSJAN; VEBERIČ; MIKULIČ-PETKOVŠEK, 2012). Ainda contribuem na pigmentação, adstringência, aromas e estabilidade oxidativa. Estes compostos são responsáveis pela composição qualitativa e organoléptica dos vinhos, como a cor, corpo e adstringência (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Segundo González-Nevez et al. (2011), os principais compostos fenólicos encontrados nas uvas e nos vinhos são classificados em: flavonoides e não-flavonoides. Estes últimos compreendem os ácidos fenólicos e seus derivados como os estilbenos, o qual pertence o resveratrol. Os compostos flavonoides representam o maior grupo de polifenóis encontrados nos alimentos (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000), apresentando alta capacidade antioxidante. Caracterizando-se por um esqueleto de 15 carbonos, os flavonoides mais comuns presentes nas uvas e nos vinhos tintos abrangem os flavonóis e as antocianinas. Esses compostos são responsáveis pelas características de cor e estrutura dos vinhos (DOWNEY; DOKOOZLIAN; KRSTIC, 2006; SPÁČIL; NOVÁKOVÁ; SOLICH, 2008).

As antocianinas estão largamente distribuídas na natureza e são responsáveis pelos pigmentos (das cores azuis, violeta e todas as tonalidades de vermelho), encontrados nas flores, frutos, caules e raízes, localizados nos vacúolos das células (RODRIGUEZ-SAONA; GIUSTI; WROLSTAD, 1998). Nas uvas, as antocianinas encontram-se principalmente nas cascas e raramente são encontradas na polpa (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Nas uvas de cultivares *V. vinifera* L. as principais antocianinas são: cianidina, peonidina, malvidina, petunidina, delphinidina, com predominância de malvidina-3-glicosídeo (Figura 1) (DAI et al., 2011). Os teores, bem como a composição das antocianinas presentes nas uvas tintas dependem da cultivar, estágio de maturação das bagas, fatores ambientais e práticas culturais (OLLÉ et al., 2011).

A síntese e o acúmulo dos compostos fenólicos são grandemente influenciados pelas condições do meio, incluindo a luz, temperatura do ar, altitude, tipo do solo, disponibilidade hídrica, estado nutricional, incidência de doenças (DOWNEY; DOKOOZLIAN; KRSTIC, 2006; DAI et al., 2011).

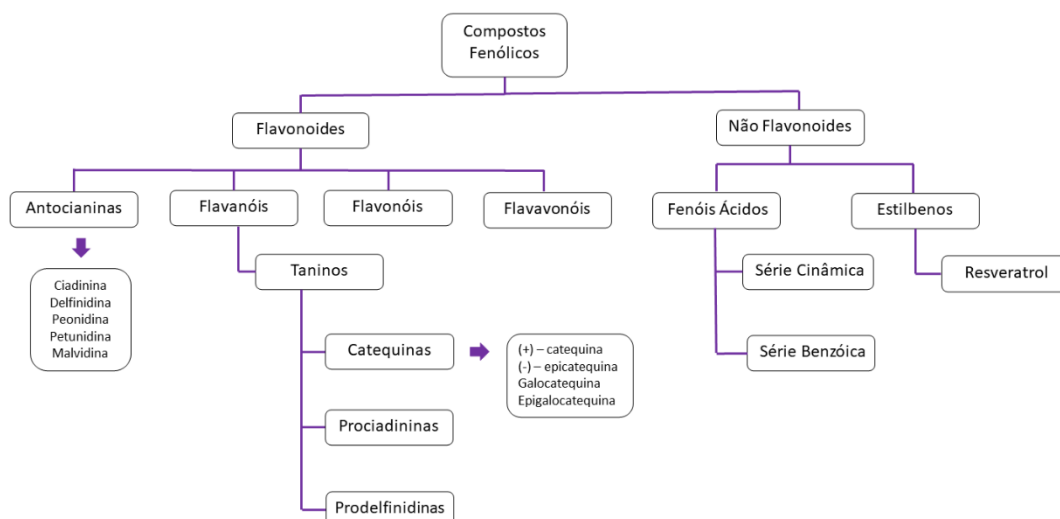


Figura 1 - Representação esquemática das diferentes classes de compostos fenólicos. Adaptado de Biala e Jasinski (2018) e Nabavi et al. (2020).

### 3.5 ROTA BIOSINTÉTICA DOS FENILPROPANÓIDES

Segundo Seymour et al.(2013), os flavonoides são produzidos através da via dos fenilpropanóides, começando pela fenilalanina amônia-liase (FAL), proveniente da rota do ácido chiquimico, através da desaminação não oxidativa da L-fenilalanina em ácido cinâmico, uma reação muito importante na regulação do fluxo de carbono desta via, pois ela é a enzima chave reguladora da síntese da maioria dos compostos fenólicos na baga.

As enzimas que estão envolvidas na biossíntese de antocianinas estão localizadas nas membranas do reticulo endoplasmático ou no citoplasma. Neste último compartimento ocorrem os últimos passos de sua produção, sendo as antocianinas posteriormente transportadas e armazenadas no vacúolo.

Uma das enzimas-chave na via biossintética dos flavonóis é a chalcona sintase (CHS) (Figura 2), uma poliketide sintase que catalisa a síntese de 2', 4, 4', 6' tetrahidroxichalcona (THC), a partir de 1 mol 4-cumoril-CoA e 3 mols de malonil-CoA. A THC é rapidamente isomerizada para (2S)-naringerina pela chalcona isomerase (CHI), iniciando rapidamente a síntese da rota dos flavonoides. Pela ação da chalcona isomerase (CHI), a flavona 3 hidroxilase (F3H), flavonoide 3' hidroxilase (F3'H) e flavonoide 3', 5' hidroxilase (F3'5'H) (últimas enzimas chaves para geração de dihidroxilados ou trihidroxilados, que influencia no tipo de coloração das bagas) geram os intermediários dihidrocampferol, dihidroquercetina e dihidromiricetina, que por ação da flavonol sintase (FLS) produzem os flavonoides. Posteriormente, a enzima 4-dihidroflavonol redutase (DFR) e a leucoantocianidina redutase

(LAR) e a redutaseR (ANS) que convertem a leucoantocianidina e antocianidina em catequina e epicatequina formando os taninos (SEYMOUR et al., 2013).

Finalmente, a biossíntese das antocianinas é catalisada pela enzima UDP-glucose: flavonoide-3-O-glicosiltransferase (UFGT), que catalisa a glicosilação de antocianidinas instáveis (cianidina e delphinidina) em antocianinas pigmentadas (cianidina 3 glicosídeo e delphinidina 3-glicosídeo), e a partir destas antocianinas através da ação da enzima ortometiltransferase (OMT) formando as principais antocianinas, que finalmente são acumuladas em vacúolos produzindo a cor característica de uvas vermelhas (CASTELLARIN et al., 2007).

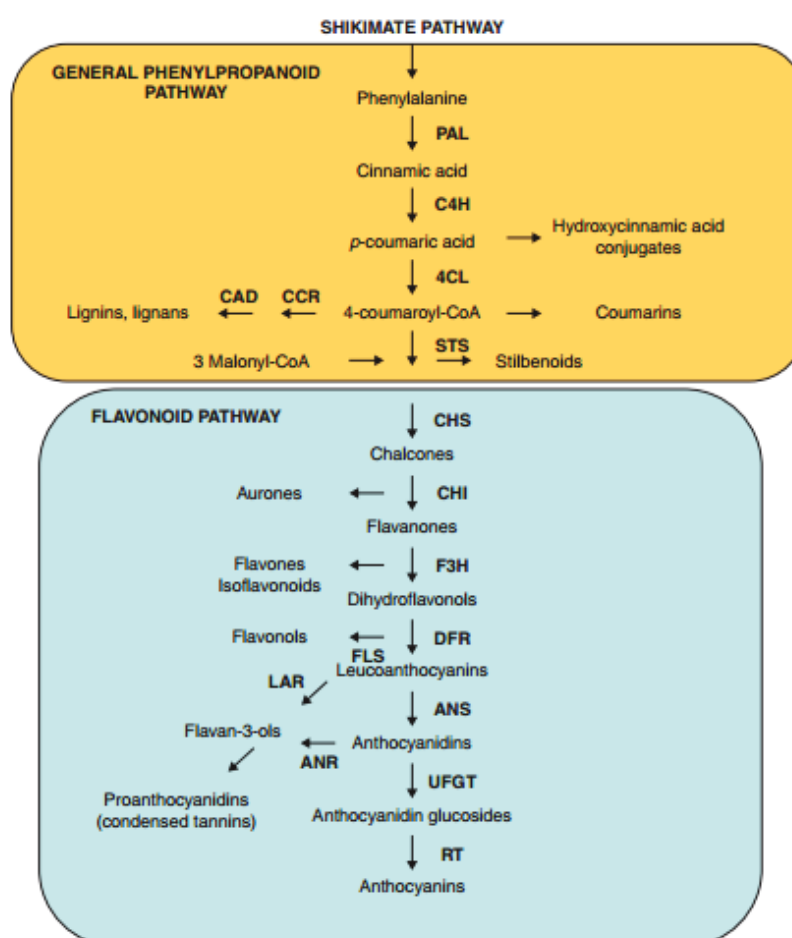


Figura 2 - Apresentação esquemática das vias biossintéticas fenilpropanóide e flavonoide. PAL, fenilalanina amônia-liase; C4H, cinamato 4-hidroxilase; 4CL, 4-cumaroylo: CoA-ligase; CCR, cinamilico-CoA redutase; CAD, álcool desidrogenase cinamilico; STS, estilbeno sintase; CHS, chalcona sintase; CHI, chalcona isomerase; F3H, flavanona 3-hidroxilase; FLS, flavonol sintase; DFR, 4-redutase de di-hidroflavonol; LAR, leucoantocianidina redutase; ANR, antocianidina redutase; ANS, antocianidina sintase; UFGT, UDP glucose-flavonoide 3-o-glucosil transferase; RT, ramosil transferase (SEYMOUR et al., 2013).

Existem duas vias principais que transportam derivados de flavonoides do retículo endoplasmático: o transporte intracelular para o vacúolo e o transporte extracelular para a parede celular. Existem dois transportadores principais para catalisar o transporte de



flavonoides: MATE (multidrug and toxic compound extrusion) que podem estar envolvidos no transporte intracelular das antocianinas e glutathione transferases (GST) com o auxílio de transportadores ativos (ATP-binding cassette) que pertencem a família de proteínas associadas à multirresistência (MRP) (SEYMOUR et al., 2013).

Flavonoides conjugados com GST são acumulados no vacúolo por transportadores do tipo ABC. Flavonoides glicosilados, como antocianinas, apigeninas e catequinas, podem utilizar o mecanismo de transporte secundário através de proteínas MATE e MRP. A estrutura vacuolar que acumula antocianina costuma ser nomeada como inclusão vacuolar antociânica (AVI) e, em seu interior, pode ser encontrada uma mistura complexa de antocianinas, proantocianidinas e outros compostos (SEYMOUR et al., 2013).

De acordo com Petroni e Tonelli (2011), em cultivares de uva tinta, a síntese de antocianina é controlada por dois genes MYB (VvMYBA1 e VvMYBA2), que regula a transcrição do mRNA codificadores das UDP glicose:flavonoide-3-O-glicosiltransferases (UFGT). A expressão dos genes MYB está fortemente correlacionada com os acúmulos de antocianinas, bem como a biossíntese dos flavonoides.

Na videira, os genes MYB são caracterizados essencialmente no controle da síntese de flavonoides: MYB5a e MYB5b por via dos flavonoides geral (DELUC et al., 2006; DELUC et al., 2008) MYBF1 relacionado com a síntese de flavonóis (CZEMMEL et al., 2009), MYBPA1 relacionado com a síntese de proantocianidinas (BOGS et al., 2007) MYBA1 relacionado com a síntese de antocianinas, regulando positivamente a expressão de OMT e UFGT (KOBAYASHI et al., 2002), e armazenamento de antocianinas regulando a expressão de GST e MATE, proteínas que são requeridas para o transporte vacuolar de flavonoides (CUTANDA-PEREZ et al., 2009).

A síntese e o acúmulo dos compostos fenólicos são grandemente influenciados pelas condições do meio, incluindo a luz, temperatura do ar, altitude, tipo do solo, disponibilidade hídrica, estado nutricional, incidência de doenças, entre outros processos de desenvolvimento (DOWNEY; DOKOOZLIAN; KRSTIC, 2006; DAI et al., 2011).

### 3.6 ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Durante o estado normal dos organismos, o oxigênio molecular é relativamente não reativo. no entanto, durante a atividade metabólica normal, como, por exemplo, no transporte de elétrons nos cloroplastos, nas mitocôndrias e na membrana plasmática e/ou como consequência da perturbação do ambiente (temperaturas extremas, seca, salinidade, radiação ultravioleta, ozônio, doenças, herbicidas, poluentes, etc.) podem ser

formadas as espécies reativas do oxigênio (ERO), também conhecidas como “*reactive oxygen species*” (ROS). As ERO são formadas pelos radicais livres, como os radicais superóxido ( $O_2^-$ ) e os radicais hidroxila ( $OH^\cdot$ ). Quando essas EROs são produzidas em excesso, superando a ação do sistema antioxidativo, ocorre o estresse oxidativo (SCANDALIOS, 2005; WRZACZEK; BROSCHE; KANGASJÄRVI, 2013). Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das EROs, porém, a membrana é um dos locais mais atingidos em decorrência da peroxidação lipídica.

A peroxidação lipídica é o processo pelo qual as EROs, produzidas em excesso, agredem os ácidos graxos poli-insaturados dos fosfolipídios das membranas celulares, desintegrando-as e permitindo a entrada dessas espécies nas estruturas intracelulares, além de alterarem a funcionalidade das membranas. Isso tudo leva à perda da seletividade na troca iônica e extravasamento iônico, além da liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomas e formação de produtos citotóxicos, culminando com a morte celular (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003).

Para minimizar os efeitos deletérios das EROs e modular sua quantidade, os organismos aeróbicos desenvolveram um sistema defensivo antioxidante, enzimático e um não enzimático. O sistema defensivo enzimático, envolve as superóxidos dismutases (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) e glutathione S-transferase (GSTs) (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; SCANDALIOS, 2005).

As peroxidases desempenham importante papel na biossíntese da parede celular, podendo ajudar na defesa ao ataque de patógenos, aumentando as barreiras mecânicas, tornando a penetração do patógeno mais lenta, mas também estão envolvidas nas respostas ao estresse. São encontradas em diversas isoformas, que usam diferentes redutores e estão localizadas em diversos compartimentos celulares (LACAMPAGNE; GAGNÉ; GÉNY, 2010).

### 3.7 PRODUTOS APLICADOS

#### 3.7.1 Ácido Abscísico

O ácido (*S*) – cis – abscísico (*S*-ABA) é um regulador vegetal que regula diversos processos no ciclo das plantas. Está envolvido nas respostas a estresses ambientais, tais como a baixa disponibilidade de água, baixas temperaturas e alta salinidade. Desempenha também uma importante função no desenvolvimento e germinação das sementes e gemas. Sob condições ambientais favoráveis, o *S*-ABA regula o grau de abertura dos estômatos e reduz a perda de

água por transpiração (KERBAUY, 2004; TAIZ, L.; ZEIGER, E., 2013)) e também é responsável pelo acúmulo de pigmentos e reservas.

O *S*-ABA é um composto de 15 carbonos, um sesquiterpeno, sendo os isômeros *cis* e *trans* determinados pela orientação do grupo carboxila no carbono 2. Além disso, possui um átomo de carbono assimétrico na posição 1' do anel, resultando nos enantiômeros *S* e *R* (Figura 3). O *S*-ABA sintético disponível comercialmente para uso laboratorial é a mistura de quantidades aproximadamente iguais desses enantiômeros (VALENT BIOSCIENCES CORPORATION, 2010).



Figura 3 - Estruturas químicas (*S*)-*cis*-ABA (A) e (*R*)-*cis*-ABA (B).

O *S*-ABA pode ser encontrado desde o ápice caulinar até a coifa, estando presente em todas as células vivas do vegetal. Como ocorre com outros hormônios, a concentração endógena de ácido abscísico é geralmente baixa e determinada pelo balanço dinâmico entre biossíntese e degradação. Esses processos, por sua vez, são regulados pela fase de desenvolvimento da planta, por fatores ambientais e pela interação com outros hormônios vegetais (KERBAUY, 2004), (TAIZ, L.; ZEIGER, E., 2013).

Uma elevação na concentração endógena de *S*-ABA é observada em tecidos vegetais submetidos a estresses ambientais. O ácido abscísico é transportado pelo floema, xilema e células parenquimáticas, havendo intercâmbio entre folhas adultas, folhas jovens e raízes (KERBAUY, 2004; TAIZ, L.; ZEIGER, E., 2013).

O *S*-ABA também tem sido associado ao processo fisiológico de maturação de uvas, incluindo a acumulação de antocianinas nas cascas das bagas. Sabe-se que a expressão das antocianinas depende de fatores internos, como o ácido abscísico (*S*-ABA), que induz o fator de transcrição *MYB1A*, proteína encarregada de regular a transcrição de genes que compõem a rota biossintética das antocianinas das uvas tintas (JEONG et al., 2004).

Vários trabalhos sugerem que aplicações exógenas de *S*-ABA proporcionam aumento no teor de antocianinas na casca de uvas, antecipando a época de colheita. Estudos demonstram que aplicações exógenas de *S*-ABA e ácido 2-cloroetil fosfônico (etefom), antecipam a época de colheita e aumentam as concentrações de antocianinas e proantocianidinas nas cascas das

uvas, melhorando consideravelmente sua coloração, proporcionando maior uniformidade e qualidade (KOYAMA et al., 2014a, 2014b, 2018; YAMAMOTO et al., 2015).

Quanto mais intensa a cor da uva, mais interessante se torna do ponto de vista funcional e do processamento, devido ao fato de que as uvas de cor escura apresentam maior conteúdo de compostos fenólicos, além da capacidade antioxidante, anticarcinogênica e antiviral (ABE et al., 2007).

Segundo Gardin et al. (2012), a aplicação exógena de *S*-ABA demonstrou efeito significativo, o qual promoveu aumento do grau de maturação da uva ‘Cabernet Sauvignon’, com as doses de 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de *S*-ABA (ProTone<sup>®</sup>) mais etefom, aplicado na mudança de cor da casca, indicado pelo aumento do índice CIRG (índice de cor para uvas tintas) com o aumento da concentração aplicada. Esses resultados demonstram que o *S*-ABA exerce efeito na maturação das uvas, principalmente por influenciar na coloração e na uniformidade. Wheeler et al. (2009), pulverizou *S*-ABA nos cachos de ‘Cabernet Sauvignon’ em duas concentrações de 5 e 400 mg L<sup>-1</sup>, sendo esta última dose a que induziu maior acúmulo de antocianinas.

Roberto et al. (2012) observaram menores valores de luminosidade (L\*), nas duas safras, com duas aplicações de 200 mg L<sup>-1</sup> de *S*-ABA 7 DAV (dias após ‘veraison’) e 15 DAC (dias antes da colheita), e 400 mg L<sup>-1</sup> 7 DAV e 15 DAC na uva Benitaka, indicando que as bagas estavam com coloração mais escura. Para as mesmas doses, houve incremento de coloração através do índice CIRG. Na uva Rubi, Roberto et al. (2013) também encontraram menores valores de luminosidade com duas aplicações de *S*-ABA (400 mg L<sup>-1</sup> 7 DAV e 15 DAC) e aumento no índice CIRG.

Pessenti et al. (2017a) observaram aumento significativo na concentração de antocianinas totais com a aplicação de *S*-ABA nas concentrações de 400 e 600 mgL<sup>-1</sup>, com incrementos de 125 e 117 % em relação à testemunha, respectivamente, na cv. Malbec. Para a cv. Primitivo, o teor de flavonoides aumentou entre 130 e 133% em relação ao tratamento testemunha, nas concentrações de 400 e 600 mg L<sup>-1</sup> (PESENTI; AYUB; BOTELHO, 2017b). Resultados similares foram encontrados por Pessenti et al. (2019).

### 3.7.2 Extrato de Alga Marinha *Ascophyllum nodosum*

As algas pardas ou marrons exclusivamente marinhas, sendo utilizadas para diversas finalidades, desde segmentos alimentícios, farmacêuticos, cosméticos, da indústria tintureira e empregadas em sistemas de produção agrícola. A espécie *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis destaca-se dentre as algas marinhas comumente utilizadas (UGARTE; SHARP; MOORE, 2006) e tem sido muito estudada por suas propriedades, que incluem desde a promoção de

crescimento vegetal ao uso na alimentação humana e animal (KHAN et al., 2009). A utilização de extratos de algas na agricultura tem crescido, principalmente por ser uma alternativa ao uso de fertilizantes no sistema agrícola e por reduzir o impacto ambiental (AYUB et al., 2019; SANTANIELLO et al., 2017) .

Esse avanço deve-se aos compostos bióticos existentes nos extratos de algas que melhoram o desempenho das plantas e sua tolerância a estresses abióticos e bióticos durante seu cultivo. Entre as espécies de algas que estão sendo utilizadas, a *Ascophyllum nodosum*, possui grande potencial bioestimulante, estudada principalmente por conter fitohormônios em sua constituição, principalmente auxinas e citocininas (ZHANG et al., 2001; ZHANG; ERVIN, 2004). Também podem apresentar betainas (NORRIE; KEATHLEY, 2006; UGARTE; SHARP; MOORE, 2006) giberelinas, ácido abscísico, ácido jasmônico, poliaminas e alginatos (KOK et al., 2010), além de compostos orgânicos e inorgânicos, como nutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas, carboidratos e aminoácidos (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014; KHAN et al., 2009).

Vários trabalhos têm comprovado a eficiência da *A. nodosum* no aumento das antocianinas totais das uvas vermelhas (PARRADO et al., 2007). O extrato da alga *Ascophyllum nodosum* aplicado de 15 cm a 20 cm de distância, na pré-floração e na baga (tamanho de ervilha) melhoraram o brilho e a coloração das uvas Trakya Ilkeren (KOK et al., 2010). Pulverizações foliares com produtos de algas também podem melhorar o tamanho da baga e o rendimento e qualidade da uva (NORRIE; BRANSON; KEATHLEY, 2002, NORRIE; KEATHLEY, 2006) Estudos têm demonstrado que várias aplicações de K, além de práticas de cultivo padrão, levam à antecipação da maturação e uniformidade na cor de uva. Da mesma forma, Topalovic et al. (2011) relataram um aumento de açúcares totais e antocianinas totais com aplicações foliares de P e K.

Zhang e Ervin (2004) verificaram maior tolerância à seca em função da aplicação de *A. nodosum* em plantas de *Agrostis palustris*. Pesquisas sobre a utilização de extratos de algas no processo pós-colheita estão em fase incipiente. Em estudo recente, Fan et al. (2014) efetuaram a aplicação pré-colheita de *A. nodosum* em espinafre (*Spinacia oleracea*) e avaliaram os efeitos no processo de armazenamento.

Fan et al. (2011, 2014) efetuaram a aplicação pré-colheita de *A. nodosum* em espinafre (*Spinacia oleracea*) e avaliaram os efeitos no processo de armazenamento. Os resultados demonstraram que a concentração de aproximadamente 1,0 g L<sup>-1</sup> proporcionou maior qualidade pós-colheita das folhas de espinafre, pois reduziu a perda de massa fresca, melhorou a qualidade visual e turgor durante o período de armazenamento, bem como reduziu a atividade da

peroxidase lipídica nas folhas que apresentavam danos mecânicos, sugerindo assim menor estresse oxidativo nas folhas quando efetuado a aplicação de *A. nodosum*. Acredita-se que o emprego de extratos de algas na pós-colheita de frutos e hortaliças possa apresentar grande potencial de utilização, entretanto, há necessidade de mais estudos para comprovar e adequar o emprego dos extratos.

Salvi et al. (2019) observaram maior teor de açúcar, antocianinas e polifenóis totais com aplicação de *A. nodosum* quando comparado com o controle, especialmente pela adição de elementos minerais como nitrogênio e potássio. Esses mesmos autores observaram alta correlação de polifenóis extraíveis e de teor de açúcar na colheita quando tratados com extratos de algas, alto teor de polifenóis associado, de nível alcoólico mais baixo, proporcionando vinhos de alta qualidade. Na mesma linha, Frioni et al. (2018) encontraram acúmulo de antocianinas em todas as cultivares e aumento do conteúdo fenólico, em ‘Sangiovese’. Portanto, a aplicação tardia do extrato de algas marinhas pode ser uma maneira simples de favorecer propriedades cromáticas e químicas de uvas e vinhos.

Viencz et al. (2020) observou aumento nos teores de compostos fenólicos das ameixas ‘Irati’, onde os valores apresentaram efeito linear positivo quando submetidos ao produto contendo o extrato de alga *A. nodosum*, onde as maiores concentrações apresentavam os maiores valores. Para luminosidade, a cultivar Irati apresentou efeito quadrático somente nos frutos submetidos ao produto contendo o extrato de *A. nodosum*, onde as maiores concentrações apresentaram valores maiores de luminosidade. A firmeza da polpa dos frutos apresentou efeito significativo, quando aplicado extrato de *A. nodosum*. Para a cultivar Reubennel a atividade das enzimas pectinametilsterase e poligalacturonase apresentaram efeito linear positivo quanto às concentrações de extrato de alga *A. nodosum*.

Ayub et al. (2019) verificaram que a aplicação de *A. nodosum* a 0,4% apresentou o maior número de frutos por planta e maior crescimento nos ramos, sendo significativamente superior à testemunha, promovendo um aumento de 30% em macieiras cv. Gala. Para os valores de produtividade por planta, observou-se que a *A. nodosum* apresentou maior média.

### 3.7.3 Gel de *Aloe vera*

A espécie *Aloe vera* é uma planta da família Liliaceae, de regiões tropicais e subtropicais, xerófita suculenta perene, que compreende mais de 500 espécies. É uma das plantas medicinais mais importantes do mundo, pois é amplamente utilizada como matéria-prima para vários produtos, em diversas áreas. Sua composição permite a sua utilização medicinal, cosmética, composição de bebidas e inúmeros outros usos na indústria alimentícia.

Entretanto, conhecendo seu potencial comercial e o grande número de espécies de *Aloe* é consenso que pouca pesquisa tem sido realizada para investigar o potencial comercial de outras espécies (GRACE, 2011; KOUSHESH SABA; EMAMIFAR, 2016).

O gel obtido de *A. vera* L. é uma alternativa aos produtos químicos, por ser um produto orgânico que possui os atributos necessários para ser caracterizado como revestimento comestível, por formar uma camada semipermeável sobre o fruto e ser antioxidante. O extrato é composto principalmente de polissacarídeos e açúcares solúveis, seguida de proteínas, muitas das quais são enzimas, aminoácidos, vitaminas (A, C, E e principalmente do complexo B), ácido salicílico, antraquinonas, ligninas e saponinas. Possui propriedades antifúngicas e antibacterianas que reduzem o desenvolvimento de microrganismos que realizam a degradação dos alimentos (BOUDREAU; BELAND, 2006; HAMMAN, 2008).

Valverde et al. (2005) observaram que uvas de mesa cv. Crimson Seedless tratadas com gel de *A. vera* a 33% na pós-colheita apresentaram uma redução na perda da qualidade, estendendo a vida útil do fruto de 7 para 35 dias a 1°C e redução de aproximadamente, 35% das podridões em relação à testemunha.

Experimentos com altas concentrações de gel *A. vera* para verificar o seu efeito na manutenção da qualidade e no desenvolvimento de doenças em uvas de mesa cv. Thompson Seedless mostraram redução no crescimento de fungos e bactérias, elevação do teor de sólidos solúveis totais e da acidez titulável, bem como melhoria da aceitação dos frutos na análise sensorial (CHAUHAN; GUPTA; AGRAWAL, 2014). Brishti et al. (2013) observaram que mamões (*Carica papaya* L.) revestidos com gel de *A. vera* mantiveram as características de sabor, firmeza e coloração, reduzindo a incidência de fungos (73%) após 12 dias de armazenamento, quando comparado à testemunha.

## REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 2, p. 394–400, 2007.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 1 dez. 2013.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos—Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- AYUB, R. A. et al. Fruit set and yield of apple trees cv. Gala treated with seaweed extract of *Ascophyllum nodosum* and thidiazuron. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 1, 24 jan. 2019.
- BIAŁA, W.; JASIŃSKI, M. The Phenylpropanoid Case – It Is Transport That Matters. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of botany**, v. 91, n. 2, p. 179–194, 2003.
- BOGS, J. et al. The grapevine transcription factor VvMYBPA1 regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development. **Plant physiology**, v. 143, n. 3, p. 1347–1361, 2007.
- BOLIANI, A. C.; CORRÊA, L. S. **Cultura de uvas de mesa do plantio à comercialização**. [s.l.] UNESP/FAPESP, 2001.
- BONGHI, C. et al. Phenol compound metabolism and gene expression in the skin of wine grape (*Vitis vinifera* L.) berries subjected to partial postharvest dehydration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 67, p. 102–109, 2012.
- BOTELHO, R. V.; PIRES, J. Viticultura como opção de desenvolvimento para os Campos gerais. **Anais Encontro de Fruticultura dos Campos Gerais**, v. 1, p. 40–54, 2009.
- BOUDREAU, M. D.; BELAND, F. A. An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (miller), *Aloe vera*. **Journal of Environmental Science and Health Part C**, v. 24, n. 1, p. 103–154, 2006.
- BRISHTI, F. H.; MISIR, J.; SARKER, A. Effect of biopreservatives on storage life of papaya (*Carica papaya* L.). **International Journal of Food Studies**, v. 2, n. 1, 2013.
- BURAN, T. J. et al. Effects of exogenous abscisic acid on fruit quality, antioxidant capacities, and phytochemical contents of southern high bush blueberries. **Food chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1375–1381, 2012.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and soil**, v. 383, n. 1–2, p. 3–41, 2014.
- CASTELLARIN, S. D. et al. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 11, p. 1381–1399, 2007.



CHAUHAN, S.; GUPTA, K.; AGRAWAL, M. Application of Biodegradable *Aloe vera* gel to control post harvest decay and longer the shelf life of Grapes. **International Journal Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 3, p. 632–642, 2014.

CONDE, C. et al. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. 2007.

CUTANDA-PEREZ, M.-C. et al. Ectopic expression of V<sub>lmybA1</sub> in grapevine activates a narrow set of genes involved in anthocyanin synthesis and transport. **Plant molecular biology**, v. 69, n. 6, p. 633–648, 2009.

CZEMMEL, S. et al. The grapevine R2R3-MYB transcription factor VvMYBF1 regulates flavonol synthesis in developing grape berries. **Plant physiology**, v. 151, n. 3, p. 1513–1530, 2009.

DAI, Z. W. et al. Ecophysiological, genetic, and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, p. ajev-2011, 2011.

DELUC, L. et al. Characterization of a grapevine R2R3-MYB transcription factor that regulates the phenylpropanoid pathway. **Plant physiology**, v. 140, n. 2, p. 499–511, 2006.

DELUC, L. et al. The transcription factor VvMYB5b contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in developing grape berries. **Plant Physiology**, v. 147, n. 4, p. 2041–2053, 2008.

DOWNEY, M. O.; DOKOOZLIAN, N. K.; KRSTIC, M. P. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 57, n. 3, p. 257–268, 2006.

FAN, D. et al. Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 195–202, 2011.

FAN, D. et al. Pre-harvest treatment of spinach with *Ascophyllum nodosum* extract improves post-harvest storage and quality. **Scientia Horticulturae**, v. 170, p. 70–74, maio 2014.

FIORILLO, E. et al. Airborne high-resolution images for grape classification: changes in correlation between technological and late maturity in a Sangiovese vineyard in Central Italy. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 18, n. 1, p. 80–90, 2012.

FRIONI, T. et al. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p. 97–106, 17 fev. 2018.

GARDIN, J. P. P. et al. Abscisic acid and Etefom: influence on the maturity and quality of Cabernet Sauvignon grapes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 321–327, 2012.

GONZÁLEZ-NEVES, G. et al. Potencial polifenólico de la uva: índices propuestos y posibles aplicaciones. **Comunicata Scientiae**, v. 2, n. 2, p. 57–69, 2011.

GRACE, O. M. Current perspectives on the economic botany of the genus *Aloe* L.(Xanthorrhoeaceae). **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 4, p. 980–987, 2011.

GUERRA, C. C. **Maturação da uva e condução da vinificação para a elaboração de vinhos finos.** . In: EMBRAPA UVA E VINHO-ARTIGO EM ANAIS DE CONGRESSO (ALICE). In: SIMPÓSIO MINEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 1., 2002, Andradas, MG. Viticultura e Enologia: atualizando conceitos. Caldas: EPAMIG, 2002, 2002.

HAMMAN, J. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1599–1616, 2008.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.** Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 20 maio. 2021.

JEONG, S. T. et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. **Plant Science**, v. 167, n. 2, p. 247–252, 2004.

KENNEDY, J. Understanding grape berry development. **Practical winery & vineyard**, v. 4, p. 1–5, 2002.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal.** [s.l.] Guanabara Koogan Rio de Janeiro, 2004. v. 7.

KHAN, W. et al. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 4, p. 386–399, dez. 2009.

KISHINO, A. Y.; DE CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. **Viticultura tropical: o sistema de produção do Paraná.** [s.l.] Iapar Londrina, 2007.

KOBAYASHI, S. et al. Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis. **Planta**, v. 215, n. 6, p. 924–933, 2002.

KOK, D. et al. THE INFLUENCES OF DIFFERENT SEAWEED DOSES ON TABLE QUALITY CHARACTERISTICS OF CV. TRAKYA ILKEREN (*VITIS VINIFERA* L.). **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 16, p. 429–435, 2010.

KOUSHESH SABA, M.; EMAMIFAR, A. *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 114, p. 29–35, abr. 2016.

KOYAMA, R. et al. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from ‘Isabel’grapes (*Vitis labrusca* L.). **HortScience**, v. 49, n. 4, p. 460–464, 2014a.

KOYAMA, R. et al. Application time and concentrations of abscisic acid on the color development of ‘Isabel’grapes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1697–1706, 2014b.

KOYAMA, R. et al. Exogenous Abscisic Acid Promotes Anthocyanin Biosynthesis and Increased Expression of Flavonoid Synthesis Genes in *Vitis vinifera* × *Vitis labrusca* Table Grapes in a Subtropical Region. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.

LACAMPAGNE, S.; GAGNÉ, S.; GÉNY, L. Involvement of abscisic acid in controlling the proanthocyanidin biosynthesis pathway in grape skin: new elements regarding the regulation

of tannin composition and leucoanthocyanidin reductase (LAR) and anthocyanidin reductase (ANR) activities and expression. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 29, n. 1, p. 81–90, 2010.

LE MOIGNE, M. et al. Sensory and instrumental characterisation of Cabernet Franc grapes according to ripening stages and growing location. **Food Quality and Preference**, v. 19, n. 2, p. 220–231, 2008.

LECAS, M.; BRILLOUET, J.-M. Cell wall composition of grape berry skins. **Phytochemistry**, v. 35, n. 5, p. 1241–1243, 1994.

LERIN, S. *Ácido Abscísico em Três Cultivares de Videira*. 2014.

MOTA, R. et al. Fatores que afetam a maturação e a qualidade da uva para vinificação. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 27, n. 234, p. 56–64, 2006.

NABAVI, S. M. et al. Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. **Biotechnology Advances**, v. 38, p. 107316, jan. 2020.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of chromatography A**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 2004.

NORRIE, J.; BRANSON, T.; KEATHLEY, P. E. MARINE PLANT EXTRACTS IMPACT ON GRAPE YIELD AND QUALITY. **Acta Horticulturae**, n. 594, p. 315–319, nov. 2002.

NORRIE, J.; KEATHLEY, J. P. BENEFITS OF *ASCOPHYLLUM NODOSUM* MARINE-PLANT EXTRACT APPLICATIONS TO 'THOMPSON SEEDLESS' GRAPE PRODUCTION. **Acta Horticulturae**, n. 727, p. 243–248, nov. 2006.

OLIVEIRA, D. A. DE. Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) das variedades merlot e syrah. 2012.

OLLÉ, D. et al. Effect of pre-and post-veraison water deficit on proanthocyanidin and anthocyanin accumulation during Shiraz berry development. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 17, n. 1, p. 90–100, 2011.

PARRADO, J. et al. Enzymatic vegetable extract with bio- active components: Influence of fertiliser on the colour and anthocyanins of red grapes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 12, p. 2310–2318, set. 2007.

PESENTI, I. L.; AYUB, R. A.; BOTELHO, R. V. **Quality of Malbec grapes due to defoliation, ABA application and vegetal extracts**. II Congresso Brasileiro sobre Processamento Mínimo e Pós-Colheita de Frutas, Flores e Hortaliças. **Anais...**2017a.

PESENTI, I. L.; AYUB, R. A.; BOTELHO, R. V. **Quality of phenolic compounds of cv. Primitivo as a function of the defoliation and the application of abscisic acid**. 20th GiESCO International Meeting. **Anais...**Mendoza Argentina: 2017b.

PESENTI, I. L.; AYUB, R. A.; BOTELHO, R. V. Defoliation, application of S-ABA and vegetal extracts on the quality of grape and wine Malbec cultivar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 3, 20 maio 2019.

PETRONI, K.; TONELLI, C. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. **Plant science**, v. 181, n. 3, p. 219–229, 2011.

RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Handbook of enology, Volume 1: The microbiology of wine and vinifications**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2006. v. 1

ROBERTO, S. R. et al. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of ‘Benitaka’ table grape. **Scientia Horticulturae**, v. 142, p. 44–48, 2012.

ROBERTO, S. R. et al. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of ‘Rubi’ table grape. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 7, p. 797–800, 2013.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin pigment composition of red-fleshed potatoes. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 3, p. 458–465, 1998.

RUSJAN, D.; VEBERIČ, R.; MIKULIČ-PETKOVŠEK, M. The response of phenolic compounds in grapes of the variety ‘Chardonnay’ (*Vitis vinifera* L.) to the infection by phytoplasma Bois noir. **European journal of plant pathology**, v. 133, n. 4, p. 965–974, 2012.

SALVI, L. et al. Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on *Vitis vinifera*: Consequences on plant physiology, grape quality and secondary metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 139, p. 21–32, 1 jun. 2019.

SANTANIELLO, A. et al. *Ascophyllum nodosum* Seaweed Extract Alleviates Drought Stress in Arabidopsis by Affecting Photosynthetic Performance and Related Gene Expression. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 8, p. 2073S–2085S, 2000.

SCANDALIOS, J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 995–1014, 2005.

SEYMOUR, G. B. et al. Fruit Development and Ripening. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, n. 1, p. 219–241, 29 abr. 2013.

SPÁČIL, Z.; NOVÁKOVÁ, L.; SOLICH, P. Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography and ultra performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 76, n. 1, p. 189–199, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre-RS: Artmed, 2013.

TANOUE, G.; ZIOGAS, V.; MOLASSIOTIS, A. Foliar Nutrition, Biostimulants and Prime-Like Dynamics in Fruit Tree Physiology: New Insights on an Old Topic. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 1 fev. 2017.

TONIETTO, J.; CARBONNEAU, A. **Análise mundial do clima das regiões vitícolas e de sua influência sobre a tipicidade dos vinhos: a posição da viticultura brasileira comparada a 100 regiões em 30 países**. . In: EMBRAPA UVA E VINHO-ARTIGO EM ANAIS DE CONGRESSO (ALICE). In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 9., 1999, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1999. p. 75-90., 1999.

TOPALOVIĆ, A. et al. Influence of Foliar Fertilization with P and K on Chemical Constituents of Grape cv. 'Cardinal'. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 18, p. 10303–10310, 28 set. 2011.

UGARTE, R. A.; SHARP, G.; MOORE, B. Changes in the Brown Seaweed *Ascophyllum Nodosum* (L.) Le Jol. Plant Morphology and Biomass Produced by Cutter Rake Harvests in Southern New Brunswick, Canada. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, n. 3–5, p. 351–359, 27 nov. 2006.

VALENT BIOSCIENCES CORPORATION,. **ProTone Plant Growth Regulator from Valent Agricultural Products.** Disponível em: <<https://www.valent.com/agriculture/products/protone/index.cfm>>. Acesso em: 3 out. 2018.

VALVERDE, J. M. et al. Novel edible coating based on *Aloe vera* gel to maintain table grape quality and safety. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7807–7813, 2005.

VIENCZ, T. et al. Postharvest quality and brown rot incidence in plums treated with *Ascophyllum nodosum* extract. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 3, p. 753, 7 abr. 2020.

WATSON, B. **Evolution of grapevine maturity.** Evolution of grapevine maturity: Oregon State University Press, 2003.

WHEELER, S. et al. The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 15, n. 3, p. 195–204, 2009.

WRZACZEK, M.; BROSCHÉ, M.; KANGASJÄRVI, J. ROS signaling loops—production, perception, regulation. **Current opinion in plant biology**, v. 16, n. 5, p. 575–582, 2013.

YAMAMOTO, L. Y. et al. Color of berry and juice of “Isabel” grape treated with abscisic acid in different ripening stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 12, p. 1160–1167, dez. 2015.

ZHANG, S. et al. Temperature-dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO<sub>2</sub> assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday high irradiance. **Photosynthetica**, v. 39, n. 3, p. 383–388, 2001.

ZHANG, X.; ERVIN, E. H. Cytokinin-Containing Seaweed and Humic Acid Extracts Associated with Creeping Bentgrass Leaf Cytokinins and Drought Resistance. **Crop Science**, v. 44, n. 5, p. 1737, 2004.

#### 4 INFLUÊNCIA DE REGULADOR VEGETAL E BIOESTIMULANTES NA COMPOSIÇÃO FENÓLICA E NAS CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DA EPIDERMIS E DO VINHO DE UVAS ‘CABERNET SAUVIGNON’

##### RESUMO

Na viticultura, várias técnicas podem ser utilizadas para melhorar a produtividade, a tolerância ao estresse biótico ou abiótico e a qualidade das uvas e dos vinhos tais como o uso de reguladores vegetais e de bioestimulantes. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação do ácido abscísico, do extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e do gel de *Aloe vera* na composição fenólica e nas características cromáticas de uvas cv. Cabernet Sauvignon. O experimento foi realizado em uma vinícola comercial em Campo Largo-PR, em duas safras consecutivas, 2017/18 e 2018/19, com os seguintes tratamentos: 1) testemunha; 2) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; 3) S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; 4) gel de *Aloe vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; 5) gel de *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; 6) extrato de alga *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e 7) extrato de alga *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. Realizaram-se duas aplicações para o extrato de alga e gel de *Aloe vera*, quando os cachos tinham 50 e 75% das bagas com coloração. Para o S-ABA, realizou-se uma única aplicação quando os cachos apresentavam 50% de suas bagas com coloração. As avaliações foram as seguintes: teor de antocianinas e polifenóis totais e atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase, polifenoloxidase e peroxidase na epiderme. Para o vinho, além do teor de antocianinas e polifenóis totais, foi realizada análise de luminosidade, cromaticidade e ângulo hue. As aplicações de S-ABA incrementaram o teor de antocianinas e polifenóis totais, assim como a atividade da FAL na primeira safra. O bioestimulante extrato de alga *A. nodosum* (AN) incrementou os compostos fenólicos, antocianinas totais e a FAL na epiderme da cv. Cabernet Sauvignon. Quanto as características avaliativas no vinho, o S-ABA incrementou as variáveis fenólicas, assim como o AN, em pelo menos uma das safras avaliadas. O gel de *A. vera* influenciou na coloração do vinho.

**Palavras-chave:** *Vitis vinifera*; biossíntese dos flavonoides; atividade enzimática; vinificação.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

A cor da epiderme das uvas tintas resulta da síntese das antocianinas e da degradação da clorofila. As antocianinas são compostos flavonoides solúveis em água, sendo que sua concentração e diversidade controlam a intensidade e a estabilidade da cor tanto nas bagas das uvas como nos vinhos (SUN et al., 2019). O uso de bioestimulantes e de reguladores vegetais tem sido proposto como estratégias para melhorar o rendimento e qualidade das culturas, podendo ser utilizados também na viticultura.

Extratos à base de algas marinhas têm sido empregados como uma ferramenta sustentável para aprimorar a tolerância ao estresse abiótico de plantas e aumentar a qualidade das frutas (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014; SANTANIELLO et al., 2017), em particular a biossíntese de flavonoides (CAI et al., 2012; FAN et al., 2014; SANTANIELLO et al., 2017). No entanto, estudos sobre o efeito desses extratos em compostos de metabolismo secundário, fundamentais para a qualidade da uva e do vinho, ainda são escassos. Salvi et al. (2019) testaram a aplicação de *Ascophyllum nodosum* (AN) em uvas cv. Sangiovese, e os resultados indicaram que uso de extrato desta alga melhorou as características ecofisiológicas, assim como aumentou o teor de açúcares e polifenóis totais em anos secos e quentes.

Aplicações de revestimentos comestíveis como *Aloe vera* (AV) têm se mostrado uma ferramenta promissora para melhorar a qualidade e prolongar o armazenamento e a vida pós-colheita de várias frutas (CHRYSARGYRIS; NIKOU; TZORTZAKIS, 2016). Revestimentos à base de AV modificam a atmosfera interna de gases, reduzem a perda de umidade e a taxa de respiração, diminuem o escurecimento oxidativo e reduzem a proliferação de microrganismos em frutas, mantendo as características físico-químicas, como cor e firmeza (KOUSHESH SABA; EMAMIFAR, 2016).

A introdução do ácido (*S*)-cis-abscísico (*S*-ABA) como ingrediente ativo em um regulador comercial de crescimento de plantas (ProTone<sup>®</sup>) vêm se tornando muito estudado sobre as cultivares de *V. vinifera* em condições de clima temperado (KOYAMA et al., 2018a). Neto et al. (2017) observaram aumento no conteúdo total de antocianinas, independentemente das doses de *S*-ABA aplicadas na cv. Rubi. Yamamoto et al. (2015) verificaram um aumento na teores totais de antocianinas em bagas de uvas ‘Isabel’ (*V. labrusca*). Rufato et al. (2014) observaram 48% e 80% de aumento no teor de antocianinas para doses de 600 e 800 mg L<sup>-1</sup> *S*-ABA, respectivamente. A concentração total máxima de polifenóis foi com o uso da concentração de 600 mg L<sup>-1</sup> em uvas ‘Isabel’. Pessenti et al. (2020; 2019) também encontraram aumento no teor de antocianinas em uvas das cvs. Primitivo e Malbec com o uso de *S*-ABA.

O objetivo do presente estudo foi determinar os efeitos da aplicação em pré-colheita de diferentes concentrações de S-ABA, extrato de alga de *Ascophyllum nodosum* e gel de *Aloe vera* na composição fenólica e atividade enzimática na epiderme e nas características comáticas no vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon.



## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Delineamento Estatístico e Local do Experimento

O experimento foi realizado em um vinhedo comercial localizado em Campo Largo-PR (25°40'31'S, 49°49'64''O e altitude de 840 m) com a cv. Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) por dois ciclos consecutivos (2017/18 e 2018/19). As videiras com 7 anos de idade foram enxertadas sobre o porta-enxerto 'Paulsen 1103' plantadas no espaçamento 3,0 x 1,5 m e conduzidas em Guyot simples em espaldeira. Os tratos culturais foram realizados igualmente aos que são adotados pela vinícola nos dois ciclos, de acordo com as recomendações para a cultura. Conforme Alvares et al. (2013) na classificação de Köppen, o clima é Cbf, clima temperado úmido com verão temperado e estações de inverno e verão bem definidas. As precipitações são bem distribuídas em todos os meses do ano. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distrófico de textura argilosa.

O delineamento estatístico foi em blocos casualizados, com 7 tratamentos, 4 repetições e parcela experimental constituída de 3 plantas, sendo avaliada a planta central. Os tratamentos foram os seguintes: 1) testemunha (água); 2) *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> (ABA 400); 3) *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup> (ABA 600); 4) gel de *Aloe vera* 200 mL L<sup>-1</sup> (AV 200); 5) gel de *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup> (AV400); 6) extrato de alga *Ascophyllum nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> (AN02); 7) extrato de alga *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> (AN04). As aplicações de soluções aquosas de *S*-ABA (Valent BioSciences Corporation, Libertyville, IL, EUA) foram realizadas quando 50% das bagas se encontravam coloridas, com o uso de um pulverizador costal até o ponto de escorrimento, sendo aplicado diretamente nos cachos. Os extratos de *A. nodosum* e gel de *Aloe vera* foram aplicados duas vezes, quando 50% e 75% das bagas se encontravam coloridas, respectivamente, com intervalo de duas semanas.

A colheita foi realizada quando a cv. Cabernet Sauvignon atingiu ponto de colheita (aproximadamente 18° Brix para todos os tratamentos). Após a colheita e o transporte, os cachos foram acondicionados em câmara fria em temperaturas entre 10 e 12°C.

Vinte e quatro horas após a colheita, os cachos de cada parcela foram desengaçados manualmente, separando uma amostra de 500 g para cada repetição. Em seguida, as bagas foram esmagadas manualmente e acondicionadas em mini tanques de fermentação (Figura 4). Posteriormente, foi adicionado metabissulfito de potássio 10 g h L<sup>-1</sup> e após uma hora foi adicionado a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na proporção de 10g 100L<sup>-1</sup>. A fermentação alcóolica foi acompanhada por meio da medição da densidade à 20°C e da pesagem diariamente até que houvesse estabilização, momento em que também foi realizada a remontagem do bagaço

das uvas. Após dez dias de fermentação em contato com as cascas foi realizada a descuba, retirando a casca do contato com o mosto, com auxílio de sacos de voil. A descuba foi determinada quando houve estabilização por três dias consecutivos da massa dos mini tanques de fermentação.

Foram juntadas duas repetições formando amostras compostas, resultando em 3 repetições. Após este processo, ocorreu a fermentação lenta, onde foi mensurada a massa diariamente. Após a trasfega, ocorreu a fermentação malolática, sendo que o término foi determinado pela cromatografia de ácido málico. Posteriormente, foi adicionado metabissulfito de potássio dissolvido ( $10\text{g } 100\text{L}^{-1}$ ) e ocorreu a estabilização tartárica em câmara fria, por 30 dias com controle de temperatura ( $0^{\circ}\text{C}$ ). Decorrida a estabilização tartárica, foi realizado o engarrafamento manual, rotulagem e armazenamento em ambiente refrigerado ( $-20^{\circ}\text{C}$ ).



Figura 4 - Mini tanques para a fermentação alcóolica.

#### 4.2.2 Análise dos Compostos Fenólicos e Coloração

A colheita para ambas as safras foi realizada em meados de fevereiro. Na primeira safra a média geral de teor de sólidos solúveis foi de  $18^{\circ}$  brix, e na segunda safra,  $22^{\circ}$  brix. Após a colheita os cachos foram acondicionados em caixas de plástico (20 kg) em câmara fria ( $10 - 12^{\circ}\text{C}$ ) por 24 horas. As avaliações de características de cor, brilho de superfície (L), croma e ângulo hue, e para as análises fenólicas, antocianinas e polifenóis totais foram realizadas tanto nas amostras de epiderme das bagas como para o vinho. O índice específico para bagas de cor vermelha (CIRG) foi calculado somente para as bagas.

Para a determinação do teor de polifenóis totais, foi seguido o método de Singleton e Rossi (1965), que utiliza o reagente de Folin Ciocalteu e uma curva de calibração com ácido gálico. Pesou-se 1g de cascas frescas (para o vinho, utilizou-se amostra de 1 mL) que foram colocadas em tubos falcon, adicionado de 0,4 mL de uma solução de álcool metílico 50% v/v. Os frascos foram tampados com papel filme e permaneceram na estufa BOD a 30°C durante 24 horas. Após este período, o extrato foi separado em frasco de vidro. Adicionou-se 0,1 mL de solução de metanol, para enxaguar as cascas. Após isso, mais 0,4 mL de solução hidroalcoólica foi adicionada aos tubos falcons, para então as cascas passarem pela extração, na estufa BOD a 0°C, por 24 horas. Posteriormente, o extrato foi homogeneizado com o extrato retirado anteriormente, e repetiu-se o enxágue das cascas. Ao final do processo, obteve-se um extrato de 1 mL para cada amostra. Em seguida, procedeu-se a reação com o reagente Folin-Ciocalteu. Em um tubo de ensaio, adicionou-se 7,9 mL de água destilada; 0,1 mL da solução padrão; 0,50 mL do reagente de Folin-Ciocalteu, e após 3 minutos, 1,50 mL de solução de carbonato de sódio a 20%. As amostras foram homogeneizadas e permaneceram no escuro por 2 horas, para completar a reação.

Em seguida, foram realizadas as leituras da absorbância das amostras a um comprimento de 760 nm em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão). Para as leituras obtidas, ajustou-se uma curva de regressão linear. Para a obtenção da concentração de polifenóis totais, realizou-se o mesmo procedimento de reação, com o reagente Folin-Ciocalteu, descrito para a curva de calibração. Exceto para o fato de que as soluções extratos tiveram que ser diluídas na proporção 1:10. As leituras obtidas com os extratos foram interpoladas na curva padrão e os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico L<sup>-1</sup>.

O método utilizado para a quantificação antocianinas totais foi aquele descrito por Lee e Francis (1972), com modificações. O conteúdo de 1 g de casca (para vinho, utilizou-se 1 mL) foi retirado do ultrafreezer e macerado em cadinhos de porcelana com 10 mL de solução extratora (50% de etanol 95% + 50% de ácido clorídrico 1,5 M). Com as amostras totalmente maceradas, o conteúdo líquido foi armazenado em tubo de ensaio protegido da luz, coberto por papel alumínio, realizando-se em seguida a lavagem do restante do macerado preso ao cadinho, adicionando-se mais 15 mL da solução extratora.

Os tubos foram mantidos sob refrigeração a 4°C por 20 horas e posteriormente, o extrato foi filtrado, lavando-o com 25 mL da solução extratora, deixando o total do extrato em frasco coberto com papel alumínio por duas horas. Em seguida, foram retirados 2 mL do extrato, adicionando-se 10 mL da solução extratora e posterior agitação em vortex. A leitura da amostra foi feita em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) a 535 nm, sendo

os valores expressos em mg de antocianinas por 100 g de material vegetal. Para quantificação do teor de antocianinas utilizou-se a equação  $1 (FD \cdot VA) \cdot 98,2^{-1}$ , em que VA = valor da absorvância e FD = fator de diluição.

Por meio de um colorímetro, modelo Croma meter CR-400/410 (Minolta, Osaka, Japão), foram efetuadas três leituras em diferentes extremidades do fruto (para o vinho, utilizou-se 30 mL de amostra). Os valores foram expressos na coordenada-padrão CIE  $L^* a^* b^*$ , em que  $L^*$  representa o brilho de uma superfície ( $L^*=100$  = branco;  $L^*=0$  = preto);  $a^*$  representa a intensidade de cor do verde ao vermelho ( $a^*$  mais negativo= mais verde;  $a^*$  mais positivo= mais vermelho), e  $b^*$  mede a intensidade de cor do amarelo ao azul ( $b^*$ = mais positivo = mais amarelo;  $b^*$ = mais negativo = mais azul). Os valores de  $a^*$  e  $b^*$  foram utilizados para calcular a tonalidade de cor  $C^*$ , pela fórmula  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  e o ângulo  $H^*$  (CARREÑO et al., 1995). Mediante os valores de colorimetria, foi calculado o índice específico para bagas de cor vermelha (CIRG), com a equação  $CIRG = 180 - hue^* / (L^* + C^*)$ , em que o  $hue^*$  é o ângulo calculado através da seguinte fórmula  $hue^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$ . Valores do índice CIRG próximos de zero correspondem a coloração verde, enquanto valores próximos de três correspondem a coloração vermelha (CARREÑO et al., 1995).

#### 4.2.3 Atividade da Enzimática da Epiderme das Uvas

Para as análises enzimáticas foram coletados quatro cachos de uva por parcela. A epiderme das bagas foi congelada em nitrogênio líquido, a fim de paralisar todas as reações metabólicas. Essas amostras foram armazenadas em freezer a  $-20^\circ\text{C}$  para análises posteriores.

As amostras das cascas foram pesadas (1,0g) e maceradas em almofariz com nitrogênio líquido e homogeneizadas mecanicamente em 3 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7) contendo 0,1 mM de EDTA. Essa solução foi transferida para tubo tipo eppendorf contendo 0,0003g de polivinilpirrolidona (PVP) e centrifugado a 13000g durante 30 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . O extrato enzimático foi obtido do sobrenadante dessa centrifugação que, em seguida, foi armazenado em freezer  $-20^\circ\text{C}$  até a realização das análises de determinação de conteúdo protéico, atividade das enzimas peroxidase (POD), polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina amônia-liase (FAL).

Para a determinação do conteúdo proteico total foi utilizado 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático adicionado sob agitação em 2,5 mL do reagente Bradford. Passados 5 minutos foi efetuada a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) com comprimento de onda de 595 nm. A concentração de proteínas, expressa em mg por mL de amostra ( $\text{mg proteína} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), foi determinada utilizando-se curva-padrão de concentrações de

albumina de soro bovino (ASB) de 0 a 0,5 mg mL<sup>-1</sup>, obtida pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

A atividade específica da peroxidase (POD) (E.C. 1.11.1.7) foi determinada de acordo com metodologia de Urbanek et al. (1991) com adaptações. Dessa forma, adicionou-se 100 µL de extrato enzimático em 2,9 mL de solução contendo tampão acetato de sódio 50 mM pH 5,2 e peróxido de hidrogênio 20 mM. Em seguida, essa solução foi incubada em banho maria por 10 minutos em temperatura de 30°C. Posteriormente, foi efetuada a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) à 480 nm, determinando-se a conversão do guaiacol em tetraguaicol. Uma unidade de atividade de POD é equivalente a um aumento em 0,01 vezes a quantidade de enzima para 1 g de peso fresco / min, conforme Fu et al. (2011).

Para determinação da atividade específica da enzima polifenoloxidase (PPO) (E.C.1.10.3.2) (GAUILLARD; RICHARD-FORGET; NICOLAS, 1993), utilizou-se como substrato enzimático a solução contendo 25 mM de catecol homogeneizada em 50 mL de tampão fosfato de potássio a 0,1M, pH 6,0. Adicionou-se 200 µL do extrato enzimático com 2,8 mL dessa solução em tubos de ensaio que, em seguida, foram colocados por 10 minutos em banho maria com temperatura de 30°C. Posteriormente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) com comprimento de onda de 410 nm. Uma unidade de atividade de PPO é equivalente a um aumento em 0,001 vezes a quantidade de enzima para 1 g de peso fresco / min, conforme Kose et al. (2011).

Foram utilizados três tubos para a determinação da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) (E.C. 4.3.1.5) (RODRIGUES; NETO; COELHO, 2006). No primeiro tubo-amostra foi pipetado 100 µL de extrato enzimático com 400 µL de tampão TRIS e 500 µL de L-fenilalanina. No segundo tubo-controle, 100 µL de amostra com 900 µL de tampão TRIS e no terceiro tubo-branco, 500 µL de tampão TRIS com 500 µL de L-fenilalanina. Em seguida foram incubados em banho-maria à 40°C por 1 hora. Por conseguinte, adicionou-se 60 µL de HCL 0,5 M para paralisar a reação. Transcorrido esse período realizou-se a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) com comprimento de onda de 290 nm. Uma unidade de atividade FAL é equivalente a um aumento de 0,01 vezes quantidade de enzima para 1 g de peso fresco / h, conforme Fu et al. (2011).

#### 4.2.4 Análise da Atividade Antioxidante do Vinho

Para avaliar a atividade antioxidante do vinho foi utilizada a metodologia baseada na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995), com adaptações.

Na análise de DPPH, as amostras diluídas (100  $\mu\text{L}$ ) foram misturadas com 3,9 mL de uma solução metanólica de DPPH (60  $\mu\text{mol/L}$ ). A absorbância foi medida em 517 nm usando um espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) após a solução ser deixada em repouso no escuro até a estabilização (tempo previamente determinado). Os resultados foram expressos em equivalentes da metodologia TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), para caracterizar completamente um composto como antioxidante, em Trolox por litro de vinho ( $\mu\text{mol TE/L}$ )(ALBERTI et al., 2014).

#### 4.2.5 Análises das Antocianinas Individuais do Vinho

As análises das antocianinas individuais foram realizadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-ESI-QTOF-MS / MS) em um sistema Prominence UFLC (Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massa Impact HD (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As antocianinas foram separadas utilizando pré-coluna C18 (2,0 x 4 mm) e coluna Bidentate C18 (100 x 2.1mm, MicroSolv Technology Corporation, Leland, NC, EUA), sendo solução de 0,1 % de ácido fórmico em água (fase móvel A) e 0,1 % de ácido fórmico em acetonitrila (fase móvel B). O gradiente de fase móvel utilizado foi o seguinte: 0-2 min, 10% B; 2-15 min, 10-75% B; 15-18 min, 90% B; 18-21 min 90% B; 21-23 min, 10% B, 23-30 min, 10% B. Outras características operacionais foram: fluxo 0,2 mL  $\text{min}^{-1}$ ; volume de injeção 10  $\mu\text{L}$ ; temperatura da coluna 40  $^{\circ}\text{C}$ . O espectrômetro de massas foi operado no modo ESI positivo, com espectros adquiridos ao longo de um intervalo de massas de  $m/z$  50 até 1200. As características foram: voltagem do capilar em 3,5 kV; temperatura do gás de secagem, 180  $^{\circ}\text{C}$ ; fluxo de gás de secagem, 8,0 L  $\text{min}^{-1}$ ; pressão do gás de nebulização, 2 bar; colisão RF, 150 Vpp; tempo de transferência de 70  $\mu\text{s}$  e armazenamento pré-pulso, 8  $\mu\text{s}$ . A intensidade da energia de colisão foi ajustada para experimentos automáticos MS/MS de acordo com as razões  $m/z$ :  $m/z$  100, 15 eV;  $m/z$  500, 35 eV;  $m/z$  1000, 50 eV, e utilizando nitrogênio como gás de colisão.

Os dados de MS foram analisados utilizando o software Data analysis 4.2 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). A composição elementar de cada composto foi selecionada de acordo com as massas exatas e padrão isotópico através da ferramenta Smart Formula (Bruker Compass DataAnalysis™), a qual fornece uma lista de possíveis fórmulas moleculares

combinando a massa exata e distribuição isotópica refletida em seus valores de erro (ppm) e mSigma, respectivamente.

As antocianinas foram caracterizadas em termos do padrão de fragmentação no UV/VIS (220-800 nm) e comparadas com dados de bancos de dados (Metlin, MassBank, Kegg) e com a literatura de referência (DELGADO DE LA TORRE; PRIEGO-CAPOTE; LUQUE DE CASTRO, 2015; WILLEMSE et al., 2015) A curva de calibração foi desenvolvida pela adição do padrão de pelargonidina (0,2 a 30  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) em metanol. As antocianinas presentes nas amostras foram quantificadas utilizando a área de pico da pelargonidina e sua concentração. Os resultados foram expressos em  $\text{mg L}^{-1}$ .

#### 4.2.6 Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ao nível de 5% de significância. Empregou-se a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas através do teste Scott Knott, ao nível de 5% de probabilidade. A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada usando as variáveis com o objetivo de analisar a relação entre as características analisadas. O software utilizado foi o R 4.0.3 (R CORE TEAM, 2020), utilizando o pacote ExpDes.pt e FactoMineR.

### 4.3 RESULTADOS

#### 4.3.1 Análises Fenólicas, de Cor e Cor e Enzimáticas na Epiderme

Na Tabela 1, são apresentados os resultados das análises dos teores de antocianinas totais, polifenóis totais e atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) na epiderme das bagas de uvas cv. Cabernet Sauvignon em duas safras (2017/18 e 2018/19). O tratamento ABA600 foi significativamente superior aos demais para os teores de antocianinas totais na primeira safra, enquanto, para o segundo ciclo, as duas doses testadas de *A. nodosum* foram superiores aos demais tratamentos. Os tratamentos ABA600 e AN02 obtiveram os maiores valores para os teores de polifenóis totais, seguido dos tratamentos ABA400, AV400 e AN04, na primeira safra. No ciclo 2018/19, os tratamentos AN04 foi estatisticamente superior, seguido do ABA600, diferindo dos demais tratamentos.

O tratamento AV400 obteve o maior valor para a atividade de FAL na primeira safra, seguido pelo tratamento AV200 e as doses de *A. nodosum*, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Na segunda safra, o tratamento AN02 foi superior, seguido do tratamento ABA600, diferindo dos demais tratamentos. A testemunha obteve o menor valor para esta variável.

Na primeira safra, a atividade da enzima POD foi significativamente superior para a testemunha quando comparada aos demais tratamentos. No entanto, na segunda safra, o tratamento AV200 foi superior aos demais tratamentos, seguido das doses de *S*-ABA e *A. nodosum*. A testemunha e o tratamento AV400 apresentaram valores inferiores aos demais. Para a enzima polifenoloxidase, somente na primeira safra houve diferenças significativas, sendo que o tratamento AN04 foi estatisticamente inferior aos demais.

Tabela 1 - Antocianinas totais (mg 100 g<sup>-1</sup>), polifenóis totais (mg eaq100 L<sup>-1</sup>), FAL (U g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), POD (U g<sup>-1</sup>) e PPO (U g<sup>-1</sup>) das bagas da cv. Cabernet Sauvignon tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19.

Cabernet Sauvignon n	Antocianinas Totais (mg100 g <sup>-1</sup> )		Polifenóis Totais (mg eaq100 L <sup>-1</sup> )		FAL (U g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		POD (U g <sup>-1</sup> )		PPO (U g <sup>-1</sup> )
	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18
TEST	118,43 b	47,51 b	1184,12 c	963,61 c	941,47 c	1933,84 d	33,75 a	0,75 c	210 a
ABA400	177,29 b	64,31 b	1466,17 b	861,05 c	979,64 c	2945,29 c	4,7 b	9,30 b	185,5 a
ABA600	278,10 a	51,06 b	1712,33 a	1532,84 b	769,72 c	4732,82 b	3,6 b	14,20 b	193,5 a
AV200	145,21 b	55,72 b	1271,30 c	509,76 c	1297,70 b	3905,85 c	4,64 b	23,95 a	176 a
AV400	157,33 b	46,20 b	1368,74 b	737,84 c	3225,19 a	3002,54 c	12,85 b	3,45 c	197 a



AN02	123,82 b	100,62 a	1599,52 a	732,84 c	2315,52 b	5769,72 a	4,95 b	11,75 b	152 a
AN04	140,12 b	97,45 a	1499,6 b	2102,07 a	2340,96 b	3346,05 c	3,5 b	8,70 b	43,5 b

TEST: testemunha (controle); ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4

Na Figura 5, tem-se a Análise de Componentes Principais (PCA) para as uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/2018 com as análises dos compostos fenólicos e de atividade enzimática, que mostra as dimensões 1 e 2 representando 78,3 % da variação total. A dimensão 1 separa em escore positivo as características fenólicas e em escores negativos as atividades enzimáticas. A dimensão 2 separa dentre as enzimas, a FAL em escore negativo e as demais em escore positivo.

Observa-se maior correlação dos tratamentos com ABA com as variáveis antocianinas e polifenóis totais, enquanto para a POD, o tratamento AV200 está mais correlacionado. Para a FAL, os tratamentos com *A. nodosum* foram correlacionados.

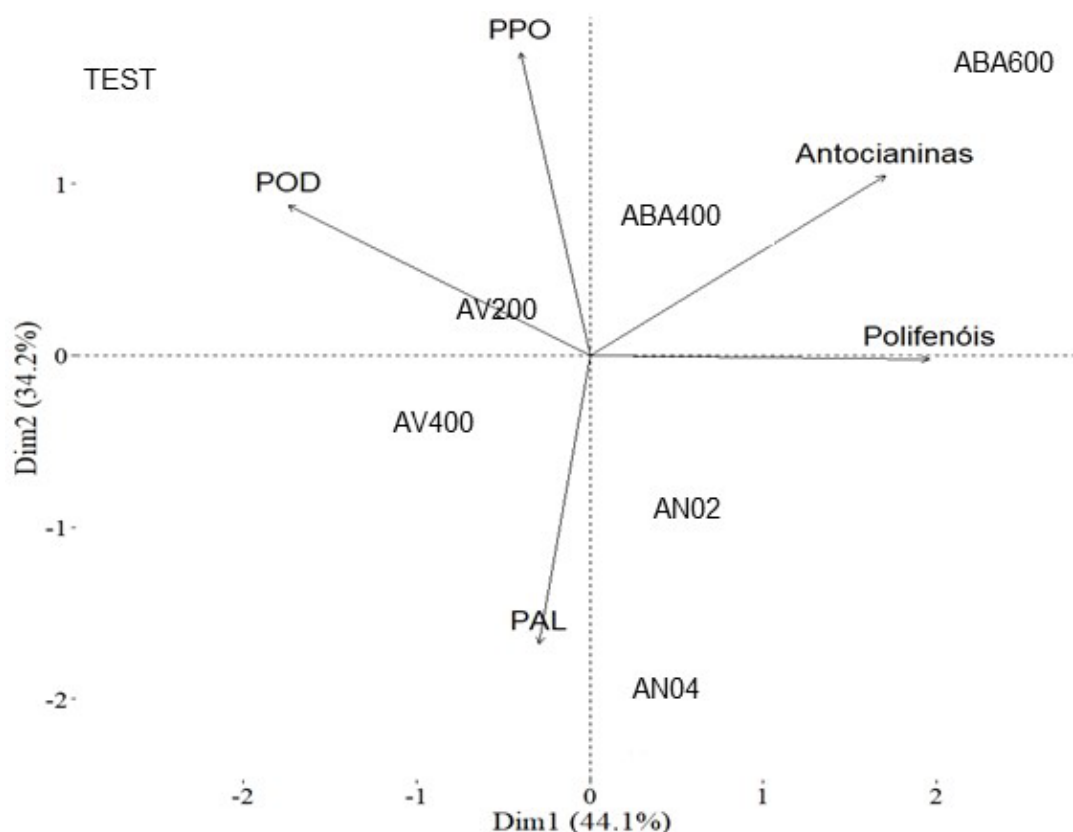


Figura 5 - Análises de Componentes Principais para as análises fenólicas e de atividade enzimática para uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/18. FAL (Fenilalanina Amônia-Liase), PPO (Polifenoloxidase), POD (Peroxidase). TEST: testemunha (controle); ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

Na Figura 6 é apresentada a Análise de Componentes Principais (PCA) das análises fenólicas e de atividade enzimática das uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2018/2019, que mostra os eixos 1 e 2 representando 79,2 % da variação total. O eixo 1 apresenta todas as

características fenólicas e enzimáticas no eixo positivo. O eixo 2 separa as características fenólicas em eixo positivo e a atividade enzimática em negativa.

O tratamento AN04 correlacionou-se positivamente com polifenóis totais, assim como o ABA600 para antocianinas totais. A FAL correlacionou-se positivamente com as doses de ABA600 e AN02. Os tratamentos ABA400, AV400 e testemunha correlacionaram-se negativamente com todas as variáveis.

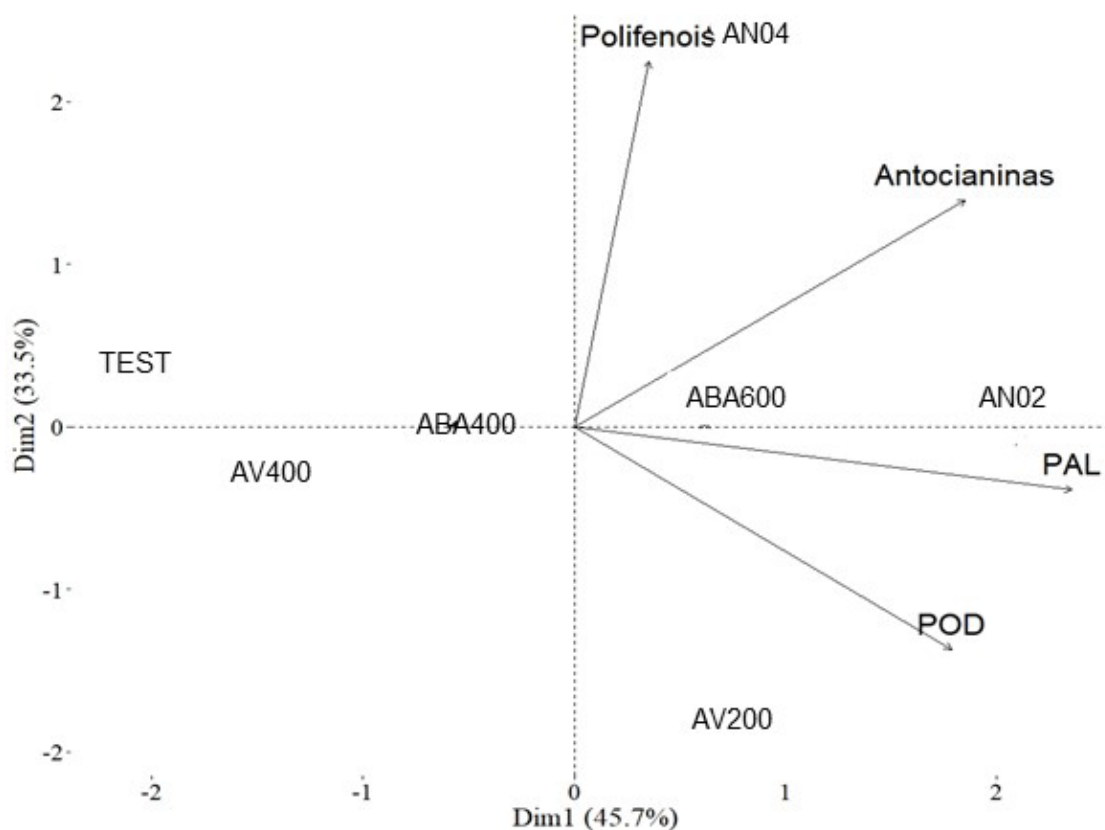


Figura 6 - Análises de Componentes Principais para as variáveis fenólicas e enzimáticas para uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2018/19. FAL (Fenilalanina Amônia-Liase), POD (Peroxidase). TEST: testemunha (controle); ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

#### 4.3.2. Análises Fenólicas e de Coloração do Vinho

As variáveis fenólicas e de cor para o vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon nas safras 2017/2018 e 2018/2019 são apresentadas na Tabela 2. Os tratamentos com as duas doses de *S*-ABA, AV400 e AN02 aumentaram significativamente os teores de antocianinas totais na primeira safra, seguido dos demais tratamentos que obtiveram média inferior. No segundo ciclo, o tratamento ABA400, e as duas doses de *A. nodosum* e de gel de *A. vera* foram superiores aos tratamentos ABA600 e testemunha.

Para os teores de polifenóis totais, no primeiro ciclo, os tratamentos ABA400 e AV400 obtiveram médias superiores quando comparadas aos demais tratamentos. Na safra 2018/19, o tratamento AV400 foi superior para esta característica, seguido dos tratamentos com as duas doses de *A. nodosum* e AV200. Os demais tratamentos obtiveram médias inferiores.

Para o índice de coloração L, o tratamento AV200 foi estatisticamente superior aos demais tratamentos, seguido dos tratamentos testemunha, AN04, AN02, ABA600, AV400 e ABA400, no primeiro ciclo. Na segunda safra, a testemunha obteve o maior valor de L, seguido dos tratamentos, AN04, AV400, AV200, AN02, e por último, as duas doses de *S*-ABA. Para o ângulo hue, na primeira safra, os tratamentos testemunha, AV400 e AN04 obtiveram maiores médias, seguido dos tratamentos ABA600, AN02, AV400 e ABA400. No segundo ciclo, o tratamento ABA600 obteve a menor média se diferenciando significativamente dos demais tratamentos.

Para o índice croma, os resultados foram similares ao ângulo hue na primeira safra, tendo maiores médias para os tratamentos testemunha, AV400 e AN04. Na segunda safra, os tratamentos testemunha e AN04 foram superiores, seguido dos demais tratamentos, sendo que o ABA600 obteve a menor média.

Tabela 2 — Antocianinas totais (mg 100 g<sup>-1</sup>), polifenóis totais (mg eag100 L<sup>-1</sup>), L, croma e ângulo hue do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19.

Cabernet Sauvignon	Antocianinas Totais (mg 100 g <sup>-1</sup> )		Polifenóis Totais (mg eag100 L <sup>-1</sup> )		L		Hue		Croma	
	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19
TEST	90,52 b	41,030 b	861,05 b	130,28 d	19,53 b	24,01 a	32,70 a	34,02 a	61,80 a	65,48 a
ABA400	100,40 a	50,30 a	1727,71 a	150,79 d	14,01 g	19,14 f	27,35 d	32,32 a	52,57 d	60,16 b
ABA600	116,90 a	44,50 b	1255,92 b	89,25 d	17,45 e	13,69 g	31,12 b	26,69 b	58,20 b	52,67 c
AV200	75,15 b	51,01 a	1173,87 b	235,4 c	19,93 a	20,31 d	32,35 a	34,60 a	61,57 a	60,41 b
AV400	112,93 a	49,28 a	1796,94 a	545,60 a	16,09 f	20,93 c	29,76 c	33,03 a	55,89 c	62,36 b
AN02	105,80 a	52,13 a	1135,41 b	404,64 b	17,58 d	19,71 e	31,05 b	32,63 a	58,34 b	61,36 b
AN04	86,96 b	57,63 a	948,28 b	286,69 c	19,35 c	23,09 b	32,47 a	33,56 a	61,90 a	65,01 a

TEST: testemunha (controle); ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (p≤0,05).

Na Figura 7, Figura 7 tem-se a Análise de Componentes Principais (PCA) das análises fenólicas e de índices de coloração do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/2018, que mostra os eixos 1 e 2 representando 96,4 % da variação total. O eixo 1 apresenta os índices de coloração no escore positivo e as características fenólicas no escore negativo. O eixo 2 separou todas as características no escore positivo, exceto o teor de polifenóis totais.

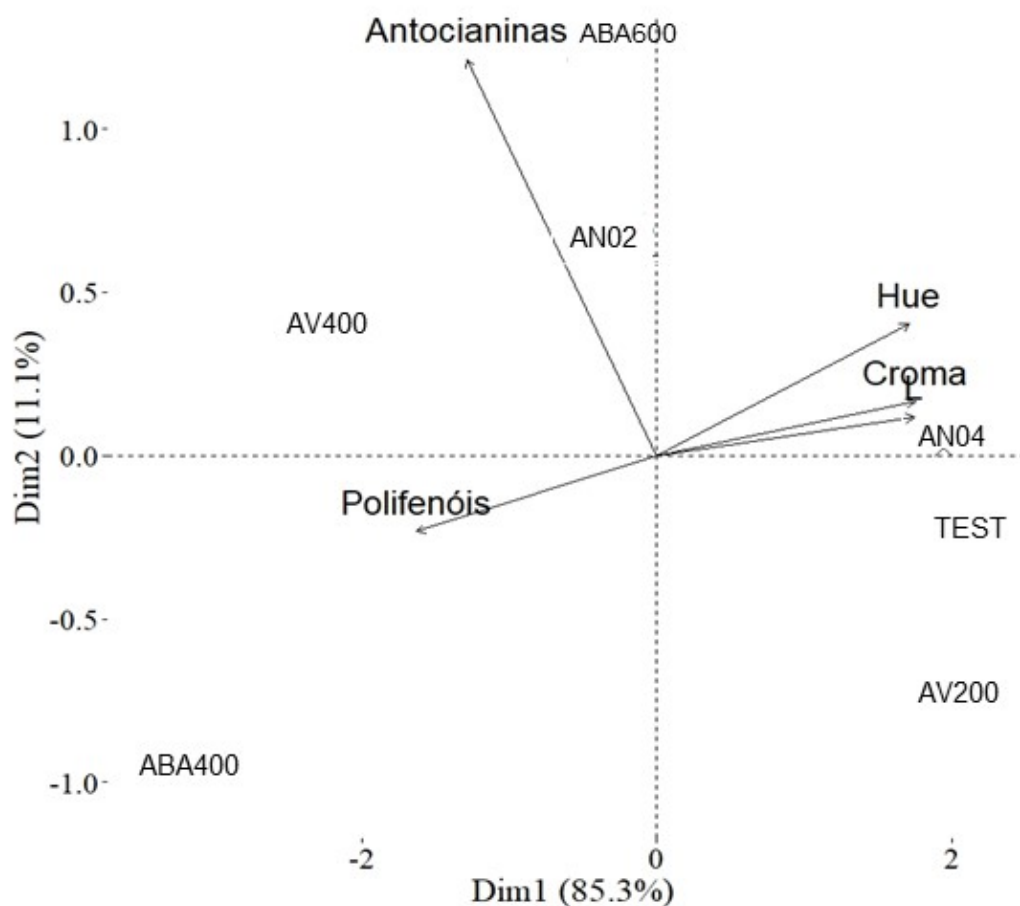


Figura 7 - Análises de Componentes Principais para as variáveis fenólicas do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

Na Figura 8, têm-se a Análise de Componentes Principais (PCA) das análises fenólicas e de índices de coloração do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2018/2019, que mostra os eixos 1 e 2 representando 86,1 % da variação total. O eixo 1 apresenta todos os índices de cor e análises fenólicas no escore positivo. O eixo 2 separou todas as características fenólicas no escore positivo e as de coloração no negativo. Para as análises fenólicas, a correlação positiva foi com os tratamentos de extrato de alga *A. nodosum* e AV400. Observa-se que o tratamento ABA600 se correlacionou negativamente com antocianinas e polifenóis. As variáveis de cor correlacionaram-se positivamente com o tratamento AV200.

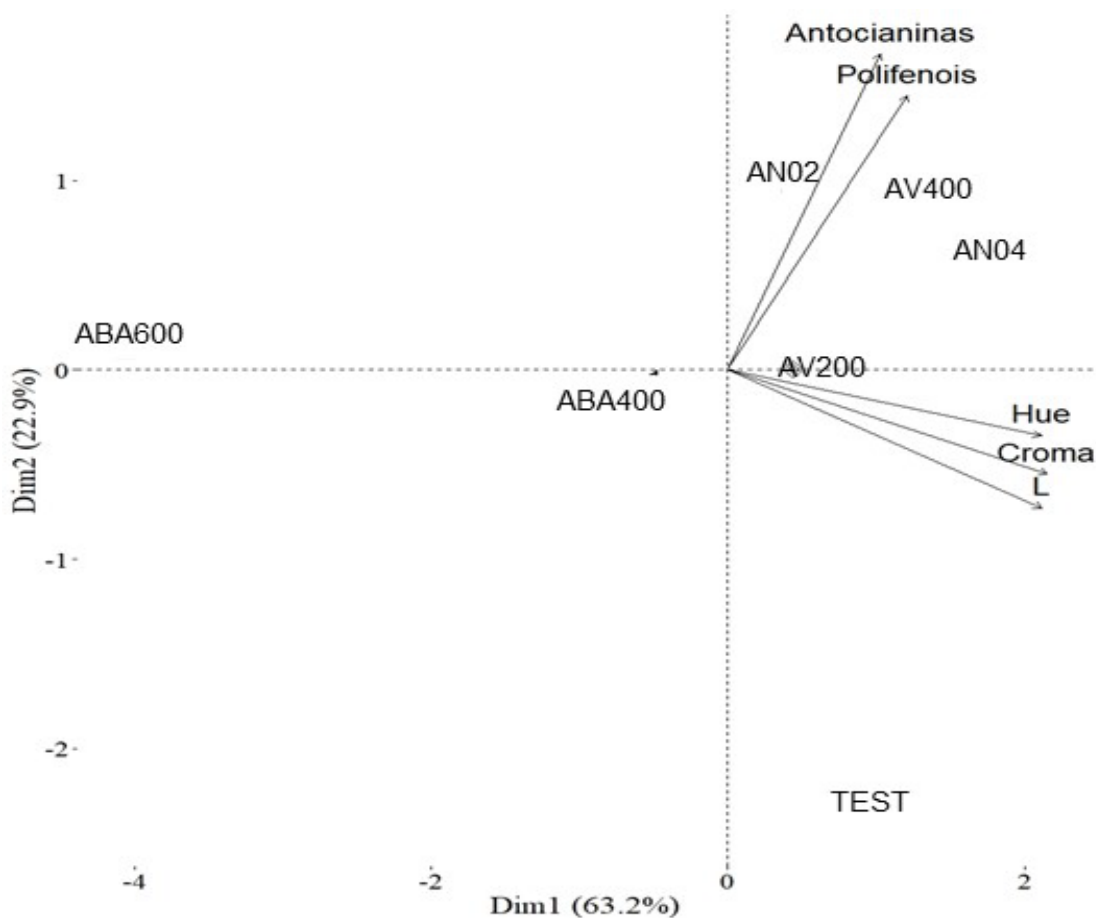


Figura 8 - Análises de Componentes Principais variáveis fenólicas e de cor do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2018/19. TEST: testemunha; ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04 *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

#### 4.3.3 Antocianinas Individuais no Vinho

Na Tabela 3 são apresentados os resultados das análises das antocianinas individuais para o vinho na safra 2017/2018. Os tratamentos com ABA400 e AV400 foram significativamente superiores aos demais tratamentos para os seguintes compostos: malvidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo, delphinidina-3,6-acetil-glicosídeo, peonidina-3,6-acetil-glicosídeo e; para petunidina-3-(p-coumaril) glicosídeo a dose de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>. Para a dose de *Aloe vera* 400 mL L<sup>-1</sup>, as antocianinas que se mostraram com maiores teores foram cianidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo e delphinidina-3,6-acetil-glicosídeo. Para o tratamento AN02, a única antocianina significativamente superior foi a petunidina-3-glicosídeo.

Tabela 3 – Antocianinas Individuais do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18.

CS	Antocianinas Individuais (mg L <sup>-1</sup> )							
	Cianidina-3-Glicosídeo	Malvidina-3-Glicosídeo	Peonidina-3-Glicosídeo	Delfinidina-3-Glicosídeo	Petunidina-3-Glicosídeo	Delfinidina-3,6-Acetil-Glicosídeo	Peonidina-3,6-Acetil-Glicosídeo	Petunidina-3-(p-coumaril)Glicosídeo
TEST	0,771 c	7,3969 b	1,1616 c	0,9738 c	0,8389 a	0,819 a	1,079 b	0,7593 b
ABA400	0,7793 b	7,7992 a	1,3392 a	0,9923 b	0,8292 b	0,8465 a	1,1602 a	0,7615 a
ABA600	0,7657 d	7,1929 c	1,244 b	0,9176 e	0,8337 b	0,8295 a	1,0799 b	0,7586 b
AV200	0,7782 b	4,7757 d	0,8862 d	1,0083 b	0,8195 c	0,7787 c	0,8521 d	0,755 c
AV400	0,7819 a	7,2463 c	1,327 a	1,0568 a	0,8395 a	0,8217 a	1,0486 c	0,7595 b
AN02	0,7768 b	7,431 b	1,1353 c	0,9967 b	0,8372 a	0,8039 b	1,0327 c	0,7587 b
AN04	0,77 c	7,3049 e	0,8489 d	0,9504 d	0,8178 c	0,7765 c	0,7647 e	0,7556 c

TEST: testemunha; ABA400: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (p≤0,05).

Na Figura 9, tem-se a Análise de Componentes Principais (PCA) para as antocianinas individuais no vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/2018, que mostra os eixos 1 e 2 representando 91,1 % da variação total. O eixo 1 apresenta todas as antocianinas individuais no escore positivo. O eixo 2 separou a cianidina e a delphinidina-3-glicosídeo no escore positivo e as demais no escore negativo.

Os tratamentos ABA600, AN04 e AV200 correlacionaram-se negativamente com as antocianinas individuais, sendo o tratamento AV400 positivamente correlacionado com a delphinidina e a cianidina. O tratamento ABA400 correlacionou-se com as demais antocianinas individuais.

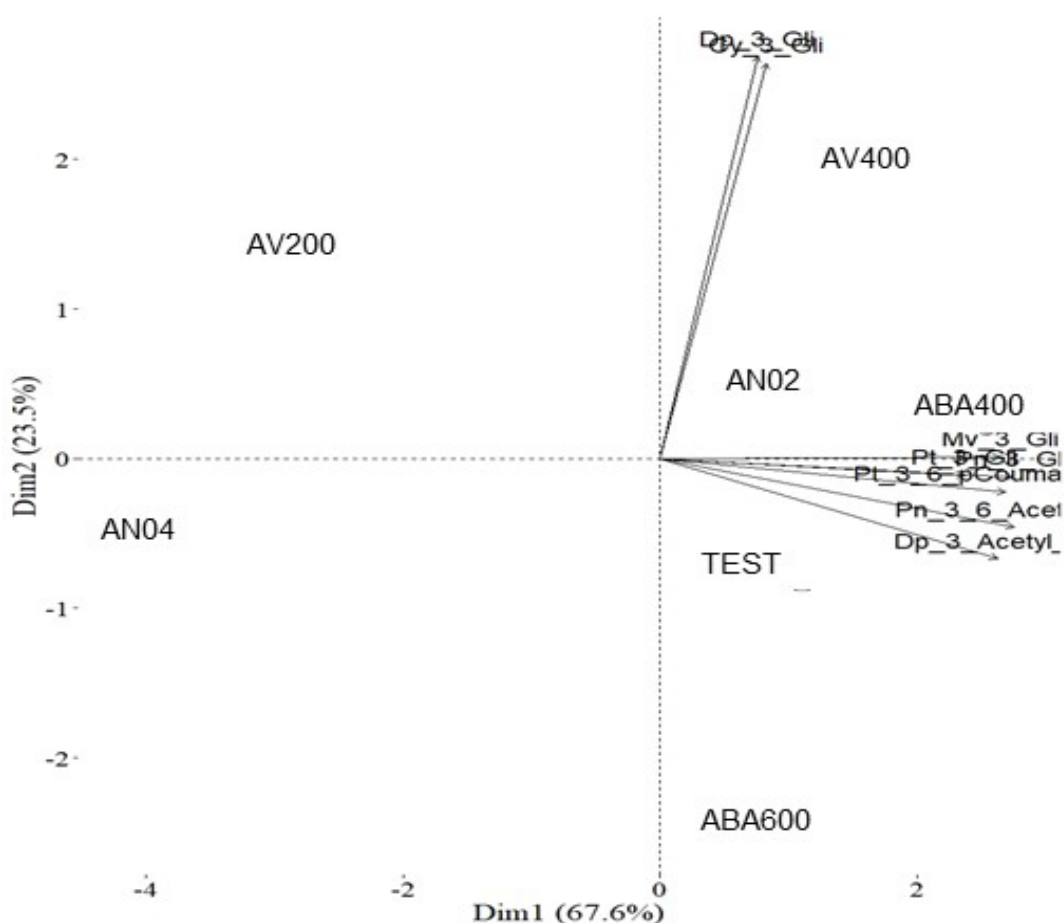


Figura 9 - Análises de Componentes Principais para Antocianinas Individuais do vinho da cv. Cabernet Sauvignon na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400: 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

## 4.4 DISCUSSÃO

### 4.4.1 Análise Fenólica, de Cor e Enzimáticas na Epiderme

Para o teor de antocianinas totais nas bagas da uva cv. Cabernet Sauvignon, os tratamentos com *S*-ABA (400 e 600 mg L<sup>-1</sup>) foram correlacionados positivamente nas duas safras avaliadas. Similarmente, Koyama et al. (2014, 2018a, 2019) e Yamamoto et al. (2015), verificaram incrementos nos teores de antocianinas totais nas bagas e no suco da uva ‘Isabel’. Sun et al. (2019) aplicaram *S*-ABA em uvas cv. Merlot, sendo que houve aumento dos valores de antocianinas na casca para a dose de 600 mg L<sup>-1</sup>.

Os teores de polifenóis totais se correlacionaram com os tratamentos com *S*-ABA em pelo menos uma das safras estudadas. Pessenti et al. (2020; 2019) observaram que os teores de antocianinas e de polifenóis na casca de uvas cv. Malbec e Primitivo foram superiores com os tratamentos com *S*-ABA de 400 ou 600 mg L<sup>-1</sup>. Para a uva de mesa ‘Alachua’ e para a de vinho ‘Noble’, os tratamentos com *S*-ABA também aumentaram o acúmulo de antocianinas e compostos fenólicos totais (SANDHU et al., 2011).

Sun et al. (2019) afirmam que a enzima fenilalanina amônia-liase (FAL), participa da rota dos flavonoides, atuando como precursora nesta biossíntese. Esses mesmos autores encontraram maior expressão desta enzima com a dose de 600 mg L<sup>-1</sup> de *S*-ABA, aumentando consequentemente os teores de polifenóis e antocianinas totais. Neste trabalho as doses de *Ascophyllum nodosum* (AN) se correlacionaram nas duas safras com a enzima FAL, contribuindo com o incremento na biossíntese dos flavonoides.

Frioni et al. (2018) conduziram um experimento com extrato de *Ascophyllum nodosum* em uvas ‘Cabernet Franc’ e ‘Pinot Noir’, e verificaram aumento dos teores de antocianinas e polifenóis totais em relação à testemunha. Resultados semelhantes foram encontrados neste trabalho, com a aplicação de *Ascophyllum nodosum*. Esses autores ressaltam que a aplicação no início da maturação, que promoveu o aumento de antocianinas, pode estar relacionado ao metabolismo da rota dos fenilpropanóides, induzido pelo maior teor de açúcares, gerando um incremento no metabolismo secundário, incluindo antocianinas e outros flavonoides. Viencz et al. (2020) observaram aumento nos teores de compostos fenólicos das ameixas ‘Irati’, com efeito linear positivo em função das doses de produto contendo o extrato de alga *A. nodosum*.

As enzimas FAL, PPO e POD apresentaram maior atividade com os tratamentos com AN em pelo menos uma safra (Tabela 1). Nas figuras 5 e 6 observam-se a correlação positiva das doses de AN com a enzima FAL. Fan et al. (2011), observaram maior conteúdo fenólico nas



maiores doses de extrato de *A. nodosum* em espinafre, o que foi relacionado à maior capacidade antioxidante, devido ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes.

Em uvas cv. Merlot tratadas com AN, houve aumento de 21 % de antocianinas, 26% no rendimento e 35% no número de bagas (TASKOS et al., 2019). Santaniello et al. (2017) aplicaram solução de AN em *Arabidopsis thaliana* e observaram aumento nos teores de antocianinas e polifenóis totais, assim como o aumento da atividade da enzima POD.

Sogvar, Koushesh Saba e Emamifar (2016) observaram que o teor de antocianinas aumentou em morangos submetidos a aplicação de AV durante o armazenamento. Eing (2017) afirma que os revestimentos possuem propriedades higroscópicas que formam um bloqueio entre a água e o meio ambiente, evitando que haja perdas para o meio externo. Os revestimentos devem ter na sua formulação majoritariamente polissacarídeos, como o gel de *A. vera* que possui mais de 60% do conteúdo sólido de polissacarídeos, apresentando a capacidade de reter a umidade nos frutos, retardando a degradação dos compostos fenólicos.

Sogvar, Koushesh Saba e Emamifar (2016) observaram que o teor de polifenóis totais aumentou em morangos submetidos a aplicação de gel de *A. vera* durante o armazenamento. Castillo et al. (2010) realizaram a aplicação em pré colheita com gel de *A. vera* em uvas cv. Autumn Royal, e não encontraram diferenças significativas para as características químicas, como sólidos solúveis, pH e acidez titulável, porém observaram-se que houve retenção na mudança de cor observado pelo maior valor de ângulo hue, uma vez que a diminuição deste ângulo está relacionada ao escurecimento da casca pela aceleração do processo de maturação.

#### 4.4.2 Análises Fenólicas e de Cor no Vinho

Para os teores de antocianinas e polifenóis totais do vinho de uvas cv. Cabernet Sauvignon houve aumento significativo com a aplicação de S-ABA, em pelo menos uma das safras. Koyama et al. (2018b) observaram que a aplicação de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> em uvas cv. Seleção 21 (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*) resultou em um maior acúmulo de antocianinas totais e individuais como, delphinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo, melhorando consequentemente as variáveis de cor das bagas.

Salvi et al. (2019) estudaram o efeito do extrato de *A. nodosum* na fisiologia e no metabolismo secundário de uvas ‘Sangiovese’ e observaram maior presença das antocianinas individuais cianidina (129 %), peonidina (167%), delphinidina (46%) e petunidina (35%) com 3 aplicações de extrato de *A. nodosum*. Resultados similares foram encontrados neste trabalho para a antocianina monoglucosilada, petunidina (Tabela 3).

Os efeitos positivos dos bioestimulantes na ecofisiologia e sua atuação no metabolismo secundário, demonstrada em alguns estudos (FAN et al., 2011, 2014; KHAN et al., 2009), são explicados pela presença de compostos bioativos, tais como peptídeos, constituintes orgânicos e fenólicos. Entretanto, o modo de ação das moléculas bioestimuladoras presentes nos extratos das algas permanece em grande parte desconhecida. Poucos estudos foram conduzidos sobre os efeitos de AN sobre a ecofisiologia e a partição de metabólitos secundários em *V. vinífera* (SALVI et al., 2019). Gutiérrez-Gamboa et al. (2020) avaliaram o uso de doses baixas e altas de AN em uvas cv. Tempranillo Branco, verificando que a altas concentrações de AN promoveram o aumento da leucoantocianidina redutase e antocianidina redutase, as quais estão envolvidas na biossíntese das antocianinas.

Os tratamentos com *Aloe vera* promoveram aumento no teor de antocianinas e polifenóis totais, nas duas safras e com ao menos uma dose. Esta observação também foi feita nas antocianinas individuais, tais como cianidina, delphinidina e delphinidina 3,6 glicosídeo.

A cor do vinho tinto deve-se essencialmente à liberação de pigmentos das cascas das bagas da uva durante o processo de vinificação. Sendo que para a maioria das uvas de vinho tinto, as antocianinas estão localizadas principalmente na terceira ou quarta camada de células mais próximas da epiderme externa e pouco nas células da polpa (HE et al., 2012, 2010). Sendo assim, a aplicação exógena dos produtos estudados neste trabalho afeta positivamente a biossíntese dos flavonoides na casca da uva aumentando o teor de polifenóis e antocianinas, e consequentemente, repassando esses incrementos para os vinhos através da maceração da casca durante a vinificação, melhorando positivamente a qualidade fenólica e a palatabilidade dos mesmos.

#### 4.5 CONCLUSÃO

Este trabalho possibilitou concluir que a aplicação de *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup> é uma boa recomendação para acrescentar no manejo vitícola. Com os resultados encontrados, afirma-se a sua influência nas propriedades fenólicas, cromáticas e na atividade enzimática na epiderme da uva cv. Cabernet Sauvignon. Além disso, no vinho, as duas doses de *S*-ABA aumentaram as características fenólicas e as principais antocianinas individuais, confirmando os resultados encontrados na epiderme.

A aplicação do *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup> aumentou as características fenólicas e da atividade enzimática da polifenoloxidase na epiderme das uvas cv. Cabernet Sauvignon. No vinho, os melhores resultados encontrados para antocianinas monoméricas e compostos fenólicos, foram com o tratamento de *A. vera* com 400 mL L<sup>-1</sup>. Estes resultados indicam que o gel de *Aloe vera* é uma ferramenta promissora para a viticultura, porém se faz necessário estudos mais aprofundados.

O *Ascophyllum. nodosum* em pré colheita pouco influenciou na qualidade fenólica dos vinhos. Ainda é necessário mais estudo para caracterizar sua influência no metabolismo das uvas e na qualidade do vinho.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTI, A. et al. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151–158, 15 abr. 2014.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 1 dez. 2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.-E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- CAI, Z. et al. Polysaccharide elicitors enhance anthocyanin and phenolic acid accumulation in cell suspension cultures of *Vitis vinifera*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 108, n. 3, p. 401–409, 2012.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and soil**, v. 383, n. 1–2, p. 3–41, 2014.
- CARREÑO, J. et al. Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. **Food Research International**, v. 28, n. 4, p. 373–377, 1995.
- CASTILLO, S. et al. Antifungal efficacy of Aloe vera in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, n. 3, p. 183–188, set. 2010.
- CHRYSARGYRIS, A.; NIKOU, A.; TZORTZAKIS, N. Effectiveness of *Aloe vera* gel coating for maintaining tomato fruit quality. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 44, n. 3, p. 203–217, 2 jul. 2016.
- DELGADO DE LA TORRE, M. P.; PRIEGO-CAPOTE, F.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Tentative identification of polar and mid-polar compounds in extracts from wine lees by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high-resolution mode: Identification of polar compounds in wine lees. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 50, n. 6, p. 826–837, jun. 2015.
- EING, K. K. C. **Tratamentos com gel de Aloe vera L. na qualidade pós-colheita de uvas cv. Rubi**. [s.l.] Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2017.
- FAN, D. et al. Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 195–202, jan. 2011.
- FAN, D. et al. Pre-harvest treatment of spinach with *Ascophyllum nodosum* extract improves post-harvest storage and quality. **Scientia Horticulturae**, v. 170, p. 70–74, maio 2014.

FRIONI, T. et al. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p. 97–106, 17 fev. 2018.

FU, Z. et al. Dynamic changes in enzyme activities and phenolic content during in vitro rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) plantlets. **Maejo International Journal of Science and Technology**, v. 5, p. 252–265, 1 maio 2011.

GAUILLARD, F.; RICHARD-FORGET, F.; NICOLAS, J. New spectrophotometric assay for polyphenol oxidase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 215, n. 1, p. 59–65, 15 nov. 1993.

GUTIÉRREZ-GAMBOA, G. et al. Phenolic composition of Tempranillo Blanco (*Vitis vinifera* L.) grapes and wines after biostimulation via a foliar seaweed application. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 2, p. 825–835, 30 jan. 2020.

HE, F. et al. Anthocyanins and Their Variation in Red Wines I. Monomeric Anthocyanins and Their Color Expression. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 1571–1601, 7 fev. 2012.

HE, J.-J. et al. Different Anthocyanin Profiles of the Skin and the Pulp of Yan73 (Muscat Hamburg × Alicante Bouschet) Grape Berries. **Molecules**, v. 15, n. 3, p. 1141–1153, 2 mar. 2010.

KHAN, W. et al. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 4, p. 386–399, dez. 2009.

KOSE, C. et al. Comparative evaluation of oxidative enzyme activities during adventitious rooting in the cuttings of grapevine rootstocks. **J Sci Food Agric**, v. 15, n. 91, p. 738–741, 2011.

KOUSHESH SABA, M.; EMAMIFAR, A. *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 114, p. 29–35, abr. 2016.

KOYAMA, R. et al. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from ‘Isabel’ grapes (*Vitis labrusca* L.). **HortScience**, v. 49, n. 4, p. 460–464, 2014.

KOYAMA, R. et al. Exogenous Abscisic Acid Promotes Anthocyanin Biosynthesis and Increased Expression of Flavonoid Synthesis Genes in *Vitis vinifera* × *Vitis labrusca* Table Grapes in a Subtropical Region. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018a.

KOYAMA, R. et al. Exogenous Abscisic Acid Promotes Anthocyanin Biosynthesis and Increased Expression of Flavonoid Synthesis Genes in *Vitis vinifera* × *Vitis labrusca* Table Grapes in a Subtropical Region. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 323, 2018b.

KOYAMA, R. et al. Abscisic Acid Application Affects Color and Acceptance of the New Hybrid ‘BRS Melodia’ Seedless Grape Grown in a Subtropical Region. **HortScience**, v. 54, n. 6, p. 1055–1060, jun. 2019.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, 1972.

NETO, F. J. D. et al. Effect of ABA on colour of berries, anthocyanin accumulation and total phenolic compounds of 'Rubi' table grape ( *Vitis vinifera* ). **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 2, p. 199, 2017.

PESENTI, I. L. et al. Melhoria da qualidade da uva de mesa 'Primitivo' por desfolha manual e aplicação de ácido abscísico. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e1039119647, 6 nov. 2020.

PESENTI, I. L.; AYUB, R. A.; BOTELHO, R. V. Defoliation, application of S-ABA and vegetal extracts on the quality of grape and wine Malbec cultivar. v. 41, n. 3, 2019.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2020.

RODRIGUES, A. A. C.; NETO, E. B.; COELHO, R. S. B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em Caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. v. 31, n. 5, p. 492–499, 2006.

RUFATO, L. et al. **Abscisic acid applications increases color in grapes and juice of 'Isabel'**. XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014): IV 1115. **Anais...**2014.

SALVI, L. et al. Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on *Vitis vinifera*: Consequences on plant physiology, grape quality and secondary metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 139, p. 21–32, jun. 2019.

SANDHU, A. K. et al. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape ( *Vitis rotundifolia* ) skins. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 982–988, 2011.

SANTANIELLO, A. et al. *Ascophyllum nodosum* Seaweed Extract Alleviates Drought Stress in Arabidopsis by Affecting Photosynthetic Performance and Related Gene Expression. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SOGVAR, O. B.; KOUSHESH SABA, M.; EMAMIFAR, A. *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 114, p. 29–35, abr. 2016.

SUN, Y. et al. Study on the regulation of anthocyanin biosynthesis by exogenous abscisic acid in grapevine. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 294–301, 10 maio 2019.

TASKOS, D. et al. Effects of an *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. extract on grapevine yield and berry composition of a Merlot vineyard. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 27–32, maio 2019.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, K. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum (Poland)**, v. 13, p. 43–50, 1991.

VIENCZ, T. et al. Postharvest quality and brown rot incidence in plums treated with *Ascophyllum nodosum* extract. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 3, p. 753, 7 abr. 2020.

WILLEMSE, C. M. et al. Comprehensive Two-Dimensional Hydrophilic Interaction Chromatography (HILIC) × Reversed-Phase Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry (RP-LC-UV-MS) Analysis of Anthocyanins and Derived Pigments in Red Wine. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 24, p. 12006–12015, 15 dez. 2015.

YAMAMOTO, L. Y. et al. Color of berry and juice of “Isabel” grape treated with abscisic acid in different ripening stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 12, p. 1160–1167, dez. 2015.

## 5 COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DA EPIDERME E DO VINHO DE UVAS cv. MERLOT TRATADAS EM PRÉ-COLHEITA COM REGULADOR VEGETAL E BIOESTIMULANTES

### RESUMO

O desenvolvimento de novas tecnologias sustentáveis para a melhoria da qualidade de uvas viníferas pode contribuir para o avanço da indústria vinícola do ponto de vista econômico e ambiental. Desta forma, um experimento foi realizado objetivando avaliar o efeito da aplicação de ácido abscísico (S-ABA), de extrato de alga *Ascophyllum nodosum* (AN) e de gel de *Aloe vera* (AV) nas características fenólicas de uvas cv. Merlot. Os tratamentos foram os seguintes: 1) testemunha (água); 2) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; 3) S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; 4) *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; 5) *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; 6) *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e 7) *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. Foram realizadas duas aplicações através da pulverização diretamente nos cachos para os tratamentos com extrato de *A. nodosum* e gel de *Aloe vera*, quando as bagas atingiram 50 e 75% de coloração, respectivamente. Para os tratamentos com S-ABA, realizou-se uma única aplicação quando as bagas apresentavam 50% de coloração. Foram avaliadas as seguintes características da epiderme das uvas: teores de antocianinas e polifenóis totais, e atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). Para o vinho obtido por microvinificação, realizaram-se as análises dos teores de antocianinas e polifenóis totais, antocianinas monoméricas, e os índices de coloração L\*, C\*, ângulo hue, índice específico para bagas de cor vermelha (CIRG) e atividade antioxidante (DPPH). Os resultados mostraram que as aplicações de S-ABA aumentou o teor de antocianinas totais, polifenóis totais e atividade de FAL na epiderme das uvas, aumentando também a quantificação de antocianinas monoméricas no vinho. O AN 0,4 mL L<sup>-1</sup> em condições de campo aumentou polifenóis e antocianinas totais. O tratamento com AV a 400 mg L<sup>-1</sup> apresentou efeito positivo no aumento dos teores de polifenóis totais e na atividade da enzima PPO. Para as análises do vinho, os tratamentos com gel de AV e extrato de NA aumentaram o teor de antocianinas totais e a DPPH.

**Palavras-chave:** viticultura sustentável; composição fenólica; vinificação.



## 5.1 INTRODUÇÃO

Os reguladores vegetais têm sido usados como parte do manejo em uvas de mesa por décadas para regular a brotação, a frutificação, o crescimento e o desenvolvimento dos frutos, assim como a sua maturação (TASKOS et al., 2019). Um dos compostos que tem demonstrado ter resultados positivos para a viticultura é o ácido (*S*)-cis-abscísico (*S*-ABA), apresentando respostas na melhoria dos cachos de uvas de mesa e para vinificação. Pessenti et al. (2020; 2019) em estudo com aplicações de *S*-ABA em uvas viníferas ‘Malbec’ e ‘Primitivo’ verificaram aumento dos teores de polifenóis e antocianinas totais.

Para uvas para vinificação estes resultados são muito importantes. Os compostos fenólicos são uma das classes principais de metabólitos secundários do vinho, pois têm um grande impacto nas suas propriedades organolépticas. Esses compostos podem ser divididos em dois grupos principais: não-flavonoides (estilbenos e ácidos fenólicos) e flavonoides (antocianinas e flavonóis). Dentre eles, os flavonoides têm maior impacto nas características de qualidade do vinho (GUTIÉRREZ-GAMBOA et al., 2017).

Com o aumento do interesse por sistemas mais sustentáveis de produção de alimentos, alguns bioestimulantes, à base de extratos de plantas ou de algas tem despertado o interesse, considerando que o uso de reguladores vegetais sintéticos, não são permitidos na produção orgânica.

Nesse sentido, alguns trabalhos de pesquisa têm demonstrado efeitos positivos do uso de extratos de algas na qualidade de uvas, tais como aumento nos teores de polifenóis e antocianinas em uvas das cvs Sangiovese, Pinot Noir e Cabernet Franc (FRIONI et al., 2018, 2019), aumento dos compostos voláteis da uva e do vinho da cv. Tempranillo Branco (GUTIÉRREZ-GAMBOA et al., 2017, 2020), maior atividade do metabolismo secundário de uvas cv. Sangiovese, incluindo aumento no teor de antocianinas e flavonoides (SALVI et al., 2019), incremento no índice de polifenóis em uvas cv. Merlot (TASKOS et al., 2019), além do incremento no teor de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, tamanho e peso de bagas de uvas de mesa cv. Perlette (KHAN et al., 2012). No entanto, poucos trabalhos verificaram os efeitos dos bioestimulantes a base de algas marinhas na composição fenólica do mosto e do vinho (GUTIÉRREZ-GAMBOA et al., 2020).

Outro bioestimulante natural que vem despertando interesse é o gel de *Aloe vera*, tendo sido demonstrado a sua atividade bactericida contra patógenos comuns de origem alimentar, além de aumento da cor, firmeza e vida de prateleira em tomates e morangos (CHRYSARGYRIS; NIKOU; TZORTZAKIS, 2016; SOGVAR; KOUSHESH SABA;

EMAMIFAR, 2016), mas não há relatos do seu efeito na qualidade do mosto e vinho em uvas viníferas.

Neste contexto, este estudo teve como objetivo verificar o efeito da aplicação em pré-collheita de ácido abscísico (*S*-ABA), do gel de *Aloe vera* e do extrato da alga *Ascophyllum nodosum* na composição fenólica e nas características da uva cv. Merlot e na composição do seu vinho.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Delineamento Estatístico e Local do Experimento

O experimento foi realizado em um vinhedo comercial localizado em Campo Largo-PR (25°40'31'S, 49°49'64''O e altitude de 840 m) com a cv. Merlot (*Vitis vinifera*) por dois ciclos consecutivos (2017/18 e 2018/19). As videiras com 7 anos de idade eram enxertadas sobre o porta-enxerto 'Paulsen 1103' plantadas no espaçamento 3,0 x 1,5 m e conduzidas em Guyot simples em espaldeira. Os tratos culturais foram realizados igualmente aos que são adotados pela vinícola nos dois ciclos, de acordo com as recomendações para a cultura. Conforme Alvares et al. (2013) na classificação de Köppen, o clima é Cbf, clima temperado úmido com verão temperado e estações de inverno e verão bem definidas. As precipitações são bem distribuídas em todos os meses do ano. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distrófico de textura argilosa.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 7 tratamentos, 4 repetições e parcela experimental constituída de 3 plantas, sendo avaliada a planta central. Os tratamentos foram os seguintes: 1) testemunha (água); 2) *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> (ABA 400); 3) *S*-ABA 600 mg L<sup>-1</sup> (ABA 600); 4) gel de *Aloe vera* 200 mL L<sup>-1</sup> (AV 200); 5) gel de *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup> (AV400); 6) extrato de alga *Ascophyllum nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> (AN02); 7) extrato de alga *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> (AN04). As aplicações de soluções aquosas de *S*-ABA (Valent BioSciences Corporation, Libertyville, IL, EUA) foram realizadas quando 50% das bagas se encontravam coloridas, com o uso de um pulverizador costal até o ponto de escorrimento, sendo aplicado diretamente nos cachos. Os extratos de *A. nodosum* e gel de *Aloe vera* foram aplicados duas vezes, quando 50% e 75% das bagas se encontravam coloridas, respectivamente, com intervalo de duas semanas.

A colheita foi realizada quando a cv. Merlot atingiu ponto de colheita (aproximadamente 18° Brix para todos os tratamentos). Após a colheita e o transporte, os cachos foram acondicionados em câmara fria em temperaturas entre 10 e 12°C.

Vinte e quatro horas após a colheita, os cachos de cada parcela foram desengaçados manualmente, separando uma amostra de 500 g para cada repetição. Em seguida, as bagas foram esmagadas manualmente e acondicionadas em mini tanques de fermentação. Posteriormente, foi adicionado metabissulfito de potássio 10 g hL<sup>-1</sup> e após uma hora foi adicionado a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na proporção de 10g 100L<sup>-1</sup>. A fermentação alcóolica foi acompanhada por meio da medição da densidade à 20°C e da pesagem diariamente até que houvesse estabilização, momento em que também foi realizada a remontagem do bagaço

das uvas. Após dez dias de fermentação em contato com as cascas foi realizada a descuba, retirando a casca do contato com o mosto, com auxílio de sacos de voil. A descuba foi determinada quando houve estabilização por três dias consecutivos da massa dos mini tanques de fermentação.

Foram juntadas duas repetições formando amostras compostas, resultando em 3 repetições. Após este processo, ocorreu a fermentação lenta, onde foi mensurada a massa diariamente. Após a trasfega, ocorreu a fermentação malolática, sendo que o término foi determinado pela cromatografia de ácido málico. Posteriormente, foi adicionado metabissulfito de potássio dissolvido ( $10\text{g } 100\text{L}^{-1}$ ) e ocorreu a estabilização tartárica em câmara fria, por 30 dias com controle de temperatura ( $0^{\circ}\text{C}$ ). Decorrida a estabilização tartárica, foi realizado o engarrafamento manual, rotulagem e armazenamento em ambiente refrigerado.

### 5.2.2 Análise dos Compostos Fenólicos e Coloração

A colheita para ambas as safras foi realizada em meados de fevereiro. Na primeira safra a média geral de teor de sólidos solúveis foi de  $18^{\circ}$  brix, e na segunda safra,  $22^{\circ}$  brix. Após a colheita, os cachos foram acondicionados em caixas de plástico (20 kg) em câmara fria ( $10 - 12^{\circ}\text{C}$ ) por 24 horas. As avaliações de características de cor, L, croma e ângulo hue, e para as análises fenólicas, antocianinas e polifenóis totais foram realizadas tanto nas amostras de epiderme das bagas como para o vinho. O índice CIRG foi calculado somente para as bagas.

Para a determinação do teor de polifenóis totais, foi seguido o método de Singleton e Rossi (1965), que utiliza o reagente de Folin Ciocalteau e uma curva de calibração com ácido gálico. Pesou-se 1g de cascas frescas (para o vinho, utilizou-se amostra de 1 mL) que foram colocadas em tubos falcon, adicionado de 0,4 mL de uma solução de álcool metílico 50% v/v. Os frascos foram tampados com papel filme e permaneceram em BOD a  $30^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Após este período, o extrato foi separado em frasco de vidro. Adicionou-se 0,1 mL de solução de metanol para enxaguar as cascas. Após isso, mais 0,4 mL de solução hidroalcoólica foi adicionada aos tubos falcons, para então as cascas passarem pela extração, em BOD a  $0^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas. Posteriormente, o extrato foi homogeneizado com o extrato retirado anteriormente e repetiu-se o enxágue das cascas. Ao final do processo, obteve-se um extrato de 1 mL para cada amostra. Em seguida, procedeu-se a reação com o reagente Folin-Ciocalteau. Em um tubo de ensaio, adicionou-se 7,9 mL de água destilada; 0,1 mL da solução padrão; 0,50 mL do reagente de Folin-Ciocalteau, e após 3 minutos, 1,50 mL de solução de carbonato de sódio a 20%. As amostras foram homogeneizadas e permaneceram no escuro por 2 horas, para completar a

reação. Em seguida, foram realizadas as leituras da absorbância das amostras a um comprimento de 760 nm em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão). Para as leituras obtidas, ajustou-se uma curva de regressão linear. Para a obtenção da concentração de polifenóis totais, realizou-se o mesmo procedimento de reação, com o reagente Folin-Ciocalteu, descrito para a curva de calibração. Exceto para o fato de que as soluções extratos tiveram que ser diluídas na proporção 1:10. As leituras obtidas com os extratos foram interpoladas na curva padrão e os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico L<sup>-1</sup>.

O método utilizado para a quantificação antocianinas totais foi aquele descrito por Lee e Francis (1972), com modificações. O conteúdo de 1 g de casca (para vinho, utilizou-se 1 mL) foi retirado do ultrafreezer e macerado em cadinhos de porcelana com 10 mL de solução extratora (50% de etanol 95% + 50% de ácido clorídrico 1,5 M). Com as amostras totalmente maceradas, o conteúdo líquido foi armazenado em tubo de ensaio protegido da luz coberto por papel alumínio, realizando-se em seguida a lavagem do restante do macerado preso ao cadinho, adicionando-se mais 15 mL da solução extratora.

Os tubos foram mantidos sob refrigeração a 4°C por 20 horas e posteriormente, o extrato foi filtrado, lavando-o com 25 mL da solução extratora, deixando o total do extrato em frasco coberto com papel alumínio por duas horas. Em seguida, foram retirados 2 mL do extrato, adicionando-se 10 mL da solução extratora e posterior agitação em vortex. A leitura da amostra foi feita em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) a 535 nm, sendo os valores expresso em mg de antocianinas por 100 g de material vegetal. Para quantificação do teor de antocianinas utilizou-se a equação  $1 (FD \cdot VA) \cdot 98,2^{-1}$ , em que VA = valor da absorbância e FD = fator de diluição.

Através de um colorímetro, modelo Croma meter CR-400/410 (Minolta, Osaka, Japão), onde foram efetuadas três leituras em diferentes extremidades do fruto (para o vinho, utilizou-se 30 mL de amostra). Os valores foram expressos na coordenada-padrão CIE L\* a\* b\*, em que L\* representa o brilho de uma superfície (L\*=100 = branco; L\*=0 = preto); a\* representa a intensidade de cor do verde ao vermelho (a\* mais negativo= mais verde; a\* mais positivo= mais vermelho), e b\* mede a intensidade de cor do amarelo ao azul (b\*= mais positivo = mais amarelo; b\*= mais negativo = mais azul). Os valores de a\* e b\* foram utilizados para calcular a tonalidade de cor C\*, pela fórmula  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  e o ângulo H\* (CARREÑO et al., 1995). Mediante os valores de colorimetria, foi calculado o índice específico para bagas de cor vermelha (CIRG), com a equação  $CIRG = 180 - hue^* / (L^* + C^*)$ , em que o hue\* é o ângulo calculado através da seguinte fórmula  $hue^* = \text{tang}^{-1} (b^*/a^*)$ . Valores do índice CIRG próximos

de zero correspondem a coloração verde, enquanto valores próximos de três correspondem a coloração vermelha (CARREÑO et al., 1995).

### 5.2.3 Atividade Enzimática da Epiderme das Uvas

Para as análises enzimáticas, foram coletados quatro cachos de uva por parcela. A epiderme das bagas foi congelada em nitrogênio líquido a fim de paralisar todas as reações metabólicas. Essas amostras foram armazenadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para análises posteriores.

As amostras das cascas foram pesadas (1,0g) e maceradas em almofariz com nitrogênio líquido e homogeneizadas mecanicamente em 3 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7) contendo 0,1 mM de EDTA. Essa solução foi transferida para tubo tipo eppendorf contendo 0,0003g de polivinilpirrolidona (PVP) e centrifugado a 13000g durante 30 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ . O extrato enzimático foi obtido do sobrenadante dessa centrifugação que em seguida, foi armazenado em freezer  $-20^{\circ}\text{C}$  até a realização das análises de determinação de conteúdo proteico, atividade das enzimas peroxidase (POD), polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina amônia-liase (FAL).

Para a determinação do conteúdo proteico total foi utilizado 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático adicionado sob agitação em 2,5 mL do reagente Bradford. Passados 5 minutos foi efetuada a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) com comprimento de onda de 595 nm. A concentração de proteínas, expressa em mg por mL de amostra ( $\text{mg proteína. mL}^{-1}$ ), foi determinada utilizando-se curva-padrão de concentrações de albumina de soro bovino (ASB) de 0 a 0,5  $\text{mg mL}^{-1}$ , obtida pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

A atividade específica da peroxidase (POD) (E.C. 1.11.1.7) foi determinada de acordo com metodologia de Urbanek et al. (1991) com adaptações. Dessa forma, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático em 2,9 mL de solução contendo tampão acetato de sódio 50 Mm pH 5,2 e peróxido de hidrogênio 20 mM. Em seguida, essa solução foi incubada em banho maria por 10 minutos em temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, foi efetuada a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) à 480 nm, determinando-se a conversão do guaiacol em tetraguaicol. Uma unidade de atividade de POD é equivalente a um aumento em 0,01 vezes a quantidade de enzima para 1 g de peso fresco / min, conforme Fu et al. (2011).

Para determinação da atividade específica da enzima polifenoloxidase (PPO) (E.C.1.10.3.2) (GAUILLARD; RICHARD-FORGET; NICOLAS, 1993), utilizou-se como substrato enzimático a solução contendo 25 mM de catecol homogenizada em 50 mL de tampão

fosfato de potássio a 0,1M, pH 6,0. Adicionou-se 200 µL do extrato enzimático com 2,8 mL dessa solução em tubos de ensaio que, em seguida, foram colocados por 10 minutos em banho maria com temperatura de 30°C. Posteriormente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) com comprimento de onda de 410 nm. Uma unidade de atividade de PPO é equivalente a um aumento em 0,001 vezes a quantidade de enzima para 1 g de peso fresco / min, conforme Kose et al. (2011).

Foram utilizados três tubos para a determinação da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) (E.C. 4.3.1.5) (RODRIGUES; NETO; COELHO, 2006). No primeiro tubo-amostra foi pipetado 100 µL de extrato enzimático com 400 µL de tampão TRIS e 500 µL de L-fenilalanina. No segundo (tubo-controle), 100 µL de amostra com 900 µL de tampão TRIS e no terceiro tubo-branco, 500 µL de tampão TRIS com 500 µL de L-fenilalanina. Em seguida, foram incubados em banho-maria à 40°C por 1 hora. Por conseguinte, adicionou-se 60 µL de HCL 0,5 M para paralisar a reação. Transcorrido esse período realizou-se a leitura em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) com comprimento de onda de 290 nm. Uma unidade de atividade FAL é equivalente a um aumento de 0,01 vezes quantidade de enzima para 1 g de peso fresco / h, conforme Fu et al. (2011).

#### 5.2.4 Análise da Atividade Antioxidante do Vinho

Para avaliar a atividade antioxidante do vinho foi utilizada a metodologia de DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995), com adaptações.

Na análise de DPPH, as amostras diluídas (100 µL) foram misturadas com 3,9 mL de uma solução metanólica de DPPH (60 µmol/L). A absorbância foi medida em 517 nm usando um espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) após a solução ser deixada em repouso no escuro até a estabilização (tempo previamente determinado). Os resultados foram expressos em equivalentes de Trolox por litro de vinho (µmol TE/L) (ALBERTI et al., 2014).

#### 5.2.5 Análises das Antocianinas Individuais do Vinho

As análises das antocianinas individuais foram realizadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-ESI-QTOF-MS / MS) em um sistema Prominence UFLC (Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massa Impact HD (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As antocianinas foram separadas utilizando pré-coluna C18 (2,0 x 4 mm) e coluna Bidentate C18 (100 x 2.1mm, MicroSolv Technology Corporation, Leland, NC, EUA),

sendo solução de 0,1 % de ácido fórmico em água (fase móvel A) e 0,1 % de ácido fórmico em acetonitrila (fase móvel B). O gradiente de fase móvel utilizado foi o seguinte: 0-2 min, 10% B; 2-15 min, 10-75% B; 15-18 min, 90% B; 18-21 min 90% B; 21-23 min, 10% B, 23-30 min, 10% B. Outras características operacionais foram: fluxo 0,2 mL min<sup>-1</sup>; volume de injeção 10 µL; temperatura da coluna 40 °C.

O espectrômetro de massas foi operado no modo ESI positivo, com espectros adquiridos ao longo de um intervalo de massas de m/z 50 até 1200. As características foram: voltagem do capilar em 3,5 kV; temperatura do gás de secagem, 180 °C; fluxo de gás de secagem, 8,0 L min<sup>-1</sup>; pressão do gás de nebulização, 2 bar; colisão RF, 150 Vpp; tempo de transferência de 70 µs e armazenamento pré-pulso, 8 µs. A intensidade da energia de colisão foi ajustada para experimentos automáticos MS/MS de acordo com as razões m / z: m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV, e utilizando nitrogênio como gás de colisão.

Os dados de MS foram analisados utilizando o software Data analysis 4.2 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). A composição elementar de cada composto foi selecionada de acordo com as massas exatas e padrão isotópico através da ferramenta Smart Formula (Bruker Compass DataAnalysis™), a qual fornece uma lista de possíveis fórmulas moleculares combinando a massa exata e distribuição isotópica refletida em seus valores de erro (ppm) e mSigma, respectivamente.

As antocianinas foram caracterizadas em termos do padrão de fragmentação no UV/VIS (220-800 nm) e comparadas com dados de bancos de dados (Metlin, MassBank, Kegg) e com a literatura de referência (DELGADO DE LA TORRE; PRIEGO-CAPOTE; LUQUE DE CASTRO, 2015; WILLEMSE et al., 2015) A curva de calibração foi desenvolvida pela adição do padrão de pelargonidina (0,2 a 30 µg mL<sup>-1</sup>) em metanol. As antocianinas presentes nas amostras foram quantificadas utilizando a área de pico da pelargonidina e sua concentração. Os resultados foram expressos em mg L<sup>-1</sup>.

#### 5.2.6 Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ao nível de 5% de significância. Empregou-se a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas através do teste Scott Knott, ao nível de 5% de probabilidade. A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada usando as variáveis com o objetivo de analisar a relação entre as características analisadas. O software utilizado foi o R 4.0.3 (R CORE TEAM, 2020), utilizando o pacote ExpDes.pt e FactoMineR.



## 5.3 RESULTADOS

### 5.3.1 Compostos Fenólicos E Atividade Enzimática Da Epiderme Das Uvas

Na Tabela 4, observam-se os resultados dos conteúdos de antocianinas e polifenóis totais e das atividades das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) na epiderme das bagas da cv. Merlot nas duas safras (2017/18 e 2018/19). Os tratamentos ABA600 e AV200 foram significativamente superiores para os teores de antocianinas totais no primeiro ciclo quando comparado com os demais tratamentos. No segundo ciclo, os tratamentos com S-ABA e AN foram estaticamente superiores, seguido dos tratamentos testemunha e AV400.

Para o teor de polifenóis totais o tratamento AV400 foi superior, seguido do tratamento AN04, para o primeiro ciclo. Na segunda safra, ABA600 e AN04 foram estatisticamente superiores quando comparados aos demais. Para a enzima FAL, os tratamentos ABA600 e AV200 foram significativamente superiores para a primeira e segunda safra, respectivamente. A enzima POD apresentou maior atividade para o tratamento ABA400, seguido do ABA600, AV200 e os tratamentos com AN, no primeiro ciclo. No segundo ciclo, os tratamentos ABA600 e as doses de AV, foram estatisticamente superiores. Para a enzima PPO houve diferenças significativas somente na safra 2017/18 com valores superiores para os tratamentos com AV.

Na Figura 10, têm-se a PCA na safra 2017/2018 com as análises fenólicas e de atividade enzimática, que mostra os eixos 1 e 2 representando 75,5 % da variação total. O eixo 1 apresenta todas as características no escore positivo, exceto polifenóis totais. O eixo 2 separa a enzima FAL no escore negativo. O tratamento AV400 correlacionou-se positivamente com os teores de polifenóis totais; assim como a atividade da FAL e o teor de antocianinas correlacionaram-se positivamente com as doses de S-ABA. O tratamento AV200 correlacionou-se positivamente com a PPO.

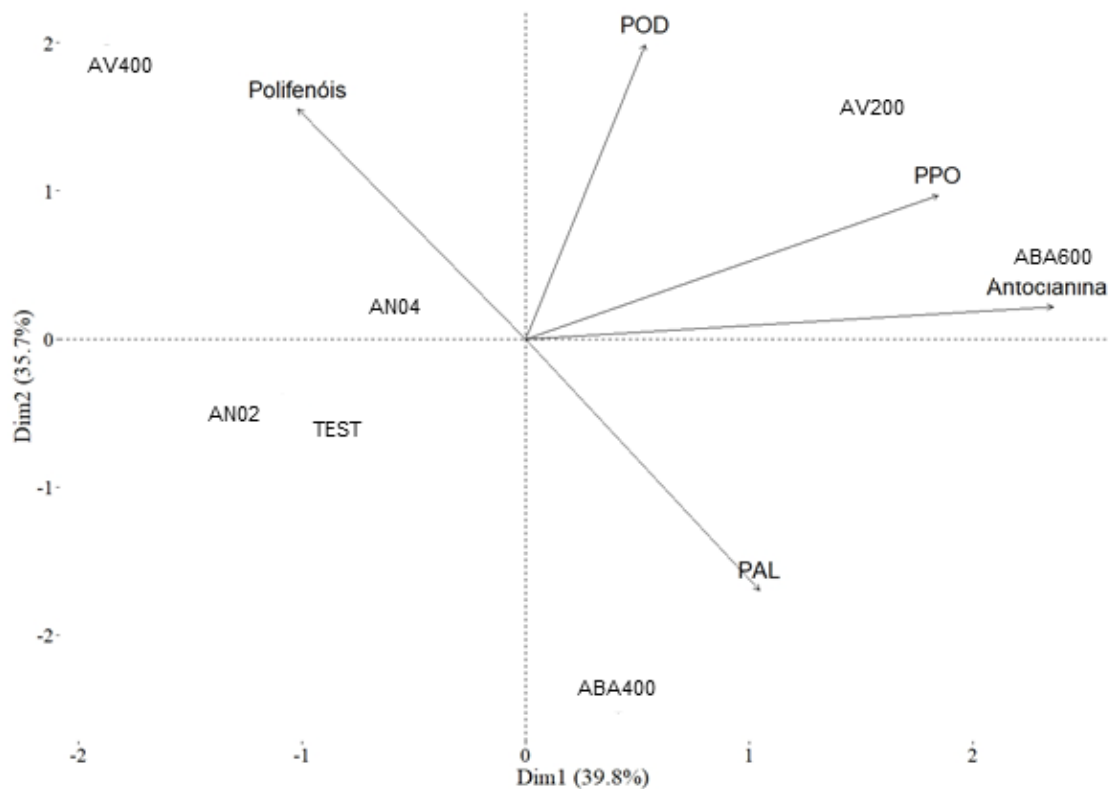


Figura 10 - Análises de Componentes Principais para as análises de compostos fenólicos e de atividade enzimática de uvas cv. Merlot na safra 2017/18. FAL (Fenilalanina Amônia-Liase), PPO (Polifenoloxidase), POD (Peroxidase). TEST: testemunha; ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

Na Figura 611, têm-se a análise dos componentes principais da safra 2018/2019, que mostra os eixos 1 e 2 representando 89,7 % da variação total para as análises fenólicas e enzimáticas. O eixo 1 apresenta as características fenólicas no escore positivo, e as fenólicas no escore negativo. O eixo 2 separa todas as características no escore positivo. Os tratamentos ABA600 e AN04 se correlacionaram positivamente com os teores de polifenóis totais e de antocianinas, assim como as atividades das enzimas FAL e POD se correlacionaram positivamente com os tratamentos AN02 e AV400.

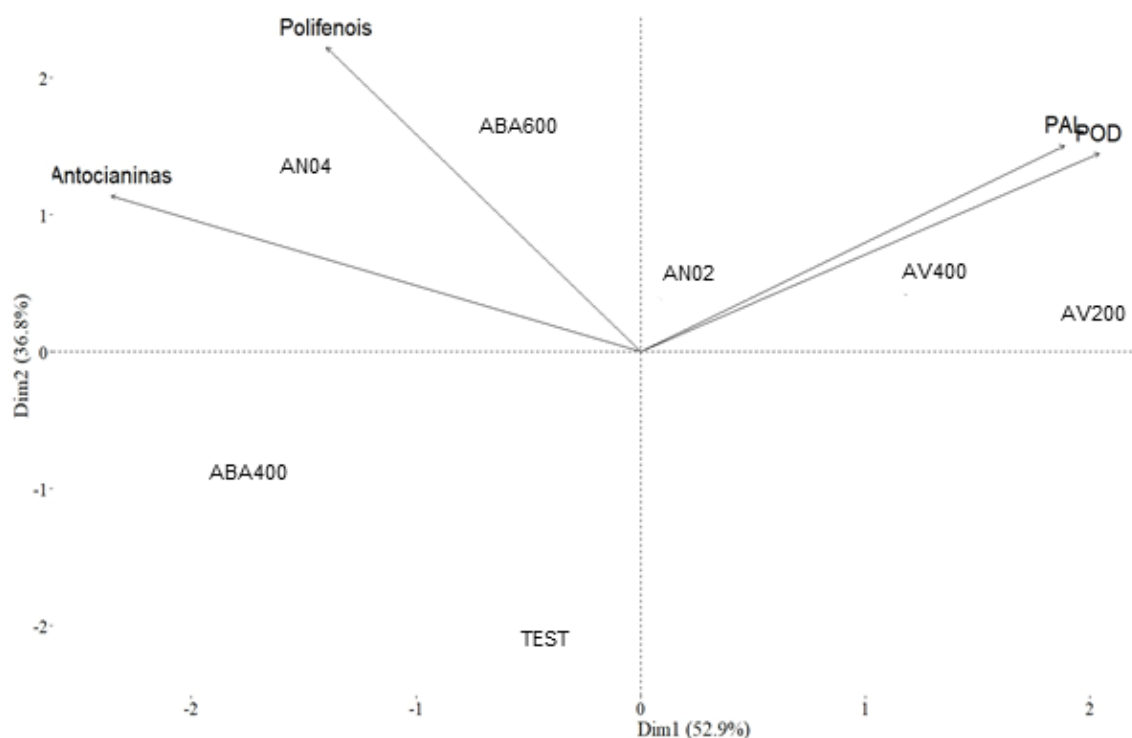


Figura 11 - Análises de Componentes Principais das análises de compostos fenólicos e atividades enzimáticas para uvas da cv. Merlot na safra 2018/19. TEST: testemunha; ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

### 5.3.2 Análises dos Compostos Fenólicos, Índices de Cor e Atividade Antioxidante no Vinho

Na Tabela 5, têm-se os resultados das análises de compostos fenólicos e de índices de cor do vinho em duas safras (2017/18 e 2018/19). Para o teor de antocianinas, o tratamento ABA400 foi superior aos demais na primeira safra. Na segunda safra, as duas doses de AN e o tratamento ABA600 foram superiores, mas não diferiram da testemunha.

Para os índices de cor luminosidade, cromaticidade e ângulo hue, quanto mais baixos os valores significa que mais escuro estava o vinho. Para os índices L, croma e ângulo hue, os valores mais baixos foram verificados para as duas doses de S-ABA e AN02, nas duas safras. Para o índice CIRG de coloração para uvas tintas, foram verificados os maiores valores para os tratamentos ABA600 e AN02 na primeira safra. Na segunda safra, os maiores valores para índice CIRG foram para as duas doses de S-ABA. Para a atividade antioxidante, os maiores valores foram verificados para os tratamentos ABA600, AV400 e AN04 nas duas safras.

Na Figura 612, têm-se a análise dos componentes principais do vinho de uvas cv. Merlot na safra 2017/2018, que mostra os eixos 1 e 2 representando 94,4 % da variação total para as variáveis fenólicas e de cor. O eixo 1 apresenta as características fenólicas no escore negativo, e de cor no escore positivo. O eixo 2 separa as características de cor no centro (próximo do eixo

zero). As antocianinas ficaram no quadrante positivo e atividade antioxidante no negativo. O tratamento ABA400 se correlacionou positivamente com as antocianinas totais. O tratamento AN02 se correlacionou positivamente com o índice CIRG, assim como a atividade antioxidante correlacionou-se positivamente com os tratamentos AN04 e ABA600. As variáveis de cor se correlacionaram positivamente com as duas doses de AV.

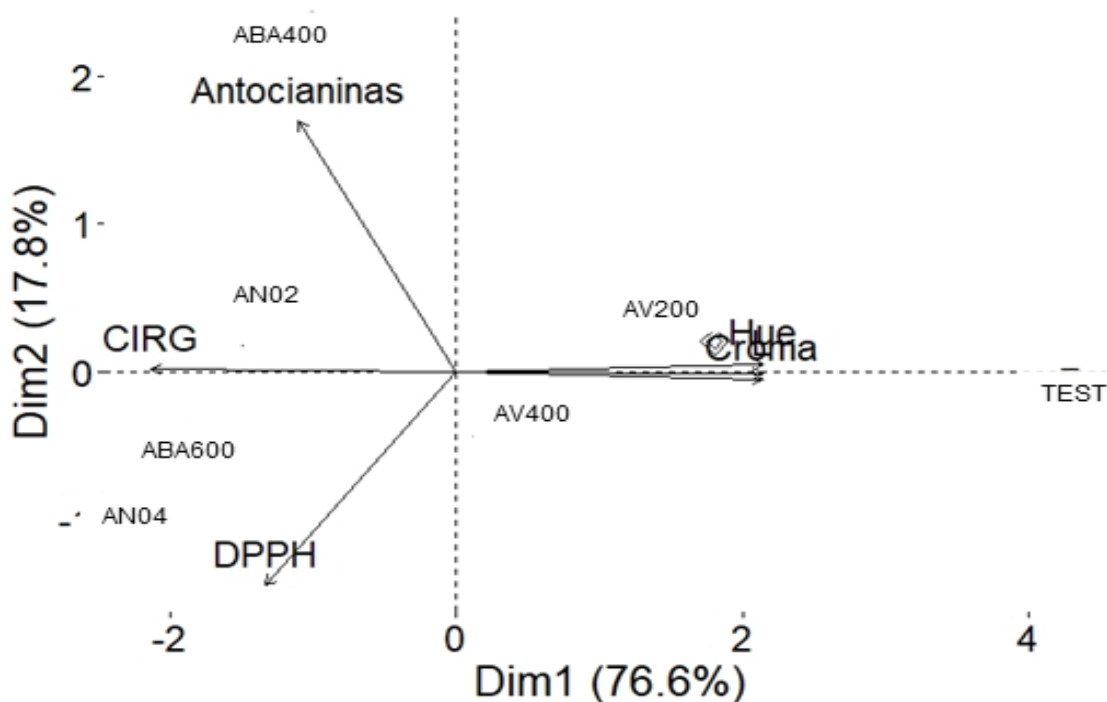


Figura 12 - Análises de Componentes Principais das análises de compostos fenólicos e de índices de cor para o vinho de uvas cv. Merlot na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

Na Figura 613, têm-se a análise dos componentes principais das análises do vinho de uvas cv. Merlot na safra 2018/2019, que mostra os eixos 1 e 2 representando 91,5 % da variação total para as análises s fenólicas e de índices de cor. O eixo 1 apresenta as características fenólicas e índice CIRG no escore negativo, e de cor no escore positivo. O eixo 2 separa as características de cor, antocianinas e atividade antioxidante. O índice CIRG no negativo. O tratamento ABA400 se correlacionou positivamente com as antocianinas totais. A TEST se correlacionou positivamente com as variáveis de cor, assim como a atividade antioxidante e antocianinas correlacionaram-se com o tratamento AN04.

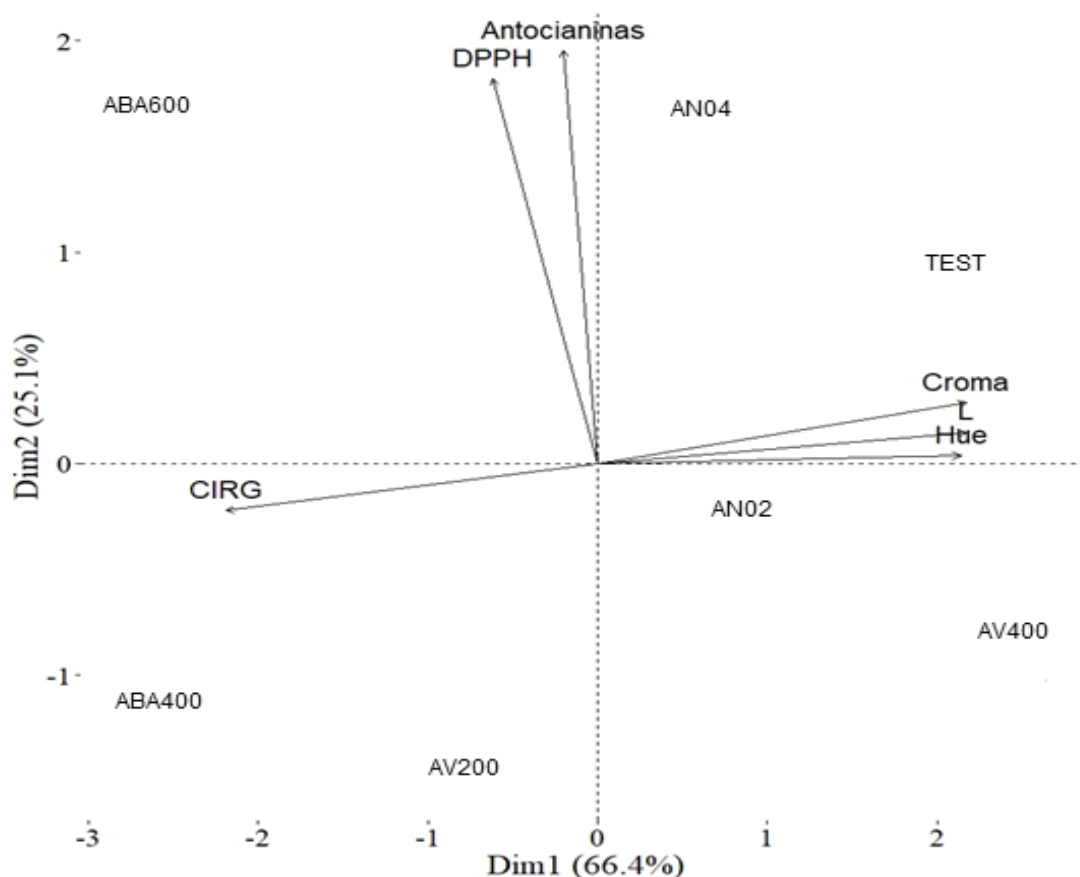


Figura 13 - Análises de Componentes Principais das análises dos compostos fenólicos e de índices cor para o vinho de uvas da cv. Merlot na safra 2018/19. TEST: testemunha; ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.

### 5.3.3 Antocianinas Individuais no Vinho

Na Tabela 6, têm-se os resultados das análises das antocianinas individuais para o vinho na safra 2017/2018. Os tratamentos com S-ABA foram significativamente superiores aos demais tratamentos para as antocianinas monoméricas como cianidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, delphinidina-3,6-acetil-glicosídeo, peonidina-3,6-acetil-glicosídeo. Para as demais antocianinas, além do ABA400, o tratamento testemunha também foi significativamente superior aos demais.

Tabela 4 - - Antocianinas totais (mg 100 g<sup>-1</sup>), polifenóis totais (mg eag100 L<sup>-1</sup>), FAL (U g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), POD (U g<sup>-1</sup>) e PPO (U g<sup>-1</sup>) das bagas da cv. Merlot tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19.

Merlot	Antocianinas Totais (mg 100 g <sup>-1</sup> )		Polifenóis Totais (mg eag100 L <sup>-1</sup> )		FAL (U g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		POD (U g <sup>-1</sup> )		PPO (U g <sup>-1</sup> )	
	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19
TEST	148,77 b	28,65 b	1120,02 c	986,69 b	150 b	63,61 d	534,35 c	23,50 b	33,45 b	196,50
ABA400	173,21 b	49,60 a	1232,84 c	1253,35 b	149,5 b	375,31 c	3632,31 a	4,85 b	13,50 b	202,00
ABA600	206,11 a	45,45 a	1348,23 c	1768,74 a	474 a	636,13 b	1653,94 b	74,85 a	39,25 b	465,00
AV200	204,58 a	14,37 c	1350,79 c	1020,02 b	275 b	1348,60 a	1253,18 b	80,65 a	96,90 a	393,50
AV400	136,04 b	34,16 b	1822,59 a	1255,92 b	200,5 b	852,41 b	375,31 c	90,80 a	64,30 a	290,0
AN02	149,18 b	43,49 a	1420,02 c	1281,56 b	188 b	916,03 b	1036,89 b	49,30 b	16,95 b	275,0
AN04	163,13 b	56,56 a	1571,30 b	1714,89 a	216 b	795,16 b	1641,22 b	34 b	40,80 b	273,5

TEST: testemunha; ABA400:S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (p≤0,05).

Tabela 5 - Antocianinas totais (mg 100 g<sup>-1</sup>), L, croma, ângulo hue, índice CIRG e capacidade antioxidante DPPH (µmol TE L<sup>-1</sup>) do vinho da cv. Merlot tratadas em pré-colheita com diferentes produtos nas safras 2017/18 e 2018/19.

Merlot	Antocianinas Totais (mg 100 g <sup>-1</sup> )		L		Ângulo hue		Croma		CIRG		DPPH	
	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19
TEST	63,84 c	51,73 a	18,16 a	21,99 b	31,49 a	32,86 a	59,95 a	64,43 a	1,90 g	1,70 c	5,27 b	7,91 b
ABA400	107,33 a	40,42 b	15,40 g	16,94 f	29,47 d	30,72 b	55,70 d	57,15 e	2,10 d	2,01 a	5,82 b	7,32 b
ABA600	78,71 b	50,40 a	15,89 d	17,28 e	28,98 f	30,86 b	54,81 g	58,07 d	2,15 a	1,97 b	8,09 a	20,94 a
AV200	83,6 b	36,55 b	17,22 b	18,49 d	30,65 b	32,07 a	58,25 b	59,70 c	1,97 f	1,89 c	6,83 b	6,50 b
AV400	79,63 b	34,92 b	16,45 c	22,43 a	29,90 c	33,38 a	56,90 c	64,44 a	2,04 e	1,68 e	7,72 a	8,91 b
AN02	81,46 b	44,19 a	15,46 f	20,08 c	28,99 f	32,67 a	55 f	32,16 b	2,14 b	1,79 d	6,50 b	7,32 b
AN04	80,54 b	47,45 a	15,58 e	20,11 c	29,08 e	32,85 a	55,28 e	62,17 b	2,12 c	1,78 d	9,29 a	19,93 a

TEST: testemunha; ABA400:S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (p≤0,05).

Tabela 6 -- Antocianinas Individuais do vinho da cv. Merlot tratadas em pré-colheita com diferentes produtos na safra 2017/18.

Merlot	Antocianinas Individuais (mg L <sup>-1</sup> )							
	Cianidina-3-Glicosídeo	Malvidina-3-Glicosídeo	Peonidina-3-Glicosídeo	Delfinidina-3-Glicosídeo	Petunidina-3-Glicosídeo	Delfinidina-3,6-Acetil-Glicosídeo	Peonidina-3,6-Acetil-Glicosídeo	Petunidina-3-(p-coumaril) Glicosídeo
TEST	0,7825 b	4,4184 a	1,8093 a	1,1406 a	0,8454 b	0,7812 b	1,0935 b	0,7695 b
ABA400	0,7796 b	4,3767 a	1,7222 a	1,1235 a	0,8597 a	0,8034 a	1,1522 a	0,7696 b
ABA600	0,7897 a	4,0607 b	1,0798 b	1,0255 b	0,8495 b	0,8023 a	1,0786 b	0,7759 a
AV200	0,7685 c	2,5305 f	1,0348 b	1,0172 b	0,8238 c	0,766 b	0,8717 e	0,7578 c
AV400	0,7689 c	2,7177 e	1,0681 b	0,9604 c	0,8016 d	0,7628 b	0,8675 e	0,7587 c
AN02	0,779 b	2,9189 d	1,0413 b	1,0413 b	0,8253 c	0,7702 b	0,9237 d	0,7606 c
AN04	0,7728 c	3,2393 c	0,9864 b	0,9864 c	0,802 d	0,7718 b	0,9523 c	0,7614 c

TEST: testemunha; ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ( $p \leq 0,05$ ).

Na Figura 14, têm-se a Análise de Componentes Principais (PCA) para as antocianinas individuais no vinho da cv. Merlot na safra 2017/2018, que mostra os eixos 1 e 2 representando 93,2 % da variação total. O eixo 1 apresenta todas as antocianinas individuais no escore positivo. O eixo 2 separou peonidina e a delphinidina-3-glicosídeo no escore positivo, a cianidina, a delphinidina-3,6-acetil-glicosídeo e a petudinina-3,6-coumaril-glicosídeo no escore negativo. As demais localizaram-se ao centro.

As doses de AV e AN correlacionaram-se negativamente com as antocianinas individuais, sendo a TEST, e as doses de ABA correlacionaram-se positivamente com as antocianinas individuais.

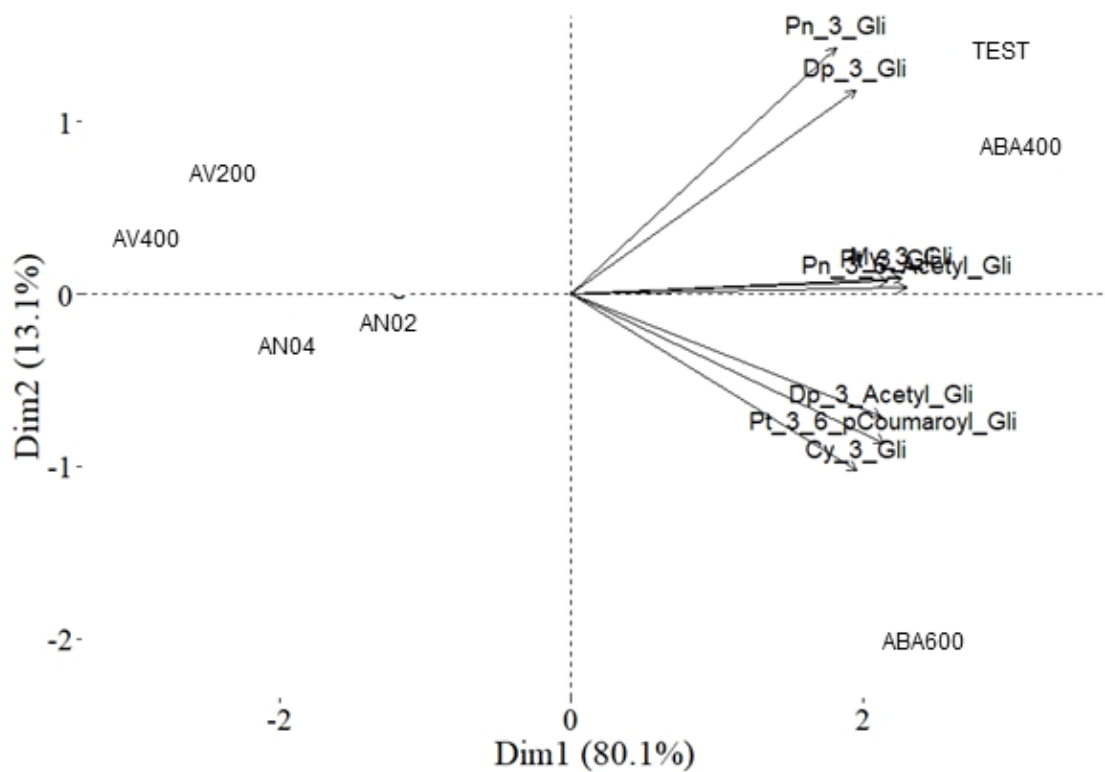


Figura 14 -Análises de Componentes Principais para Antocianinas Individuais no vinho da cv. Merlot na safra 2017/18. TEST: testemunha; ABA400: S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>; ABA600: S-ABA 600 mg L<sup>-1</sup>; AV200: *A. vera* 200 mL L<sup>-1</sup>; AV400: *A. vera* 400 mL L<sup>-1</sup>; AN02: extrato de *A. nodosum* 0,2 mL L<sup>-1</sup> e AN04: extrato de *A. nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup>.



## 5.4 DISCUSSÃO

### 5.4.1 Compostos Fenólicos e Atividade Enzimática da Epiderme das Uvas

Inúmeros autores já relataram os efeitos do uso do *S*-ABA no amadurecimento de frutos, principalmente na viticultura. Em uvas das cvs. Pritimivo e Malbec, por exemplo, foi demonstrado que a dose de 600 mg L<sup>-1</sup> levou o aumento do teor de polifenóis e antocianinas totais (PESENTI et al., 2020; PESENTI; AYUB; BOTELHO, 2019). Neste trabalho com cv. Merlot, o teor de antocianinas totais, polifenóis totais e da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase foram aumentadas pelo uso do *S*-ABA em pelo menos uma safra. Isto ocorre porque a síntese de antocianinas depende de fatores internos, como o ácido abscísico (*S*-ABA), que induz o fator de transcrição MYB1A, proteína que regula a transcrição dos genes que compõem a rota biossintética de antocianinas (JEONG et al., 2004; KOYAMA et al., 2018, 2019).

A evolução do conteúdo de antocianinas em uvas tintas é caracterizado por três estágios: primeiramente, apresenta um ligeiro aumento, o segundo estágio é caracterizado por um aumento pronunciado e na última fase, estabilização seguido de queda até o fim da maturação tecnológica (RIBÉREAU-GAYON, 1982). Em cultivares de *Vitis vinifera* L., as antocianinas são produzidas durante o período de maturação a partir da fase de pintor. Esta fase é caracterizada por uma mudança da cor da epiderme devido ao acúmulo de antocianinas nas cascas das uvas vermelhas. Práticas culturais que aumentam diretamente exposição dos cachos ao sol, além de aumentar temperatura, favorece a síntese de antocianinas, aumentando os compostos fenólicos totais e a densidade da cor de vinhos (ALMEIDA; ONO, 2017; DENG et al., 2019; GUTIÉRREZ-GAMBOA et al., 2020; PIRIE; MULLINS, 1977).

Diferentes resultados têm sido relatados por alguns autores sobre as características físico-químicas dos cachos após a aplicação de extratos de algas marinhas nas videiras. Essas diferenças podem ser atribuídas a vários fatores, como a cultivar da uva, o tipo de formulação ou as espécies de algas aplicadas (FRIONI et al., 2018, 2019; KHAN et al., 2009). No entanto, nenhum estudo foi realizado para verificar a qualidade final do vinho produzido dessas uvas.

Em uvas de mesa cv. Perlette, tratamento baseado em uma mistura de aminoácidos com um extrato de *A. nodosum*, levou a melhoria das características físico-químicas, como aumento da produtividade, tamanho de baga, incremento no teor de sólidos solúveis, acidez total, pH, teor de antocianinas totais e polifenóis totais (KHAN et al., 2012, 2009). No entanto, em uvas cv. Narince, o tratamento com *A. nodosum*, não afetou as características físico-químicas nas amostras de uvas tratadas (SABIR et al., 2014).

Em uvas cv. Sangiovese, o bioestimulante a base de *A. nodosum*, não afetou o rendimento, número de cachos por videira, peso médio do cacho, teor de sólidos solúveis, pH e acidez titulável, enquanto as antocianinas totais e os compostos fenólicos totais nas cascas das uvas foram superiores aos das amostras não tratadas (FRIONI et al., 2018, 2019). A aplicação de extrato de *A. nodosum* em Pinot Noir e Cabernet Franc não afetou os teores de sólidos solúveis, pH, acidez titulável e fenólicos totais; enquanto que em ambas as cultivares, o conteúdo total de antocianinas da casca da uva foi incrementado (FRIONI et al., 2018).

De maneira geral, em nosso estudo foram observados efeitos dos tratamentos com *S-ABA* e *A. nodosum* como aumento dos teores de compostos fenólicos, de antocianinas totais e da atividade das enzimas FAL e POD na epiderme de uvas cv. Merlot. Para as características do vinho os tratamentos com ABA melhoraram os teores de antocianinas totais, e os índices de coloração CIRG, L, C e ângulo hue, assim como aumentou a sua atividade antioxidante.

Deng et al. (2019) demonstraram que os reguladores vegetais (*S-ABA*) ou bioestimulantes desempenham um papel importante na melhoria da cor de uvas maduras, aumentando o nível de transcrição de vários genes tais como, como PAL, DFR, CHI, F3H, GST, CHS e UFGT (DENG et al., 2019). No presente estudo, os tratamentos *S-ABA* e *A. nodosum* também promoveram o aumento da atividade da enzima fenilalanina amônia-líase na epiderme da cv. Merlot, a qual é precursora da biossíntese dos flavonoides. Houve incremento também nos teores de antocianinas totais e polifenóis totais. No vinho da cv. Merlot, o *A. nodosum* promoveu incremento na cor, assim como na atividade antioxidante e antocianinas totais.

Fan et al. (2011), observaram maior conteúdo fenólico nas maiores doses de extrato de *A. nodosum* em espinafre, no qual foi relacionado à maior capacidade antioxidante, devido às maiores quantidades de compostos antioxidantes não enzimáticos e aumento da atividade de enzimas antioxidantes, incluindo POD e superóxido dismutase (SOD). A maior atividade antioxidante é uma característica importante para melhorar o valor nutricional de frutas e vegetais, bem como prolongar sua vida útil, aumentando assim o valor comercial de produtos frescos (FAN et al., 2011, 2014).

Um bioestimulante vegetal é qualquer substância ou microrganismo aplicado às plantas com o objetivo de aumentar a eficiência nutricional, a tolerância ao estresse abiótico e/ou características de qualidade da produção, independentemente de seus elementos nutrientes (JARDIN, 2015; ROUPHAEL; COLLA, 2020). O bioestimulante deriva de matéria-prima natural, incluindo algas marinhas e extratos de plantas superiores, substâncias animais, quitina e quitosana, misturas orgânicas complexas, polissacarídeos e hormônios vegetais.

O aumento da eficiência da fotossíntese resulta na produção de mais fotoassimilados (monossacarídeos) que podem reagir com as antocianidinas para formar antocianinas. Os extratos de algas marinhas contêm fitohormônios, como ácido indolacético, citocininas, ácido giberélico, poliaminas e ácido abscísico (DENG et al., 2019). Muitos genes envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas são regulados por fitohormônios, que podem desencadear as sequências promotoras dos genes. Neste trabalho, os tratamentos com S-ABA e *A. nodosum* aumentaram a atividade da FAL, em pelo menos um dos ciclos. A enzima FAL é precursora da rota biossintética dos flavonoides, formando como um dos produtos finais, as antocianinas. Resultados similares foram encontrados no aumento da FAL com uso de ABA (SUN et al., 2019), aumento da FAL e chalcona isomerase com doses de ABA (HIRATSUKA et al., 2001) e com doses de *A. nodosum* com aumento da chalcona isomerase, na qual contribuiu na biossíntese das antocianinas (FAN et al., 2011).

Além disso, os altos níveis de fenilalanina e monossacarídeos podem ser outras fontes importantes para a formação de antocianinas. A fenilalanina atua como precursor para formar antocianidinas, que por sua vez são glicosiladas por monossacarídeos para formar antocianinas estáveis (DENG et al., 2019).

Gutiérrez-Gamboa et al. (2020) aplicaram duas doses de *A. nodosum* em uvas cv. Tempranillo Branco e não verificaram diferenças para as características enológicas, tais como acidez volátil, pH, teor alcoólico e acidez total. No entanto, esses mesmos autores analisaram os compostos voláteis no vinho, e verificaram que o extrato de *A. nodosum* pode influenciar nos teores de álcoois superiores, ésteres etílicos e conteúdo de ácidos graxos (GUTIÉRREZ-GAMBOA et al., 2020).

Os compostos fenólicos presentes no metabolismo secundário das plantas são de grande interesse devido às suas atividades biológicas comprovadas em diversos estudos. No entanto, estão sujeitos à oxidação levando ao escurecimento enzimático, o que acarreta perda das propriedades organolépticas diminuindo sua apreciação pelo consumidor (DAAS AMIOUR; HAMBABA, 2016; İÇİER; YILDIZ; BAYSAL, 2008). Embora o escurecimento seja desejável durante o desenvolvimento da fruta, seu desenvolvimento contínuo após a maturação e colheita leva a danos e desperdício. O escurecimento pós-colheita de frutas e vegetais é atribuído principalmente à oxidação de compostos fenólicos pela polifenoloxidase (PPO) e/ou peroxidase (POD) (DAAS AMIOUR; HAMBABA, 2016).

A polifenoloxidase (PPO) é uma enzima oxidoredutase e contém cobre (İÇİER; YILDIZ; BAYSAL, 2008). PPO catalisa a oxidação de compostos monofenólicos o-fenólicos para o-quinonas, que são subsequentemente polimerizadas em pigmentos de cor escura. Esta

metaloenzima, amplamente distribuída nas plantas, tem impacto no sabor e no aroma das frutas, uma vez que os compostos fenólicos desempenham um papel nos sabores amargos, doces, picantes ou adstringentes em frutas, vegetais e especiarias (DAAS AMIOUR; HAMBABA, 2016; VALDERRAMA; FABIANE; CLEMENTE, 2001).

A peroxidase (POD) tem um acréscimo em sua solubilidade durante o período de maturação dos frutos, conseqüentemente um aumento na atividade desta enzima no pós-climatérico (VALDERRAMA; FABIANE; CLEMENTE, 2001). Estas enzimas podem participar de inúmeras reações oxidativas e de biodegradação, tais como mudança de cor, degradação da clorofila ou auxinas, oxidação de fenóis, oxidação do ácido indol acético, biossíntese da lignina, e muitos destes fatores também podem ser associados com flavor, cor, textura e qualidade nutricional dos alimentos. O controle da atividade destas enzimas é de grande relevância para a tecnologia de alimentos, uma vez que estas são responsáveis pelo escurecimento em frutas e vegetais e seus produtos processados. Neste trabalho as enzimas POD e PPO foram mais ativas com o uso de *Aloe vera* em pré colheita.

O uso de *Aloe vera* em pré colheita em uvas de mesa, pode melhorar a sua conservação pós colheita. Alguns autores têm encontrado resultados positivos nas características químicas e de cor ao usar gel de *Aloe vera*. Há relatos de que as poliaminas são reconhecidas como hormônios vegetais anti-senescência e a ocorrência de poliaminas livres nos géis de *AV* pode ser considerada uma boa fonte de controle da senescência em frutos em tratamentos em pré e pós-colheita (CASTILLO et al., 2010; ZAPATA et al., 2013). Neste trabalho foram encontrados resultados positivos nos índices de cor no vinho, além de maior atividade antioxidante. Na epiderme, as doses de *AV* aumentaram os teores de antocianinas, polifenóis e atividade enzimática da PPO e POD, em pelo menos um ciclo estudado.

Castillo et al. (2010) realizaram a aplicação em pré colheita de gel de *A. vera* em uvas cv. Autumn Royal e não encontraram diferenças significativas para as características químicas, como sólidos solúveis, pH e acidez titulável, porém observou-se que houve retenção na mudança de cor observado pelo maior valor de ângulo hue, uma vez que a diminuição deste ângulo está relacionada ao escurecimento da casca pela aceleração do processo de maturação.

Além disso, o escurecimento da casca está associado a um aumento no teor de antocianinas totais, enquanto a aplicação pós-colheita do gel de *AV* como um revestimento comestível retardou o acúmulo de antocianinas na casca da uva (VALVERDE et al., 2005). Resultados semelhantes em termos de atrasos nas mudanças de cor foram observados em cerejas submetidas ao gel de *AV* imediatamente após a colheita (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 2006).

#### 5.4.2 Análises dos Compostos Fenólicos, Índices de Cor e Atividade Antioxidante no Vinho

Em relação às variáveis fenólicas no vinho, o *S*-ABA e *A. nodosum* aumentaram os teores das antocianinas totais, porém os teores de polifenóis totais não foram influenciados pelos tratamentos em nenhuma safra. Para os índices de cor (L, C, e ângulo hue), os tratamentos com ambas as doses de *S*-ABA foram significativamente superiores para todas as variáveis, assim como para índice CIRG e capacidade antioxidante. Para o ângulo hue e DPPH, o *A. nodosum* também aumentou os valores de ângulo hue e DPPH. Koyama et al. (2014a, 2014b) verificaram aumentos nos teores de antocianinas e polifenóis totais, tanto na baga quanto no suco de uva da cv. Isabel, quando aplicado *S*-ABA. Alguns autores também relataram aumento das antocianinas totais e individuais no suco com a aplicação de *S*-ABA, contribuindo para incremento nas características de cor (KOYAMA et al., 2018; LUAN et al., 2014, 2016). As antocianinas identificadas nas amostras do vinho foram derivadas de cinco antocianidinas monoglicosadas: delphinidina (Dp), cianidina (Cy), petunidina (Pt), peonidina (Pn) e malvidina (Mv). Todas elas foram significativamente aumentadas com pelo menos uma das doses testadas de *S*-ABA.

Esses resultados são potencialmente interessantes para a produção de vinhos tintos, considerando o aspecto de comercialização, com do ponto de vista do benefício do seu consumo para a saúde humana, mais precisamente dos seus efeitos antioxidantes. Percival (1996) explana que os antioxidantes são nossa primeira linha de defesa contra os danos dos radicais livres e são essenciais para manter a saúde e o bem-estar. A necessidade de antioxidantes se torna ainda mais crítica com o aumento da exposição aos radicais livres.

A atividade antioxidante do vinho, uvas frescas ou suco de uva é, portanto, atribuível a diferentes tipos de constituintes fenólicos (ORAK, 2007). A atividade antioxidante das frutas decorre principalmente dos fenólicos, principalmente dos flavonoides. Sendo estes, com atividade anti-inflamatória, antialérgica, antiviral, antienvelhecimento e anticarcinogênica (BRILLANTE et al., 2015; FRIONI et al., 2018; NETO et al., 2017; ORAK, 2007).

As antocianinas são pigmentos naturais, responsáveis por uma ampla gama de cores em uvas e vinhos tintos (LEE et al., 1979). A cianidina é a antocianidina mais comum, e o 3-glicosídeo é a antocianina antioxidante mais ativa. As antocianinas, uma subclasse de flavonoides, possuem uma forte correlação entre a capacidade antioxidante, e os fenóis totais.

## 5.5 CONCLUSÃO

A aplicação exógena do bioestimulante *Ascophyllum nodosum* 0,4 mL L<sup>-1</sup> em pré-colheita apresentou os melhores resultados nas cascas de uvas 'Merlot' em relação a qualidade fenólica.

O aumento do conteúdo de antocianinas totais na epiderme de uvas cv. Merlot e no vinho, associado com aumento das antocianinas monoméricas na dose 600 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA afirma que este regulador vegetal é uma ferramenta interessante para os produtores rurais durante o manejo vitícola do pomar, promovendo incremento de cor e qualidade fenólica.

As aplicações foliares de gel de *Aloe vera* 200 mL L<sup>-1</sup> em pré colheita em cultivares viníferas, como a Merlot, apresentou os melhores resultados na atividade antioxidante do vinho e nas atividades enzimáticas, como polifenoloxidase e peroxidase. Os três produtos aplicados apresentaram resultados positivos nos aspectos avaliados na cv. Merlot, para o extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e gel de *Aloe vera* é importante mais estudos em diferentes estádios fenológicos e combinados com mais aplicações para obter resultados mais congruentes.

## REFERÊNCIAS

ALBERTI, A. et al. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151–158, 15 abr. 2014.

ALMEIDA, M. B.; ONO, E. O. Efeitos de diferentes níveis de desfolha sobre a fisiologia, a produção e a qualidade das uvas e dos vinhos da variedade Syrah em condições tropicais semiáridas brasileiras. **Revista Semiárido De Visu**, v. 4, n. 3, p. 160–175, 2017.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 1 dez. 2013.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.-E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRILLANTE, L. et al. Relationships between skin flavonoid content and berry physical-mechanical properties in four red wine grape cultivars ( *Vitis vinifera* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 272–279, dez. 2015.

CARREÑO, J. et al. Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. **Food Research International**, v. 28, n. 4, p. 373–377, 1995.

CASTILLO, S. et al. Antifungal efficacy of Aloe vera in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, n. 3, p. 183–188, set. 2010.

CHRYSARGYRIS, A.; NIKOU, A.; TZORTZAKIS, N. Effectiveness of *Aloe vera* gel coating for maintaining tomato fruit quality. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 44, n. 3, p. 203–217, 2 jul. 2016.

DAAS AMIOUR, S.; HAMBABA, L. Effect of pH, temperature and some chemicals on polyphenoloxidase and peroxidase activities in harvested Deglet Nour and Ghars dates. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 77–82, jan. 2016.

DELGADO DE LA TORRE, M. P.; PRIEGO-CAPOTE, F.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Tentative identification of polar and mid-polar compounds in extracts from wine lees by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high-resolution mode: Identification of polar compounds in wine lees. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 50, n. 6, p. 826–837, jun. 2015.

DENG, Q. et al. SUNRED, a natural extract-based biostimulant, application stimulates anthocyanin production in the skins of grapes. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 2590, 22 fev. 2019.

FAN, D. et al. Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 195–202, 2011.

FAN, D. et al. Pre-harvest treatment of spinach with *Ascophyllum nodosum* extract improves post-harvest storage and quality. **Scientia Horticulturae**, v. 170, p. 70–74, maio 2014.

FRIONI, T. et al. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p. 97–106, 17 fev. 2018.

FRIONI, T. et al. Metabolic and transcriptional changes associated with the use of *Ascophyllum nodosum* extracts as tools to improve the quality of wine grapes (*Vitis vinifera* cv. Sangiovese) and their tolerance to biotic stress. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 14, p. 6350–6363, nov. 2019.

FU, Z. et al. Dynamic changes in enzyme activities and phenolic content during in vitro rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) plantlets. **Maejo International Journal of Science and Technology**, v. 5, p. 252–265, 1 maio 2011.

GAUILLARD, F.; RICHARD-FORGET, F.; NICOLAS, J. New spectrophotometric assay for polyphenol oxidase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 215, n. 1, p. 59–65, 15 nov. 1993.

GUTIÉRREZ-GAMBOA, G. et al. Foliar nitrogen application in Cabernet Sauvignon vines: Effects on wine flavonoid and amino acid content. **Food Research International**, v. 96, p. 46–53, jun. 2017.

GUTIÉRREZ-GAMBOA, G. et al. Phenolic composition of Tempranillo Blanco (*Vitis vinifera* L.) grapes and wines after biostimulation via a foliar seaweed application. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 2, p. 825–835, 30 jan. 2020.

GUTIÉRREZ-GAMBOA, G. et al. Seaweed foliar applications at two dosages to Tempranillo blanco (*Vitis vinifera* L.) grapevines in two seasons: Effects on grape and wine volatile composition. **Food Research International**, v. 130, p. 108918, 1 abr. 2020.

HIRATSUKA, S. et al. Enzyme activity changes during anthocyanin synthesis in ‘Olympia’ grape berries. **Scientia Horticulturae**, v. 90, n. 3, p. 255–264, 16 nov. 2001.

İÇİER, F.; YILDIZ, H.; BAYSAL, T. Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. **Journal of Food Engineering**, v. 85, n. 3, p. 410–417, abr. 2008.

JARDIN, P. DU. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, Biostimulants in Horticulture. v. 196, p. 3–14, 30 nov. 2015.

JEONG, S. T. et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. **Plant Science**, v. 167, n. 2, p. 247–252, 2004.

KHAN, A. S. et al. Foliar application of mixture of amino acids and seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract improve growth and physicochemical properties of grapes. **Int. J. Agric. Biol.**, v. 14, n. 3, p. 383–388, 2012.

KHAN, W. et al. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 4, p. 386–399, dez. 2009.



- KOSE, C. et al. Comparative evaluation of oxidative enzyme activities during adventitious rooting in the cuttings of grapevine rootstocks. **J Sci Food Agric**, v. 15, n. 91, p. 738–741, 2011.
- KOYAMA, R. et al. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from ‘Isabel’grapes (*Vitis labrusca* L.). **HortScience**, v. 49, n. 4, p. 460–464, 2014a.
- KOYAMA, R. et al. Application time and concentrations of abscisic acid on the color development of ‘Isabel’grapes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1697–1706, 2014b.
- KOYAMA, R. et al. Exogenous Abscisic Acid Promotes Anthocyanin Biosynthesis and Increased Expression of Flavonoid Synthesis Genes in *Vitis vinifera* × *Vitis labrusca* Table Grapes in a Subtropical Region. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.
- KOYAMA, R. et al. Abscisic Acid Application Affects Color and Acceptance of the New Hybrid ‘BRS Melodia’ Seedless Grape Grown in a Subtropical Region. **HortScience**, v. 54, n. 6, p. 1055–1060, jun. 2019.
- LEE, J. et al. Physiological study on the anthocyanin development in grape. I. Effect of fruit temperature on the anthocyanin development in ‘Kyoho’ variety. **Han’guk Wonye Hakhoe chi.**= **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, 1979.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, 1972.
- LUAN, L.-Y. et al. Comparing the effects of exogenous abscisic acid on the phenolic composition of Yan 73 and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) wines. **European Food Research and Technology**, v. 239, n. 2, p. 203–213, ago. 2014.
- LUAN, L.-Y. et al. Brassinosteroids Regulate Anthocyanin Biosynthesis in the Ripening of Grape Berries. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 34, n. 2, nov. 2016.
- MARTÍNEZ-ROMERO, D. et al. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: A new edible coating. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, n. 1, p. 93–100, jan. 2006.
- NETO, F. J. D. et al. Effect of ABA on colour of berries, anthocyanin accumulation and total phenolic compounds of ‘Rubi’ table grape (*Vitis vinifera*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 2, p. 199, 2017.
- ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, v. 111, n. 3, p. 235–241, fev. 2007.
- PERCIVAL, M. Antioxidants. **Clin. Nutr. Ins.**, v. 1, p. 1–6, 1996.
- PESENTI, I. L. et al. Melhoria da qualidade da uva de mesa ‘Primitivo’ por desfolha manual e aplicação de ácido abscísico. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e1039119647, 6 nov. 2020.
- PESENTI, I. L.; AYUB, R. A.; BOTELHO, R. V. Defoliation, application of S-ABA and vegetal extracts on the quality of grape and wine Malbec cultivar. v. 41, n. 3, 2019.

PIRIE, A.; MULLINS, M. G. Interrelationships of sugars, anthocyanins, total phenols and dry weight in the skin of grape berries during ripening. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 28, n. 4, p. 204–209, 1977.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2020.

RIBÉREAU-GAYON, P. The anthocyanins of grapes and wines. In: **Anthocyanins as Food Colors**. [s.l.] Academic Press: New York, 1982. v. 6p. 209–244.

RODRIGUES, A. A. C.; NETO, E. B.; COELHO, R. S. B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. Tracheiphilum em Caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. v. 31, n. 5, p. 492–499, 2006.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Editorial: Biostimulants in Agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 4 fev. 2020.

SABIR, A. et al. Vine growth, yield, berry quality attributes and leaf nutrient content of grapevines as influenced by seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) and nanosize fertilizer pulverizations. **Scientia Horticulturae**, v. 175, p. 1–8, 2014.

SALVI, L. et al. Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on *Vitis vinifera*: Consequences on plant physiology, grape quality and secondary metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 139, p. 21–32, jun. 2019.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SOGVAR, O. B.; KOUSHESH SABA, M.; EMAMIFAR, A. *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 114, p. 29–35, abr. 2016.

SUN, Y. et al. Study on the regulation of anthocyanin biosynthesis by exogenous abscisic acid in grapevine. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 294–301, 10 maio 2019.

TASKOS, D. et al. Effects of an *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. extract on grapevine yield and berry composition of a Merlot vineyard. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 27–32, maio 2019.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, K. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum (Poland)**, v. 13, p. 43–50, 1991.

VALDERRAMA, P.; FABIANE, M.; CLEMENTE, E. EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE A ATIVIDADE DE PEROXIDASE (POD) E POLIFENOLOXIDASE (PPO) EM MAÇÃ (*Mallus comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, dez. 2001.

VALVERDE, J. M. et al. Novel Edible Coating Based on *Aloe vera* Gel To Maintain Table Grape Quality and Safety. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7807–7813, out. 2005.

WILLEMSE, C. M. et al. Comprehensive Two-Dimensional Hydrophilic Interaction Chromatography (HILIC) × Reversed-Phase Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry (RP-LC-UV-MS) Analysis of Anthocyanins and Derived Pigments in Red Wine. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 24, p. 12006–12015, 15 dez. 2015.

ZAPATA, P. J. et al. Characterisation of gels from different Aloe spp. as antifungal treatment: Potential crops for industrial applications. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 223–230, mar. 2013.