



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

RONAN CARLOS COLOMBO

**COMPORTAMENTO PRODUTIVO E CARACTERIZAÇÃO  
FENÓLICA DA UVA 'BRS VITÓRIA' SOB DIFERENTES  
DENSIDADES DE CACHOS E ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

RONAN CARLOS COLOMBO

**COMPORTAMENTO PRODUTIVO E CARACTERIZAÇÃO  
FENÓLICA DA UVA 'BRS VITÓRIA' SOB DIFERENTES  
DENSIDADES DE CACHOS E ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Ruffo Roberto  
Co-orientador: Prof. Dr. Isidro Hermosín-Gutiérrez (*in memoriam*)  
Co-orientador: Pesq. Dr. Reginaldo Teodoro de Souza

Londrina  
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Colombo, Ronan Carlos .

Comportamento produtivo e caracterização fenólica da uva 'BRS Vitória' sob diferentes densidades de cachos e estádios de maturação / Ronan Carlos Colombo. - Londrina, 2018.  
107 f.

Orientador: Sergio Ruffo Roberto.

Coorientador: Isidro Herмосín-Gutiérrez.

Coorientador: Reginaldo Teodoro de Souza.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2018.

Inclui bibliografia.

1. Vitis sp. - Tese. 2. Uva de Mesa - Tese. 3. Raleio de Cachos - Tese. 4. Compostos Fenólicos - Tese. I. Roberto, Sergio Ruffo . II. Herмосín-Gutiérrez, Isidro . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . IV. Título.

RONAN CARLOS COLOMBO

**COMPORTAMENTO PRODUTIVO E CARACTERIZAÇÃO  
FENÓLICA DA UVA 'BRS VITÓRIA' SOB DIFERENTES  
DENSIDADES DE CACHOS E ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Sérgio Ruffo Roberto  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Fábio Yamashita  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Suzana Lucy Nixdorf  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 21 de setembro de 2018.

Dedico este trabalho aos meus pais,  
Roberto C. Colombo e Dirce M.  
Colombo.

## AGRADECIMENTOS

Chegada à conclusão deste trabalho, não poderia deixar de agradecer a colaboração e disponibilidade de todas as pessoas, sem as quais, de uma maneira ou de outra, a sua realização seria impossível. Assim, quero expressar a minha gratidão a todos, nomeadamente:

A Deus, pela vida e pelas pessoas que Ele tem deixado ao meu lado ao longo desses anos.

A Universidade Estadual de Londrina e ao programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela estrutura acadêmica, indispensável à minha formação. Agradeço também ao CNPq e à Capes, pela concessão das bolsas de Doutorado e Doutorado Sanduíche.

Ao meu orientador, professor Sérgio Ruffo Roberto, pela supervisão deste trabalho e pelas oportunidades de realizar diferentes trabalhos ao longo do meu doutoramento.

Ao pesquisador Reginaldo T. de Souza, da EMBRAPA Uva e Vinho, pela contribuição a este trabalho.

Ao colega Antônio Peres (Sr. Toninho), por toda a ajuda na área experimental e manejo das videiras.

Ao professor Isidro Herмосín-Gutiérrez (*in memoriam*), a disposição em me receber em seu grupo de trabalho junto à Universidade de Castilla-La Mancha, Espanha; bem como pela paciência e por todo aprendizado que ele me proporcionou ao longo de seis meses de convivência.

Aos professores e ex-professores do Departamento de Agronomia da UEL, em especial ao professor Ricardo T. de Faria e à professora Adriane M. de Assis, pela amizade e pelas oportunidades acadêmicas ao longo da minha graduação e pós-graduação.

Aos meus pais, pelo incentivo, dedicação e por sempre estarem presentes na minha vida, mesmo que fisicamente distantes. Agradeço, também, a Jessica Colombo, pelos anos de companhia, carinho e compreensão.

Aos meus amigos: Rodrigo Hoshino, Geraldo L. Silva, Vanessa

Favetta, Thaynara Pozzobon, Lígia Silva, Rafael Toda, Julia Abati, Flávia Werner, Jaqueline Felix, Guilherme Cito, Lilian Yamamoto, Maria Cruz, Deived Carvalho, e outros tantos, que de uma maneira ou outra sempre estão disponíveis a me ouvir e ajudar. Obrigado!

Aos meus colegas do Laboratório de Fruticultura: João Pedro Silvestre, Renata Koyama, Henrique Saito, Thaís Pacheco, Muhammad Shahab, Saeed Ahmed, Osmar Chaves e Ibrar Hussain pela ajuda durante a condução e avaliação dos ensaios.

Aos pesquisadores e técnicos do Iapar e da EMBRAPA Soja, os quais cederam seus Laboratórios para a realização de algumas atividades relacionadas a este e a outros trabalhos.

A professora Suzana L. Nixdorf, pela ajuda nas análises cromatográficas e pela presença na banca examinadora deste trabalho de tese. Também agradeço à equipe do seu Laboratório - DIA, especialmente aos colegas Tiago Madeira e Lycio Watanabe que sempre estiveram dispostos a ajudar.

Aos professores Fábio Yamashita, Inês C. de B. Fonseca e Leandro S. A. Gonçalves, não só pela composição da banca examinadora deste trabalho de tese, mas sobretudo, pelos ensinamentos transmitidos e receptividade ao longo destes anos de vivência acadêmica.

Agradeço aos colegas que me receberam de braços abertos em Ciudad Real e tanto me auxiliaram: José Pérez-Navarro, María Navarro, Victoria Sánchez, José Ponce, Carmen Verdejo-Fernández, Michelly Paludo e ao professor Dr. Sergio Gómez-Alonso. Agradeço também aos colegas do Instituto de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha (IVICAM), pelo auxílio na realização das análises cromatográficas encontradas neste trabalho.

Enfim, a tantos outros dignos de meu agradecimento, que de alguma maneira contribuíram para a minha formação pessoal e profissional, bem como para a conclusão desse trabalho. Mesmo que não estejam expressamente citados, jamais desprezei suas colaborações.

***What we anticipate seldom occurs: but what we least expect generally happens.***

(Benjamin Disraeli)

COLOMBO, Ronan Carlos. **Comportamento produtivo e caracterização fenólica da uva 'BRS Vitória' sob diferentes densidades de cachos e estádios de maturação**. 2018. 107 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## RESUMO

As uvas sem sementes têm sido destacadas nos mercados nacional e internacional por serem preferidas pelos consumidores, além de terem valor comercial mais elevado em relação às tradicionais uvas com sementes. Uma das estratégias para melhorar a qualidade dos cachos de uvas de mesa é o raleio de cachos, que tem como objetivo ajustar a carga ideal das videiras. Assim, objetivou-se avaliar o comportamento produtivo e a maturação fenólica da uva sem sementes 'BRS Vitória' sob diferentes densidades de cachos e estádios de maturação. Os ensaios foram conduzidos nas safras fora de época e regular do ano de 2016, em um vinhedo comercial conduzido em latada, localizado em Marialva, PR. O presente trabalho foi dividido em dois artigos. No artigo A, avaliou-se as densidades de 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0 cachos por m<sup>2</sup>, em delineamento experimental de blocos ao acaso; sendo cada parcela composta por uma videira. A partir do início da maturação, em ambas as safras, avaliou-se semanalmente a massa das bagas, teor de sólidos solúveis (SS), pH, acidez total (TA), índice de maturação (SS/TA) e antocianinas totais. No momento da colheita também foi mensurado a massa dos cachos e assim estimou-se a produção por videira e produtividade (t ha<sup>-1</sup>). Além disso, na safra regular de 2016 avaliou-se a maturação fenólica da uva 'BRS Vitória' no momento da colheita, quando as videiras foram submetidas às referidas densidades de cachos (artigo B). No ensaio de maturação fenólica, as amostras coletadas foram submetidas às análises cromatográficas por HPLC-DAD-ESI-MS/MS para identificação e quantificação de antocianinas, flavonóis, flavan-3-óis e derivados de ácidos hidroxicinâmicos. As características tecnológicas como SS e TA da uva de mesa 'BRS Vitoria' apresentaram valores estatisticamente semelhantes, independente das densidades de cachos avaliadas. Na densidade de 6,0 cachos por m<sup>2</sup> observou-se as maiores produtividades nas duas safras avaliadas, o que pode elevar o rendimento econômico da produção. Contudo, as produções observadas na safra fora de época apresentaram redução em relação à safra regular, o que caracteriza uma alternância produtiva para esta cultivar. Em relação à composição fenólica dessa uva de mesa verificou-se influência das densidades de cachos sobre os teores de antocianinas e flavonóis, sendo mais expressivos na densidade de 5,0 cachos por m<sup>2</sup>. A uva de mesa 'BRS Vitoria' apresentou perfil de antocianinas típico de uvas híbridas, marcado pela presença de derivados 3-glicosídeos e 3,5-diglicosídeos. Dentre as seis agliconas de flavonol recorrentes em uvas, pôde-se observar a presença de todas elas e alguns de seus derivados para a referida cultivar de uva. Além disso, a uva 'BRS Vitória' pode ser considerada uma importante fonte de proantocianidinas, as quais atuam como importantes antioxidantes.

**Palavras-chave:** *Vitis* sp. Uva de Mesa. Raleio de Cachos. Compostos Fenólicos. LC-MS/MS.

COLOMBO, Ronan Carlos. **Yield aspects and phenolic characterization of 'BRS Vitória' grapes under different bunch densities and maturation stages.** 2018. 107 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## ABSTRACT

Seedless table grapes have been highlighted in the national and international markets because they are preferred by consumers and have a higher commercial value compared to the traditional grapes with seeds. To improve the quality of table grape bunches, one strategy that can be used is bunch thinning practices, which aims to adjust the ideal grape load. Thus, this study aimed to evaluate the productive characteristics and phenolic maturation of 'BRS Vitória' hybrid seedless grapes under different bunch densities and maturation stages. The trials were carried out in the off-season and regular crops, 2016, in a commercial vineyard conducted in trellis, located in Marialva, PR. This study was divided in two articles. In article A, the densities of 4.0; 4,5; 5.0; 5.5 and 6.0 bunches per m<sup>2</sup> were evaluated, in a randomized block experimental design; each plot composed of one vine. From the beginning of maturation, the berries mass, soluble solids content (SS), pH, total acidity (TA), maturation index (SS/TA) and total anthocyanins were weekly evaluated. At the harvest time, the bunch mass was also measured and thus the production per vine and yield (t ha<sup>-1</sup>) was estimated. In addition, in 2016 regular crop season, 'BRS Vitória' grapes phenolic maturation was evaluated when the vines were submitted to the mentioned bunches densities (article B). In the phenolic maturation trial, the collected samples were submitted to chromatographic analysis by HPLC-DAD-ESI-MS/MS aiming the identification and quantification of anthocyanins, flavonols, flavan-3-ol and hydroxycinnamic acids derivatives. Technological characteristics, such as SS and TA, evaluated in 'BRS Vitoria' table grape presented statistically similar values, regardless the evaluated bunch densities. At the density of 6.0 bunches per m<sup>2</sup>, it was observed the highest yields in both crop seasons, which can increase the crop economic yield. However, the observed yield in off-season crop showed a reduction in relation to the regular crop season, which characterizes a productive alternation in this grape cultivar. Regarding 'BRS Vitoria' table grape phenolic composition, it was verified the influence of the bunch densities in anthocyanin and flavonol contents, being more expressive in the density of 5.0 bunches per m<sup>2</sup>. 'BRS Vitoria' table grape showed a typical hybrid grapes anthocyanins profile, marked by the presence of 3-glucosides and 3,5-diglucosides derivatives. Among the six flavonol aglycones recurring in grapes, can be observed the presence of all of them and some of their derivatives in this grape cultivar. In addition, 'BRS Vitória' table grape can be considered an important source of proanthocyanidins, which is an important antioxidant.

**Key words:** *Vitis* sp. Table Grapes. Bunches thinning. Phenolic Compounds. LC-MS/MS.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 2.3.2.1</b>	Cacho da uva sem sementes ‘BRS Vitória’, Marialva, Paraná.....	25
<b>Figura 2.5.1.1.1</b>	Estrutura química dos flavan-3-óis.....	29
<b>Figura 2.5.1.1.2</b>	Estrutura química das principais procianidinas (PB1, PB2, PB3 e PB4).....	30
<b>Figura 2.5.1.2.1</b>	Estrutura química dos flavonóis. ....	30
<b>Figura 2.5.1.3.1</b>	Estrutura química das antocianinas .....	33
<b>Figura 2.5.1.3.2</b>	Estrutura química da antocianina malvidina-3,5-diglicosídeo. ....	34
<b>Figura 2.5.2.1</b>	Estrutura química do ácido cinâmico e dos ácidos cinâmicos mais importantes .....	35
<b>Figura 2.5.2.2</b>	Fórmula geral dos ácidos hidroxicinamiltartáricos.....	35
<b>Figura 2.5.2.3</b>	Estrutura química dos isômeros <i>trans</i> - e <i>cis</i> -Resveratrol e <i>trans</i> - e <i>cis</i> -Piceid.....	36
<b>Figure 3.4.1</b>	Evolution of the physicochemical characteristics recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape during the ripening under different bunch densities. Off-season crop, 2016.....	52
<b>Figure 3.4.2</b>	Evolution of the physicochemical characteristics recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape during the ripening under different bunch densities. Regular crop, 2016. ....	54
<b>Figure 3.4.3</b>	Yield ( $t\ ha^{-1}$ ) recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. A: Off-season; B: regular crops, 2016.....	59
<b>Figure 4.4.1</b>	HPLC–DAD chromatograms (detection at 520 nm) correspond to anthocyanins detected in ‘BRS Vitoria’ grape skin submitted to different bunch densities. A: 4 bunches per $m^2$ ; B: 6 bunches per $m^2$ . For peak assignment, see Table 4.4.2.....	84

<b>Figure 4.4.2</b>	Main phenolic compounds recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. A: 3-glucosides serie (expressed as mv-3-glc eq.); B: 3,5-diglucosides serie (expressed as mv-3,5-diglc eq.); C: total anthocyanins (3-glc serie + 3,5-diglc serie) expressed as mv-3,5-diglc eq.; D: total flavonols (expressed as Q-3-glc eq.). .....86
<b>Figure 4.4.3</b>	HPLC–DAD chromatograms (detection at 360 nm) correspond to flavonols detected in ‘BRS Vitoria’ grape skin submitted to different bunch densities. A: 4 bunches per m <sup>2</sup> ; B: 6 bunches per m <sup>2</sup> . For peak assignation, see Table 4.4.3.....88
<b>Figure 4.4.4</b>	HPLC–DAD chromatograms (detection at 320 nm) correspond to hidroxycinnamic acid derivates (HCAD) detected in ‘BRS Vitoria’ berries submitted to different bunch densities. A: 4 bunches per m <sup>2</sup> ; B: 6 bunches per m <sup>2</sup> . For peak assignation, see Table 4.4.4. ....91
<b>Figure 4.4.5</b>	Flavan-3-ols monomers and B-type dimers recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. ....94
<b>Figure 4.4.6</b>	Estimated yield (t ha <sup>-1</sup> ) recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. ....96
<b>Figure 4.4.7</b>	Principal Component Analysis (PCA) of phenolic compounds and yield recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape subjected to different bunch densities. A: treatments dispersion according to the principal component scores (4.0; 4.5; 5.0; 5.5 and 6.0 bunches per m <sup>2</sup> ). B: evaluated characteristics arrangement according to the principal component scores. yield (t ha <sup>-1</sup> ); m3g: anthocyanins 3-glucoside serie as malvidin-3-glucoside eq; m35g:

anthocyanins 3,5-diglucoside serie as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.m35: total anthocyanins as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.flv: total flavonols as Q-3-glc eq.; c.pic: *cis-piceid* content; t.pic: *trans-piceid* content; t.caf: total caftaric acid content; cat: catechin content; epcat: epicatechin content; gcat: catechin-3-gallate content; PB1: procyanidin B1 content; PB2: procyanidin B2 content; PBni: not identified procyanidin content (retention time = 32.85); mDP: mean degree of polimerization; gal: percentage of galloylation; and t.PA: total proanthocyanidins content. ....97

**Figure 4.4.8**

Heatmap of phenolic compounds, hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) and yield evaluated in 'BRS Vitoria' seedless table grape under different bunch densities. Characteristics: yield (t ha<sup>-1</sup>); m3g: anthocyanins 3-glucoside serie as malvidin-3-glucoside eq; m35g: anthocyanins 3,5-diglucoside serie as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.m35: total anthocyanins as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.flv: total flavonols as Q-3-glc eq.; c.pic: *cis-piceid* content; t.pic: *trans-piceid* content; t.caf: total caftaric acid content; cat: catechin content; epcat: epicatechin content; gcat: catechin-3-gallate content; PB1: procyanidin B1 content; PB2: procyanidin B2 content; PBni: not identified procyanidin content (retention time = 32.85); mDP: mean degree of polimerization; gal: percentage of galloylation; and t.PA: total proanthocyanidins content. ....99

**Figure 4.4.9**

Correlation network analysis among the main phenolic compounds [anthocyanins, flavan-3-ol, flavonol, hidroxycinnamic acid derivates (HACD), and stilbenes] and yield recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grapes. yield (t ha<sup>-1</sup>); m3g:

anthocyanins 3-glucoside serie as malvidin-3-glucoside eq; m35g: anthocyanins 3,5-diglucoside serie as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.m35: total anthocyanins as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.flv: total flavonols as Q-3-glc eq.; c.pic: *cis-piceid* content; t.pic: *trans-piceid* content; t.caf: total caftaric acid content; cat: catechin content; epcat: epicatechin content; gcat: catechin-3-gallate content; PB1: procyanidin B1 content; PB2: procyanidin B2 content; PBni: not identified procyanidin content (retention time = 32.85); mDP: mean degree of polimerization; gal: percentage of galloylation; and t.PA: total proanthocyanidins content .....100

## LISTA DE TABELAS

<b>Table 3.4.1</b>	Regression equations for berry mass, soluble solids content – SS, pH, total acidity – TA, maturation index (SS/TA) and total anthocyanins recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. Off-season crop, 2016.....	53
<b>Table 3.4.2</b>	Regression equations for berry mass, soluble solids content – SS, pH, total acidity – TA, maturation index (SS/TA) and total anthocyanins recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. Regular crop, 2016.....	55
<b>Table 3.4.3</b>	Soluble solids content (SS), pH, total acidity (TA), maturation index (SS/TA) and total anthocyanins recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. Off-season and regular crops, 2016.....	58
<b>Table 3.4.4</b>	Berry mass, bunch mass and number of berries per bunch recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. Off-season and regular crops, 2016.....	59
<b>Table 4.4.1</b>	Soluble solids content (SS), pH, total acidity (TA) and maturation index (SS/TA) recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities.....	79
<b>Table 4.4.2</b>	Chromatographic and spectroscopic (MS/MS spectra) characteristics of the anthocyanins identified in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities by HPLC–DAD–ESI-MS/MS (positive ionization mode). Molar proportions (mean value, n = 3), and total concentration (as malvidin 3-glucoside or malvidin 3,5-diglucoside equivalents) in berry skin. Peak numbers as in Fig. 4.4.1.....	82
<b>Table 4.4.3</b>	Chromatographic and spectroscopic (MS/MS spectra) characteristics of the flavonols identified in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities	

	by HPLC–DAD–ESI-MS/MS (negative ionization mode). Molar proportions (mean value, n = 3), and total concentration (as quercetin 3-glucoside equivalents) in berry skin. Peak numbers as in Fig. 4.4.2.....	87
<b>Table 4.4.4</b>	Chromatographic and spectroscopic (MS/MS spectra) characteristics of hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) and stilbenes identified in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities by HPLC–DAD–ESI-MS/MS (negative ionization mode). Molar proportions (mean value, n = 3), and total concentration (as caftaric acid equivalents) in grape berries. Peak numbers as in Fig. 4.4.3.....	90
<b>Table 4.4.5</b>	Structural characterization of monomeric flavan-3-ol, proanthocyanidins and B-type procyanidin dimer identified in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. Total content (as (+)-catechin equivalents) in berry skin.....	93
<b>Table 4.4.6</b>	Berry and bunch mass recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities.....	95

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
2.1	VITICULTURA .....	19
2.2	VITICULTURA BRASILEIRA .....	20
2.2.1	Viticultura Paranaense .....	20
2.3	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA VIDEIRA .....	21
2.3.1	Uvas de Mesa .....	22
2.3.1.1	Uvas sem sementes .....	23
2.3.2	‘BRS Vitória’ .....	24
2.4	MANEJO DA PRODUÇÃO .....	25
2.5	COMPOSIÇÃO FENÓLICA DAS UVAS .....	27
2.5.1	Flavonoides .....	28
2.5.1.1	Flavanóis (flavan-3-óis) .....	28
2.5.1.2	Flavonóis .....	30
2.5.1.3	Antocianinas .....	31
2.5.2	Compostos de Natureza Não Flavonoide .....	34
2.6	REFERÊNCIAS .....	37
<b>3</b>	<b>ARTIGO A – MATURAÇÃO E PRODUÇÃO DA UVA DE MESA SEM SEMENTES ‘BRS VITÓRIA’ SOB DIFERENTES DENSIDADES DE CACHOS</b> .....	<b>46</b>
3.1	RESUMO .....	46
3.2	INTRODUÇÃO .....	47
3.3	MATERIAL E MÉTODOS .....	49
3.4	RESULTADOS .....	51
3.5	DISCUSSÃO .....	59
3.6	CONCLUSÃO .....	63
3.7	REFERÊNCIAS .....	64

## 1 INTRODUÇÃO

A viticultura encontra-se em expansão no Brasil devido, principalmente, aos benefícios que as uvas fruta e seus derivados trazem à nutrição e a saúde humana. A produção de uvas finas de mesa no país está concentrada principalmente nas regiões sul e sudeste, sendo que a região do Vale do Submédio do São Francisco também tem expressividade na produção dessas, sobretudo para exportação. Apesar da consolidação de algumas variedades, nessas regiões, como as do grupo da uva Italia, o mercado consumidor tem demonstrado preferência por novas cultivares, à exemplo das uvas sem sementes (apirenas).

A 'BRS Vitória' é uma uva híbrida sem sementes, lançada em 2012 pela EMBRAPA, porém, apresenta como inconveniente cachos levemente compactos (MAIA et al., 2014). Além disso, geralmente, produz dois cachos por broto, o que pode tornar-se um inconveniente em regiões produtoras de duas safras anuais, visto que elevadas produções podem levar as plantas à exaustão e alterar a qualidade do produto final, resultando em desuniformidade da maturação e cor dos cachos. Nesse sentido, a densidade de cachos por metro quadrado pode ser ajustada de modo que a qualidade físico-química dos cachos e das bagas não seja afetada, e sejam mantidas as características inerentes à cultivar produzida. Essa prática de manejo vem sendo explorada para as uvas destinadas à vinificação e tem levado à obtenção de matéria-prima e vinhos de melhor qualidade (SANTOS et al., 2010; PASTORE et al., 2011; GIL et al., 2013), entretanto, para uvas de mesa, existem menos informações acerca dessa operação e suas consequências sobre a qualidade do produto final.

Também se torna importante estudar a maturação das uvas, a fim de determinar o ponto de colheita ideal para cada cultivar. A maturação das uvas pode ser dividida em maturação tecnológica e maturação fenólica, sendo esta última de determinação mais onerosa. A maturação fenólica está relacionada ao acúmulo e estabilização da concentração dos principais compostos flavonóides (antocianinas, flavonóis e flavan-3-óis) e não-flavonóides (ácidos cinâmicos e estilbenos) das uvas.

Por outro lado, a maturação tecnológica, não menos importante, está relacionada, principalmente, à uniformidade e desenvolvimento da coloração dos cachos, característicos de cada cultivar; aumento do teor de sólidos solúveis das bagas e redução da acidez total.

Assim, objetivou-se com esse trabalho avaliar a influência de diferentes densidades de cachos por metro quadrado nas características produtivas e na maturação fenólica da uva 'BRS Vitória', cultivada em sistema de dupla safra anual em região subtropical. Ademais, a partir de técnicas cromatográficas de HPLC-DAD-ESI-MS/MS caracterizou-se, pela primeira vez e com detalhes, o perfil fenólico da uva híbrida de mesa 'BRS Vitória' com base nos seus compostos flavonóides e não-flavonóides.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 VITICULTURA

A cultura da uva desempenha grande importância em todo o mundo, pois as frutas podem ser consumidas em fresco, passas, sucos ou vinhos, e outros produtos processados. Tais frutas estão em evidência no cenário mundial pois apresentam propriedades funcionais e antioxidantes, além de gerarem divisas para as regiões produtoras, com emprego direto e indireto de mão-de-obra.

A área global destinada à produção de uvas em 2015 foi de 7,5 milhões de hectares, sendo que 50% dessa área está representada por Espanha (14%), China (11%), França (10%), Itália (9%) e Turquia (7%). Contudo, desde os anos 2000 a superfície global tem decrescido, sobretudo devido à redução de áreas destinadas a este cultivo em países europeus. No que tange à destinação das uvas produzidas em 2014, verifica-se que 48% desse volume foi destinado à elaboração de vinhos, 36% correspondeu à produção de uvas de mesa e o restante compreendeu o setor de uvas passas, sucos e outros produtos (OIV, 2016).

É interessante ressaltar que em relação ao ano de 2000, em 2015 ocorreu uma redução no volume de uvas destinadas à vinificação (-12%) e aumento na produção de uvas destinadas ao consumo em fresco (+11%) (OIV, 2016). É provável que isso esteja relacionado à redução das áreas vitícolas em países europeus, que são conhecidos internacionalmente pela elaboração de vinhos.

Com relação à produção global de uvas, em milhões de toneladas, observou-se significativo aumento entre os anos de 2012 a 2015 (OIV, 2016). No ano de 2012, a produção mundial de uva correspondeu a 67,0 milhões de toneladas, das quais 9,6 milhões foram produzidas na China (14,3% da produção mundial). Estados Unidos, Itália, França e Espanha participaram com 9,9; 8,6; 7,9 e 7,8% da produção, respectivamente, e juntamente com a China, produziram 48,7% do total mundial (FAO, 2014). Nesse *ranking*, o Brasil ocupou a 12ª posição, com 1,5 milhão de toneladas colhidas, sendo 57,1% destinados ao processamento (IBGE, 2012, MELLO, 2014).

Em contrapartida, no ano de 2015, o cenário da viticultura mundial apresentou um pequeno acréscimo em relação à 2012. A produção de uvas no ano de 2015 superou 75,7 milhões de toneladas e a China manteve seu posto de

principal produtor, enquanto o Brasil passou para a 14ª posição, mantendo sua produção igual àquela registrada no ano de 2012 (OIV, 2016).

Na maioria destas regiões, a viticultura tem sido uma das principais opções de crescimento de pequenas propriedades, destacando-se como uma alternativa prioritária pela grande capacidade de geração de renda e alocação de mão-de-obra (FELIPPETO, 2008).

## 2.2 VITICULTURA BRASILEIRA

No início da descoberta do continente americano, os espanhóis introduziram a *Vitis vinifera* L., primeiramente no México e nos Estados da Califórnia e Arizona, nos Estados Unidos. Em 1532, Martim Afonso de Souza introduziu essa espécie na Capitania de São Vicente, SP, porém a viticultura brasileira passou a ter importância comercial somente a partir da segunda metade do século XIX, quando imigrantes italianos alavancaram os polos vitivinícolas de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, utilizando variedades americanas (LEÃO; POSSÍDIO, 2000).

Dentre os principais Estados brasileiros produtores de uva, o Rio Grande do Sul é o maior produtor, com 840,3 mil toneladas, seguido de Pernambuco, São Paulo, Paraná e Santa Catarina, com a produção de 224,8; 214,7; 78,6 e 71 mil toneladas, respectivamente. Além desses, merecem destaque os Estados da Bahia e Minas Gerais, onde são produzidas 62,3 e 10,8 mil toneladas, respectivamente (IBGE, 2012).

A produção nacional de uva está voltada, basicamente, a dois mercados, com características peculiares, sendo 43% da produção total da safra de 2011 destinada ao consumo em fresco e 57% ao processamento (MELLO, 2012). Contudo, no ano de 2014 o país experimentou aumento na produção de uvas destinadas ao consumo em fresco (50% do volume produzido), enquanto 24% desse volume de uvas se destinou à elaboração de vinhos, e a outra parte (26%), destinou-se à indústria, sobretudo para a elaboração de sucos (OIV, 2016).

### 2.2.1 Viticultura Paranaense

A viticultura no Paraná se destaca em duas importantes regiões, a

metropolitana de Curitiba, localizada no sul do Estado, tradicionalmente conhecida pela elaboração de vinhos de mesa, principalmente da cultivar Bordô, e a região norte, com produção de uvas finas de mesa, principalmente as cultivares Benitaka, Itália, Rubi e Brasil. As uvas finas de mesa estão plantadas em aproximadamente 3,3 mil hectares, onde são colhidas 105 mil toneladas. No norte do Estado, além do município de Marialva, que contribuiu com 42% da produção de uvas, outros como Mandaguari, Uraí e Assaí apresentam representatividade na produção de uvas de mesa. Entretanto, nos últimos anos, verifica-se a diversificação da produção, com a introdução de cultivares de uvas americanas e híbridas, voltadas à elaboração de suco e vinho de mesa (PROTAS; CAMARGO, 2011; IBGE, 2012; MELLO, 2012).

Um diferencial na produção de uvas para consumo em fresco na região norte paranaense é a obtenção de duas safras anuais, devido à tecnologia desenvolvida para o cultivo de uvas finas, com dupla poda anual e uso de reguladores vegetais. Desta forma, além da safra regular (novembro a janeiro), tem-se a colheita que ocorre na época da entressafra (maio a junho), período em que a oferta de uvas de mesa é baixa ou inexistente em outras regiões do Brasil (KISHINO; ROBERTO, 2007).

No município de Marialva concentra-se o maior número de propriedades vitícolas do Estado. Predominam na região as pequenas propriedades com uso de mão-de-obra familiar, complementada por meio de contratos de parceria, remunerados com parte da produção. É uma atividade importante para a sustentabilidade da pequena propriedade no Brasil. Nos últimos anos, tem-se tornado importante também na geração de emprego em grandes empreendimentos, que produzem uvas de mesa e uvas para processamento (MELLO, 2012).

### 2.3 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA VIDEIRA

Estima-se que a origem da videira tenha ocorrido há, aproximadamente, 300 mil anos, baseando-se em fósseis de pólen e sementes de uva, encontrados na região oriental do Mar Negro na Transcaucásia, que hoje corresponde à Geórgia, Armênia e ao Azerbaijão. Depois de sobreviver às sucessivas tormentas das glaciações ao norte, algumas espécies encontraram refúgio ao sul. Assim ocorreu com a *Vitis silvestris*, reunindo as formas silvestres de *Vitis vinifera*, na flora espontânea da Transcaucásia, Grécia, Itália, França,

Alemanha e Espanha, ao longo do período quaternário (REYNIER, 1986).

Com as sucessivas mutações e seleção ao longo do tempo, acredita-se que a *Vitis sylvestris* originou a videira cultivada (*Vitis sylvestris sativa*). Com sua propagação e contato com espécies selvagens locais da Europa e Ásia surgiram variedades caracterizadas por cachos compactos, pequenos a médios de cor variável, formando o grupo *Vitis vinifera occidentalis*. Variedades euro-asiáticas cultivadas às margens do Mar Negro foram reagrupadas sob o nome de *Vitis vinifera pontica*. O terceiro grupo, *Vitis vinifera orientalis*, formado por cultivares desenvolvidas no Oriente Próximo e no Oriente Médio que compreende as variedades de mesa (POMMER; MAIA, 2003).

A videira é classificada como planta perene, lenhosa, caducifolia e sarmentosa, provida de órgão de sustentação chamado gavinha. Pertence à família Vitaceae, a qual é constituída por 11 gêneros vivos e dois gêneros fósseis, porém, apenas os gêneros *Vitis* L. e *Muscadinia* (Planch.) Small têm importância econômica e alimentar. Abrangem aproximadamente 600 espécies dispersas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, podendo ser cultivada em quase todas as partes do mundo. Dentre as espécies de maior interesse econômico para cultivo, podem ser citadas as videiras europeias (*Vitis vinifera*), as americanas (*Vitis labrusca* e outras espécies), as híbridas e seus mutantes (GIOVANINNI, 2014; KISHINO, 2007; PEDRO JÚNIOR; SENTELHAS, 2003; PEREIRA; GUERRA; MANFROI, 2009).

### 2.3.1 Uvas de Mesa

A produção de uvas de mesa no Brasil pode ser dividida em dois grupos: um formado pelas uvas finas de mesa (*V. vinifera*), representado principalmente por cultivares com sementes, como a Itália e suas mutações (Rubi, Benitaka e Brasil), Red Globe, Red Meire, Patrícia, e as sem sementes, como a Centennial Seedless, Superior Seedless ou Festival, Thompson Seedless, Perlette, Catalunha e Crimson Seedless; e outro pelas uvas comuns ou rústicas de mesa (*V. labrusca*), cuja representante principal é a cultivar Niágara Rosada (NACHTIGAL, 2003).

Contudo, independente da cultivar, as uvas de mesa de boa qualidade devem apresentar uma combinação de características tais como cachos

uniformes e de tamanho médio, bagas grandes e perfeitas em coloração, e sabor e textura típicos da cultivar. Dentre os requerimentos para a boa aceitação das uvas de mesa pelos consumidores, destacam-se o sabor e a aparência. A aparência do cacho e sua qualidade para o consumo em fresco estão relacionadas à sua forma, compacidade, tamanho, cor das bagas, ausência de defeitos, doenças, manchas e resíduos, maturação, sabor, textura e ausência de sementes (LEÃO; SOARES, 2010).

#### 2.3.1.1 Uvas sem sementes

Das uvas consumidas em fresco, existe uma tendência de aumento para o mercado de uvas sem sementes (apirenas), substituindo as tradicionais uvas com sementes. Assim, uma das maiores demandas do segmento da viticultura nacional, em especial aquele que produz uvas para exportação, é o desenvolvimento de novas cultivares de uvas do tipo fina, principalmente apirenas, que apresentem adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras, com elevada fertilidade natural e qualidade compatível com as exigências de mercado internacional (MAIA et al., 2014).

Com isso, a produção voltada ao mercado de uvas sem sementes de qualidade passa a exigir, cada vez mais, a utilização de novas tecnologias, mão-de-obra qualificada e serviços especializados, tanto no processo produtivo, quanto nas atividades pós-colheita (LEÃO; SOARES, 2010).

No Brasil, a produção das cultivares tradicionais, sem sementes, apresentava elevados custos de produção e riscos consideráveis devido à sua inconstância produtiva, sensibilidade às doenças e ao rachamento de bagas pela ocorrência de chuvas. Esta situação gerou uma forte demanda do setor produtivo sobre a Embrapa no sentido de desenvolver cultivares de uvas sem sementes, adaptadas às condições das regiões produtoras do país e com qualidade para competir no mercado externo (NACHTIGAL, 2005).

Assim, a Embrapa Uva e Vinho iniciou em 1997 um programa de melhoramento genético visando à obtenção de cultivares de uva de mesa sem sementes. Seis anos depois, foram lançadas as primeiras cultivares: BRS Morena, BRS Clara e BRS Linda (NACHTIGAL, 2005), e mais recentemente, a BRS Isis (RITSCHHEL et al., 2013) e BRS Vitória (MAIA et al., 2014).

### 2.3.2 'BRS Vitória'

A 'BRS Vitória' é resultante do cruzamento entre CNPUV 681-29 [Arkansas 1976 x CNPUV 147-3 ('Niágara Branca' x 'Vênus')] e 'BRS Linda', realizado em 2004, na Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Viticultura Tropical (EVT), em Jales, SP. As principais características dessa cultivar são: ausência de sementes, cor preta, sabor "aframboesado" e agradável para o consumo em fresco, e também apresenta boa tolerância ao míldio, principal doença da videira em condições tropicais brasileiras (MAIA et al., 2014). Destaca-se como uma promissora cultivar devido à durabilidade pós-colheita dos cachos, com ótima qualidade após 30 dias de armazenamento à 0 °C (YOUSSEF et al., 2015).

A 'BRS Vitória' é uma videira vigorosa, o que contribui para a boa formação da planta já no primeiro ano de cultivo. Apresenta ampla adaptação climática, expressa pelo excelente comportamento agrônômico nas regiões em que ocorreram os testes de adaptação e cultivo. Apresenta alta fertilidade de gemas, em média, dois cachos por ramo. Os cachos são levemente compactos, o que exige manejo específico com o uso de reguladores de crescimento visando o alongamento do cacho e também desbaste de bagas com o uso de tesoura (ROBERTO et al., 2015) (Figura 2.3.2.1). A produtividade pode ultrapassar 30 t ha<sup>-1</sup>, mas recomenda-se ajustá-la em cerca de 25 a 30 t ha<sup>-1</sup>, em regiões com dois ciclos anuais (com poda de formação e um ciclo produtivo). Em regiões onde é possível a obtenção de duas safras anuais, como na região Norte do estado do Paraná, recomenda-se ajustar a produtividade para 16 a 24 t ha<sup>-1</sup> em cada ciclo, visando a obtenção de um produto final de qualidade (MAIA et al., 2014). Entretanto, essas informações são baseadas em observações empíricas, não sendo realizados até então ensaios que comprovem o ajuste de carga ideal para essa cultivar.



**Figura 2.3.2.1.** Cacho da uva sem sementes ‘BRS Vitória’, Marialva, Paraná. Fonte: o próprio autor.

#### 2.4 MANEJO DA PRODUÇÃO

Existem várias práticas de manejo que podem alterar a qualidade dos cachos e das bagas das uvas cultivadas para mesa ou processamento, cabendo ao viticultor a decisão quanto à sua realização ou não, em função de aspectos econômicos e exigências do mercado de destino da uva, como, também, do comportamento da cultivar utilizada.

As cultivares de uvas de mesa apresentam grandes variações na sua resposta a estas práticas culturais, podendo, ainda, uma mesma cultivar responder de forma diferenciada, em função das condições ambientais de cada região produtora (LEÃO; SOARES, 2010).

Dentre as práticas culturais empregadas para a produção de cachos e bagas de qualidade superior, pode-se citar a eliminação ou desbaste dos cachos, o desponte dos cachos e a descompactação dos cachos ou raleio de bagas. Essas

atividades podem ser realizadas de forma isolada ou combinada, sendo adotadas em função das características de cada cultivar (ROBERTO et al., 2015; 2017).

Para a uva 'BRS Vitória' é recomendado a redução do número de bagas por cacho, visto que esses apresentam uma leve compacidade (MAIA et al., 2014; ROBERTO et al., 2015), porém a densidade ideal de cachos a ser estabelecida ainda é desconhecida. Além disso, devido à cultivar produzir, geralmente, dois cachos por broto pode-se recorrer ao desbaste dos cachos para equilibrar a produção e obter cachos de qualidade superior, sobretudo nas regiões que empregam o sistema de produção de duas safras por ano.

A eliminação ou raleio dos cachos pode ser realizada em duas fases distintas, antes da floração ou logo após a fase de pegamento dos frutos. A eliminação do excesso de inflorescências é realizada antes da floração, quando as brotações têm cerca de 8 a 12 folhas e as inflorescências apresentam-se bem visíveis, o que facilita a sua seleção. Recomenda-se a realização do raleio de cachos nesta fase em cultivares que possuem dificuldades para fecundação e pegamento de frutos, tais como Cardinal e Ribier, pois promove um melhor desenvolvimento dos órgãos reprodutivos da flor, anteras e pistilo, resultando em maior pegamento dos frutos, obtendo-se cachos mais uniformes, com maior tamanho e massa. Quanto mais precoce for realizado o desbaste, maiores serão os benefícios para as inflorescências que permanecerão na planta. A densidade de cachos para essas cultivares deve estar em torno de 5 cachos a 6 cachos por m<sup>2</sup> e devem, de preferência, ser selecionados no máximo dois cachos por vara de produção, e um cacho por broto, procurando-se obter uma boa distribuição em todos os ramos da planta (LEÃO; SOARES, 2010).

A eliminação de cachos ou de bagas é uma prática rotineira para diversas cultivares, tanto de uvas para mesa como para processamento. É possível verificar à luz da literatura inúmeros trabalhos que comprovam o efeito dessas práticas, principalmente o raleio de bagas sobre a qualidade das uvas (ROBERTO et al., 2015; 2017), ao passo que trabalhos que visam o raleio dos cachos, de modo a ajustar a produção, são mais escassos para uvas destinadas ao consumo em fresco.

A eliminação do excesso de produção deixada em circunstância do desenvolvimento das videiras após a poda melhora a qualidade das bagas devido ao incremento da relação área foliar/produção (HIDALGO, 1991; WINKLER et al., 1974) e eventualmente a seleção dos melhores cachos (CALLEJAS-RODRÍGUES et al.,

2013).

Em relação ao momento de se realizar a operação de retirada dos cachos excedentes, destacam-se dois estádios importantes: no pré-florescimento ou quando as bagas já estão formadas (HIDALGO, 1991; WINKLER et al., 1974). Contudo, se esta operação é realizada no pré-florescimento, os cachos remanescentes terão um período maior de benefício devido ao aumento da relação área foliar/produção (WINKLER et al., 1974). Entre as desvantagens de se realizar esta operação no pré-florescimento, está a não determinação do tamanho e qualidade do cacho, visto que após o florescimento há a tendência da redução do número de bagas por cacho devido à sua queda. Assim, aconselha-se esperar alguns dias após o florescimento para a realização da operação de raleio dos cachos (HIDALGO, 1991). Por outro lado, a realização tardia implica em menor produtividade total e redução da qualidade dos cachos devido à eliminação tardia da competição entre os cachos (LÉON, 1988).

Pastore et al. (2011) relataram que a redução do número de cachos em uva ‘Sangiovese’ aumentou a relação fonte/dreno, e como consequência, as bagas acumularam mais açúcares e outros metabólitos secundários. Gil et al. (2013), em um experimento com a uva ‘Syrah’, em Barcelona, Espanha, concluíram que o raleio de bagas diminuiu a acidez titulável e aumentou o teor de sólidos solúveis, promovendo melhor maturação dos cachos. Corroborando os resultados desses autores pode-se mencionar os trabalhos de Callejas-Rodríguez et al. (2013), Özer et al. (2012), Gonzaga e Ribeiro (2009) e Dokoozlian (2001).

## 2.5 COMPOSIÇÃO FENÓLICA DAS UVAS

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas às outras frutas e vegetais (MAXCHEIX; FLEURIET; BILLOT, 1990), porém a grande diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, o que certamente está associado ao conteúdo e ao perfil polifenólico (ABE et al., 2007). Assim, este amplo grupo de substâncias presta-se bem à caracterização varietal. São substâncias sintetizadas nas células das uvas em estreita dependência do seu perfil enzimático, que por sua vez é uma expressão da informação codificada a nível dos genes (CRAVERO; DI STEFANO, 1990). Em vinhos, são eles os responsáveis pela cor, corpo e adstringência, e são os grandes responsáveis pelas diferenças entre

uvas ou vinhos tintos e brancos, pela presença ou ausência de antocianinas (CABRITA; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 2003).

As características ambientais sob as quais decorre o desenvolvimento das bagas também têm grande influência na quantidade dos compostos responsáveis pela cor, mas a natureza e as percentagens relativas destas substâncias obedecem a um determinante genético que as torna mais ou menos constantes (CALÒ et al., 1994).

Os compostos fenólicos das uvas podem ser classificados em flavonoides e não-flavonoides. Do primeiro grupo fazem parte os flavanois (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonois (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos (CABRITA; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 2003).

### 2.5.1 Flavonoides

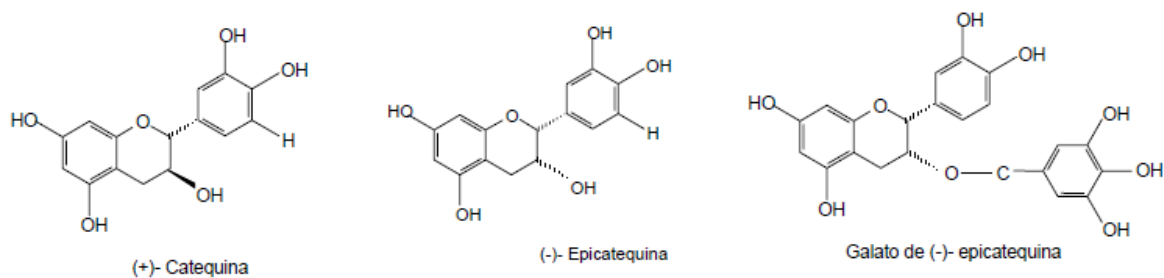
A estrutura química dos flavonoides é baseada no esqueleto de 15 carbonos, caracterizado por dois anéis aromáticos interligados por um anel pirano, que formam um heterociclo oxigenado  $C_6-C_3-C_6$  (ANDERSEN; JORDHEIM, 2006). Dependendo do estado de oxidação do anel central C, os flavonoides podem ser do tipo 2-fenilbenzopirano ou do tipo 2-fenilbenzopirona (ANDERSEN; JORDHEIM, 2006). Em condições ácidas, duas bandas de absorção são características dos flavonoides: a primeira (banda I) com máximo de absorção entre 300 e 550 nm, presumidamente resultante do anel B da molécula e a segunda (banda II) com máximo de absorção entre 240 e 285, supostamente resultante do anel A da molécula (ROBARDS; ANTOLOVICH, 1997).

Os flavonoides podem encontrar-se no estado livre ou polimerizados com outros flavonoides, açúcares, não flavonoides, ou ainda combinações dos anteriores (CABRITA; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 2003). Acima de 4.000 tipos desses compostos são conhecidos em vegetais, os quais desempenham diversas funções, como por exemplo, pigmentação e defesa (ARAÚJO, 2011; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

#### 2.5.1.1 Flavanóis (flavan-3-óis)

Dentre os flavanóis destacam-se os 3-flavanóis (flavan-3-óis) e as

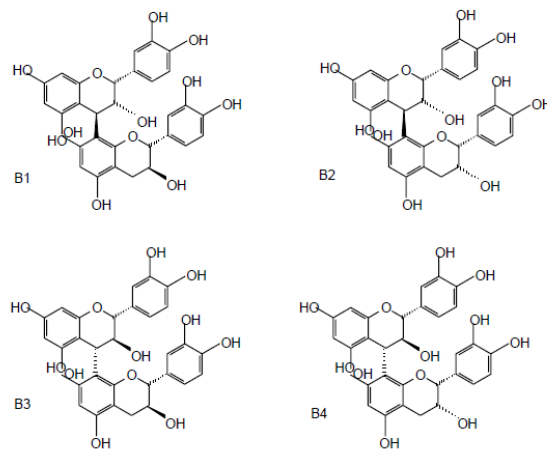
proantocianidinas. Os flavan-3-óis caracterizam-se por possuírem um anel heterocíclico saturado. Os carbonos 2 e 3 são os centros assimétricos da molécula. Os principais flavan-3-óis que se encontram nas uvas e nos vinhos são a (+)-catequina e a (-)-epicatequina, que são epímeros no carbono 3 (Figura 2.5.1.1.1). Ao contrário de outros flavonoides, encontram-se nas uvas no estado livre, encontrando-se pequenas quantidades de galato de epicatequina. Nas cascas das uvas a (+)-catequina é o flavan-3-ol mais representativo e a (-)-epicatequina aparece em menores quantidades (ABE et al., 2007; CABRITA; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 2003; HASLAM, 1980).



**Figura 2.5.1.1.1.** Estrutura química dos flavan-3-óis. Fonte: Cabrita; Ricardo-da-Silva; Laureano, 2003.

A associação de várias unidades monoméricas de catequinas ou epicatequinas são denominadas proantocianidinas ou taninos condensados. Dependendo do número de vezes que esta unidade básica se repete, as proantocianidinas podem ser dímeras, trímeras, oligoméricas (até 5 unidades) ou poliméricas (acima de 5 unidades). As variações estruturais ocorrem devido ao número de monômeros ligados, posição de ocorrência das ligações, padrão de oxigenação nos anéis A e B da unidade e estereoquímica dos substituintes do anel C (TERRIER; PONCET-LEGRAND; CHEYNIER, 2009).

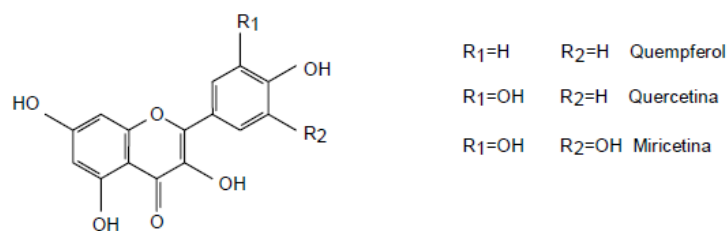
As procianidinas localizam-se principalmente nas partes sólidas das uvas. De genótipo para genótipo as diferenças nos teores de procianidinas são bastante distintas, mas o seu perfil mantém-se relativamente homogêneo. Assim a procianidina B1 é normalmente mais abundante nas cascas, enquanto a B2 é mais abundante nas sementes. As procianidinas triméricas também se encontram nas uvas, sendo o trímero 2 particularmente abundante nas cascas (RICARDO DA SILVA, 1995) (Figura 2.5.1.1.2).



**Figura 2.5.1.1.2.** Estrutura química das principais procianidinas (PB1, PB2, PB3 e PB4). Fonte: Cabrita; Ricardo-da-Silva; Laureano, 2003.

### 2.5.1.2 Flavonóis

Flavonóis são compostos flavonoides caracterizados pela presença de uma insaturação no anel heterocíclico e um grupo hidroxila na posição 3. Na figura 2.5.1.2.1 encontram-se representadas as agliconas dos flavonóis mais importantes: kaempferol, quercetina e miricetina. Nas uvas encontram-se apenas nas cascas, como glicosídeos ou glucurônidos na posição 3. Estes heterósidos das uvas são facilmente hidrolisáveis e nos vinhos tintos encontram-se as agliconas no estado livre (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).



**Figura 2.5.1.2.1.** Estrutura química dos flavonóis. Fonte: Cabrita; Ricardo-da-Silva; Laureano, 2003.

A ocorrência de flavonóis nas cultivares de uvas tintas é representada por seis estruturas glicosiladas (kaempferol, quercetina, isoramnetina, miricetina, laricitrina e siringetina) (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007).

Apresentam a função de proteção contra à radiação UV, devido a sua forte absorbância nesta faixa específica de comprimento de onda (250-400 nm). Como sua síntese é estimulada pela luz, muitas vezes, a diferença de composição entre cachos de uma mesma variedade de uva é devido aos frutos expostos a maior quantidade de luz tenderam a uma síntese mais pronunciada destes compostos (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009a; 2010a; PRICE et al., 1995).

Embora sejam uma família minoritária nas uvas, podem ter um papel importante na evolução da cor dos vinhos tintos por meio de processos de co-pigmentação com as antocianinas. Apesar de possuírem cor amarela, os flavonóis não são considerados muito importantes para a cor dos vinhos brancos (CABRITA; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 2003; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Além disso, contribuem para a capacidade antioxidante das frutas, incluindo as uvas e seus produtos derivados (BURDA; OLEZSEK, 2001).

#### 2.5.1.3 Antocianinas

Em uvas, de maneira geral, as antocianinas estão localizadas, principalmente, nas cascas e nas três ou quatro primeiras camadas das células hipodérmicas, em escala subcelular, nos vacúolos celulares das uvas de castas tintas (BROUILLARD, 1982; PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006) e, em menor proporção, na polpa de algumas variedades (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009b; SANTIAGO et al., 2008).

O aumento do conteúdo de compostos fenólicos na casca ocorre desde a mudança da cor até a completa maturação. As antocianinas aparecem com a mudança de cor (*véraison*) e se acumulam durante o processo de maturação, atingindo o máximo na maturação, podendo o seu acúmulo ser reduzido quando ocorre a sobrematuração. Dependendo da condição ambiental, o conteúdo máximo pode coincidir com o máximo da relação de sólidos solúveis totais e acidez total, mas também pode ocorrer antes ou depois, bem como variar entre as safras, dependendo das condições climáticas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

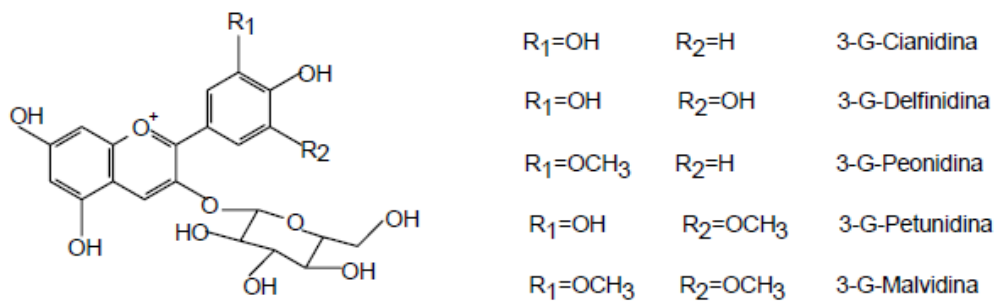
Contudo, as condições precisas que iniciam a sua síntese são desconhecidas. Acredita-se que o acúmulo de açúcar fornece o substrato necessário para iniciar o processo. No início da maturação, o aumento na concentração de açúcares, além de suprir as necessidades imediatas do tecido, favorece frequentemente a síntese de metabolitos secundários, tais como antocianinas e

entre outros compostos fenólicos. No entanto, o acúmulo de açúcar pode agir indiretamente, por meio do seu efeito sobre o potencial osmótico das células da casca (JACKSON, 2008).

As antocianinas se destacam entre os compostos fenólicos mais extensamente estudados, visto que, somente elas podem fornecer um espectro completo de cores visíveis com a modificação de grupos de substituição, mudança de valores de pH e presença de íons metálicos (CHEN, 2015).

Além de substituintes hidroxílicos e metóxi, as antocianinas podem apresentar grupos açúcares ligados à molécula, assim como ácidos alifáticos e aromáticos, ligados aos açúcares na molécula de antocianina (MENA et al., 2014). Contudo, as antocianinas apresentam-se muito instáveis e sensíveis à luz, mudanças de temperatura, pH e concentração de oxigênio, dentre outros, sendo degradadas durante o processamento e armazenamento pós-colheita. Em condições ácidas, esses pigmentos apresentam maior estabilidade, sobretudo, em relação à cor (ARAÚJO, 2011; COULTATE, 2004).

As antocianinas possuem estrutura planar, contendo dois anéis benzênicos separados pelo anel heterocíclico (Figura 2.5.1.3.1). Aproximadamente 600 antocianinas são conhecidas, sendo encontradas na forma heterosídica. Os açúcares mais comuns são glicose, galactose, arabinose, ramanose e xilose. A forma aglicona é denominada de antocianidina, sendo a sua estrutura fundamental o núcleo flavilium. Já foram mencionadas 23 antocianidinas que diferem entre si pelo número e posição dos grupos hidroxilas e/ou metoxilas, porém apenas seis delas são mais frequentemente encontradas nos alimentos: cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina, malvidina e pelargonidina. Dentre essas, a pelargonidina não é comumente encontrada em uvas. A diferença na estrutura química entre elas se verifica nas posições 3' e 5' do anel B, podendo ser acilado com os ácidos ferúlico, caféico e *p*-cumárico (ARAÚJO, 2011; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; COULTATE, 2004; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).



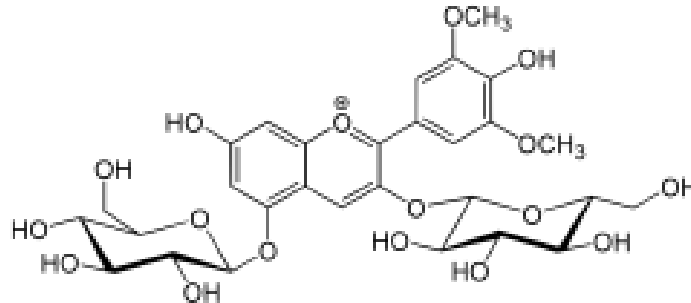
**Figura 2.5.1.3.1.** Estrutura química das antocianinas. Fonte: Cabrita; Ricardo-da-Silva; Laureano, 2003.

Nas antocianinas, o comprimento de onda de absorção no espectro de luz visível é alterado pelo número de substituintes presentes no anel B e, em menor proporção, pelo tipo dos mesmos. Desta maneira, à medida que aumenta o número de substituintes no anel B, há um deslocamento da banda I para comprimentos de onda entre 8 a 12 nm maiores. Como forma de exemplificação, as antocianidinas trissubstituídas (delfinidina - Dp, petunidina - Pt e malvidina - Mv) originam antocianinas com máximo de absorção na região do visível a valores aproximadamente 10 nm maiores do que as correspondentes antocianinas com antocianidinas dissubstituídas (cianidina - Cy e peonidina - Pn). Os monoglicosídeos que não contêm substituição (pelargonidina - Pg) apresentam o menor comprimento de onda (502 nm) (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2010b).

A posição da glicosilação também afeta outras zonas do espectro no visível de tal maneira que auxilia na identificação das antocianinas mono- e diglicosiladas: as antocianinas 3-monoglicosídeos apresentam um ombro na região de 440 nm característico que está ausente nas 3,5-diglicosídeos. Por outro lado, o tipo de açúcar normalmente não interfere no espectro UV-Vis das antocianinas (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2010b; DURST; WROLSTAD, 2010).

Como regra geral, as antocianidinas de cultivares de *V. vinifera* estão ligadas a uma molécula de glicose (3- glicosídeos), e apenas traços de antocianidinas ligadas a duas moléculas de glicose (3,5-diglicosídeos) estão por vezes presentes (LIANG et al., 2009; 2012). Em contraste, nas cultivares de *V. labrusca* assim como nas de *V. rotundifolia*, as antocianinas predominantes são as caracterizadas como 3,5-diglicósídeos (MIZUNO; HIRANO; OKAMOTO, 2006; SANDHU et al., 2011). Em uvas híbridas, os dois tipos de antocianinas são

encontradas, tanto 3-glicosídeos como 3,5-diglicosídeos (Figura 2.5.1.3.2), assim, esses últimos podem ser detectados por testes químicos ou cromatografia (COULTATE, 2004; GUERRA, 2012; YAMAMOTO et al., 2015).



**Figura 2.5.1.3.2.** Estrutura química da antocianina malvidina-3,5-diglicosídeo. Fonte: <https://es.wikipedia.org/wiki/Malvina>

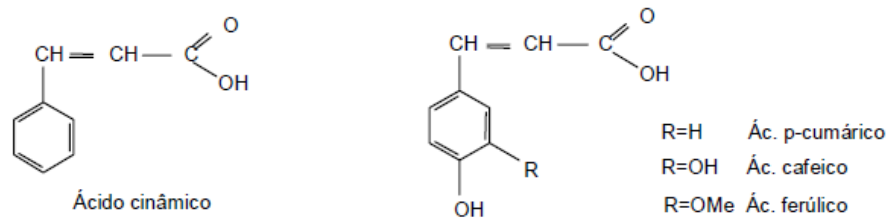
### 2.5.2 Compostos de Natureza Não Flavonoide

Os compostos não flavonoides compreendem os ácidos fenólicos e outros derivados fenólicos como os estilbenos. Os ácidos fenólicos contêm um grupo carboxílico, sendo subdivididos em dois tipos: derivados do ácido benzóico ( $C_6-C_1$ ) e ácido cinâmico ( $C_6-C_3$ ) (GUERRA, 2012). Nas uvas, os ácidos fenólicos são principalmente os ácidos hidroxicinâmicos que se encontram nos vacúolos das células das cascas e polpas, sob a forma de ésteres tartáricos (CABRITA; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 2003; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Dos ácidos derivados do ácido benzóico, os mais importantes são os ácidos vanílico, siríngico e salicílico, que aparecem ligados às paredes celulares e, principalmente, o ácido gálico que se encontra sob a forma de éster dos flavanóis. Outros ácidos benzóicos existentes em menor quantidade são o protocatéquico, o gentísico, e o *p*-hidroxibenzoico. Estes ácidos encontram-se nas uvas na forma de ésteres, e no decurso da elaboração e conservação do vinho vão sofrendo uma hidrólise lenta e assim, no vinho encontram-se estes compostos quer livres quer combinados (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Os ácidos fenólicos da série cinâmica encontram-se na uva combinados com o ácido tartárico na forma de monoésteres. Na Figura 2.5.2.1 encontra-se representado o ácido cinâmico, do qual derivam os ácidos fenólicos desta série, e os ácidos cinâmicos mais importantes, o ácido ferrúlico, o ácido *p*-cumárico e o ácido cafeico. Estes compostos estão presentes principalmente como isômeros *trans*, mas a forma *cis* também tem sido detectada (ARAÚJO, 2011;

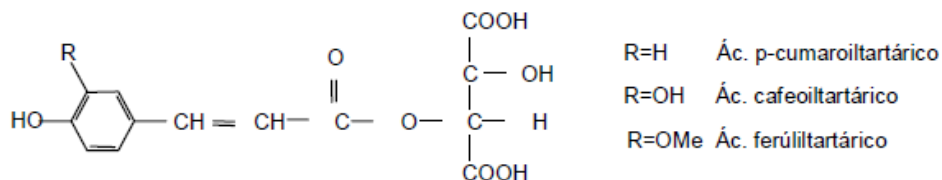
CASTELLARIN et al., 2012; JACKSON, 2008; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).



**Figura 2.5.2.1.** Estrutura química do ácido cinâmico e dos ácidos cinâmicos mais importantes. Fonte: Cabrita; Ricardo-da-Silva; Laureano, 2003.

Estas moléculas estão presentes nos vacúolos das células da casca e da polpa e nas sementes da uva (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009; GIL; PSZCZÓLKOWSKI, 2007). Os ácidos fenólicos são incolores em solução diluída de álcool, mas podem se tornar amarela devido à oxidação. Em vinhos brancos este composto é importante para a cor (KENNEDY; SAUCIER; GLORIES, 2006; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

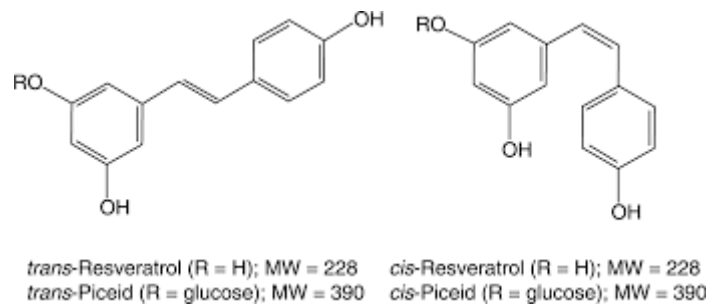
Nas células da casca das uvas tanto pode prevalecer o ácido cafeiltartárico como o ácido *p*-cumariltartárico, pois as variedades podem se dividir em dois grupos segundo a relação existente entre estes dois ácidos (DI STEFANO, 1996). A estrutura destes compostos encontra-se na Figura 2.5.2.2.



**Figura 2.5.2.2.** Fórmula geral dos ácidos hidroxicinamiltartáricos. Fonte: Cabrita; Ricardo-da-Silva; Laureano, 2003.

Os estilbenos ( $C_6 - C_2 - C_6$ ) são considerados como fitoalexinas, ou seja, são compostos químicos de baixa massa molecular com propriedades antimicrobianas produzidas pelas plantas, os quais são produzidos após a interação da planta com os microrganismos. Estes compostos estão presentes tanto em tecidos comestíveis e não comestíveis das plantas, sendo a uva uma das maiores fontes. Seu conteúdo nas uvas aumenta do *véraison* até a maturação (CASTELLARIN et al., 2012; SUN et al., 2006).

Dentre os principais compostos pertencentes a esta classe dos não-flavonóides destacam-se o resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) (Figura 2.5.2.3.), o piceid (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno-3-O- $\beta$ -D-glicosídeo) e a astringina (3'-hidróxi-*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno-3-O- $\beta$ -D-glicosídeo) (FLANZY, 2000). O isômero *trans*-resveratrol é convertido para *cis*-resveratrol (*cis*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) em presença da luz visível, a qual é mais estável (SAUTTER et al., 2005).



**Figura 2.5.2.3.** Estrutura química dos isômeros *trans*- e *cis*-Resveratrol e *trans*- e *cis*-Piceid. Fonte: Yu et al., 2006.

O resveratrol e seu glicosídeo piceid são produzidos na casca da uva como resposta ao estresse causado por ataques fúngicos (*Botrytis cinerea* e *Plasmopora viticola*), dano mecânico ou por irradiação de luz ultravioleta. Quantidades menores de vários compostos relacionados, derivados do resveratrol como pterossilbeno e viniferins, também podem ocorrer (JACKSON, 2008; SAUTTER et al., 2005).

Assim, a grande diversidade entre as cultivares de uva resulta em diferentes características, tanto de sabor quanto de cor, o que certamente está associado ao conteúdo e ao perfil dos polifenóis.

## 2.6 REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; MOTA, R. V. da; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

ANDERSEN, O. M.; JORDHEIM, M. The anthocyanins. In: ANDERSEN, O. M.; MARKHAM, K. R. (Ed.). **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 452-471.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2011. 601p.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4 ed. Berlim: Springer, 2009. 1070p.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 1-40.

BURDA, S.; OLEZSEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 6, p. 2774-2779, 2001.

CABRITA, M. J.; RICARDO-DA-SILVA, J.; LAUREANO, O. **Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos**. In: I SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA. 2003, Enseada. **Anais...** Ensenada, México, 2003. p. 61-102.

CALLEJAS-RODRÍGUEZ, R.; SANHUEZA, M. B.; VALENZUELA, B. T.; ARONOWSKY, C. P. Adaptación de la poda y ajuste de carga para maximizar los rendimientos de uva de mesa. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, Cuyo, v. 45, n. 2, p. 91-100, 2013.

CALÒ, A.; TOMASI, D.; CRAVERO, M. C.; DI STEFANO, R. (1994). Contributo alla caratterizzazione e classificazione varietale (*Vitis* sp), attraverso la determinazione degli antociani e degli acidi idrossicinnamoi tartarici della buccia di varietà a bacca

rossa. **Annali dell'Istituto Sperimentale per L'Enologia**, Asti, v. XXV, n. 1054, p. 47-61, 1994.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. H.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

CASTELLARIN, S. D. ; BAVARESCO, L. ; FALGINELLA, L. ; GONÇALVES, M. I. V. Z.; DI GASPERO, G. Phenolics in grape berry and key antioxidants. In: GERÓS, H.; CHAVES, M. M.; DELROT, S. **The biochemistry of the grape berry**, Danvers: Bentham, 2012. p. 89-110.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single cultivar wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 3, p. 992-1002, 2007.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ, M. V.; VELDEERS, A. H.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 1, p. 209-219, 2009a.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 17, p. 7883-7891, 2009b.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* white grape cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 23, n. 7, p. 699-705, 2010a.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; WINTERHALTER, P.; WEBER, F.; GÓMEZ, M. V.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Structure elucidation of peonidin 3,7-O- $\beta$ -diglucoside isolated from Garnacha Tintorera (*Vitis*

*vinifera* L.) grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 24, p. 11105-11111, 2010b.

CHEN, C. **Pigments in fruits and vegetables**. 1ed. New York: Springer New York, 2015. 277 p.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368 p.

CRAVERO, M. C.; DI STEFANO, R. I composti fenolici e l'origine varietale delle uve. **Rivista di Viticoltura ed Enologia**, Conegliano, v. 1, p. 33-44, 1990.

DI STEFANO, R. Chemical methods in varietal characterization. **Rivista di Viticoltura ed Enologia**, Conegliano, v. 1, p. 51-56, 1996.

DOKOOZLIAN, N. K. Gibberellic Acid Applied at Bloom Reduces Fruit Set and Improves Size of 'Crimson Seedless' Table Grapes. **HortScience**, Alexandria, v. 36, n. 4, p. 706–709, 2001.

DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. **Separation and characterization of anthocyanins by HPLC**. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142913.faf0103s00/abstract>>. Acesso em: 24 out. 2017.

FELIPPETO, L. Influência da desfolha natural sobre o comportamento vegetativo e qualidade de produção da safra seguinte da uva Cabernet Sauvignon. **Monografia**. Centro Federal de Educação tecnológica de Bento Gonçalves, 2008. 55f.

FLANZY, C. **Enologia: fundamentos científicos y tecnológicos**. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 2000. 783 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT database results. 2013**. Disponível em: <[http:// http://faostat.fao.org/](http://faostat.fao.org/)> Acesso em: 18 jul. 2015.

GIL, G. F.; PSZCZÓLKOWSKI, P. **Viticultura: Fundamentos para otimizar**

producción y calidad. Ediciones Universidad de Católica de Chile: Santiago. 2007, 535 p.

GIL, M.; ESTERUELAS, M.; GONZÁLES, E.; KONTOUDAKIS, N.; JIMÉNES, J.; FORT, F.; CANALS, J. M.; HERMOSÍN-GUTIÉREZ, I.; ZAMORA, F. Effect of two different treatments for reducing grape yield in *Vitis vinifera* cv Syrah on wine composition and quality: Berry thinning versus cluster thinning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Barcelona, v. 61, p. 4968-4978, 2013.

GIOVANNINI, E. **Manual de Viticultura**. Porto Alegre: Bookman. 2014. 264p.

GONZAGA, H. M. V.; RIBEIRO, V. G. Ácido giberélico no raleio de cachos de uva da cv. Superior Seedless, enxertada sobre o porta-enxerto 'SO4', cultivada na região do Vale do Submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 931-937, 2009.

GUERRA, C. C. Polifenóis da uva e do vinho. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonçalves, v. 4, n. 4, p. 90-100, 2012.

HASLAM, E. In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. **Phytochemistry**, v. 19, p. 2577-2582, 1980.

HIDALGO, L. **Poda de la vid**. 4 ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1991. 237 p.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**. 2012. Disponível em:<[www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br)>. Acesso em: 18 jul. 2014.

JACKSON, R. S. **Wine science**: principles and applications. 3ed. Amsterdam: Elsevier, 2008. 751 p.

KENNEDY, J. A.; SAUCIER, C.; GLORIES, Y. Grape and wine phenolics: History and perspective. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 57, n. 3, p. 239-248, 2006.

KISHINO, A. Y. Características da planta. In: KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. **Viticultura tropical: o sistema de produção do Paraná**.

Londrina: IAPAR, 2007, p.87-140.

KISHINO, A. Y.; ROBERTO, S. R. Tratos culturais. In: KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. **Viticultura tropical: o sistema de produção do Paraná**.

Londrina: IAPAR, 2007, p. 22-23.

LEÃO, P. C. S.; POSSÍDIO, E. L. Histórico da videira. In: LEÃO, P. C. S.; SOARES, J. M. (Eds.). **A viticultura no semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. p. 13-17.

LEÃO, P. C. S. de.; SOARES, J. M. **Cultivo da videira**. Embrapa Uva e Vinho - Sistemas de Produção, 1 – 2a. edição. 2010. Disponível em:

<[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira\\_2ed/index.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira_2ed/index.html)> Acesso em: 14 set 2015.

LEÓN, V. **Efecto del raleo y arreglo de racimos en distintas épocas, sobre la calidad de la uva Sultanina (*Vitis vinifera* L.)**. (Monografía - Ingeniero Agrónomo).

Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile, 1988.

46p.

LIANG, Z.; YANG, C.; YANG, J.; WU, B.; WANG, L.; CHENG, J.; LI, S. Inheritance of anthocyanins in berries of *Vitis vinifera* grapes. **Euphytica**, Wageningen, v. 167, n. 1, p. 113-125, 2009.

LIANG, Z.; YANG, Y.; CHENG, L.; ZHONG, G. Y. Polyphenolic composition and content in the ripe berries of wild *Vitis* species. **Food Chemistry**, Oxford, v. 132, n. 2, p. 730-738, 2012.

MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T.; FAJARDO, T. V.; NAVES, R. L.; GIRARDI, C.L. 'BRS Vitória' – a novel seedless table grape cultivar exhibiting special flavor and tolerance to downy mildew (*Plasmopara viticola*). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 14, n. 3, p. 204-206, 2014.

MAXCHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. **The main phenolics of fruits**. In *Fruit Phenolics*. Florida: CRC Press: Boca Raton, 1990, p. 1-98.

MELLO, L. M. R. **Viticultura brasileira: Panorama 2011**. Comunicado técnico, 125. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2012. 4 p.

MELLO, L. M. R.; MACHADO, C. A. E. **Dados da Viticultura**. Disponível em <[http://vitibrasil.cnpuv.embrapa.br/index.php?opcao=opt\\_02&interno=1](http://vitibrasil.cnpuv.embrapa.br/index.php?opcao=opt_02&interno=1)>. Acesso em: 18 jul. 2015.

MENA, P.; DOMÍNGUEZ-PERLES, R.; GIRONÉS-VILAPLANA, A.; BAENAS, N.; GARCÍA-VIGUERA, C.; VILLAÑO, D. Flavan-3-Ols, Anthocyanins, and Inflammation. **IUBMB Life**, London, v. 66, n. 11, p. 745-758, 2014.

MIZUNO, H.; HIRANO, K.; OKAMOTO, G. Effect of anthocyanin composition in grape skin on anthocyanic vacuolar inclusion development and skin coloration. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v. 45, n. 4, p. 173–177, 2006.

NACHTIGAL, J, C. Avanços tecnológicos na produção de uvas de mesa. X CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 2003, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 167-170.

NACHTIGAL, J, C. Uvas sem sementes. **Revista brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n.1, p. 1, 2005.

OIV – Organisation Internationale de la vigne et du vin. **World Vitiviniculture Situation**. OIV Statistical Report on World Vitiviniculture, 2016. 16 p. Disponível em <<http://www.oiv.int/public/medias/5029/world-vitiviniculture-situation-2016.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2017.

ÖZER, C.; YASASIN, A. S.; ERGONUL, O.; AYDIN, S. The effects of berry thinning and gibberelin on Reçel Uzumu table grapes. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, Faisalabad, v. 49, n. 2, p. 105-112, 2012.

PASTORE, C.; ZENONI, S.; TORNELLI, G. B.; ALLEGRO, G.; SANTO, S. D. Increasing the source/sink ratio in *Vitis vinifera* (cv. Sangiovese) induces extensive transcriptome reprogramming and modifies berry ripening. **BioMed Central Genomics**, London, v. 12, p. 631-653, 2011.

PEDRO JÚNIOR, M. J.; SENTELHAS, P. C. Clima e Produção. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p.63-107.

PEREIRA, G. E.; GUERRA, C. C.; MANFROI, L. Vitivinicultura e Enologia. In: SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. S. **A Vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Petrolina: EMBRAPA Semi-Árido, 2009. 756 p.

PINELO, M.; ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Upgrading of grape skins: significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 17, n. 11, p. 579-590, 2006.

POMMER, C. V.; MAIA, M. L. Introdução. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 11-35.

PRICE, S. F.; BREEN, P. J.; VALLADAO, M.; WATSON, B. T. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot Noir grapes and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, n. 2, p. 187-194, 1995.

PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, A. **Vitivinicultura brasileira: panorama setorial de 2010**. IBRAVIN: Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 2011. 110 p.

REYNIER, A. **Manual de viticultura**. 3. ed. Mem-Martins: Publicações Europa-América, 1986. 424 p.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004. 184p.

RIBÉREAU-GAYON, P. ; GLORIES, Y. ; MAUJEAN, A. ; DUBOURDIEU, D..  
**Handbook of Enology: The Chemistry of Wine. Stabilization and Treatments.**  
 London: John Wiley & Sons, 2006. v. 2. 450p.

RICARDO DA SILVA, J. M. Estrutura e composição das procianidinas da uva e do vinho. Efeitos potenciais na saúde. **3º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo.** Évora, Portugal, v. 2, p. 343-355, 1995.

RITSCHER, P. S.; MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T. de; FAJARDO, T.V.M.; NAVES, R. de L.; GIRARDI, C. L. **BRS Isis:** nova cultivar de uva de mesa vermelha, sem sementes e tolerante ao míldio. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Comunicado técnico, 143. 2013. 20 p.

ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: a review. **Analyst**, London, v. 122, p. 11R-34R, 1997.

ROBERTO, S. R.; BORGES, W. F. S.; COLOMBO, R. C.; KOYAMA, R.; HUSSAIN, I.; SOUZA, R. T. Berry-cluster thinning to prevent bunch compactness of 'BRS Vitória', a new black seedless grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 197, p. 297-303, 2015.

ROBERTO, S. R.; MASHIMA, C.; COLOMBO, R. C.; ASSIS, A. M.; KOYAMA, R.; YAMAMOTO, L. Y.; SHAHAB, M.; SOUZA, R. T. Berry-cluster thinning to reduce compactness of 'Black Star' table grapes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, e20160661, 2017.

SANDHU, A. K.; GRAY, D. J.; LU, J.; GU, L. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins. **Food Chemistry**, Oxford, v. 126, p. 982–988, 2011.

SANTIAGO, J. L.; GONZÁLEZ, I.; GAGO, P.; ALONSO-VILLAVERDE, V.; BOSO, S.; MARTÍNEZ, M. C. Identification of and relationships among a number of teinturier grapevines that expanded across Europe in the early 20th century. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 14, n. 3, p. 223-229, 2008.

SAUTTER, C. K.; DENARDIN, S.; ALVES, A. O.; MALLMANN, C. A.; PENNA, N. G. ; HECKTHEUER, L. H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 437-442, 2005.

SUN, B.; RIBES, A. M.; LEANDRO, M. C.; BELCHIOR, A. P.; SPRANGER, M. I. Stilbenes: Quantitative extraction from grape skins, contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 563, p. 382-390, 2006.

TERRIER, N.; PONCET-LEGRAND, C.; CHEYNIER, V. Flavanols, flavonols and dihydroflavonols. In: MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. **Wine chemistry and biochemistry**. New York: Springer, 2009. cap. 9B, p. 463-507.

WINKLER, A. J.; COOK, J. A.; KLIEWER, W. M.; LIDER, L. A. **General viticulture**. California: University of California, 1974. 710 p.

YAMAMOTO, L. Y.; DE ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R.; BOVOLENTA, Y. R.; NIXDORF, S. L.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Application of abscisic acid (S-ABA) to cv. Isabel grapes (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*) for color improvement: Effects on color, phenolic composition and antioxidant capacity of their grape juice. **Food Research International**, Amsterdam, v. 77, p. 572–583, 2015.

YOUSSEF, K.; ROBERTO, S. R.; CHIAROTTI, F.; KOYAMA, R.; HUSSAIN, I.; SOUZA, R. T. Control of Botrytis mold of the new seedless grape 'BRS Vitoria' during cold storage. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 193, p. 316-321, 2015.

YU, C. K. Y.; LAM, C. N. W.; SPRINGOB, K.; SCHMIDT, J.; CHU, I. K.; LO, C. Constitutive accumulation of *cis*-piceid in transgenic Arabidopsis overexpressing a sorghum stilbene synthase gene. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 47, n. 7, p. 1017-1021, 2006.

### **3 ARTIGO A – MATURAÇÃO E PRODUÇÃO DA UVA DE MESA SEM SEMENTES ‘BRS VITÓRIA’ SOB DIFERENTES DENSIDADES DE CACHOS**

#### **3.1 RESUMO**

Uma das estratégias para melhorar a qualidade dos cachos das uvas de mesa é o raleio de cachos e/ou de bagas. Com isso, este estudo objetivou avaliar a influência de diferentes densidades de cachos na maturação e produção da uva híbrida de mesa sem sementes ‘BRS Vitória’, bem como seus efeitos nas características químicas das bagas. O trabalho foi realizado em duas safras consecutivas, fora de época e regular de 2016, em um parreiral comercial enxertado sobre ‘IAC 766 Campinas’ localizado em Marialva, PR, Brasil, cujo espaçamento foi de 2,5 x 5,0 m. Os tratamentos consistiram nos ajustes de cargas realizados três semanas após a antese por meio das seguintes densidades: 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0 cachos por m<sup>2</sup>, correspondentes às estimativas de produtividades de 16, 18, 20, 22 e 24 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Adotou-se o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições e uma videira por parcela. Aos 35 e 39 dias após a antese (início do *véraison*), nas safras fora de época e regular, respectivamente, iniciou-se amostragens semanais de bagas dos tratamentos a fim de caracterizar a evolução da maturação das uvas sob diferentes densidades de cachos. Determinou-se semanalmente a massa da baga, sólidos solúveis (SS), acidez total (AT), índice de maturação (SS/AT) e antocianinas totais. No momento da colheita, foram determinadas, além das características previamente citadas, a massa dos cachos e o número de bagas por cacho, e estimou-se a produtividade (t ha<sup>-1</sup>). As diferentes densidades de cacho estudadas não alteraram significativamente a evolução da maturação, bem como as características físico-químicas das bagas da uva sem sementes ‘BRS Vitória’. Contudo, em ambas as safras, verificou-se incremento linear significativo da produtividade em função das maiores densidades de cachos avaliadas.

Palavras-chave: Uva Apirena. Raleio de Cachos. Ajuste de Carga. Uva Híbrida.

### 3.2 INTRODUÇÃO

As uvas são uma das frutas mais produzidas no mundo, com aproximadamente 75 milhões de toneladas a cada ano. Na safra de 2015 a produção de uvas de mesa foi de 27 milhões de toneladas, e somadas às uvas passas, corresponderam a 44% do total produzido. Na América do Sul, os principais países produtores de uvas frescas são Chile e Brasil, sendo que cada um desses países corresponde a aproximadamente 3% do total produzido no mundo (FAO-OIV, 2016), com notável crescimento nas últimas décadas, sobretudo para exportação (MELLO, 2012; OIV, 2016).

A produção brasileira de uvas finas de mesa desenvolveu-se baseada em cultivares com sementes, especialmente Itália (*Vitis vinifera* L.) e suas mutantes coloridas (Benitaka, Brasil e Rubi). A expansão da viticultura tropical com essas cultivares, visando suprir o mercado ao longo do ano, deu ao país a oportunidade de exportar uvas frescas fora de época. Contudo, no mercado internacional, as uvas sem sementes têm alcançado cada vez mais espaço e melhores preços, mas a produção de uvas finas sem sementes no país sempre apresentou altos custos e consideráveis riscos devido à sua inconstância produtiva, susceptibilidade às doenças e ao rachamento de bagas, o que muitas vezes inviabilizava o seu cultivo (NACHTIGAL, 2005).

Tendo em vista a resolução desses inconvenientes, a Embrapa Uva e Vinho iniciou em 1997 o Programa de Melhoramento Genético de Uvas de Mesa, e desde então, diversas cultivares híbridas sem sementes foram lançadas. Dentre essas, destaca-se a 'BRS Vitória' (*Vitis* spp.), lançada em 2012, a qual é recomendada para cultivo em áreas tropical e subtropical, com excelente desempenho produtivo, alta fertilidade de gemas, com duas inflorescência por broto, podendo atingir 30 t ha<sup>-1</sup>, e tolerância ao míldio (*Plasmopara viticola*), principal doença que acomete as videiras em regiões de clima subtropical úmido (SOUZA et al., 2018).

A 'BRS Vitória' tem sido uma excelente opção para os mercados interno e externo, sobretudo o inglês (MAIA; RITSCHER; LAZZAROTO, 2016) devido à firmeza de suas bagas e sabor peculiar, entretanto, apresenta o inconveniente de produzir cachos muito densos e compactos (MAIA et al., 2014), que pode ser controlado por meio de técnicas de raleio ou despenca, sem perdas de qualidade

dos frutos (ROBERTO et al., 2015), alcançando maior tamanho, coloração uniforme e teores mais adequados de sólidos solúveis (PRESZLER et al., 2010). Entretanto, quando a carga produtiva suportada pelas videiras é muito alta, devido ao número excessivo de cachos, pode ainda haver desuniformidade da sua coloração e da maturação.

Assim, o ajuste de carga das videiras por meio do raleio de cachos excedentes é empregado, sobretudo, em diversas cultivares de uvas para vinificação com o objetivo de melhorar a qualidade da matéria prima, devido a maior relação fonte/dreno (WINKLER et al., 1974; PASTORE et al., 2011). Nas uvas 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot' e 'Syrah', o raleio de cachos combinado ao raleio de bagas resulta em aumento da concentração de polifenóis totais dos vinhos (GIL et al., 2013; KAROGLAN et al., 2014). Assim como na uva 'Cabernet Sauvignon', em que o raleio de cachos promoveu maior concentração de antocianinas totais (WANG et al., 2018).

Em uvas de mesa, esse conceito é mais recente e vem sendo avaliado em variedades com tendência à produção excessiva, como para a uva de mesa sem sementes 'Thompson Seedless' (LEÃO; LIMA, 2017; SASE; TAMBE, 2015), em que a densidade de 6 cachos por m<sup>2</sup> promove maior produtividade, sem alterar a qualidade química das bagas (LEÃO; LIMA, 2017). Dessa forma, o ajuste de carga, considerando o número de cachos por m<sup>2</sup> a ser deixado por planta, pode ser uma técnica a ser aplicada para a videira 'BRS Vitória' com o objetivo de obter frutos de qualidade superior, tanto para os mercados interno e externo, visto que, até o momento, se desconhece o limite desse ajuste para essa nova cultivar híbrida de mesa.

Além disso, nas regiões subtropicais é comumente adotado o sistema de produção de duas safras anuais de uvas de mesa (safra fora de época e safra regular), o que é possível devido ao inverno moderado e ao uso de reguladores vegetais para indução da brotação. A safra regular começa no término da dormência das videiras, e a colheita ocorre no verão. Na sequência é realizada a poda das videiras e um novo ciclo é forçado por meio da indução da brotação (safra fora de época), sendo as uvas colhidas durante o outono (RICCE; CARAMORI; ROBERTO, 2013). Contudo, diferenças entre a qualidade das uvas podem ocorrer em um mesmo ano devido às safras serem realizadas em condições climáticas

distintas, o que pode influenciar no ajuste de carga da uva 'BRS Vitória' cultivada nesse sistema.

Tendo em vista esses aspectos, objetivou-se avaliar a influência de diferentes densidades de cachos na evolução da maturação e nos aspectos produtivos da uva híbrida de mesa sem sementes 'BRS Vitória', bem como seus efeitos nas características químicas das bagas, cultivada sob o sistema de dupla safra anual em região subtropical.

### 3.3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido durante o ano de 2016 em duas safras consecutivas, safra fora de época e safra regular, em pomar comercial localizado em Marialva, Paraná (23°29'S, 51°47'W, altitude 570 m). A uva híbrida sem sementes 'BRS Vitória' (*Vitis* spp.) foi enxertada sobre o porta-enxerto 'IAC 766 Campinas' (*Vitis* spp.) em 2012, plantado em espaçamento 2,5 x 5,0 m (800 videiras por ha) e conduzida em latada com cobertura de tela plástica com retenção de 18% da radiação solar.

Em ambas as safras, as videiras foram mantidas, em média, com 40 varas por planta uniformemente distribuídas. As podas de produção nas safras fora de época e regular foram realizadas em 28 de janeiro e 21 de julho de 2016, respectivamente, com quatro a cinco gemas por vara, sendo que nas duas gemas apicais aplicou-se cianamida hidrogenada a 3% para induzir e uniformizar a sua brotação (Anexo A). A seleção de brotos produtivos ocorreu quando as inflorescências encontravam-se bem desenvolvidas, deixando-se em média uma brotação por vara contendo 2 inflorescências bem desenvolvidas. Após a antese, quando as bagas apresentavam diâmetro entre 7 e 10 mm, realizou-se o raleio de bagas como preconizado por Roberto et al. (2015) para evitar a compactação dos cachos.

Cerca de três semanas após a antese, quando os cachos apresentavam estágio de desenvolvimento BBCH 75 (LORENZ et al., 1995), foram avaliados os tratamentos de ajuste de carga da uva sem sementes 'BRS Vitória', por meio das seguintes densidade de cachos: 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0 cachos por m<sup>2</sup> (ou 50; 56; 63; 69 e 75 cachos por videira), com estimativas de produtividade de 16; 18; 20; 22 e 24 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Essas estimativas foram calculadas seguindo a

recomendação de se limitar a produtividade entre 16 e 24 t ha<sup>-1</sup>, em regiões aptas ao sistema de dupla safra anual (MAIA et al., 2014). Para ajustar as diferentes densidades de cachos, primeiramente os cachos de cada parcela foram contados, e em seguida, foram removidos os excedentes, bem como os danificados ou mal formados, deixando-se apenas os representativos da cultivar. O delineamento experimental consistiu em blocos ao acaso com quatro repetições e uma videira por parcela.

Durante o período condução do experimento, todos os tratamentos culturais realizados na área, como fertilização, controle de plantas daninhas, pragas e doenças seguiram os padrões adotados na região, incluindo o raleio de bagas (ROBERTO et al., 2015).

A partir dos 35 e 39 dias após a antese (início do *véraison*), nas safras fora de época e regular, respectivamente, amostrou-se as bagas semanalmente visando caracterizar a evolução da sua maturação. Em ambas as safras realizou-se sete amostragens, desde o início do *véraison* até a colheita, em dez cachos previamente marcados por parcela, coletando-se três bagas por cacho, ou seja, cada amostra semanal foi composta 30 bagas por parcela.

Para caracterizar a maturação das bagas avaliou-se a massa das bagas (g), sólidos solúveis – SS (°Brix), pH, acidez total – AT (% de ácido tartárico), índice de maturação – IM (SS/AT) e antocianinas totais (mg g<sup>-1</sup>). O conteúdo em SS foi determinado usando refratômetro digital com compensador automático de temperatura (DR301-95 Model, Krüss Optronic, Alemanha). A AT foi determinada por titulação com NaOH a 0,1 N em titulador semi-automático, adotando pH = 8,2 como ponto final de titulação (IAL, 2008).

O conteúdo de antocianinas totais das cascas foi determinado de acordo com Peppi et al. (2006). Para tanto, removeu-se manualmente a casca de 20 bagas por parcela, as quais foram lavadas com água deionizada e secadas em papel absorvente. Após a sua secagem, foram pesadas cerca de 3 g de cascas e colocadas em tubos de poliestireno com solução extratora à base de metanol acidificado com 1% de HCl (30 mL de metanol acidificado por tubo), os quais foram mantidos no escuro a temperatura ambiente durante 48 horas. As amostras foram removidas do escuro e agitadas manualmente durante 5 segundos e, em seguida, uma alíquota de 1 mL foi empregada para a determinação da absorbância em cubeta de quartzo de 10 mm de percurso óptico. A absorbância de cada amostra foi

determinada a 520 nm usando um espectrofotômetro (modelo Genesys 10S Spectrophotometer, UV-VIS<sup>®</sup>), e quando necessário, diluiu-se as amostras empregando-se a mesma solução extratora. As leituras de absorvância obtidas foram submetidas à seguinte fórmula para a determinação de antocianinas totais da casca [mg de antocianina (malvidina-3-glicosídeo) por grama de casca]:  $[(\text{Absorbância} \times 463,4374 \times 1.000)/(28.000)] \times 0,03$ .

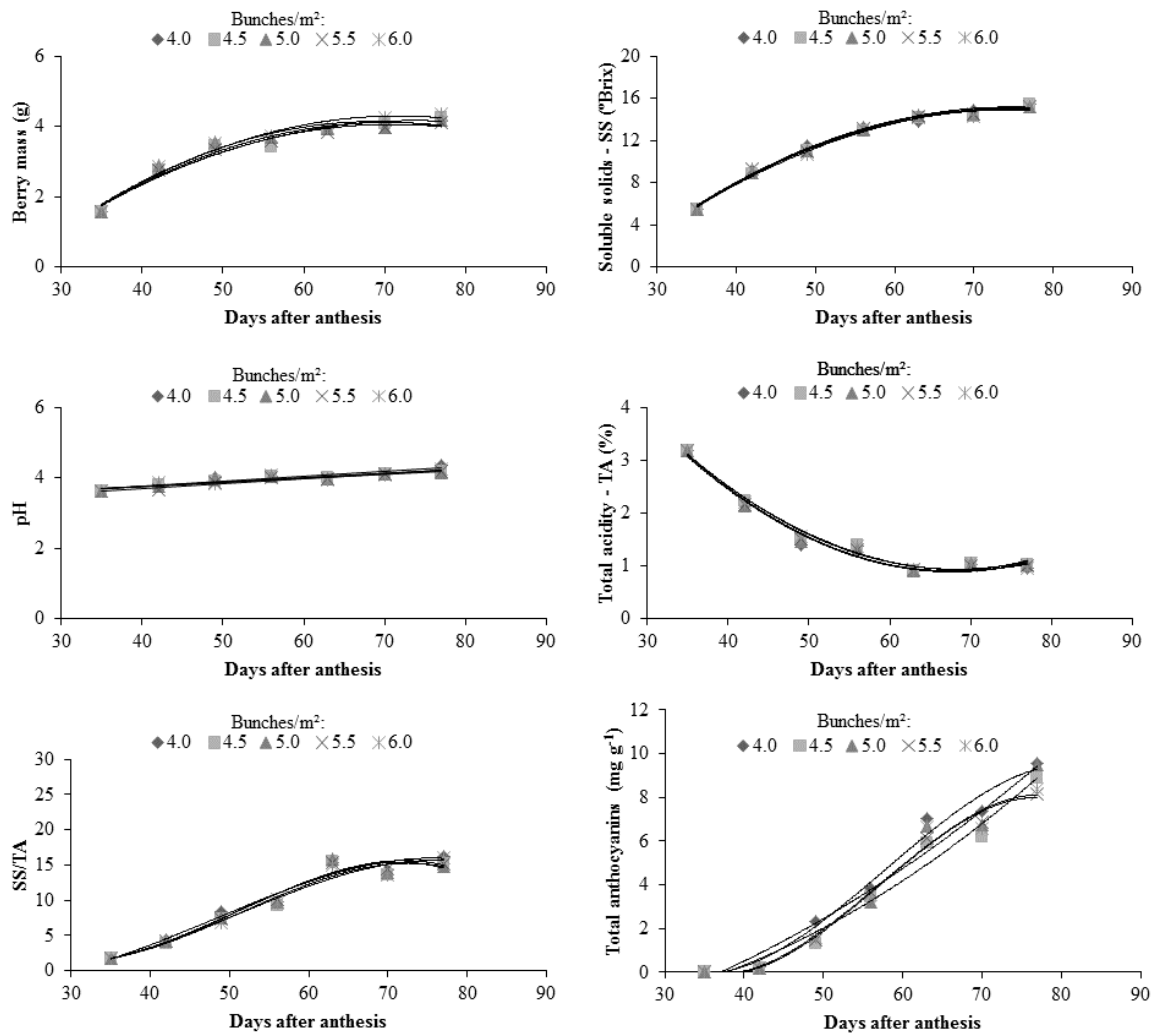
No momento da colheita, dias 26 de maio e 6 de dezembro, para as safras fora de época e regular, respectivamente, 15 cachos representativos foram colhidos de cada parcela para a determinação da massa do cacho (kg), número de bagas por cacho (massa do cacho/massa da baga) e produtividade ( $\text{t ha}^{-1}$ ). Os dados foram submetidos à ANAVA e em caso de significância, ajustados a modelos de regressão polinomial.

### 3.4 RESULTADOS

A evolução da maturação das bagas em função das densidades de cacho foi mensurada, nas duas safras avaliadas, pelo ganho de massa das bagas, acúmulo de sólidos solúveis e antocianinas, dentre outras características (Figuras 3.4.1 e 3.4.2). Para a caracterização dessa fase de desenvolvimento das bagas, ajustou-se as médias aos modelos de regressão apresentados nas Tabelas 3.4.1 e 3.4.2.

Em relação à massa das bagas na safra fora de época, verificou-se rápido incremento até os 50 dias após a antese em todas as densidades de cachos estudadas, mantendo-se constante deste período até a colheita. Resultados similares foram observados para a safra regular.

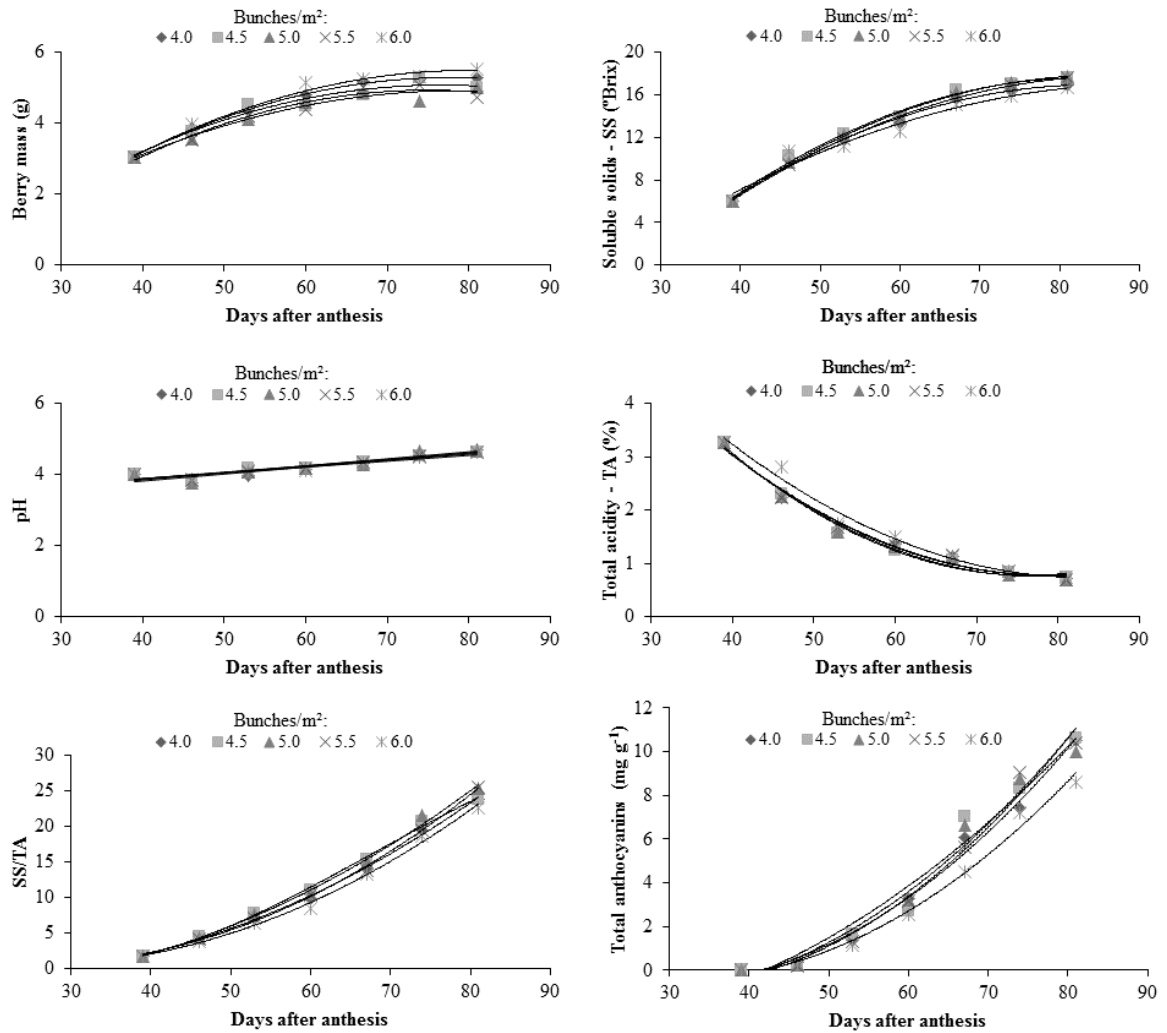
Em ambas as safras pôde ser verificado que a acidez total (TA) diminuiu rapidamente até os 51 dias após a antese, com tendência de estabilização a partir desse período. Essa característica está associada ao aumento no conteúdo de sólidos solúveis e, por consequência, aumenta-se o índice de maturação (SS/TA). Com relação à evolução da concentração de antocianinas totais nas bagas, verificou-se na safra fora de época que o modelo de regressão polinomial de ordem dois e três se ajustou melhor a essa característica. Na menor densidade de cachos avaliada (4 cachos por  $\text{m}^2$ ), observou-se um ligeiro incremento no conteúdo de antocianinas na colheita, porém não verificou-se diferença significativa entre os tratamentos.



**Figure 3.4.1.** Evolution of the physicochemical characteristics recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape during the ripening under different bunch densities. Off-season crop, 2016.

**Table 3.4.1.** Regression equations for berry mass, soluble solids content – SS, pH, total acidity – TA, maturation index (SS/TA) and total anthocyanins recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. Off-season crop, 2016.

Characteristic	Bunch densities (per m <sup>2</sup> )	Equation	R <sup>2</sup>	P>F
Berry mass (g)	4.0	$y = -0.0019x^2 + 0.2648x - 5.2067$	0.96	0.000
	4.5	$y = -0.0016x^2 + 0.2362x - 4.5369$	0.95	0.000
	5.0	$y = -0.0021x^2 + 0.2842x - 5.6319$	0.95	0.000
	5.5	$y = -0.0018x^2 + 0.2552x - 4.9845$	0.97	0.000
	6.0	$y = -0.0019x^2 + 0.27x - 5.3855$	0.97	0.000
Soluble solids - SS (°Brix)	4.0	$y = -0.0059x^2 + 0.8836x - 17.849$	0.99	0.000
	4.5	$y = -0.0054x^2 + 0.8292x - 16.706$	0.99	0.000
	5.0	$y = -0.0061x^2 + 0.9006x - 18.449$	0.99	0.000
	5.5	$y = -0.0061x^2 + 0.9011x - 18.291$	0.99	0.000
	6.0	$y = -0.0058x^2 + 0.8633x - 17.343$	0.98	0.000
pH	4.0	$y = 0.0143x + 3.188$	0.86	0.000
	4.5	$y = 0.0122x + 3.2683$	0.90	0.000
	5.0	$y = 0.0117x + 3.2971$	0.82	0.000
	5.5	$y = 0.0138x + 3.1471$	0.93	0.000
	6.0	$y = 0.0128x + 3.2362$	0.85	0.000
Titratable acidity – TA (%)	4.0	$y = 0.002x^2 - 0.2744x + 10.188$	0.97	0.000
	4.5	$y = 0.002x^2 - 0.2691x + 10.117$	0.98	0.000
	5.0	$y = 0.0021x^2 - 0.2791x + 10.31$	0.98	0.000
	5.5	$y = 0.002x^2 - 0.2764x + 10.273$	0.99	0.000
	6.0	$y = 0.0019x^2 - 0.2564x + 9.7995$	0.98	0.000
SS/TA	4.0	$y = -0.0002x^3 + 0.0307x^2 - 1.0119x + 8.5818$	0.97	0.000
	4.5	$y = -0.0004x^3 + 0.0562x^2 - 2.3897x + 32.195$	0.95	0.003
	5.0	$y = -0.0004x^3 + 0.0606x^2 - 2.5613x + 34.237$	0.96	0.000
	5.5	$y = -0.0004x^3 + 0.0595x^2 - 2.5263x + 33.928$	0.98	0.000
	6.0	$y = -0.0003x^3 + 0.0393x^2 - 1.5514x + 18.863$	0.96	0.012
Total anthocyanins (mg g <sup>-1</sup> of fresh skin)	4.0	$y = -0.0002x^3 + 0.0333x^2 - 1.6184x + 23.977$	0.98	0.000
	4.5	$y = 0.0023x^2 - 0.0033x - 1.9862$	0.97	0.026
	5.0	$y = 0.0017x^2 + 0.037x - 3.7757$	0.96	0.007
	5.5	$y = -0.0003x^3 + 0.0452x^2 - 2.2721x + 35.435$	0.99	0.000
	6.0	$y = -0.0002x^3 + 0.0426x^2 - 2.1296x + 32.941$	0.98	0.000



**Figure 3.4.2.** Evolution of the physicochemical characteristics recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape during the ripening under different bunch densities. Regular crop, 2016.

**Table 3.4.2.** Regression equations for berry mass, soluble solids content – SS, pH, total acidity – TA, maturation index (SS/TA) and total anthocyanins recorded in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities. Regular crop, 2016.

Characteristic	Bunch densities (per m <sup>2</sup> )	Equation	R <sup>2</sup>	P>F
Berry mass (g)	4.0	$y = -0.0015x^2 + 0.2299x - 3.6441$	0.99	0.000
	4.5	$y = -0.0014x^2 + 0.214x - 3.1171$	0.95	0.003
	5.0	$y = -0.0012x^2 + 0.1877x - 2.4834$	0.97	0.003
	5.5	$y = -0.0015x^2 + 0.2289x - 3.6476$	0.96	0.001
	6.0	$y = -0.0014x^2 + 0.2284x - 3.6625$	0.97	0.000
Soluble solids - SS (°Brix)	4.0	$y = -0.0052x^2 + 0.8735x - 19.915$	0.99	0.000
	4.5	$y = -0.0057x^2 + 0.9571x - 22.258$	0.99	0.000
	5.0	$y = -0.0055x^2 + 0.9304x - 21.82$	0.99	0.000
	5.5	$y = -0.0049x^2 + 0.8648x - 20.127$	0.99	0.000
	6.0	$y = -0.0037x^2 + 0.6829x - 14.261$	0.96	0.000
pH	4.0	$y = 0.02x + 3.0089$	0.85	0.000
	4.5	$y = 0.0177x + 3.1823$	0.87	0.000
	5.0	$y = 0.0197x + 3.0475$	0.83	0.000
	5.5	$y = 0.0178x + 3.1594$	0.88	0.000
	6.0	$y = 0.0167x + 3.2127$	0.88	0.000
Total acidity – TA (%)	4.0	$y = 0.0015x^2 - 0.2371x + 10.1$	0.98	0.000
	4.5	$y = 0.0017x^2 - 0.2652x + 10.89$	0.99	0.000
	5.0	$y = 0.0016x^2 - 0.2483x + 10.417$	0.98	0.000
	5.5	$y = 0.0015x^2 - 0.2319x + 9.9665$	0.98	0.000
	6.0	$y = 0.0013x^2 - 0.2221x + 9.982$	0.98	0.000
SS/TA	4.0	$y = 0,0062x^2 - 0,2233x + 1,2105$	0,99	0.000
	4.5	$y = -0,0001x^3 + 0,0294x^2 - 1,3817x + 19,657$	0,99	0.032
	5.0	$y = 0,0062x^2 - 0,1747x - 0,8321$	0,99	0.000
	5.5	$y = 0,008x^2 - 0,4114x + 5,895$	0,99	0.000
	6.0	$y = 0,0072x^2 - 0,36x + 4,925$	0,99	0.000
Total anthocyanins (mg g <sup>-1</sup> of fresh skin)	4.0	$y = 0.0042x^2 - 0.2447x + 2.9477$	0.99	0.000
	4.5	$y = 0.004x^2 - 0.2054x + 1.5914$	0.97	0.000
	5.0	$y = 0.0028x^2 - 0.0701x - 1.9613$	0.98	0.023
	5.5	$y = 0.0045x^2 - 0.2698x + 3.3066$	0.98	0.000
	6.0	$y = 0.0039x^2 - 0.2448x + 3.4653$	0.99	0.000

Em contrapartida, na safra regular, a evolução da concentração de antocianinas totais foi explicada pelo modelo de regressão polinomial de ordem dois. Verifica-se que no momento da colheita as antocianinas totais ainda não haviam se estabilizado, com tendência de aumento da sua concentração (Figura 3.4.2). Para as antocianinas totais, em ambas as safras, verificou-se valores próximos a 2 mg de antocianinas totais (malvidina-3-glicosídeo) por g de casca fresca aos 49 e 53 dias após a antese (início do *véraison*), nas safras fora de época e regular, respectivamente, aumentando significativamente a partir dessas datas. Na safra fora de época, a colheita ocorreu aos 77 dias após a antese, quando os cachos apresentavam cor uniforme, conteúdo de sólidos solúveis (SS) entre 15,2 e 15,5 °Brix (Tabela 3.4.3). Em contraste, na safra regular, a colheita ocorreu aos 81 dias após a antese. Nessa safra, o conteúdo de SS variou entre 16,7 a 17,7 °Brix (Tabela 3.4.6). Com a elevação do conteúdo de SS na safra regular, verificou-se que na safra fora de época, o índice de maturação apresentou valores inferiores aos verificados na safra regular.

Na colheita da safra regular, as bagas apresentaram menor acidez total em relação à safra fora de época, em média 0,70 e 0,95%, respectivamente, o que também contribuiu para o aumento no índice de maturação das bagas. Contudo, apesar dessa variação dentro de cada safra, as densidades de cacho estudadas, de modo geral, parecem não ter afetado significativamente essas características.

As massas das bagas e dos cachos também não apresentaram resposta significativa às densidades de cacho avaliadas (Tabela 3.4.4), exceto para a massa dos cachos na safra regular, a qual diferiu entre as densidades de 4 e 5 cachos por m<sup>2</sup>. Entretanto, os níveis de produção da safra fora de época foram notadamente distintos ao da safra regular, e essa alternância tem sido eventualmente observada para a uva 'BRS Vitória' cultivada em sistema de dupla safra anual.

Em relação à estimativa da produtividade (t ha<sup>-1</sup>), obtida com base no número de cachos por planta e o número de plantas por hectare, associados à massa dos cachos (Figura 3.4.3), verificou-se, em ambas as safras, aumento linear em função do aumento da densidade de cachos, não havendo, entretanto, compensação da produção, uma vez que a diminuição da densidade de cachos não resultou em aumento da massa dos cachos. Destaca-se entretanto que, quanto à estimativa da produtividade, o comportamento da videira 'BRS Vitória' foi distinto nas

safras avaliadas, conforme descrito anteriormente para os demais componentes de produção. Na densidade de 6 cachos por  $m^2$ , a estimativa na safra fora de época foi de 10 t inferiores em relação à safra regular, ou seja, 14 e 24  $t\ ha^{-1}$ , respectivamente, e para a densidade de 4 cachos por  $m^2$ , a estimativa foi de 10 e 17  $t\ ha^{-1}$ , nas safras fora de época e regular, respectivamente. Como essas safras ocorrem em períodos diferentes do ano, sob condições climáticas distintas, vários fatores podem causar tal variação, como reserva de carboidratos, fertilidade de gemas, precipitação e temperaturas durante o florescimento, ocorrência de doenças fúngicas, entre outros. Assim, decidiu-se por não se comparar as safras mediante testes estatísticos.

**Table 3.4.3.** Soluble solids content (SS), pH, total acidity (TA), maturation index (SS/TA) and total anthocyanins recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities. Off-season and regular crops, 2016.

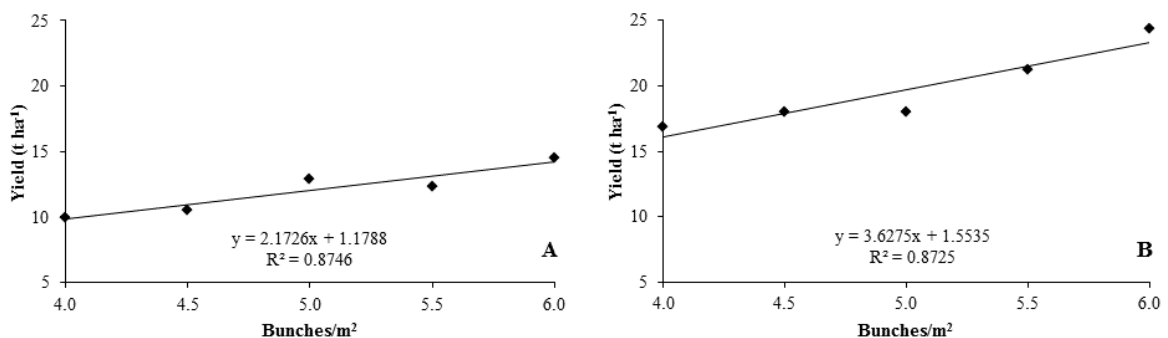
Bunch densities (per m <sup>2</sup> )	SS (°Brix)		pH		TA (%)		SS/TA		Total anthocyanins (mg g <sup>-1</sup> of fresh skin)	
	Off-season	Regular	Off-season	Regular	Off-season	Regular	Off-season	Regular	Off-season	Regular
4.0	15.44	16.93	4.35	4.69	0.95	0.71	16.23	23.91	9.53	10.53
4.5	15.48	17.63	4.18	4.64	1.02	0.74	15.24	23.89	8.88	10.63
5.0	15.16	17.70	4.14	4.65	1.02	0.70	14.90	25.38	9.48	9.99
5.5	15.16	17.55	4.19	4.63	1.00	0.69	15.24	25.57	8.13	10.41
6.0	15.16	16.68	4.26	4.63	0.95	0.74	16.17	22.73	8.37	8.61
F	0.57 <sup>ns</sup>	3.79 <sup>ns</sup>	3.46 <sup>ns</sup>	0.64 <sup>ns</sup>	1.35 <sup>ns</sup>	3.00 <sup>ns</sup>	1.62 <sup>ns</sup>	3.01 <sup>ns</sup>	1.76 <sup>ns</sup>	1.53 <sup>ns</sup>
CV (%)	3.18	2.75	1.70	1.26	6.88	3.63	6.86	5.60	12.01	13.44

<sup>ns</sup>: non-significant differences by F test.

**Table 3.4.4.** Berry mass, bunch mass and number of berries per bunch recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities. Off-season and regular crops, 2016.

Bunch densities (per m <sup>2</sup> )	Berry mass (g)		Bunch mass (kg)		Number of berries per bunch	
	Off-season	Regular	Off-season	Regular	Off-season	Regular
4.0	4.15	5.27	0.25	0.42 a	60.49	80.42
4.5	4.26	4.99	0.23	0.40 ab	55.04	81.07
5.0	4.16	5.01	0.26	0.36 b	62.71	71.93
5.5	4.11	4.74	0.22	0.39 ab	54.64	82.02
6.0	4.66	5.53	0.24	0.41 ab	52.78	73.45
F	1.42 <sup>ns</sup>	2.22 <sup>ns</sup>	0.93 <sup>ns</sup>	2.74*	1.11 <sup>ns</sup>	1.14 <sup>ns</sup>
CV (%)	9.97	7.98	12.00	7.16	15.75	11.33

Means within columns followed by different letters differ significantly by Tukey's test ( $P < 0.05$ ). \*: significant ( $P < 0.05$ ). <sup>ns</sup>: non-significant differences by F test.



**Figure 3.4.3.** Yield (t ha<sup>-1</sup>) recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities. A: Off-season; B: regular crops, 2016.

### 3.5 DISCUSSÃO

Durante o processo de amadurecimento das uvas, as bagas passam por várias mudanças físicas e bioquímicas, incluindo o seu crescimento devido à expansão celular, mudança de coloração, firmeza, acúmulo de açúcares, redução do conteúdo de ácidos orgânicos e aumento na concentração dos compostos fenólicos (RATTANAKON et al., 2016). Contudo, cachos densamente coloridos, não estão necessariamente maduros, e dessa forma, é importante mensurar outras

características, como as propriedades bioquímicas, para determinar o ponto ideal de colheita.

Assim, a colheita pode ser determinada por vários fatores, especialmente o conteúdo de sólidos solúveis (SS) e índice de maturação (SS/TA). O teor de SS é a característica mais usada para determinar a maturação e ponto de colheita das uvas, e isso pode variar em função da destinação que será dada às uvas. Assim como o teor de SS, o índice de maturação é usado como indicativo de colheita e comercialização de uvas de mesa, sendo usual coletar amostras a cada determinado período para a aferição de tais características.

Em relação à evolução da massa nas bagas da uva 'BRS Vitória' sob diferentes densidades de cachos, não verificou-se diferenças entre os tratamentos avaliados. Isso pode estar associado à época em que se procedeu à técnica de raleio de bagas, realizada antes do ajuste de carga para evitar a influência de uma operação sobre a outra, sendo que o raleio de cachos ocorreu cerca de três semanas após a antese. Nesse período, o número de células do pericarpo já estava definido, e a massa das bagas está diretamente relacionada à essa característica (HARRIS; KRIEDEMANN; POSSINGHAM, 1968).

Para a uva de mesa 'Flame Seedless', observou-se que quando o ajuste da densidade de cachos de 20, 35 e 50 cachos por videira (correspondente à aproximadamente 3, 5 e 7 cachos por m<sup>2</sup>), ocorreu antes da antese, a massa das bagas reduziu significativamente com o aumento da densidade de cachos, contudo, para a uva de mesa 'Red Globe', o número de cachos (9, 18 e 27 cachos por videira, correspondente à 2, 4 e 6 cachos por m<sup>2</sup>), determinado nas mesmas condições, não exerceu influência sobre a massa das bagas. Além disso, para a uva de mesa 'Flame Seedless', a redução observada na massa das bagas não influenciou o seu valor comercial, e recomendou-se manter a maior densidade de cachos, o que aumenta a produtividade, assim como a lucratividade da atividade (CALLEJAS-RODRÍGUEZ et al., 2013). Alterações significativas na massa das bagas e dos cachos também não foram observadas para as uvas de mesa 'Sugraone' e 'Thompson Seedless' submetidas às densidades de 5, 6 e 7 cachos por m<sup>2</sup> e 4, 5 e 6 cachos por m<sup>2</sup>, respectivamente, cultivadas em região tropical (LEÃO; LIMA, 2017).

Na colheita de ambas as safras, as diferentes densidades de cachos não influenciaram significativamente as características químicas das bagas. Em estudo com as uvas de mesa 'Sugraone' e 'Thompson Seedless' submetidas à

diferentes densidades de desbaste de ramos produtivos e de raleio de cachos, também não se verificou alterações significativas para o conteúdo de SS, açúcares solúveis totais e AT (LEÃO; LIMA, 2017). Contudo, para a uva 'Syrah' o raleio de cachos promoveu aumento no teor de SS em relação à operação de não-raleio (GIL et al., 2013), e resultados similares foram observados para a uva 'Sangiovese', como consequência do aumento da relação fonte/dreno quando se realiza essa operação (PASTORE et al., 2011).

As características químicas das bagas da uva 'BRS Vitória' apresentaram comportamentos distintos nas duas safras avaliadas. Como na safra regular a maturação e a colheita das uvas ocorrem no verão, o conteúdo de SS e o índice de maturação foram mais elevados que os da safra fora de época, que ocorreu no outono (ROBERTO et al., 2015; YOUSSEF et al., 2015). Resultados similares foram reportados por Roberto et al. (2017) para a uva de mesa 'Black Star' cultivadas nas mesmas condições. Por outro lado, o teor de SS da uva 'IAC 138-22 Máximo' na safra fora de época foi maior em relação à safra regular, o que pode ter sido causado pela alta precipitação ocorrida durante a maturação dessas no verão, diluindo os açúcares das bagas (PEDRO JUNIOR et al., 2014), ao passo que, nas safras fora de época em regiões subtropicais úmidas, as precipitações durante a maturação tendem a ser reduzidas no outono, resultando em uvas com maiores teores de SS (JUBILEU et al., 2010; MOTA et al., 2010; REGINA et al., 2011).

Na safra regular observou-se também menor teor da TA das bagas da uva 'BRS Vitória', o que propiciou o aumento no índice de maturação. Nessa safra, essa redução pode estar relacionada às elevadas temperaturas nas semanas precedentes à colheita, sendo que as médias das temperaturas máximas e mínimas foram de 31 °C e 21 °C, respectivamente (Figura 7). Altas temperaturas, em torno de 30 °C contribuem para a redução da TA das bagas devido à intensificação da atividade respiratória, a qual consome ácido málico como substrato (MOTA et al., 2006; TODA, 1991). Por outro lado, o aumento da concentração de açúcares nas bagas é favorecido em dias com maiores amplitudes térmicas, devido às menores perdas por respiração e redução do crescimento vegetativo (ROSIER, 2006).

Em adição, uvas cultivadas em região subtropical podem desenvolver cachos com baixa pigmentação ou coloração desuniforme, e conseqüentemente, considerados cachos de menor qualidade e valor comercial (LEÃO et al., 2015). Contudo, essa situação não tem sido reportada com frequência

para a uva de mesa 'BRS Vitória', visto que, mesmo em região subtropical, seus cachos desenvolvem uma densa coloração negra e uniforme, o que foi observado nesse trabalho, independente das densidades de cachos aplicadas.

Os atributos de cor das bagas das uvas tintas estão relacionados à concentração e aos tipos de antocianinas presentes (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006). Em uvas tintas, a maior parte dos compostos fenólicos é representada pelas antocianinas, especialmente, a malvidina-3-glicosídeo (MUÑOZ-ESPADA et al., 2004; POMAR; NOVO; MASA, 2005). Em ambas as safras da uva 'BRS Vitória, observou-se que o conteúdo de antocianinas nas cascas evoluiu de maneira similar, com acúmulo mais expressivo, cerca de três semanas antes da colheita, porém, o conteúdo verificado na colheita não diferiu significativamente entre as densidades de cachos avaliadas. Por outro lado, para algumas cultivares de uva para mesa ou processamento, o acúmulo de antocianinas é responsivo ao raleio de cachos e/ou bagas (DOKOOZLIAN; HIRSCHFELT, 1995; GUIDONI; ARGAMANTE, 2003; PALLIOTTI; CARTECHINI, 2000; PASTORE et al., 2011).

Pôde-se também verificar comportamento distinto quanto ao conteúdo de antocianinas e teor de SS nas safras avaliadas, sendo que na safra fora de época os valores foram mais elevados. Sabe-se que os açúcares têm importante papel na regulação da biossíntese de antocianinas devido à expressão dos genes *CHS*, *DFR*, *F3H* e *LDOX* (GOLLOP; FARHI; PERL, 2001; GONZÁLEZ-SANJOSÉ; DIEZ, 1992; ZHENG et al., 2009). Para a uva 'Cabernet Sauvignon', verificou-se relação entre o teor de SS avaliada em duas safras (2013 e 2014), na safra 2014, em que as uvas apresentaram maior conteúdo de sólidos solúveis total, verificou-se maiores teores de antocianinas, o que foi atribuído à maior concentração de açúcares nas bagas (WANG et al., 2018).

Em relação aos componentes de produção, como número de bagas por cacho e a massa das bagas e dos cachos, verificou-se que as safras avaliadas não se comportaram de forma uniforme, com níveis de produção reduzidos na safra fora de época. Como na safra regular a colheita ocorre em dezembro, e em janeiro as videiras são submetidas à nova poda, acredita-se que a videira 'BRS Vitória' não tenha tido quantidade de reservas suficiente para suportar a nova safra com ótimos níveis de produtividade, tendo em vista que mesmo as menores densidades de cachos avaliadas não foram suficientes para propiciar aumento da massa dos frutos, compensando assim a menor carga deixada na planta. Em relação à estimativa de

produtividade da uva 'BRS Vitória', em ambas as safras é evidente o aumento linear para essas características em função do aumento da densidade de cachos. Sob a densidade de 6 cachos por  $m^2$  foi possível obter cerca de  $39 t ha^{-1}$  em um ano, considerando-se o somatório das duas safras obtidas no período, sem perdas na qualidade das bagas e dos cachos, a mesma observada para a uva de mesa 'Thompson Seedless' cultivada em região tropical (LEÃO; LIMA, 2017).

Nesse contexto, as densidades de cachos avaliadas não alteraram significativamente as principais características da maturação da uva de mesa sem sementes 'BRS Vitoria' cultivada em sistema de dupla safra anual, sendo que, em ambas as safras, a colheita ocorre cerca de 80 dias após a antese. Dentre os diversos ajustes de carga avaliados, a densidade de 6 cachos por  $m^2$  mostrou ser a mais indicada para a 'BRS Vitória', sem comprometimento da qualidade das bagas e dos cachos, visto que essa densidade resulta nas maiores produtividades, mesmo quando essa videira é cultivada em sistema de dupla safra anual em clima subtropical. O ajuste de carga para densidades menores não resulta em compensação da produção por meio do aumento da massa dos cachos, tampouco em relação às características químicas das bagas, não sendo portanto vantajosa em promover, por exemplo, aumento do teor de SS das bagas.

Contudo, é importante ajustar-se o número de varas e de ramos produtivos no início de cada ciclo, pois assim será possível obter uma distribuição mais uniforme dos cachos na videira. Como a uva de mesa 'BRS Vitoria' apresenta eventualmente alternância produtiva entre as safras, o ajuste de sua carga deve ser feito considerando vários aspectos, pois em situações em que, em função da reduzida massa dos cachos, a densidade de cachos a ser deixada deve garantir níveis mínimos de produtividade que compensem a atividade.

### 3.6 CONCLUSÃO

Quanto maior a densidade de cachos, maior é a produtividade da uva híbrida de mesa 'BRS Vitória', sendo que o ajuste de carga para 6 cachos por  $m^2$  proporciona os maiores níveis de produtividade, sem perdas das características físico-químicas das bagas e dos cachos.

A redução da densidade de cachos até 4 cachos por  $m^2$  não proporciona compensação da produção por meio do aumento da massa das bagas e dos cachos.

### 3.7 REFERÊNCIAS

CALLEJAS-RODRÍGUEZ, R.; SANHUEZA, M. B.; VALENZUELA, B. T.; ARONOWSKY, C. P. Adaptación de la poda y ajuste de carga para maximizar los rendimientos de uva de mesa. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, Mendoza, v. 45, n. 2, p. 91-100, 2013.

DOKOOZLIAN, N. K.; HIRSCHFELT, D. J. The influence of cluster thinning at various stages of fruit development on Flame Seedless table grapes. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, n. 4, p. 429-436, 1995.

FAO-OIV – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; INTERNATIONAL ORGANIZATION OF VINE AND WINE. **Table and dried grapes**. 2016. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i7042e.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2018.

GIL, M.; ESTERUELAS, M.; GONZÁLES, E.; KONTOUDAKIS, N.; JIMÉNES, J.; FORT, F.; CANALS, J. M.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; ZAMORA, F. Effect of two different treatments for reducing grape yield in *Vitis vinifera* cv. Syrah on wine composition and quality: Berry thinning versus cluster thinning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Barcelona, v. 61, p. 4968-4978, 2013.

GOLLOP, R.; FARHI, S.; PERL, A. Regulation of the leucoanthocyanidin dioxygenase gene expression in *Vitis vinifera*. **Plant Science**, v. 161, n. 3, p. 579–588, 2001.

GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L.; DIEZ, C. Relationship between anthocyanins and sugars during the ripening of grape berries. **Food Chemistry**, Oxford, v. 43, n. 3, p. 193–197, 1992.

GUIDONI, S.; ARGAMANTE, N. Influenza del diradamento dei grappoli sull'accumolo di antociani nelle uve. **Quaderno di Viticoltura ed Enologia Università di Torino**, Torino, v. 26, p. 27-42, 2003.

HARRIS, J. M.; KRIEDEMANN, P. E.; POSSINGHAM, J. V. Anatomical aspects of grape berry development. **Vitis**, Victoria, v. 7, p. 106-119, 1968.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise dos alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JUBILEU, B.S.; SATO, A.J.; ROBERTO, S.R. Caracterização fenológica e produtiva das videiras ‘Cabernet Sauvignon’ e ‘Alicate’ (*Vitis vinifera* L.) produzidas fora de época, no norte do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, p. 451-462, 2010.

KAROGLAN, M.; OSRECAK, M.; MASLOV, L.; KOZINA, B. Effect of cluster and berry thinning on Merlot and Cabernet Sauvignon wines composition. **Czech Journal of Food Sciences**, Praga, v. 32, n. 5, p. 470-476, 2014.

LEÃO, P. C. de S.; LIMA, M. A. C.; COSTA, J. P. D.; DA TRINDADE, D. C. G. Abscisic acid and ethephon for improving red color and quality of crimson seedless grapes grown in a tropical region. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 66, n. 1, p. 37–45, 2015.

LEÃO, P. C. S. de; LIMA, M. A. C. Effect of shoot and bunch density on yield and quality of ‘Sugraone’ and ‘Thompson Seedless’ table grapes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39, n. 4: (e-828), p. 1-10, 2017.

LORENZ, D. H.; EICHHORN, K. W.; BLEIHOLDER, H.; KLOSE, R.; MEIER, U.; WEBER, E. Phenological growth stages of the grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*) - Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 1, p. 100-110, 1995.

MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T.; FAJARDO, T. V.; NAVES, R. L.; GIRARDI, C.L. ‘BRS Vitória’ – a novel seedless table grape cultivar exhibiting special flavor and tolerance to downy mildew (*Plasmopara viticola*). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 14, n. 3, p. 204-206, 2014.

MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P.; LAZZAROTTO, J. J. Uva brasileira conquista mercado inglês. **Revista Campo e Negócio**, 2016. Disponível em: <<http://www.revistacampoenegocios.com.br/uva-brasileira-conquista-mercado-ingles/>>. Acesso em: 07 jul. 2018.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: Panorama 2011**. Comunicado técnico, 125. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2012. 4 p.

MOTA, R. V.; REGINA, M. A.; AMORIM, D. A.; FÁVERO, A. C. Fatores que afetam a maturação e a qualidade da uva para vinificação. **Informe Agropecuário**, Brasília, v. 27, p. 56-64, 2006.

MOTA, R. V.; SILVA, C. P. C.; FAVERO, A. C.; PURGATTO, E.; SHIGA, T. M.; REGINA, M. A. Composição físico-química de uvas para vinho fino em ciclos de verão e inverno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, p. 1127-1137, 2010.

MUÑOZ-ESPADA, A. C.; WOOD, K. V.; BORDELON, B.; WATKINS, B. A. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch Grapes and wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 52, p. 6779-6786, 2004.

NACHTIGAL, J. C. Uvas sem sementes. **Revista brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n.1, p. 1, 2005.

OIV – Organisation Internationale de la vigne et du vin. **World Vitiviniculture Situation**. OIV Statistical Report on World Vitiviniculture, 2016. 16 p. Disponível em <<http://www.oiv.int/public/medias/5029/world-vitiviniculture-situation-2016.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2017.

PALLIOTTI, A.; CARTECHINI, A. Cluster thinning effects on yield and grape composition in different grapevine cultivars. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 512, p. 111-120, 2000.

PASTORE, C.; ZENONI, S.; TORNELLI, G. B.; ALLEGRO, G.; SANTO, S. D. Increasing the source/sink ratio in *Vitis vinifera* (cv. Sangiovese) induces extensive transcriptome reprogramming and modifies berry ripening. **BioMed Central Genomics**, London, v. 12, p. 631-653, 2011.

PEDRO JÚNIOR, M. J.; HERNANDES, J. L.; BLAIN, G. C.; BARDIN-CAMPAROTTO, L. Curva de maturação e estimativa do teor de sólidos solúveis e acidez total em função de graus-dia: Uva IAC 138-22 'Máximo'. **Bragantia**, Campinas, v. 73, n. 1, p. 81-85, 2014.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKGOZLIAN, N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation and color of 'Flame Seedless' grapes. **HortScience**, Alexandria, v. 41, p. 1449-1445, 2006.

POMAR, F.; NOVO, M.; MASA, A. Varietal differences among the anthocyanin profile of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1094, p. 34-41, 2005.

PRESZLER, T.; SCHMIT, T.; VANDEN HEUVEL, J. A model to establish economically sustainable cluster thinning practices. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 61, n. 1, p. 140-146, 2010.

RATTANAKON, S.; GHAN, R.; GAMBETTA, G. A.; DELUC, L. G.; SCHLAUCH, K. A.; CRAMER, G. R. Abscisic acid transcriptomic signaling varies with grapevine organ. **BMC plant biology**, Villenave d'Ornon, v. 16, n. 1, p. 72, 2016.

REGINA, M. A.; MOTA, R. V.; FAVERO, A. C.; SHIGA, T. M.; SILVA, L. H. J.; SOUZA, W. C.; NOVELLI, F. A. D.; SOUZA, C. R. Caracterização físico-química de uvas viníferas cultivadas em regime de dupla-poda no nordeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonçalves, v. 3, p. 84-92, 2011.

RICCE, W. S.; CARAMORI, P. H.; ROBERTO, S. R. Potencial climático para a produção de uvas em sistema de dupla poda anual no estado do Paraná. **Bragantia**, Campinas, v. 72, p. 408-415, 2013.

ROBERTO, S. R.; BORGES, W. F. S.; COLOMBO, R. C.; KOYAMA, R.; HUSSAIN, I.; SOUZA, R. T. Berry-cluster thinning to prevent bunch compactness of 'BRS Vitória', a new black seedless grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 197, p. 297-303, 2015.

ROBERTO, S. R.; MASHIMA, C.; COLOMBO, R. C.; ASSIS, A. M.; KOYAMA, R.; YAMAMOTO, L. Y.; SHAHAB, M.; SOUZA, R. T. Berry-cluster thinning to reduce compactness of 'Black Star' table grapes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, e20160661, 2017.

ROSIER, J. P. Vinhos de altitude: característica e potencial na produção de vinhos finos brasileiros. **Informe Agropecuário**, Brasília, v. 27, p. 105-110, 2006.

SOUZA, R. T.; NAVES, R. L.; CONCEIÇÃO, M. A. F.; COSTA, S. M.; SAVINI, T. C. Frequency of fungicide application for controlling downy mildew in seedless grape plant 'BRS Vitória'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n. 3, e-443, 2018.

TODA, F. M. de. **Biologia de la vid**: fundamentos biológicos de la viticultura. Madrid: Mundi-Prensa, 1991. 346p.

WINKLER, A. J.; COOK, J. A.; KLIEWER, W. M.; LIDER, L. A. **General viticulture**. California: University of California, 1974. 710 p.

YOUSSEF, K.; ROBERTO, S. R.; CHIAROTTI, F.; KOYAMA, R.; HUSSAIN, I.; SOUZA, R. T. Control of Botrytis mold of the new seedless grape 'BRS Vitoria' during cold storage. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 193, p. 316-321, 2015.

ZHENG, Y.; TIAN, L.; LIU, H.; PAN, Q.; ZHAN, J.; HUANG, W. Sugars induce anthocyanin accumulation and flavanone 3-hydroxylase expression in grape berries. **Plant Growth Regulation**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 251–260, 2009.

WANG, Y.; HE, Y.; CHEN, W.; HE, F.; CHEN, W.; CAI, X.; DUAN, C.; WANG, J. Effects of cluster thinning on vine photosynthesis, berry ripeness and flavonoid composition of Cabernet Sauvignon. **Food Chemistry**, Oxford, v. 248, p. 101-110, 2018.

## 4 ARTIGO B – PHENOLIC COMPOSITION OF ‘BRS VITORIA’ SEEDLESS TABLE GRAPE UNDER DIFFERENT BUNCH DENSITIES USING HPLC–DAD–ESI-MS/MS

### 4.1 ABSTRACT

Grapes are considered to be a major source of phenolic compounds as compared to other fruit species. To improve the quality of table grapes, some techniques like bunch thinning can be used. In addition, grape cultivars with distinct characteristics are directly linked to its phenolic profile. Thus, this study aimed to identify and quantify the phenolic compound profile of the hybrid ‘BRS Vitoria’ seedless table grape under different bunch densities, using a combination of SPE methodologies and analytical HPLC–DAD–ESI-MS/MS. A trial was carried out in 2016, in a commercial vineyard at Marialva, state of Parana (South Brazil). Three weeks after anthesis, the following bunch densities were evaluated: 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 and 6 bunches per m<sup>2</sup> (correspondent to an estimation of 16, 18, 20, 22 and 24 t ha<sup>-1</sup>). The randomized block design was used as statistical model where each treatment was replicated four times, with one vine per plot. Different characteristics were evaluated at harvest e.g. soluble solids content (SS), total acidity (TA), maturation index (SS/TA), bunch and berry mass, and yield, as well hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD), anthocyanins, flavonols and flavan-3-ol contents by HPLC–DAD–ESI-MS/MS analysis. The evaluated bunch densities in ‘BRS Vitoria’ hybrid table grape did not interfere on the berries technological characteristics, such as soluble solids and maturation index. From the HPLC-DAD-ESI-MS/MS chromatographic analyzes it was possible to verify that under the density of 5.0 bunches per m<sup>2</sup>, anthocyanins and flavonols were expressed in higher concentrations, while in the lower bunch densities, the flavan-3-ol compounds content is reduced.

Key words: *Vitis* spp. Hybrid Grapes. Cluster Thinning.

### 4.2 INTRODUCTION

Grapes are characterized by a wide variety of chemical compounds, and most of them have been related to therapeutic or health promoting properties (GEORGIEV et al., 2014). Table grapes are one of the most important sources of

phenolic compounds, which neutralize free radicals (ORAK, 2007; RASTIJA; SRECNIK; SARIC, 2009). Phenolic compounds are secondary metabolites of plants playing vital role in carrying out different physiological activities, and their concentration is subjected to great variation. In grapes, phenolic compounds biosynthesis is carried out under genetic control, and the differences among cultivars usually are enough to be used as a tool for authenticity and varietal differentiation regarding its phenolic composition (CASTILLO-MUÑOZ, 2009a). These compounds can be classified into two groups, i.e., non-flavonoids and flavonoids. In grapes, non-flavonoids are mainly phenolic acids and stilbenes, whereas flavonoids are anthocyanins, flavonols and flavan-3-ols (monomers, dimers, oligomers and polymers, the latter also known as tannins) (GARRIDO; BORGES, 2011). Due its nutraceutical properties, the table grape consumption has increased worldwide during last few years, especially colored cultivars.

However, to compete in the market for fresh grapes all year round, it is necessary to develop some cultivation strategies, such as the growing of high quality and yielding cultivars. Seedless table grapes, like 'BRS Vitoria', has a high yield capability, up to 30 t ha<sup>-1</sup>, and is an excellent choice for overseas markets due its firm texture and particular flavor, and its tolerance to downy mildew (*Plasmopara viticola*), but has the inconvenience of presenting very dense bunches. Besides, it is a very fruitful cultivar, presenting two inflorescences per shoot (MAIA et al., 2014; ROBERTO et al., 2015). The berry thinning technique can be successfully adopted to control compactness, without compromising grape quality (ROBERTO et al., 2015), allowing berries to reach their maximum size and avoiding bunch compactness (PRESZLER et al., 2010).

Other thinning techniques, such as the removal of individual fruits (bunch thinning), also can be used to improve grapes quality, especially due to the higher source/drain ratio, improving quality of the remaining bunches in regards to its phenolic composition. However, most of the information regarding the chemical profile of thinned grapes has been obtained from vinifera cultivars, such as 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot' and 'Syrah'; in addition, in these grape cultivars the bunch densities are adjusted based on the number of bunches per vine (WINKLER et al., 1974; PASTORE et al., 2011; GIL et al., 2013; KAROGLAN et al., 2014).

Differently, a bunch density, expressed in bunches per m<sup>2</sup>, can be used in table grapes in order to better distribute the load in the vine. In 'Sugraone'

and 'Thompson Seedless' table grapes, bunch densities of 5 or 6 bunches per m<sup>2</sup> are preferred to keep grape quality (LEÃO; LIMA, 2017). Similar bunch densities are also used in 'Flame Seedless' and 'Redglobe' table grapes (CALLEJAS-RODRÍGUEZ et al., 2013).

In vinifera grapes, like 'Cabernet Sauvignon' and 'Merlot', bunch thinning in combination with berry thinning has shown a great effect on total phenols concentration of their wine, including higher concentrations of many individual phenolic compounds (KAROGLAN et al., 2014), and similar results have been observed for 'Syrah' (GIL et al., 2013) and 'Cabernet Sauvignon' grapes (WANG et al., 2018). However, the effect of these techniques on phenolic composition of the hybrid table grapes, such as BRS Vitoria, is still unknown.

Hence, this work aimed to assess the phenolic profile of the new hybrid 'BRS Vitoria' seedless grape submitted to different bunch densities grown in a subtropical region using HPLC–DAD–ESI-MS/MS.

### 4.3 MATERIAL AND METHODS

#### 4.3.1 Chemicals

All solvents were of HPLC quality and all chemicals were of analytical grade (>99%) dissolved in ultrapure water. Commercial standards of malvidin 3-glucoside, malvidin 3,5-diglucoside, peonidin 3,5-diglucoside, caffeic acid, *p*-coumaric acid, *trans*-caftaric acid, *trans*-piceid, (-)-epigallocatechin, and (-)-gallocatechin were purchased from Phytolab (Vestenbergsgreuth, Germany). Cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, procyanidins B1 and B2, kaempferol, quercetin, isorhamnetin, myricetin, syringetin, and the 3-glucosides of kaempferol, quercetin, isorhamnetin, and syringetin were obtained from Extrasynthese (Genay, France). Gallic acid, *trans*-resveratrol, (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin 3-gallate, and (-)-gallocatechin 3-gallate were collected from Sigma (Tres Cantos, Madrid, Spain). Some other non-commercial flavonol standards (myricetin 3-glucoside, quercetin 3-glucuronide, and laricitrin 3-glucoside) were previously isolated from 'Petit Verdot' grape skins (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009a). Finally, a sample of procyanidin B4 was kindly supplied by Prof. Fernando Zamora (Department of Biochemistry and Biotechnology, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain). The *trans*-isomers of resveratrol and its 3-glucoside (piceid) were

transformed into their respective *cis*- isomers by UV-irradiation using 366 nm light for 5 minutes in quartz cell of 25% MeOH solutions of the *trans*- isomers.

Quantification ( $\text{mg kg}^{-1}$  of grape) was carried out as equivalent of the most representative compounds for each family of phenolic compounds: malvidin 3,5-diglucoside was used for anthocyanidin 3,5-diglucosides; malvidin 3-monoglucoside for anthocyanidin 3-monoglicosides; caftaric acid for hydroxycinnamic acid derivatives; quercetin 3-glucoside for flavonol 3-glycosides and their free aglycones; (+)-catechin for polymeric flavan-3-ols (total proanthocyanidins); individual flavan-3-ol monomers and dimers by their corresponding standards, and their total sum as (+)-catechin equivalents.

#### 4.3.2 Field trial and sample collection

The trial was conducted in a commercial vineyard located at Marialva, state of Parana (PR) (South Brazil) ( $23^{\circ}29'S$ ,  $51^{\circ}47'W$ , elevation 570 m). The hybrid 'BRS Vitoria' (*Vitis* spp.) seedless grape were grafted on 'IAC 766 Campinas' (*Vitis* spp.) rootstock in 2012, spaced at a distance of 2.5 x 5.0 m (800 vines per ha) and trained with overhead trellis system covered by 18% plastic mash.

Vines were cane-pruned in July 21, 2016, and the two apical buds were forced to sprout by spraying 3% hydrogen cyanamide. After three weeks of anthesis, the following bunch densities were evaluated: 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 and 6.0 bunches per  $\text{m}^2$ , with an estimation of crop load of 16, 18, 20, 22 and 24  $\text{t ha}^{-1}$ , considering that the bunch mass is around 0.40 kg (MAIA et al., 2014). The exceeded and damaged bunches were removed at this moment. The experimental design used was a randomized blocks with four replications, with one vine per plot.

During the trial, all other cultural practices were carried out as usual to the region, like fertilization, mowing, pest and disease control, including berry thinning (ROBERTO et al., 2015).

At harvest, 15 representative bunches from each plot were collected and weighed to measure the bunch mass (kg), and three berries of each one were collected to access berry mass (g), number of berries per bunch (bunch mass / berry mass), soluble solid contents – SS ( $^{\circ}\text{Brix}$ ), pH, titratable acidity – TA (% of tartaric acid) and maturation index – MI (SS/TA). A digital refractometer with automatic temperature compensation (DR301-95 Model, Krüss Optronic, Germany) was used for SS content evaluation. Berries TA was calculated via titration of the grape juice

with a standard 0.1 N NaOH solution in a semi-automatic titrator, adopting pH=8.2 as the end point (IAL, 2008). Yield ( $t\ ha^{-1}$ ) were estimated on the basis of bunch mass and number of bunches per vine or hectare.

For anthocyanin and polyphenol analyses, 60 berries per plot (six berries per bunch) were collected and divided in two sub-samples of 30 berries. Skin from the berries of one sub-sample were manually peeled off, weighed, frozen at  $-80\ ^\circ C$  and freeze-dried. The other sub-sample was weighed and immediately crushed for two minutes with 50 mL of a methanol and formic acid (98.5:1.5 v/v) solution, avoiding oxidation. The extract was then centrifuged at 5,000 rpm for 5 min. The supernatant was separated from the residue and a second extract was prepared by adding 30 mL of methanol, water and formic acid (50:48.5:1.5 v/v/v) solution to it, again crushing it for 2 minutes and centrifuged. Supernatant from both extracts were then mixed, measured and frozen at  $-80\ ^\circ C$ .

#### 4.3.3 Sample preparation for HPLC analysis

##### 4.3.3.1 Skins extract preparation

The freeze-dried skins of 'BRS Vitoria' berries were triturated in a grinder (IKA<sup>®</sup> A 10 Basic, Germany), weighed and used for further phenolic profile analysis. The samples (ca. 0.20 g) were immersed in 20 mL of methanol, water and formic acid solution (50:48.5:1.5 v/v), and subjected to ultrasonic bar treatment for 3 min. Samples were then centrifuged at 2,500 rpm for 15 min at  $5\ ^\circ C$ . After that, the mixture was filtered in a flask where solid residue was separated from the liquid part. From the filtered residue of the first extract, a second mixture was prepared using the same solvent volume (20 mL) and following the same procedure. Both extracts were then mixed together and the volume was adjusted to 50 mL. One mL of extract was collected and dried in rotary evaporator ( $35\ ^\circ C$ ), the dried-extract was then re-dissolved in 0.3 mL of HCl 0.1 N (1:10, v/v), and directly injected onto the HPLC system for anthocyanin determination.

PCX SPE cartridges (500 mg, 6 mL; Bond Elut Plexa PCX, Agilent Technologies, USA) allowed the isolation of non-anthocyanin phenolic compounds from skin extracts, and these anthocyanin-free fractions were used to analyze flavonols. For that, 3 mL of grape skin extracts were reduced to 1.5 mL in a rotary evaporator ( $35\ ^\circ C$ ) and diluted with 3 mL of HCl 0.1 N, and the prepared samples were passed through the SPE cartridges that had been previously conditioned with 5

mL of methanol and 5 mL of water. After the cartridges had been washed with 5 mL of HCl 0.1 N acid and 5 mL of water, the anthocyanin-free fractions were eluted with 2 × 3 mL of 96% ethanol. This elute was dried in a rotary evaporator (35 °C) and re-dissolved in 1.5 mL of 80% methanol in water and directly injected onto the HPLC equipment.

Flavan-3-ols (monomers, B-type dimers, and proanthocyanidins) and stilbenes were isolated from skin extracts using SPE on C18 cartridges (Sep-Pak Plus C18, Waters Corp., Mildford, USA), filled with 820 mg of adsorbent. A mixture of 2 mL extract and 12 mL of water from each sample was passed through the C18 cartridge, which had been previously conditioned with methanol (5 mL) and water (5 mL). After the cartridge has dried under reduced pressure, methanol (15 mL) and ethyl acetate (5 mL) were added in order to recover adsorbed phenolics. Later on, the solvent was evaporated in a rotary evaporator (35 °C), the residue was dissolved in methanol (2 mL) and then stored at -18 °C until needed.

#### 4.3.3.2 Berries extract preparation

The extract obtained from berries (skin and flesh) (item 4.3.2) was dried in a rotary evaporator (35 °C) to evaporate the methanol contents. To eliminate the sugars and other polar substances from the samples, an extraction procedure was carried out in solid phase (SPE) with Bond Elut C18 cartridges (500 mg, 3 mL; Agilent Technologies, Santa Clara, USA). For that purpose, the cartridges were conditioned by passing through 5 mL of methanol followed by 5 mL of water. Then, the samples (5 mL) were passed through the cartridge and the eluted was discarded. The cartridges were again rinsed 3 times with 5 mL of water, and the adsorbed phenolic compound were recovered passing through 3 times with 5 mL of methanol, which was then dried in a rotary evaporator (35 °C). Dried samples were re-dissolved in 5 mL of an acetonitrile/water/formic acid (3:88.5:8.5, v/v/v) solution and directly injected onto the HPLC equipment to analyze hydroxycinnamic acid derivatives.

#### 4.3.4 HPLC–DAD–ESI–MS<sup>n</sup> identification of phenolic compounds

All chromatographic analysis were carried out at Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada (IRICA), Universidad Castilla-La Mancha, Ciudad Real, Spain. Anthocyanins and non-anthocyanin phenolic compounds from grape skin and flesh were separately analyzed using pre-described methods using narrow

bore, smaller particle size and chromatography columns (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007; 2009a). For the analysis of anthocyanins, 10  $\mu\text{L}$  of the diluted extract was injected to HPLC, whereas 20  $\mu\text{L}$  of anthocyanin-free extract fractions were used for the analysis of non-anthocyanin phenolics. Before injecting the extract, it was filtered (0.20  $\mu\text{m}$ , polyester membrane, Chromafil PET 20/25, Machery-Nagel, Düren, Germany) on a reversed-phase column Zorbax Eclipse XDB-C18 thermostated at 40  $^{\circ}\text{C}$  (2.1  $\times$  150 mm; 3.5  $\mu\text{m}$  particle; Agilent, Germany). Solvent flow rate was 0.19  $\text{mL min}^{-1}$  and it included: solvent A (acetonitrile/water/formic acid, 3:88.5:8.5, v/v/v), solvent B (acetonitrile/water/formic acid, 50:41.5:8.5, v/v/v), and solvent C (methanol/water/formic acid, 90:1.5:8.5, v/v/v). The gradient of linear solvents for anthocyanin analysis was: zero min, 94% A and 6% B; 10 min, 70% A and 30% B; 30 min, 50% A and 50% B; 34 min, 100% B; 36 min, 100% B; 42 min, 96% A and 4% B and 50 min, 96% A and 4% B.

The gradient of linear solvents for non-anthocyanin analysis was: zero min, 98% A and 2% B; 8 min, 96% A and 4% B; 37 min, 70% A, 17% B and 13% C; 51 min, 50% A, 30% B and 20% C; 51.5 min, 30% A, 40% B and 30% C; 56 min, 50% B and 50% C; 57 min, 50% B and 50% C and 64 min, 96% A and 4% B. Ion-Trap ESI-MS/MS detector was used for identification of both positive (anthocyanins) and negative (flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives) ion modes, with following parameters settings: dry gas,  $\text{N}_2$ , 8  $\text{L min}^{-1}$ ; drying temperature, 325  $^{\circ}\text{C}$ ; nebulizer,  $\text{N}_2$ , 50 psi; ionization and fragmentation parameters optimized by direct infusion of appropriate standard solutions (malvidin 3,5-diglucoside in positive ionization mode; quercetin 3-glucoside and caftaric acid in negative ionization mode); scan range, 50–1200  $m/z$ . Identification was mainly based on spectroscopic data (UV–Vis and MS/MS), obtained from authentic standards or previously reported (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009a; LAGO-VANZELA et al., 2011a, 2011b). For quantification, DAD-chromatograms were extracted at 520 (anthocyanins), 360 (flavonols) and 320 nm (hydroxycinnamic acid derivatives). Analyses were performed in triplicate.

#### 4.3.5 Identification and quantification of flavan-3-ols and stilbenes using multiple reactions monitoring HPLC–ESI-MS/MS

Flavan-3-ols and stilbenes chromatographic analysis were performed at Instituto de la Vid y del Vino de Castilla-La Mancha, Tomelloso, Spain. SPE-C18

extract (described in section 4.3.3.1) was used for analyzing flavan-3-ol monomers and B-type dimer procyanidins and stilbenes from grape skins. From SPE-C18 extract, 300  $\mu\text{L}$  was taken and diluted with 1.50 mL of water and formic acid (98.5:1.5) in a sealed chromatographic vial, and then injected to HPLC.

The structural information about proanthocyanidins were obtained using the method of pyrogallol induced acid-catalyzed depolymerization, a recently proposed alternative nucleophile trapping agent that offers similar results when compared to the classic phloroglucinol method, but which also functions under milder experimental conditions (BORDIGA et al., 2009; 2013). In this trial, 0.30 mL of pyrogallol reagent solution (100  $\text{g L}^{-1}$  of pyrogallol and 20  $\text{g L}^{-1}$  ascorbic acid in methanolic 0.3 N HCl) was added to 0.30 mL of SPE-C18 extract, and the mixture was then kept at 30  $^{\circ}\text{C}$  for 40 min. After the reaction has been finalized with the addition of 1.20 mL of 67  $\mu\text{M}$  sodium acetate, the reaction mixture was injected to HPLC (Agilent 1200 Series System, Germany), equipped with DAD (Agilent, Germany) and coupled with AB Sciex 3200 Q TRAP (Applied Biosystems) electrospray ionization mass spectrometry system (ESI-MS/MS). The chromatographic system was managed by the Agilent ChemStation (version B.01.03) data-processing station and the mass spectra data was processed with the Analyst MSD software (Applied Biosystems, version 1.5). The samples (before and after acid-catalyzed depolymerization reaction) were injected (10  $\mu\text{L}$ ) on a reversed-phase column Agilent Eclipse XDB-C18 (2.1  $\times$  150 mm; 3.5  $\mu\text{m}$  particle; Agilent, Germany), thermostated at 16  $^{\circ}\text{C}$ . The solvents used were water/methanol/formic acid (97:2:1, v/v/v, solvent A) and methanol (solvent B), and the flow rate was 0.1  $\text{mL min}^{-1}$ . The linear gradient for solvent B was as follows: 0 min, 5%; 2 min, 5%; 25 min, 30%; 40 min, 55%; 50 min, 65%; 55 min, 95%; 65 min, 95%; 70 min, 5%; and 80 min, 5%. Two MS scan types were used: enhanced MS (EMS) for compound identification; and multiple reaction monitoring (MRM) for quantification. MS conditions for both scan types were as follows: ion spray voltage, -4000 V; ion source temperature, 500  $^{\circ}\text{C}$ ; collision gas, high; curtain gas, 15 psi; ion source gas 1, 50 (arbitrary units); ion source gas 2, 50 (arbitrary units); declustering potential, -35 V; entrance potential, -10 V; collision energy, -30 V; and collision cell exit potential, -3 V. Data of initial concentrations of flavan-3-ol monomers, obtained before depolymerization reaction, was used for the correction of released flavan-3-ol monomers (terminal subunits of

polymeric proanthocyanidins) concentrations during the depolymerization reaction of proanthocyanidins.

Standards used for the identification and quantification of diverse flavan-3-ols and stilbenes included: the monomers (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-gallocatechin, and (-)-epicatechin 3-gallate; the dimers procyanidins B1, B2 and B4; and the *trans* and *cis* isomers of resveratrol. The total polymeric proanthocyanidin contents were also quantified as equivalents of (+)-catechin, and their structural features were characterized (molar percentage of extension and terminal subunits; mean degree of polymerization, mDP; molar percentage of galloylation; and molar percentage of prodelphinidins). A previously developed method was followed for this purpose, based on the use of the -EMS (enhanced mass spectrum; MS conditions) scan mode of identification, MRM (multiple reaction monitoring; MS/MS conditions) scan mode of quantification, (+)-catechin as external standard, and acid-catalyzed depolymerization induced by pyrogallol for structural characterization of proanthocyanidins (LAGO-VANZELA et al., 2011a, 2011b). Stilbenes (*trans* and *cis* isomers of resveratrol) were identified and quantified from the extracted ion chromatograms acquired by MRM after selection of the following characteristic m/z transitions: 389-227 for piceid isomers, and 227-185 for resveratrol isomers.

#### 4.3.6 Statistical analysis

All recorded data were submitted to normality and homogeneity of variances tests before ANOVA. In the case of significance, the means were adjusted to the corresponding polynomial regression model. Significant characteristics were also submitted to a principal component analysis (PCA) and correlations network map using *R* package.

## 4.4 RESULTS AND DISCUSSION

### 4.4.1. Technological characteristics

'BRS Vitoria' table grape, regardless the evaluated bunch densities, presented soluble solids content (SS) higher than 16.5 °Brix at harvest, and associated to the low total acidity (TA) recorded in the berries, its maturation index (SS/TA) was higher than 22.3 (Table 4.4.1). It was expected under the lowest bunches density, a higher SS content due to the alteration between the source/drain ratio. However, in the conditions studied, no significant changes were observed for this characteristic. Similar results were reported for 'Sugraone' and 'Thompson Seedless' table grapes submitted to different densities of bunches and shoots, in which there were no significant changes in SS content, total soluble sugars and TA (LEÃO; LIMA, 2017).

**Table 4.4.1.** Soluble solids content (SS), pH, total acidity (TA) and maturation index (SS/TA) recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities.

Bunches per m <sup>2</sup>	SS (°Brix)	pH	TA (%)	SS/TA
4.0	16.97	4.69	0.70	24.15
4.5	17.43	4.64	0.75	23.40
5.0	17.57	4.64	0.71	24.83
5.5	17.37	4.63	0.69	25.35
6.0	16.53	4.62	0.74	22.34
F	2.57 <sup>ns</sup>	0.50 <sup>ns</sup>	2.39 <sup>ns</sup>	2.14 <sup>ns</sup>
CV (%)	2.65	1.49	4.02	5.82

<sup>ns</sup>: non-significant differences by F test.

Similar effects were also observed for 'Cabernet Sauvignon' grapes, in which the bunches thinning, as well as the stage of development of the berry in which it was applied, also did not present significant influence on the berry mass, SS, TA and pH (WANG et al., 2018). This situation may be related to the cultivar and their growing conditions. In 'Syrah' grapes, the thinning of excessive bunches promoted a significant increase in the SS content in respect to the treatment without thinning (GIL

et al., 2013). For 'Sangiovese' grapes, similar results were observed and it was explained by the source/drain ratio, as a consequence of the removal a bunch portion (PASTORE et al., 2011). The reduction on bunches size, by berry thinning techniques, also increased the SS content in 'BRS Nubia' table grapes (SILVESTRE et al., 2017), demonstrating that some cultivars are more responsive than others to crop load adjustment.

#### 4.4.2. Anthocyanins

Anthocyanins corresponded to the main group of phenolic compounds found in the 'BRS Vitoria' table grapes, and are responsible for the almost black coloration verified in this cultivar skins. Since 'BRS Vitoria' is an interspecific hybrid, obtained from the cross-breeding of vinifera and non-vinifera cultivars, anthocyanins derived from 3-glucoside and 3,5-diglucoside anthocyanins were detected in its anthocyanin profile (Table 4.4.2; Figure 4.4.1). The anthocyanins profile described in this study for 'BRS Vitoria' table grape has similarity to those described for non-vinifera or hybrid grape, such as 'Bordô' (LAGO-VANZELA et al., 2011b), 'BRS Violeta' (REBELLO et al., 2013) and 'Isabel' (YAMAMOTO et al., 2015).

Each anthocyanin was identified based on the comparison between UV-vis and MS/MS spectroscopic data, with those obtained from authentic standards or standards described by Lago-Vanzela et al. (2011b) and Nixdorf; Hermosín-Gutiérrez (2010). The structures of the anthocyanidins (aglycones) delphinidin (dp), cyanidin (cy), petunidin (pt), peonidin (pn), pelargonidin (pg) and malvidin (mv) were identified by means their molar mass (303, 287, 317, 301, 271 and 331, respectively) detected in the MS/MS spectra. In relation to 3-glucoside and 3,5-diglucoside substitution patterns assignment, was verified the compounds fragmentation pattern in the MS/MS spectrum, according to Rebello et al. (2013). From the analyzes performed on 'BRS Vitoria' table grapes, 35 derivatives of the six types of anthocyanidins mentioned above were detected, but only one derivative of the anthocyanidin pelargonidin (Figure 4.4.1, peak 31), since this type of anthocyanidin is not commonly found in grapes (LAGO-VANZELA et al., 2011b; REBELLO et al., 2013).

Anthocyanins profile, presented in molar percentage, was similar regardless the evaluated bunch densities. However, the anthocyanins concentration

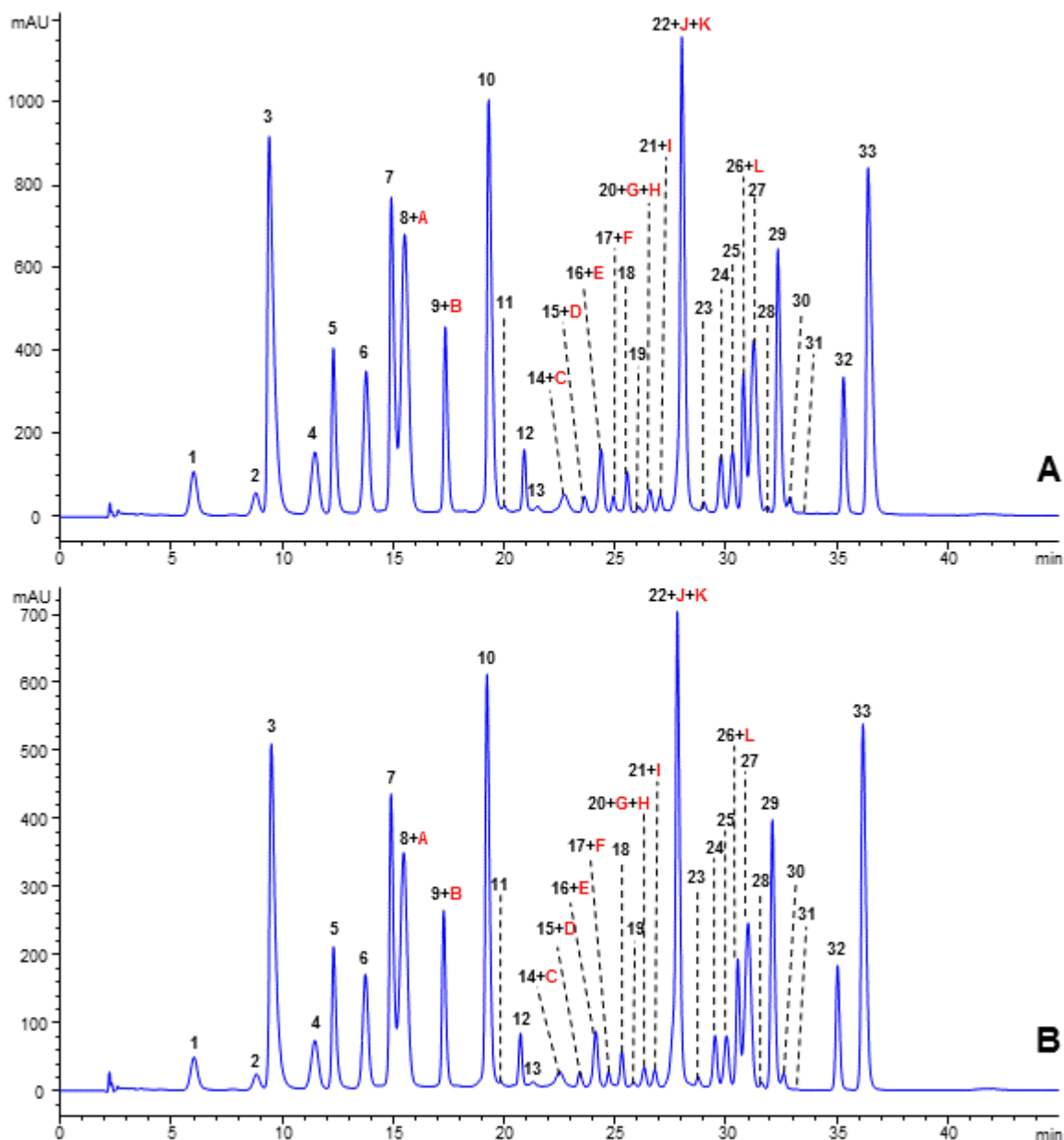
**Table 4.4.2.** Chromatographic and spectroscopic (MS/MS spectra) characteristics of the anthocyanins identified in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities by HPLC–DAD–ESI-MS/MS (positive ionization mode). Molar proportions (mean value, n = 3), and total concentration (as malvidin 3-glucoside or malvidin 3,5-diglucoside equivalents) in berry skin. Peak numbers as in Fig. 4.4.1.

Peak	Assignment <sup>a</sup>	Molecular ion; product ions ( <i>m/z</i> )	Rt (min)	Bunch densities (per m <sup>2</sup> )				
				4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
				(% molar)				
3	dp-3-glc	465; 303	9.40	15.47	16.07	16.66	16.05	15.13
5	cy-3-glc	449; 287	12.29	4.43	4.71	5.28	4.73	4.31
7	pt-3-glc	479; 317	14.91	9.47	9.80	10.09	9.70	9.29
9	pn-3-glc	463; 301	17.34	5.09	5.16	5.64	5.25	4.85
10	mv-3-glc	493; 331	19.29	13.81	13.93	14.15	14.09	13.95
17	mv-3-pent	463; 331	24.92	0.38	0.38	0.36	0.38	0.40
12	dp-3-acglc	507; 303	20.90	1.51	1.35	1.48	1.34	1.30
15	cy-3-acglc	491; 287	23.61	0.41	0.43	0.44	0.41	0.41
18	pt-3-acglc	521; 317	25.54	0.95	0.96	1.00	0.96	0.93
24	mv-3-acglc	535; 331	29.76	1.55	1.59	1.56	1.52	1.62
28	mv-3-cfglc	655; 331	31.86	0.11	0.14	0.15	0.14	0.16
22	dp-3- <i>trans</i> -cmglc	611; 303	28.00	16.48	16.07	15.17	16.27	17.03
23	pt-3- <i>cis</i> -cmglc	625; 317	28.99	0.25	0.24	0.24	0.29	0.32
29	pt-3- <i>trans</i> -cmglc	625; 317	32.34	8.34	8.05	7.55	8.11	8.59
26	pn-3- <i>cis</i> -cmglc	609; 301	30.78	3.71	3.81	3.87	3.69	3.52
28	pn-3- <i>trans</i> -cmglc	609; 301	35.29	4.07	3.97	3.92	3.73	3.68
31	pg-3-cmglc	579; 271	33.48	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
30	mv-3- <i>cis</i> -cmglc	639; 331	32.87	0.45	0.41	0.40	0.42	0.52
33	mv-3- <i>trans</i> -cmglc	639; 331	36.40	13.48	12.93	12.02	12.91	13.97
E	dp-3-cfglc	627; 303	24.36	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ

F	dp-3- <i>cis</i> -cmglc	611; 303	24.92	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
H	cy-3-cfglc	611; 287	26.57	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
I	cy-3- <i>cis</i> -cmglc	595; 287	27.03	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
J	pn-3-acglc	505; 301	28.00	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
L	cy-3- <i>trans</i> -cmglc	595; 287	30.78	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Total (mg L <sup>-1</sup> , mv-3-glc)				616.29	645.43	496.87	445.75	291.83
Total (mg g <sup>-1</sup> DW, mv-3-glc)				46.22	48.41	51.48	33.43	26.22
Total (mg g <sup>-1</sup> FW, mv-3-glc)				12.98	14.30	15.53	9.29	7.06
Total (mg kg <sup>-1</sup> of berries, mv-3-glc)				748.38	788.12	931.00	572.98	441.83
1	dp-3,5-diglc	627; 465, 303	5.99	4.67	4.81	5.09	4.98	4.59
2	cy-3,5-diglc	611; 449, 287	8.79	2.24	2.39	2.65	2.49	2.05
4	pt-3,5-diglc	641; 479, 317	11.46	7.30	7.35	7.57	7.52	7.08
6	pn-3,5-diglc	625; 463, 301	13.77	13.30	13.65	14.60	13.75	12.28
8	mv-3,5-diglc	655; 493, 331	15.51	34.65	35.02	34.85	35.05	35.19
13	pn-3-acglc-5-glc	667; 505, 463, 301	21.50	0.60	0.36	0.55	0.39	0.39
14	mv-3-acglc-5-glc	697; 535, 493, 331	22.71	2.56	2.26	2.23	2.20	2.39
20	pn-3-cfglc-5-glc	787; 625, 463, 301	26.57	1.56	1.57	1.68	1.62	1.54
11	dp-3- <i>cis</i> -cmglc-5-glc	773; 611, 465, 303	20.01	0.45	0.41	0.39	0.42	0.49
16	dp-3- <i>trans</i> -cmglc-5-glc	773; 611, 465, 303	24.36	5.29	5.08	4.94	5.20	5.32
19	pn-3- <i>cis</i> -cmglc-5-glc	771; 609, 463, 301	26.07	0.35	0.33	0.32	0.29	0.35
25	pn-3- <i>trans</i> -cmglc-5-glc	771; 609, 463, 301	30.29	5.21	5.31	5.26	4.95	4.91
21	mv-3- <i>cis</i> -cmglc-5-glc	801; 639, 493, 331	27.03	1.17	1.09	1.04	1.10	1.46
27	mv-3- <i>trans</i> -cmglc-5-glc	801; 639, 493, 331	31.25	20.67	20.38	18.83	20.03	21.96
A	dp-3-acglc-5glc	669; 507, 465, 303	15.51	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
B	cy-3-acglc-5-glc	653; 491, 449, 287	17.34	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
C	cy-3- <i>cis</i> -cmglc-5-glc	757; 595, 449, 287	22.71	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
D	pt-3- <i>cis</i> -cmglc-5-glc	787; 625, 479, 317	23.61	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
G	cy-3- <i>trans</i> -cmglc-5-glc	757; 595, 449, 287	26.57	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
K	pt-3- <i>trans</i> -cmglc-5-glc	787; 625, 479, 317	28.00	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ

Total (mg L <sup>-1</sup> , mv-3,5-diglc)	374.12	403.99	289.73	263.66	174.01
Total (mg g <sup>-1</sup> DW, mv-3,5-diglc)	28.06	30.30	30.44	19.78	15.84
Total (mg g <sup>-1</sup> FW, mv-3,5-diglc)	7.88	8.95	9.18	5.49	4.26
Total (mg kg <sup>-1</sup> of berries, mv-3,5-diglc)	454.02	492.89	550.61	338.85	266.17
Ratio mv-3-glc/mv-3,5-diglc	1.65	1.60	1.71	1.69	1.68

<sup>a</sup> Nomenclature abbreviations: dp, delphinidin; cy, cyanidin; pt, petunidin; pn, peonidin; mv, malvidin; pg, pelargonidin; glc, glucoside; diglc, diglucoside; pent, pentoside; acglc, 6"-acetyl-glucoside; cmglc, 6"-*p*-coumaroyl-glucoside; cfglc, 6"-caffeoyl-glucoside. DW: dry weight; FW: fresh weight. NQ: detectable but not-quantifiable.



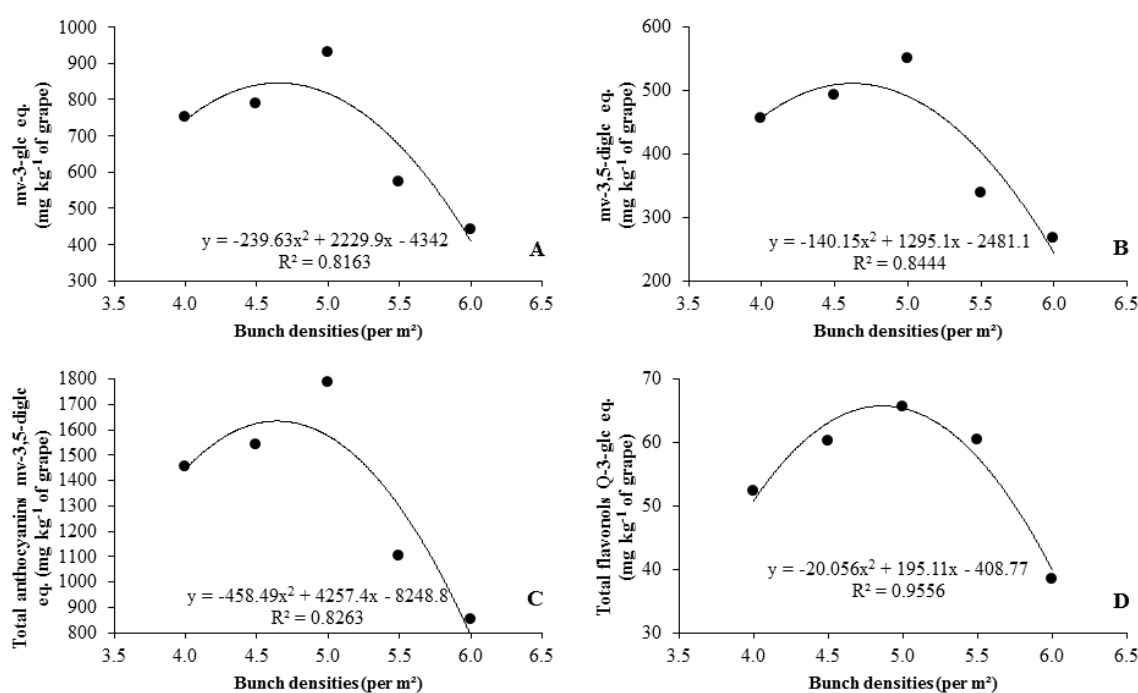
**Figure 4.4.1.** HPLC–DAD chromatograms (detection at 520 nm) correspond to anthocyanins detected in ‘BRS Vitoria’ grape skin submitted to different bunch densities. A: 4 bunches per  $m^2$ ; B: 6 bunches per  $m^2$ . For peak assignment, see Table 4.4.2.

( $mg\ kg^{-1}$  of berries) was different among the evaluated bunch densities. Among the anthocyanins that occur in ‘BRS Vitoria’, five complete series of five identified cyanidins (dp, cy, pt, pn and mv) were found: non-acylated 3-glucosides and 3,5-diglucosides and their *p*-coumaroyl derivatives, presents in *cis*- and *trans*-conformations; as well as the acetyl derivatives of 3-glucosides. In contrast, the

acylated 3,5-diglucosides derivatives were verified for the anthocyanidins dp, cy, pn and mv. In relation to the other anthocyanidin derivatives found in 'BRS Vitoria', it stands out the pelargonidin 3-(6''-*p*-coumaroyl)-glucoside, since anthocyanidin pelargonidin is rare in grapes, being described in grape juices and wines (WANG; RACE; SHRIKHANDE, 2003; ZHAO; DUAN; WANG, 2010). For the anthocyanidin peonidin, the 3-(6''-caffeoyl)-glucoside-5-glucoside derivative was found, being this group reported only for grape 'BRS Violeta' hybrid grape (REBELLO et al., 2013). However, not all the compounds identified for 'BRS Vitoria' grapes could be quantified due to their coelution.

Regarding the evaluated bunch densities, it was expected that the reduction in bunch densities had resulted in higher anthocyanins concentration in 'BRS Vitoria' table grape skins. Thus, a higher total concentration of anthocyanins ( $\text{mg kg}^{-1}$  of berries, eq mv-3-glc and mv-3,5-glc) was observed for the lowest bunch densities (4.0, 4.5 and 5.0), and the most significant concentrations were observed in the density of 5.0 bunches per  $\text{m}^2$  (Figure 4.4.2). However, the relationship between glucosides and diglucosides did not change among treatments, as well as the molar ratios of each detected compound. Thus, it can be confirmed that anthocyanins present in grapes and their proportions have their synthesis highly regulated by genetic factors inherent to the cultivar, while the concentration of these compounds varies according to the environment or treatments to which the vines are submitted.

The total anthocyanins concentration in 'BRS Vitoria' table grape skins, as mv-3,5-diglc equivalent, ranged from 1787.5 a 853.2  $\text{mg kg}^{-1}$  of berries, under the bunch densities of the 5.0 and 6.0 bunches per  $\text{m}^2$ , respectively. These concentrations are lower than those reported in 'BRS Violeta' grapes, about 3950  $\text{mg kg}^{-1}$  of berries, as mv-3,5-diglc equivalent (REBELLO et al., 2013). However, the anthocyanin contents verified in 'BRS Vitoria' table grapes are in agreement with those observed in other non-vinifera grapes, in  $\text{mg kg}^{-1}$  of grape (as mv-3,5-diglc equivalent), such as in 'Bordô' (*Vitis labrusca*), 1360  $\text{mg kg}^{-1}$  of grapes (LAGO-VANZELA et al., 2011b); 'Concord' (*V. labrusca*), 'Marechal Foch' (*Vitis rupestris* x *Vitis vinifera*) and 'Norton' (*Vitis aestivalis*), 1116–2750  $\text{mg kg}^{-1}$  of grapes (MUÑOZ-ESPADA et al., 2004); 'Folha de Figo' (*V. labrusca*) and 'Niágara Rosada' (*V. labrusca*), 61–1550 (in this case  $\text{mg kg}^{-1}$ , as cyanidin equivalent, that corresponds to 146–3779  $\text{mg kg}^{-1}$  as mv-3,5-diglc equivalent) (ABE et al., 2007).



**Figure 4.4.2.** Main phenolic compounds recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities. A: 3-glucosides serie (expressed as mv-3-glc eq.); B: 3,5-diglucosides serie (expressed as mv-3,5-diglc eq.); C: total anthocyanins (3-glc serie + 3,5-diglc serie) expressed as mv-3,5-diglc eq.; D: total flavonols (expressed as Q-3-glc eq.).

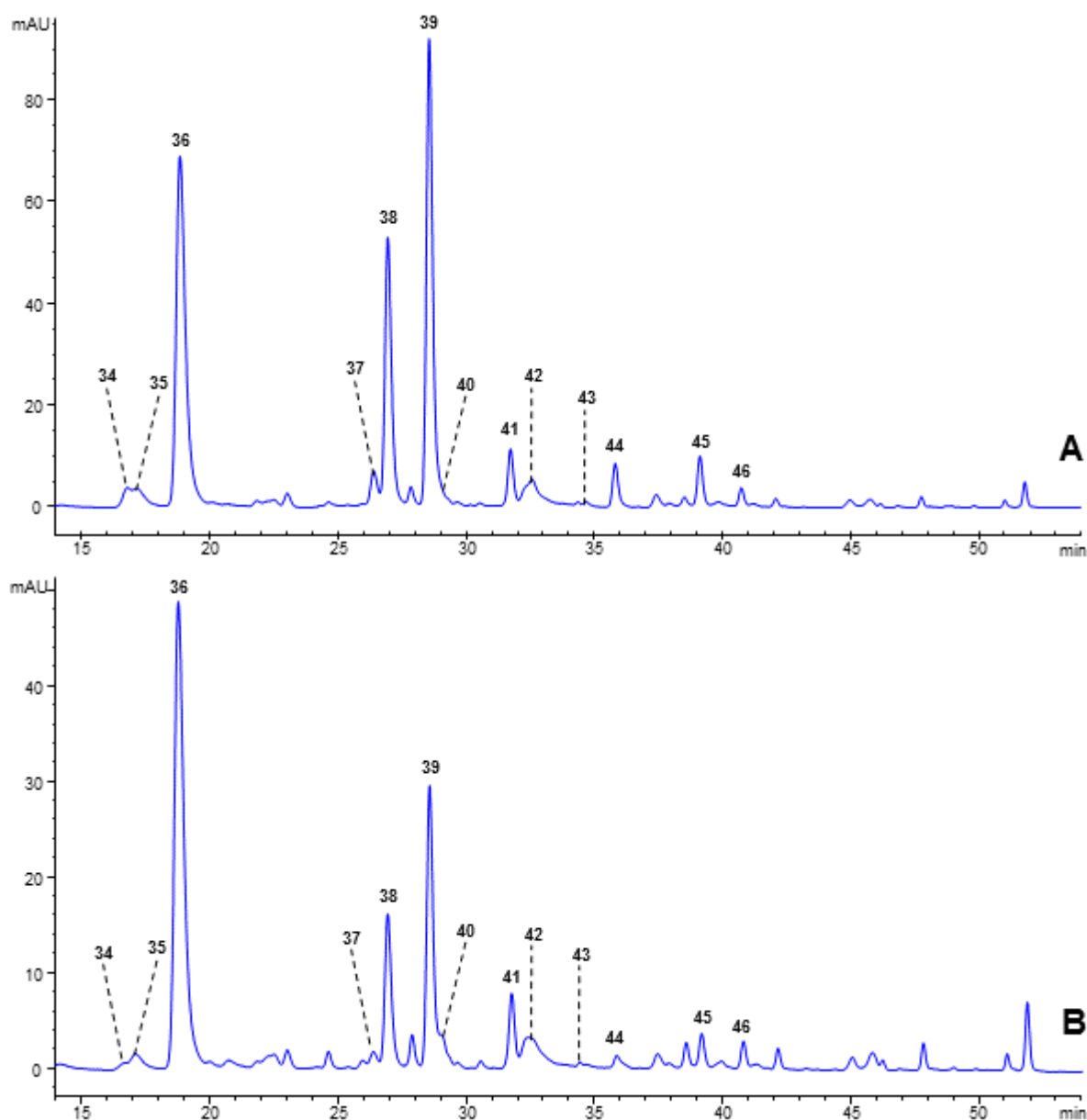
#### 4.4.3. Flavonols

In 'BRS Vitoria' table grape skins, the 3-glucoside derivatives of the six common flavonol aglycones were detected (Table 4.4.3; Figure 4.4.3). Only the 3-galactosides and the 3-glucuronides of myricetin, quercetin and kaempferol were found in the samples. As well as in anthocyanins, the total concentration of these compounds varied according to the evaluated bunch densities (Figure 4.4.2). Myricetin derivatives were detected in 'BRS Vitoria' skins at high concentration, with molar proportions ranged from 48 to 56%, being myricetin 3-glucoside the representative majority of this group, ranged from 43 to 52%. The quercetin derivatives were also detected in abundance in the 'BRS Vitoria' table grape skins. In addition, laricitrin, kaempferol, isorhamnetin and syringetin were detected in low proportions.

**Table 4.4.3.** Chromatographic and spectroscopic (MS/MS spectra) characteristics of the flavonols identified in ‘BRS Vitoria’ seedless table grape submitted to different bunch densities by HPLC–DAD–ESI-MS/MS (negative ionization mode). Molar proportions (mean value,  $n = 3$ ), and total concentration (as quercetin 3-glucoside equivalents) in berry skin. Peak numbers as in Fig. 4.4.2.

Peak	Assignment <sup>a</sup>	Molecular ion; product ions ( $m/z$ )	Rt (min)	Bunch densities (per $m^2$ )				
				4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
				(% molar)				
34	M-glcU	493; 317	16.79	2.14	0.47	1.51	1.84	1.11
35	M-gal	479; 317	17.15	2.44	2.62	2.66	2.71	2.63
36	M-glc	479; 317	18.84	43.09	50.10	48.97	48.71	51.94
37	Q-gal	463; 301	26.41	1.51	2.02	1.41	1.55	1.13
38	Q-glcU	477; 301	26.97	17.96	7.34	13.59	12.63	13.91
39	Q-glc	463; 301	28.58	21.50	24.02	19.71	19.34	16.94
40	Q-3-rhm-glc	609; 301	28.88	1.51	0.93	1.37	1.37	1.42
41	L-glc	493; 331	31.72	3.42	3.94	3.77	3.88	4.23
42	K-gal	447; 285	32.55	1.72	2.95	2.50	3.18	2.52
43	K-glcU	461; 285	34.63	0.22	0.25	0.23	0.22	0.27
44	K-glc	447; 285	35.79	1.65	2.02	1.43	1.66	0.99
45	I-glc	477; 315	39.11	1.85	2.13	1.69	1.70	1.57
46	S-glc	507; 345	40.71	0.97	1.21	1.17	1.22	1.35
Total ( $mg L^{-1}$ , Q-3-glc)				25.81	29.95	29.03	28.13	18.27
Total ( $mg g^{-1}$ DW, Q-3-glc)				3.23	3.74	3.63	3.52	2.28
Total ( $mg g^{-1}$ FW, Q-3-glc)				0.91	1.11	1.10	0.98	0.61
Total ( $mg kg^{-1}$ of berries, Q-3-glc)				52.22	60.13	65.61	60.30	38.51

<sup>a</sup> Nomenclature abbreviations: M, myricetin; Q, quercetin; K, kaempferol; L, laricitrin; I, isorhamnetin; S, syringetin; glcU, glucuronide; glc, glucoside; gal, galactoside; rhm, rhamnose. DW: dry weight; FW: fresh weight.



**Figure 4.4.3.** HPLC–DAD chromatograms (detection at 360 nm) correspond to flavonols detected in ‘BRS Vitoria’ grape skin submitted to different bunch densities. A: 4 bunches per m<sup>2</sup>; B: 6 bunches per m<sup>2</sup>. For peak assignment, see Table 4.4.3.

In relation to the proportion between myricetin and quercetin derivatives, it is possible to observe at the bunch densities of 4.0 bunches per m<sup>2</sup> similarity in these proportions, whereas in the other bunch densities the proportions of myricetin were about 1.5 times greater in relation to quercetin. In contrast, in the case of red vinifera cultivars, the flavonols proportion based, on myricetin and quercetin, are generally more balanced, and one or other flavonol type predominates

slightly (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2011; MATTIVI, et al., 2006). On the other hand, in 'BRS Violeta' grapes, it was verified that the myricetin proportion was about 3.5 times greater in relation to quercetin (REBELLO et al., 2013). The total flavonols concentration in 'BRS Vitoria' table grapes, as quercetin 3-glucoside equivalent, presented higher values under the density of 5.0 bunches per m<sup>2</sup> (65.6 mg kg<sup>-1</sup> of berries), while in the density of 6.0 bunches per m<sup>2</sup> the concentration was 38.5 mg kg<sup>-1</sup> of berries (Table 4.4.3; Figure 4.4.2). In 'BRS Violeta' grape skins, Rebello et al. (2013) found higher total flavonols concentration (153.4 mg kg<sup>-1</sup> of grapes, as quercetin 3-glucoside equivalent) than those observed in 'BRS Vitoria'.

#### 4.4.4. Hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) and stilbenes

Unlike the other compounds, in grapes, phenolic acids are mainly the hydroxycinnamic acids (HCAD), presents in the skins and flesh cell vacuoles, as tartaric esters (CABRITA; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 2003; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Thus, hydroxycinnamic acid derivatives were analyzed using hydrometanolic extract from 'BRS Vitoria' berries (Table 4.4.4; Figure 4.4.4).

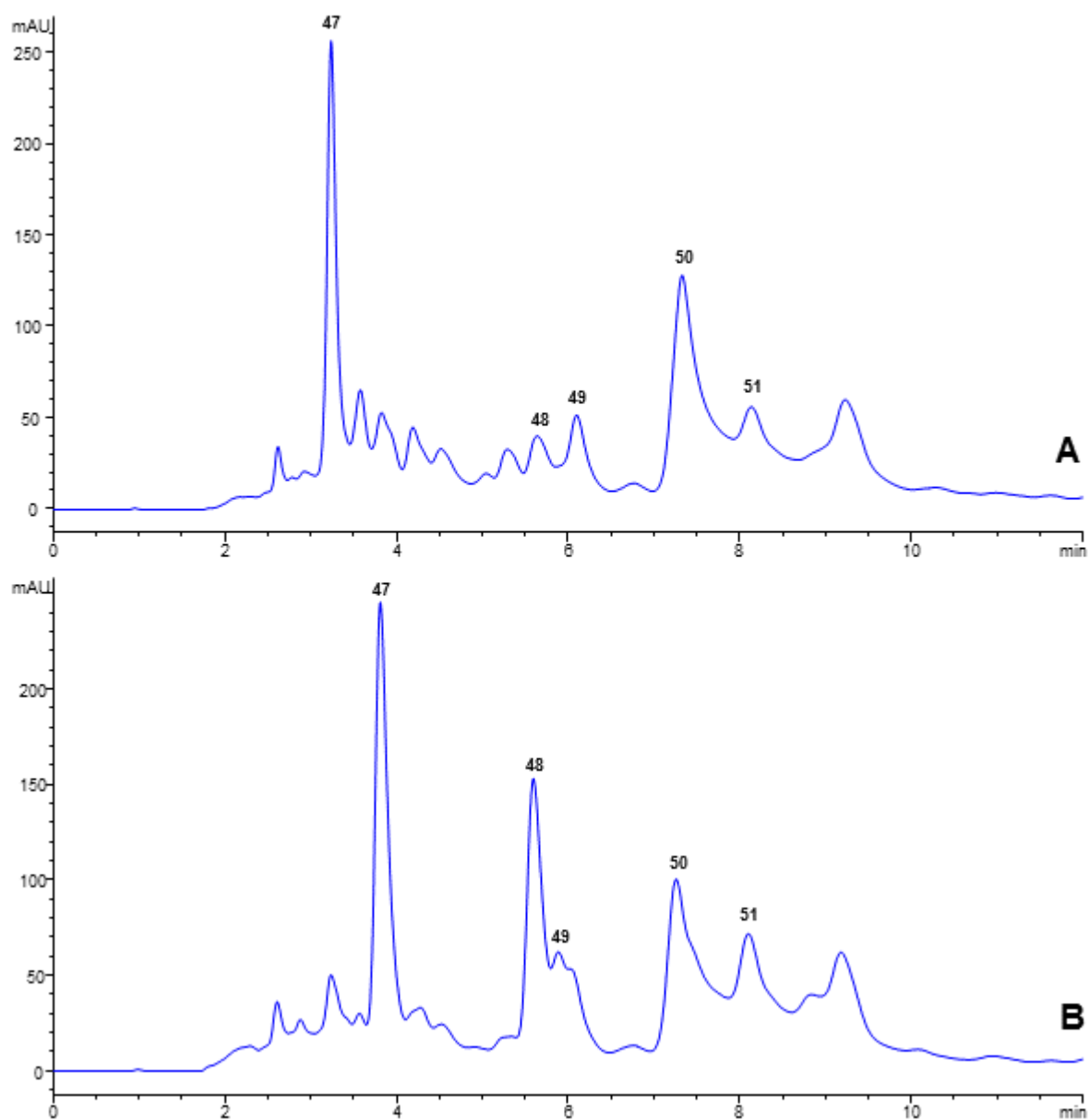
The acids found in 'BRS Vitoria' table grape berries were the *trans*-Caftaric acid, *trans*- and *cis*-Coutaric acid and *trans*-Fertaric acid; the same HCAD reported in *V. vinifera* grape cultivars (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009b) and in 'BRS Violeta' hybrid grapes (REBELLO et al., 2013). Among the mentioned compounds, the *trans*- isomers were predominant in 'BRS Vitoria' table grapes, being the *cis* isomer only detected for Coutaric acid. Similar results were reported for 'Bordô' grapes (*V. labrusca* L.) (LAGO-VANZELLA et al., 2011b).

In addition, a molecule called *p*-Coumaroyl-glucose, with fragmentation standard [(MS/MS), *m/z* 325; 163, 145] was found in 'BRS Vitoria' table grape. This compound had already been described as an ester between an HCAD and a hexose for 'Bordô' grapes (LAGO-VANZELLA et al., 2011b) and 'BRS Violeta' (REBELLO et al., 2013). However, the esters occurrence between HCAD and hexose is not commonly reported in grapes, especially in *V. vinifera* and its wines (BADERSCHNEIDER; WINTERHALTER, 2001).

In relation to stilbenes, the resveratrol was not detected in 'BRS Vitoria' table grape skins, only its 3-glucoside derivative (*piceid*). Two *piceid* isomers

**Table 4.4.4.** Chromatographic and spectroscopic (MS/MS spectra) characteristics of hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) and stilbenes identified in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities by HPLC–DAD–ESI-MS/MS (negative ionization mode). Molar proportions (mean value, n = 3), and total concentration (as caftaric acid equivalents) in grape berries. Peak numbers as in Fig. 4.4.3.

Peak	Assignment	Molecular ion; product ions ( <i>m/z</i> )	Rt (min)	Bunch densities (per m <sup>2</sup> )				
				4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
				(% molar)				
47	<i>trans</i> -Caftaric acid	311; 179, 149, 135	3.57	45.94	47.25	46.30	50.69	39.13
48	<i>trans</i> -Coutaric acid	295; 163, 149, 119	5.62	8.45	9.58	7.39	12.99	16.53
49	<i>cis</i> -Coutaric acid	295; 163, 149, 119	5.92	1.54	3.05	1.50	3.56	4.73
50	<i>p</i> -Coumaroyl-glucose	325; 163, 145	7.29	25.76	24.41	29.88	20.93	20.78
51	<i>trans</i> -Fertaric acid	325; 193, 149	8.12	18.30	15.71	14.93	11.83	18.83
	Total HCAD (mg L <sup>-1</sup> , Caftaric acid)			29.91	34.96	27.17	39.44	23.86
	Total HCAD (mg kg <sup>-1</sup> of berries, Caftaric acid)			5.63	6.88	5.34	8.30	4.24
	<i>trans</i> -Resveratrol-glucose (mg kg <sup>-1</sup> of berries)			0.41	0.75	0.69	0.70	0.53
	<i>cis</i> -Resveratrol-glucose (mg kg <sup>-1</sup> of berries)			0.36	0.59	0.53	0.45	0.38
	Total Resveratrol-glucose (mg kg <sup>-1</sup> of berries)			0.77	1.34	1.23	1.15	0.91



**Figure 4.4.4.** HPLC–DAD chromatograms (detection at 320 nm) correspond to hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) detected in ‘BRS Vitoria’ berries submitted to different bunch densities. A: 4 bunches per m<sup>2</sup>; B: 6 bunches per m<sup>2</sup>. For peak assignment, see Table 4.4.4.

were detected, *trans*- and *cis*-Resveratrol-glucoside, the total *piceid* concentration found in this grape skins, among the studied bunch densities, ranged from 0.765 to 1.338 mg kg<sup>-1</sup> of berries (as resveratrol equivalent). However, *piceid* concentrations did not differ significantly (Table 4.4.4). *Trans*-*piceid* concentrations were slightly higher than the concentrations of its *cis* isomer at all evaluated bunch densities. For

'BRS Violeta' grapes, the total *piceid* concentration found in its skins was 0.138 mg kg<sup>-1</sup> of berries (as resveratrol equivalent), being a lower concentration than that recorded for 'BRS Vitoria' table grape.

These stilbenes concentrations are lower than those reported in 'Bordô' grapes (10.91 mg kg<sup>-1</sup> of grapes, as resveratrol equivalent), being this grape cultivar classified as a great resveratrol producer (LAGO-VANZELA et al., 2011b). On the other hand, it can be verified that the 'BRS Vitoria' table grape can be classified as a low resveratrol producer, presenting a resveratrol concentration less than 1.8 mg kg<sup>-1</sup> of berries, according to the classification proposed by Gatto et al. (2008) for *V. vinifera* cultivars.

#### 4.4.5. Flavan-3-ol monomers and dimers

In relation to the flavan-3-ol monomers, seven types of this group were detected in 'BRS Vitoria' table grape skins (Table 4.4.5). The (+)-catechin was the compound found in greater concentration, being outstanding in relation to the others. Among the flavan-3-ol monomers, the (+)-catechin, (-)-epicatechin and (-)-gallocatechin compounds presented a linear increase as a function of the bunch densities increase in 'BRS Vitoria' table grape (Figure 4.4.5). However, the other compounds concentration did not differ significantly among the different bunch densities.

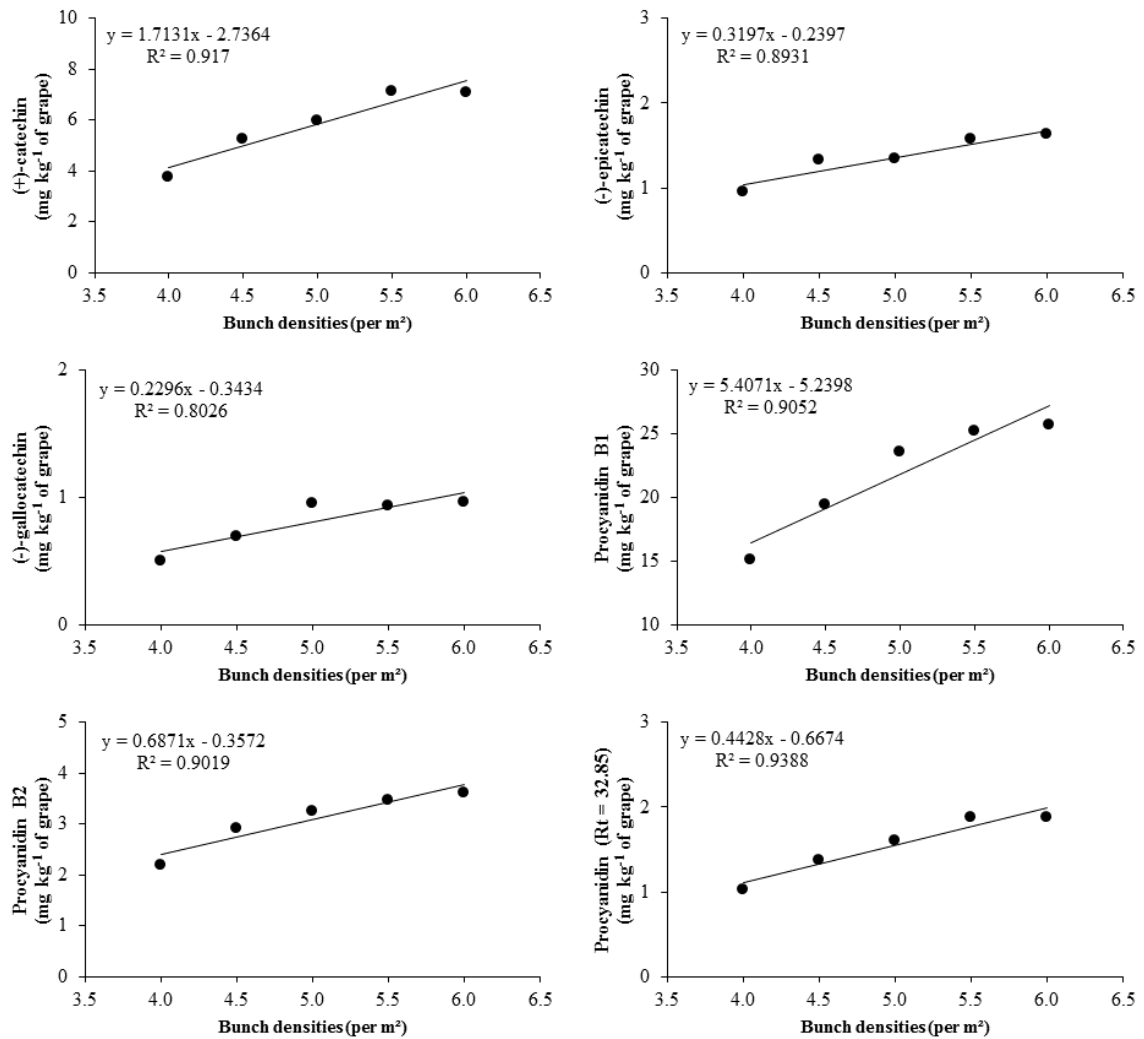
The (+)-catechin concentrations ranged from 3.7 to 7.1 mg kg<sup>-1</sup> of berries, under 4.0 and 6.0 bunches per m<sup>2</sup>, respectively. These values are higher than those found in 'Bordô' grapes (1.2 mg kg<sup>-1</sup> of grapes) (LAGO-VANZELA et al., 2011b) and close to that verified for 'BRS Violeta' grapes (REBELLO et al., 2013). For 'BRS Clara' and 'BRS Morena' seedless hybrid table grapes, the (+)-catechin concentrations verified in their skins presented values of 10.6 and 6.3 mg kg<sup>-1</sup> of grapes, respectively (LAGO-VANZELA et al., 2011a).

For flavan-3-ol B-type dimers, the presence of procyanidins B1 and B2, was mainly verified. Procyanidin B1 was the major flavan-3-ol dimer found in the 'BRS Vitoria' table grapes skins, followed by lower concentrations of procyanidin B2. Both procyanidins presented a linear increase as a function of the evaluated bunch densities, as well as verified for the monomers. A third procyanidin was detected in 'BRS Vitoria' table grape skins, but it was not possible to identify it. This compound

**Table 4.4.5.** Structural characterization of monomeric flavan-3-ol, proanthocyanidins and B-type procyanidin dimer identified in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities. Total content (as (+)-catechin equivalents) in berry skin.

Flavan-3-ol monomers	Bunch densities (per m <sup>2</sup> )				
	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
	(mg kg <sup>-1</sup> of berries)				
(+)-catechin	3.732	5.237	5.976	7.133	7.067
(-)-epicatechin	0.943	1.324	1.339	1.565	1.622
(-)-gallocatechin	0.501	0.689	0.949	0.927	0.957
(-)-epigallocatechin	0.368	0.624	0.640	0.689	0.638
(-)-epicatechin 3-gallate	0.137	0.205	0.203	0.221	0.210
(-)-gallocatechin 3-gallate	0.011	0.000	0.000	0.015	0.000
(-)-epigallocatechin 3-gallate	0.018	0.005	0.011	0.020	0.009
Procyanidin B1	15.081	19.431	23.536	25.232	25.698
Procyanidin B2	2.173	2.903	3.243	3.460	3.611
Procyanidin (Rt = 32.85)	1.025	1.366	1.593	1.868	1.881
mDP	7.274	7.914	8.589	8.663	8.006
Galloylation (%)	3.470	3.487	3.466	3.426	3.698
Prodelphinidin (%)	17.655	19.172	19.763	19.383	18.682
<b>Total PA (mg kg<sup>-1</sup> of berries, eq C)</b>	<b>593.313</b>	<b>555.149</b>	<b>553.411</b>	<b>536.329</b>	<b>527.745</b>

<sup>a</sup> Total PA, total concentration of proanthocyanidins, as (+)-catechin equivalents, calculated by total sum of the concentrations of all the extension and terminal subunits; mDP, mean degree of polymerization.



**Figure 4.4.5.** Flavan-3-ols monomers and B-type dimers recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities.

eluted at time 32.85 min and its molar mass is the same verified in other flavan-3-ol B-type dimers ( $m/z$  578). The procyanidin B4, commonly found in grapes, was not detected in 'BRS Vitoria' table grapes, as well as in 'BRS Violeta' (REBELLO et al., 2013) and in 'Bordô' grapes (LAGO-VANZELA et al., 2011b).

#### 4.4.6. Proanthocyanidins

The structural analysis of the main flavan-3-ol types present in 'BRS Vitoria' table grape skins also allowed the quantification of oligomers and polymers (proanthocyanidins). The total proanthocyanidins concentration did not change significantly among the evaluated bunch densities, ranging from 527 to 593 mg kg⁻¹ of berries (Table 4.4.5). Nevertheless, 'BRS Vitoria' grapes can be considered an

important source of proanthocyanidins, since *V. vinifera* cultivars, classified as with high concentration of proanthocyanidins in the skins, present concentrations between 280 and 720 mg kg<sup>-1</sup> of grape (BUSSE-VALVERDE et al., 2010; TRAVAGLIA et al., 2011).

Regarding the mean degree of polymerization (mDP), it was verified from the structural analysis, mDP ranging from 7.2 to 8.7. These values are close to those verified for 'BRS Clara' and 'BRS Morena' hybrid seedless table grapes, 7.0 and 9.9, respectively (LAGO-VANZELA et al., 2011a).

#### 4.4.7. Yield components

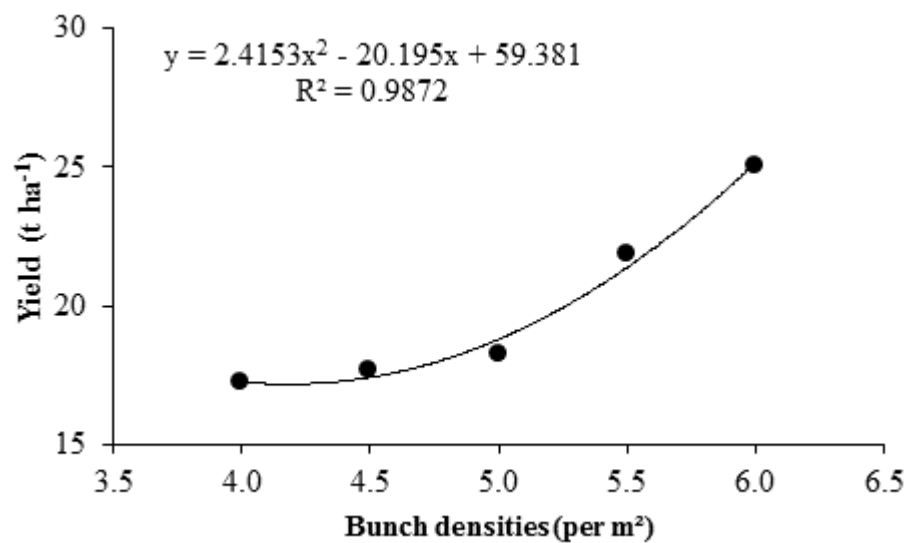
For the yield components evaluated in 'BRS Vitoria' table grapes, there was no significant difference between the berries and the bunches mass under the studied bunch densities (Table 4.4.6). In 'Thompson Seedless' table grape grown in semi-arid region, under the densities of 4.0; 5.0 and 6.0 bunches per m<sup>2</sup>, the berries and bunches mass were not significantly altered by these treatments. Therefore, the density of 6.0 bunches per m<sup>2</sup> is recommended for 'Thompson Seedless' table grape in order to achieve higher yields, since the bunch densities also did not significantly influence the chemical characteristics recorded in its berries (LEÃO; LIMA, 2017).

**Table 4.4.6.** Berry and bunch mass recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities.

Bunches per m <sup>2</sup>	Berry mass (g)	Bunch mass (kg)
4.0	5.44	0.43
4.5	5.16	0.39
5.0	4.92	0.37
5.5	4.63	0.40
6.0	5.63	0.42
F	3.35 <sup>ns</sup>	2.65 <sup>ns</sup>
CV (%)	7.35	6.52

<sup>ns</sup>: non-significant differences by F test.

On the other hand, the yield ( $\text{t ha}^{-1}$ ) recorded in 'BRS Vitoria' table grape was strongly influenced by the bunch densities, presenting a highly significant linear increase (Figure 4.4.6). These results were expected since, as the number of bunches per area is increased, yield is also increased. However, depending on the quality desired in the final product, not always the increase in yield will be compensatory, such as verified in this work for the total anthocyanins and flavonols concentration.



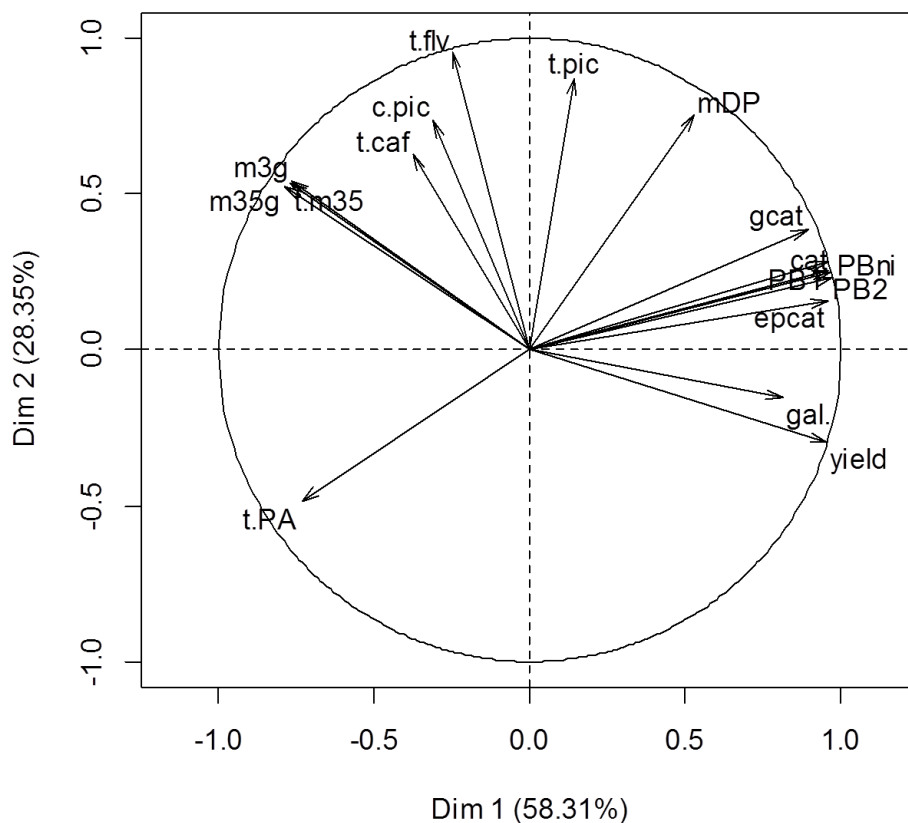
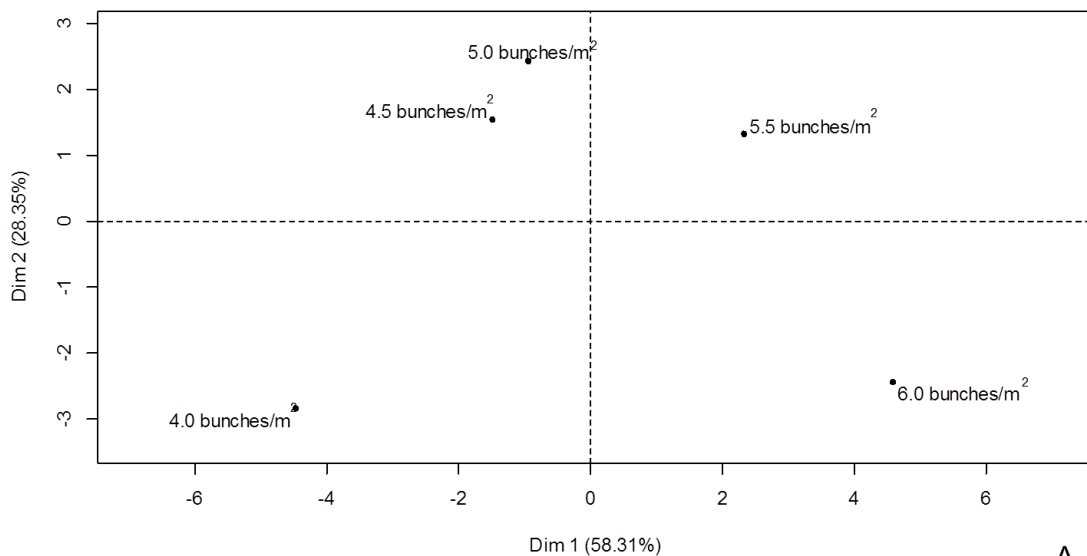
**Figure 4.4.6.** Estimated yield ( $\text{t ha}^{-1}$ ) recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape submitted to different bunch densities.

In Brazil, 'BRS Vitoria' table grape has been cultivated in regions that allow the production of two annual crops (MAIA et al., 2014; ROBERTO et al., 2015). Thus, the obtained yield per year with this cultivar can reach up to two times the yield values shown in this work. This becomes interesting since at the density of 5.0 bunches per  $\text{m}^2$ , for example, an yield close to  $37 \text{ t ha}^{-1}$  can be obtained annually.

#### 4.4.8. Multivariate and correlation analysis

The principal component analysis (PCA) shows that the principal components 1 and 2 represented 86.66% of the total variation (58.31 and 28.35%, respectively) (Figure 4.4.7). This analysis allowed to distinguish the different bunch densities in several groups. The densities of 4.5 and 5.0 bunches per  $\text{m}^2$  were grouped together, mainly by the accumulation of total anthocyanins, total flavonols,

caftaric acid and *cis*-resveratrol-glc. These phenolic compounds are strongly related to the functional properties of grapes (GEORGIEV et al., 2014).



**Figure 4.4.7.** Principal Component Analysis (PCA) of phenolic compounds and yield recorded in 'BRS Vitoria' seedless table grape subjected to different bunch densities. A: treatments dispersion according to the principal component scores (4.0; 4.5; 5.0; 5.5 and 6.0 bunches per m<sup>2</sup>). B: evaluated characteristics arrangement according to

the principal component scores. yield ( $\text{t ha}^{-1}$ ); m3g: anthocyanins 3-glucoside series as malvidin-3-glucoside eq; m35g: anthocyanins 3,5-diglucoside series as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.m35: total anthocyanins as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.flv: total flavonols as Q-3-glc eq.; c.pic: *cis-piceid* content; t.pic: *trans-piceid* content; t.caf: total caffeic acid content; cat: catechin content; epcat: epicatechin content; gcat: catechin-3-gallate content; PB1: procyanidin B1 content; PB2: procyanidin B2 content; PBni: not identified procyanidin content (retention time = 32.85); mDP: mean degree of polymerization; gal: percentage of galloylation; and t.PA: total proanthocyanidins content.

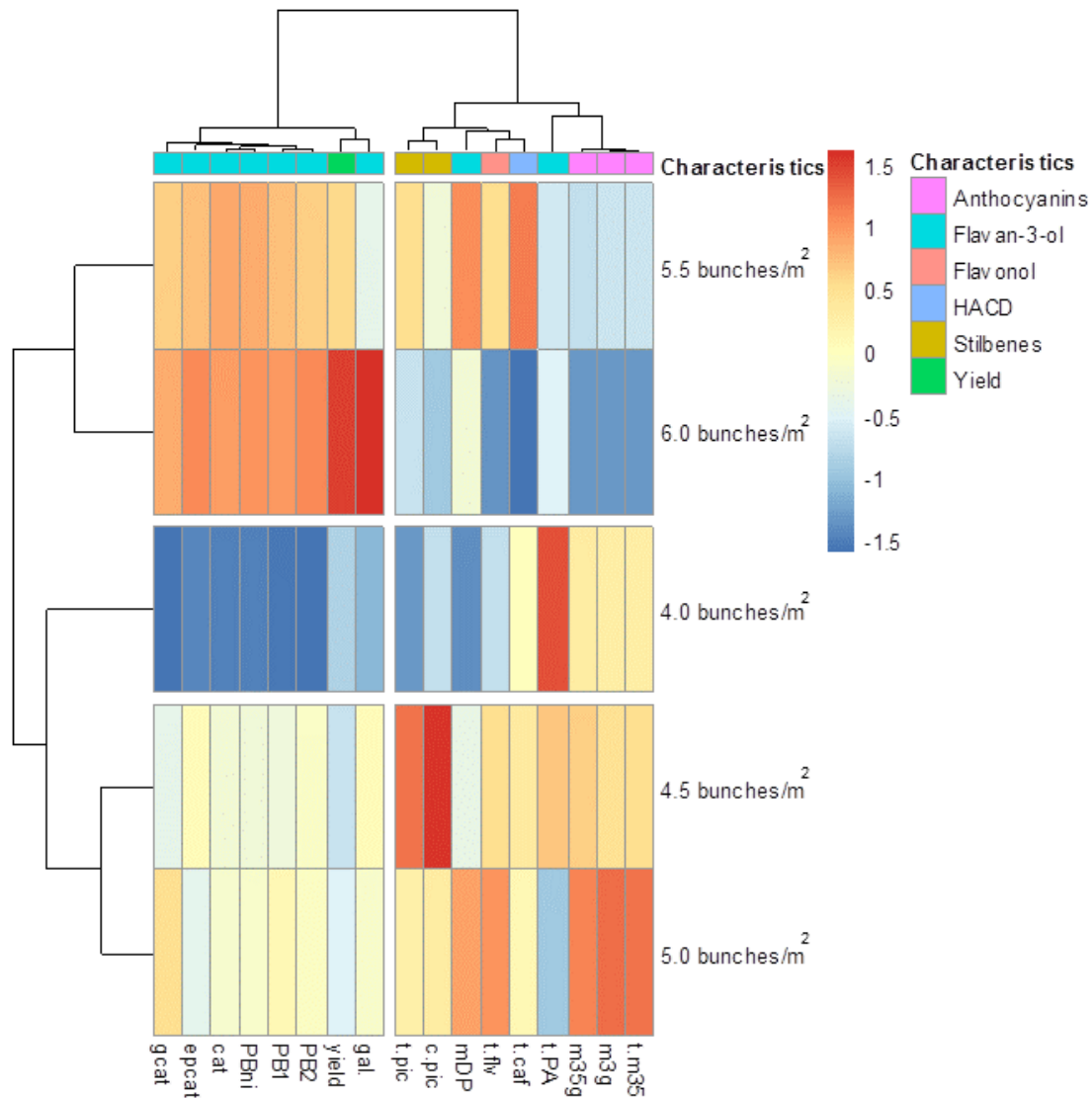
The density of 5.5 bunches per  $\text{m}^2$  formed a single group, related to some compounds classified as flavan-3-ol and *trans-resveratrol-glc*, while the lower bunch density (4.0 clusters per  $\text{m}^2$ ) also formed a single group, which was related to the proanthocyanidins.

The highest bunch density, on the other hand, grouped the main evaluated productivity characteristic (yield), as verified by the regression analysis. The vines yield ( $\text{t ha}^{-1}$ ) was negatively associated with the main evaluated phenolic compounds groups (anthocyanins and flavonols).

The results verified in PCA can be confirmed by the heatmap (Figure 4.4.8), built for the main phenolic compounds classes and yield recorded for 'BRS Vitoria' table grapes under different bunch densities. Anthocyanins are strongly associated with the density of 5.0 bunches per  $\text{m}^2$ , while total proanthocyanidins have a negative association with this bunch density. On the other hand, it was verified a single group formation for the densities of 5.5 and 6.0 bunches per  $\text{m}^2$ , highly associated to flavan-3-ol compounds and yield. Contrasting results were found at the density of 4.0 bunches per  $\text{m}^2$ , which differed from the other two groups.

In Figure 4.4.9, it is also possible to confirm the correlation between yield and the main evaluated phenolic compounds classes for 'BRS Vitoria' table grape. The green lines indicate a positive correlation among the studied characteristics, and the red ones indicate a negative correlation. Yield was negatively correlated to total anthocyanins and anthocyanins 3-glucosides and 3,5-diglucosides series, being these compounds highly correlated with each other. There was also a positive correlation between anthocyanins and total flavonols and total flavonols and stilbenes (*cis*- and *trans*-piceid). In contrast, catechin and its derivatives, as well as

procyanidins correlated positively with each other, and with yield ( $\text{t ha}^{-1}$ ), while the caftaric acid concentration did not correlate with any other compounds and yield of 'BRS Vitoria' table grape.



**Figure 4.4.8.** Heatmap of phenolic compounds, hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) and yield evaluated in 'BRS Vitoria' seedless table grape under different bunch densities. Characteristics: yield ( $\text{t ha}^{-1}$ ); m3g: anthocyanins 3-glucoside serie as malvidin-3-glucoside eq; m35g: anthocyanins 3,5-diglucoside serie as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.m35: total anthocyanins as malvidin-3,5-diglucoside eq; t.flv: total flavonols as Q-3-glc eq.; c.pic: *cis-piceid* content; t.pic: *trans-piceid* content; t.caf: total caftaric acid content; cat: catechin content; epcat: epicatechin content; gcat: catechin-3-gallate content; PB1: procyanidin B1 content; PB2: procyanidin B2 content; PBni: not identified procyanidin content (retention time = 32.85); mDP: mean



#### 4.5 CONCLUSION

The evaluated bunch densities in 'BRS Vitoria' hybrid table grape did not interfere on the berries technological characteristics, such as soluble solids and maturation index at harvest. On the other hand, under the density of 6.0 bunches per m<sup>2</sup>, it was possible to reach the highest yield (25 t ha<sup>-1</sup>), which is quite satisfactory for table grapes. From the HPLC-DAD-ESI-MS/MS chromatographic analyzes, the influence of the evaluated bunch densities on phenolic profile of 'BRS Vitoria' hybrid table grape was verified with greater accuracy. Results found in this study about the main classes of recurrent phenolic compounds in grapes, besides being important for the phenolic characterization of this hybrid table grape cultivar, indicate that under the density of 5.0 bunches per m<sup>2</sup>, the compounds belonging to anthocyanins and flavonols families were present in higher concentrations. In contrast, at the densities of 4.0 and 4.5 bunches per m<sup>2</sup>, there was a reduction in the flavan-3-ol compounds content. With respect to stilbenes, only the *trans-piceid* and its *cis*- isomer were detected, however, their concentrations did not have a significant influence of the evaluated bunch densities. Thus, it can be verified that the approximate density of 5.0 bunches per m<sup>2</sup> tends to the highest soluble solids concentration and is significantly related to the higher phenolic compounds concentrations in 'BRS Vitoria' hybrid seedless table grape.

## 4.5 REFERENCES

ABE, L. T.; MOTA, R. V. da; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

BADERSCHNEIDER, B.; WINTERHALTER, P. Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, p. 2788–2798, 2001.

BORDIGA, M.; TRAVAGLIA, F.; COÏSSON, J. D.; LOCATELLI, M.; ARLORIO, M.; MARTELLI, A. Pyrogallol: A new trapping nucleophile in proanthocyanidins analysis. **XXXII World Congress of Vine and Wine**. OIV. Zagreb (Croatia), 2009.

BORDIGA, M.; COÏSSON, J. D.; LOCATELLI, M.; ARLORIO, M.; TRAVAGLIA, F. Pyrogallol: An alternative trapping agent in proanthocyanidins analysis. **Food Analytical Methods**, v. 6, p. 148–156, 2013.

BUSSE-VALVERDE, N.; GOMEZ-PLAZA, E.; LOPEZ-ROCA, J. M.; GIL-MUÑOZ, R.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, J. I.; BAUTISTA-ORTIN, A. B. Effect of different enological practices on skin and seed proanthocyanidins in three varietal wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 11333–11339, 2010.

CABRITA, M. J.; RICARDO-DA-SILVA, J.; LAUREANO, O. **Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos**. In: I SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA. 2003, Enseada. **Anais...** Ensenada, México, 2003. p. 61-102.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single cultivar wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 3, p. 992-1002, 2007.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ, M. V.; VELDEERS, A. H.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 1, p. 209-219, 2009a.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 17, p. 7883-7891, 2009b.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* white grape cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 23, n. 7, p. 699-705, 2010a.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; WINTERHALTER, P.; WEBER, F.; GÓMEZ, M. V.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Structure elucidation of peonidin 3,7-O- $\beta$ -diglucoside isolated from Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 24, p. 11105-11111, 2010b.

GARRIDO, J.; BORGES, F. Wine and grape polyphenols. A chemical perspective. **Food Research International**, Amsterdam, v. 44, p. 3134-3148, 2011.

GEORGIEV, V.; ANANGA, A.; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, v.6, p.391-415, 2014.

GIL, M.; ESTERUELAS, M.; GONZÁLES, E.; KONTOUDAKIS, N.; JIMÉNES, J.; FORT, F.; CANALS, J. M.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; ZAMORA, F. Effect of two different treatments for reducing grape yield in *Vitis vinifera* cv Syrah on wine composition and quality: Berry thinning versus cluster thinning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Barcelona, v. 61, p. 4968-4978, 2013.

HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E. Flavonol profiles for grape and wine authentication. In:

EBELER, S. E.; TAKEOKA, G. R.; WINTERHALTER, P. (Eds.), **Progress in authentication of food and wine**. Washington, DC: American Chemical Society, ACS Symposium Series, 2011. p. 113-129.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise dos alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

KAROGLAN, M.; OSRECAK, M.; MASLOV, L.; KOZINA, B. Effect of cluster and berry thinning on Merlot and Cabernet Sauvignon wines composition. **Czech Journal of Food Sciences**, Praha, v. 32, n. 5, p. 470-476, 2014.

LAGO-VANZELA, E. S.; DA-SILVA, R.; GOMES, E.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the Brazilian seedless table grape varieties BRS Clara and BRS Morena. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Barcelona, v. 59, p. 8314-8323, 2011a.

LAGO-VANZELA, E. S.; DA-SILVA, R.; GOMES, E.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the edible parts (flesh and skin) of Bordô grape (*Vitis labrusca*) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Barcelona, v. 59, p. 13136-13146, 2011b.

LEÃO, P. C. S. de.; LIMA, M. A. C. Effect of shoot and bunch density on yield and quality of 'Sugraone' and 'Thompson Seedless' table grapes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39, n. 4: (e-828), p. 1-10, 2017.

MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T.; FAJARDO, T. V.; NAVES, R. L.; GIRARDI, C.L. 'BRS Vitória' – a novel seedless table grape cultivar exhibiting special flavor and tolerance to downy mildew (*Plasmopara viticola*). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 14, n. 3, p. 204-206, 2014.

MATTIVI, F.; GUZZON, R.; VRHOVSEK, U.; STEFANINI, M.; VELASCO, R. Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 7692–7702, 2006.

MUÑOZ-ESPADA, A. C.; WOOD, K. V.; BORDELON, B.; WATKINS, B. A. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch Grapes and wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 52, p. 6779-6786, 2004.

NIXDORF, S. L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Brazilian red wines made from the hybrid grape cultivar Isabel: phenolic composition and antioxidant capacity. **Analytica Chimica Acta**, v. 659, p. 208-215, 2010.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenol oxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 111, p. 235–241, 2007.

PASTORE, C.; ZENONI, S.; TORNELLI, G. B.; ALLEGRO, G.; SANTO, S. D. Increasing the source/sink ratio in *Vitis vinifera* (cv. Sangiovese) induces extensive transcriptome reprogramming and modifies berry ripening. **BioMed Central Genomics**, London, v. 12, p. 631-653, 2011.

PRESZLER, T.; SCHMIT, T.; VANDEN HEUVEL, J. A model to establish economically sustainable cluster thinning practices. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 61, n. 1, p. 140-146, 2010.

RASTIJA, V.; SRECNIK, G.; SARIC, M. Polyphenolic composition of Croatian wines with different geographical origins. **Food Chemistry**, Oxford, v. 115, p. 54–60, 2009.

REBELLO, L. P. G.; LAGO-VANZELA, E. S.; BARCIA, M. T.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubra × IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. **Food Research International**, Amsterdam, v. 54, p. 354–366, 2013.

RIBÉREAU-GAYON, P. ; GLORIES, Y. ; MAUJEAN, A. ; DUBOURDIEU, D.. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine. Stabilization and Treatments**. London: John Wiley & Sons, 2006. v. 2. 450p.

ROBERTO, S. R.; BORGES, W. F. S.; COLOMBO, R. C.; KOYAMA, R.; HUSSAIN, I.; SOUZA, R. T. Berry-cluster thinning to prevent bunch compactness of 'BRS Vitória', a new black seedless grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 197, p. 297-303, 2015.

SILVESTRE, J. P.; ROBERTO, S. R.; COLOMBO, R. C.; AZEREDO GONÇALVES, L. S.; KOYAMA, R.; SHAHAB, M.; AHMED, S.; SOUZA, R. T. Bunch sizing of 'BRS Nubia' table grape by inflorescence management, shoot tipping and berry thinning. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 225, p. 764-770, 2017.

TRAVAGLIA, F.; BORDIGA, M.; LOCATELLI, M.; COÏSSON, J. D.; ARLORIO, M. Polymeric proanthocyanidins in skins and seeds of 37 *Vitis vinifera* L. cultivars: A methodological comparative study. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 742–749, 2011.

ZHAO, Q.; DUAN, C.; WANG, J. Anthocyanins profile of grape berries of *Vitis amurensis*, its hybrids and their wines. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 2212-2228, 2010.

WANG, H.; RACE, E. J.; SHRIKHANDE, A. J. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography – mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 1839-1844, 2003.

WINKLER, A. J.; COOK, J. A.; KLIEWER, W. M.; LIDER, L. A. **General viticulture**. California: University of California, 1974. 710 p.

YAMAMOTO, L. Y.; DE ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R.; BOVOLENTA, Y. R.; NIXDORF, S. L.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Application of abscisic acid (S-ABA) to cv. Isabel grapes (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*) for color improvement: Effects on color, phenolic composition and antioxidant capacity of their grape juice. **Food Research International**, Amsterdam, v. 77, p. 572–583, 2015a.

## ANEXOS

**Annex A** – Maximum (T Max) and minimum (T Min) temperatures recorded in Marialva, PR, and main phenological development stages of ‘BRS Vitoria’ seedless table grapes. Out of season and regular crops of 2016.

