

Utilização de um sensor ótico de fluorescência na monitorização da maturação fenólica das uvas em diferentes estados hídricos da videira

A utilização de novos sensores óticos portáteis dedicados à avaliação de diferentes parâmetros da uva é de amplo interesse, pois representam uma ferramenta útil para o acompanhamento da evolução da maturação e de avaliação do impacto de fatores ambientais na sua qualidade.

De entre muitos aspectos considerados para a produção de vinho com qualidade, uma correta avaliação do estado de maturação da uva é de primordial importância. Na viticultura, a definição rigorosa do estado de maturação e consequente decisão do momento da colheita não é tarefa fácil, porque a maturação depende de diferentes fatores como as condições climáticas, as práticas culturais e a geografia. Tradicionalmente, o teor em açúcar e a acidez são os parâmetros mais vulgarmente considerados, a chamada maturação tecnológica, no entanto, e sendo a composição fenólica das uvas de elevada importância do ponto de vista enológico, é cada vez mais tida em consideração na determinação do momento ótimo da vindima e com impacto na qualidade final do vinho.

Atualmente, existe um conjunto de critérios utilizados pelos viticultores para aferir o grau de maturação da uva, que vão desde métodos simples mas subjetivos, como a observação visual dos bagos e grainha, força do desprendimento do

bago, sensações de doçura e acidez na boca, ou métodos rigorosos relacionados com as características físico-químicas das uvas determinados por meio de análises em laboratório, mas que são morosas e implicam equipamentos e reagentes específicos. A ausência de um método universal que forneça um largo espectro de informação útil e que permita o acompanhamento em tempo real dos constituintes de interesse da uva, faz com que se olhe com especial interesse para métodos digitais de análise rápidos, multiparamétricos, não destrutivos e com capacidade de analisar um grande número de amostras, assegurando a representatividade da parcela.

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas metodologias baseadas na fluorescência da clorofila, sensores óticos portáteis, nomeadamente o Multiplex® (Force A, Orsay, França), que surgem como uma ferramenta inovadora e útil, capaz de fornecer informação em larga escala sobre a vinha e capaz de integrar um sistema de suporte à decisão em viticultura e enologia. Tem

enquadramento na realidade atual da digitalização da agricultura e *Big Data* como ferramenta de obtenção de dados e tomada de decisão.

O atual cenário de alterações climáticas (AC) tem particular importância na cultura da vinha, uma vez que as geografias onde tradicionalmente se produz vinho são muito suscetíveis aos efeitos das AC, em Portugal particularmente no interior e no Alentejo, onde se prevê que os efeitos das alterações climáticas sejam mais acentuados. Dado que as temperaturas elevadas, a radiação intensa e a seca são fatores que afetam dramaticamente o metabolismo dos compostos fenólicos, bem como o desenvolvimento da uva, práticas culturais poderão ter de ser otimizadas para modelar a qualidade das uvas e do vinho. No INIAV-Dois Portos decorrem estudos, que se encontram em fase preliminar e que têm como objetivo avaliar o potencial de aplicação do sensor de fluorescência como método de monitorização do grau de maturação fenólica em diferentes castas e regimes hídricos. Os ensaios decorrem no



Figura 1 – Aspetto do Campo Ampelográfico da Herdade do Esporão.

Alentejo, em Reguengos de Monsaraz, no Campo Ampelográfico Experimental da Herdade do Esporão.

A importância da monitorização da maturação fenólica das uvas e do estado hídrico da videira

A composição fenólica está intimamente relacionada com a qualidade das uvas e, consequentemente, do vinho, contribuindo diretamente para as propriedades organoléticas, como a cor e a estrutura dos vinhos. Os compostos fenólicos são um grande grupo de compostos de que fazem parte as antocianinas, as grandes responsáveis pela cor das uvas das castas tintas e que estão implicadas em fenómenos de estabilização da cor, durante o envelhecimento, e são um indicador da maturação fenólica das uvas. As antocianinas foram escolhidas como indicadores da maturação fenólica pela fiabilidade dos métodos para a sua determinação e porque a sua evolução ao longo da maturação é

concomitante com a evolução de outros constituintes fenólicos da uva. Para além disso, diversos fatores ambientais afetam marcadamente a sua cinética de acumulação, pelo que direta ou indiretamente é possível obter informação preditiva sobre a qualidade da uva.

A biossíntese das antocianinas inicia-se um pouco antes do pintor e estas acumulam-se nas primeiras camadas da hipoderme da película. A acumulação dá-se ao longo da maturação e a concentração diminui no final da maturação. A influência da temperatura e radiação e do estado hídrico da videira têm grande impacto nos fenómenos que regulam o metabolismo de síntese e degradação de antocianinas. O stress hídrico moderado desde há muito tempo que é utilizado como uma ferramenta agronómica para aumentar o conteúdo fenólico nas uvas. Défices de água moderados durante a maturação, sem comprometer a atividade fotossintética, promovem uma redução no crescimento vegetativo, resultando numa menor competição com a

acumulação destes compostos durante a maturação da uva. No entanto, o stress hídrico severo e prolongado durante a maturação leva à redução da produção, resultando, entre outros, em alterações na composição da uva com redução da acidez e do potencial aromático, redução da síntese e degradação das antocianinas e maturação fenólica desfasada da alcoólica. Neste contexto, a rápida monitorização destas respostas fisiológicas torna-se necessária para a escolha das práticas de viticultura e técnicas enológicas mais adequadas.

O sensor óptico de fluorescência

No atual contexto da viticultura de precisão, as novas metodologias fornecem ferramentas inovadoras e extremamente úteis na tomada de decisão e otimização de procedimentos. Técnicas como a espectroscopia de refletância, termografia e imagem multiespectral têm sido utilizadas para obter informação sobre o vigor da vinha e sobre o estado hídrico. Mais recentemente, têm sido investigadas técnicas de fluorescência muito direcionadas, no caso da cultura da vinha, para realização de estimativas do estado hídrico e nutricional e da composição fenólica.

O sensor óptico Multiplex® é portátil, rápido e não destrutivo. Foi desenvolvido para se usar diretamente no campo, ou em laboratório, permitindo a análise de grande número de amostras e repetições.

O princípio de funcionamento baseia-se na deteção da fluorescência da clorofila emitida nas bandas espectrais do vermelho e do vermelho-extremo sob a excitação de uma fonte de luz LED nas bandas espectrais do UV e visível (vermelho (R), verde (G), azul (B)). A intensidade da fluorescência emitida pela clorofila depende da quantidade de luz incidente que atinge a clorofila presente nos cloroplastos das células. As antocianinas presentes

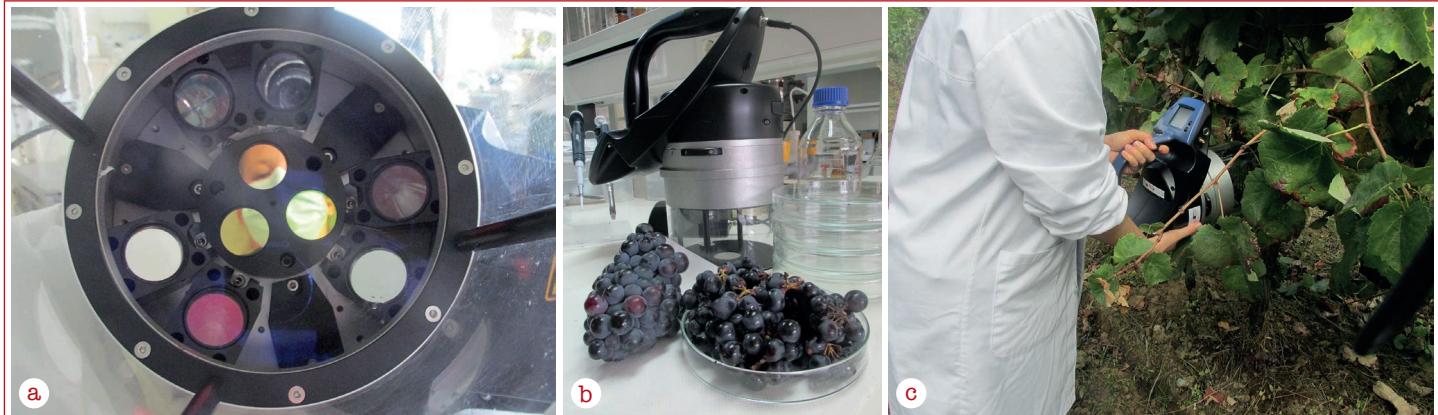


Figura 2 – (a) Aspetto da cabeça ótica do sensor com as fontes LED (3 UV, 3 RGB) e no interior 3 detetores de fotodíodo. **(b)** Sensor Multiplex® e amostras de uvas para medições em laboratório. **(c)** Medições com o sensor *in loco*.

que se encontram em camadas de células superiores exercem um efeito de filtro, atenuando parte da luz incidente antes que esta atinja a clorofila. Este efeito de filtro possui seletividade espectral, devido à elevada absorvância que as antocianinas têm na banda do verde e baixa no vermelho. Devido às características de seletividade, diferentes combinações de fluorescência resultantes das diferentes fontes de luz LED são detetados pelo sensor, podendo-se então estimar o teor em antocianinas. Para além dos sinais brutos da fluorescência, o sensor calcula vários índices e que permitem realizar estimativas sobre conteúdo fenólico, o estado nutricional e a presença de doenças nas plantas. Dois índices são dedicados à estimativa de antocianinas, o ANTH_RG que é dado pela razão entre dois sinais: fluorescência da clorofila na banda do vermelho extremo sob excitação verde e vermelha, e o índice FERARI relacionado com as antocianinas. Vários estudos demonstram a aplicação bem-sucedida dos sensores de fluorescência na monitorização de diferentes parâmetros na uva e na videira, para além do conteúdo fenólico como o estado nutricional em função do teor do azoto e do estado sanitário.

No presente trabalho, relatamos um estudo preliminar que explora quais dos índi-

ces fornecidos pelo Multiplex® (SFR_G, SFR_R, FLAV, FER_RG, ANTH_RG, ANTH_RB, NBI_G, NBI_R, FERARI) são os mais adequados para estimar o conteúdo em antocianinas para as castas em estudo em diferentes condições hídricas, com a perspetiva de se avaliar a potencialidade do sensor para acompanhamento da evolução da maturação.

O objetivo do estudo foi comparar o teor de antocianinas utilizando o sensor de fluorescência (Multiplex®) em diferentes castas e em dois tratamentos: conforto hídrico e sequeiro. O ensaio foi conduzido na região do Alentejo. As castas em estudo são: Vinhão, Touriga Nacional, Aragonez e Castelão. Verificou-se que à maturação os índices indicam uma tendência para valores mais elevados de antocianinas no tratamento em conforto hídrico relativamente ao sequeiro. Os resultados indicam que o sensor de fluorescência constitui uma potencial ferramenta na distinção e comparação do conteúdo de antocianinas entre castas e diferentes tratamentos.

Material e métodos

Material vegetal e tratamentos: o ensaio foi conduzida em 2019 no Campo Ameliorativo da Herdade do Esporão localizado em Reguengos de Monsaraz (Alentejo, Portugal). Dois tratamentos hídricos

foram aplicados: irrigação e sequeiro. As videiras foram plantadas em 2010 e enxertadas em SO₄. As castas utilizadas foram *Vitis vinifera* L., Vinhão, Touriga Nacional, Aragonez e Castelão. Amostras: cachos inteiros foram colhidos e transportados para laboratório para as medições de fluorescência. Os cachos colhidos têm exposição a oeste, foram colhidos de três plantas previamente selecionadas de cada casta e tratamento em maturação completa, antes da vindima.

Sensor fluorimétrico: As medições ópticas foram realizadas pelo sensor fluorimétrico Multiplex® 3.6 (Mx, Force-A, Orsay France).

Análise estatística: PAST software Paleontological statistics software package for education and data analysis.

Resultados e discussão

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada para melhor compreender as relações entre os índices de fluorescência gerados pelo Multiplex®, as uvas e tratamentos considerados. Na componente principal 1 (PC1), 59,93%, as principais contribuições foram do índice FER_RG, que está relacionado com a fluorescência da clorofila, e os índices de ANTH_RG e ANTH_RB, especificamente desenvolvidos para a aferição de

antocianinas. Na componente principal 2 (PC2), 22,67% as principais contribuições foram o SFR_G, que está relacionado com a clorofila, e o índice FERARI, logaritmo de um único sinal de fluorescência na banda vermelho-extremo e que está correlacionado com conteúdo de antocianina na película da uva

Os índices com as maiores contribuições para os resultados foram aqueles relacionados ao teor de antocianinas, o que era esperado, uma vez que as medições ocorrem no final da maturação, antes da vindima. Neste estudo foram observados valores de índices Multiplex® próximos para os dois tratamentos, porém revela-se uma tendência partilhada de valores mais elevados dos índices, ou seja, de maior concentração de antocianinas no tratamento regado. Isso pode ser explicado pelo facto de se dar uma aceleração no processo de maturação causada pelo *stress* hídrico e térmico que levam a que as uvas das videiras em sequeiro atinjam os maiores teores de antocianinas mais cedo e consequentemente também iniciam a sua degradação mais cedo.

Os autores Tucio *et al.* (2011) estudaram a acumulação de antocianinas ao longo da maturação com recurso ao sensor de fluorescência em videiras regadas e em *stress* hídrico, e demonstraram que os índices obtidos para os dois regimes hídricos foram semelhantes no início da maturação e que ao longo da maturação os índices de antocianinas das videiras em *stress* hídrico aumentaram significativamente relativamente às videiras regadas, no entanto essa diferença foi atenuada no final da maturação, pela degradação das antocianinas nas plantas em *stress* hídrico.

Há também a salientar que nas videiras em sequeiro o crescimento vegetativo foi significativamente menor, o que sujeitou os bagos a uma maior exposição à radiação, que quando excessiva influencia negativamente a acumulação de antocianinas.

Tabela 1 – Principais contribuições fatoriais da análise de componentes principais dos 9 índices de fluorescência medidos em cachos de uvas das variedades *Vitis vinifera L.*, Aragonês, Castelão, Touriga Nacional e Vinhão em dois tratamentos, irrigado e sequeiro

	PC 1	PC 2
SFR_G	0,10607	0,46514
SFR_R	0,071774	0,7115
FLAV	0,10318	0,1524
FER_RG	0,56122	0,035655
ANTH_RG	0,56343	0,052752
ANTH_RB	0,42114	-0,31359
NBI_G	0,35825	0,10781
NBI_R	-0,1007	0,21245
FERARI	-0,15714	-0,30828



multifiltration
O seu parceiro em filtração



AMAZON



CARLSON FILTRATION



Parker Filtration



domnick hunter

E-mail: multifiltration@multifiltration.pt

Tel.: (+351) 214 267 660

www.multifiltration.pt

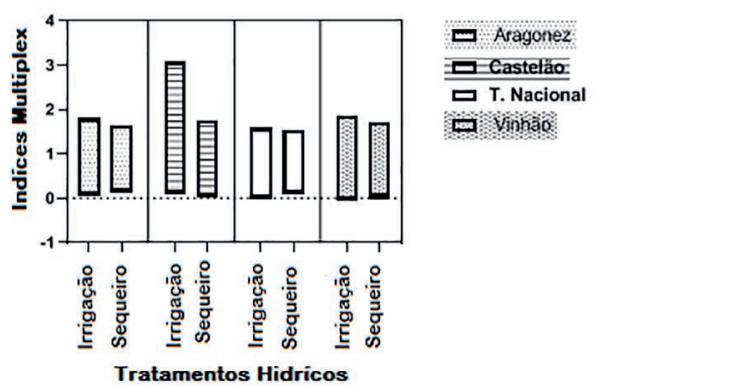


Figura 3 – Frequência acumulada dos índices Multiplex® para as variedades Aragonez, Castelão, Touriga Nacional e Vinhão em diferentes condições de água: irrigação e sequeiro.

Notas finais

O Multiplex® apresenta-se como uma ferramenta inovadora e estes primeiros estudos sugerem que pode ser utilizado para acompanhar evolução da maturação fenólica e discriminar castas em diferentes regimes hídricos.

Neste trabalho são apresentados os resultados preliminares de estudos que têm em vista a caracterização de castas relativamente à composição fenólica.

Para se cumprir este objetivo, e fazer uma avaliação precisa do potencial do sensor e da sua capacidade de prever parâmetros de qualidade da uva e do vinho, são necessários estudos adicionais. Os efeitos da casta, da sazonalidade e de outros fatores de variabilidade têm de ser aferidos para se proceder à correta calibração e validação das metodologias. Neste momento, o INIAV-Dois Portos tem em curso ensaios na Coleção Ampelográfica Nacional (CAN) e no Campo Ampelográfico da Herdade do Esporão (CAHE) que visam estes objetivos e abrangem um largo espectro de variáveis para ser testado.

Se considerarmos que os compostos fenólicos têm uma maior variabilidade do que os parâmetros tecnológicos, este instrumento representa uma ferramenta verdadeiramente útil e inovadora que permite a aquisição de informação e combinação de

estimativas dos diferentes parâmetros de maturação sob monitorização espacial e temporal, permitindo avaliar os efeitos da gestão da vinha e dos fatores ambientais na maturação das uvas.

Para além dos resultados promissores obtidos na vinha, o sensor de fluorescência também pode ser aplicado a outras culturas como o olival. No INIAV-Elvas, onde está estabelecida a Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO), está a ser testada esta técnica com o objetivo de avaliar o seu potencial na caracterização de azeitonas de diferentes variedades e estados de desenvolvimento. Resultados preliminares revelam a adequação desta técnica também ao olival. 

Agradecimentos

WineClimAdapt – Seleção e valorização das castas melhor adaptadas a cenários de alterações climáticas, Grupo Operacional PDR2020-101-031010.

Herdade do Esporão, S.A.

*Patrícia Martins, Ricardo Egipto,
Miguel Damásio, Rocío Arias-Calderón,*

José Silvestre

INIAV, I.P.



Instituto Nacional de
Investigação Agrária e
Veterinária, I.P.

Referências

- Agati, G.; Cerovic, Z.G.; Dalla Marta, A.; Di Stefano, V.; Pinelli, P.; Traversi, M.; Orlandini, S. (2008). Optically-assessed preformed flavonoids and susceptibility of grapevine to *Plasmopara viticola* under different light regimes. *Funct. Plant Biol.*, **35**(1):77-84.
- Agati, G.; D'Onofrio, C.; Ducci, E.; Cuzzola, A.; Remorini, D.; Tuccio, L.; Lazzini, F. and Mattii, G. (2013). Potential of a multiparametric optical sensor for determining in situ the maturity components of red and white *Vitis vinifera* wine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**:12211-12218.
- Arias-Calderon, R.; Arias, S.; Martins, P.; Cordeiro, A.; Silvestre, J. (2020) Validação de um fluorómetro para a caracterização de variedades de oliveira e avaliação do índice de maturação dos frutos com medição não destrutiva: resultados preliminares. *Livro de atas do II Simpósio Ibérico de Engenharia Horticola*, Ponte de Lima, Instituto Politécnico de Viana do Castelo.
- Ben Ghzlen, N.; Cerovic, Z.G.; Germain, C.; Toutain, S. and Latouche, G. (2010) Non destructive optical monitoring of grape maturation by proximal sensing. *Sensors*, **10**:10040–10068.
- Castellarin, D.; Matthews, A.; Di Gaspero, G. and Gambetta, G. (2007). Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta*, **227**:101-112.
- Merzlyak, M.; Melø, T.; Naqvi, K. (2008). Effect of anthocyanins, carotenoids and flavonols on chlorophyll fluorescence excitation spectra in apple fruit: signature analysis, assessment, modelling, and relevance to photo-protection. *Journal of Experimental Botany*, **59**:349-359.
- Tuccio, L.; Remorini, D.; Pinelli, P.; Fierini, E.; Tonutti, P.; Scalabrelli, G. and Agati, G. (2011). Rapid and non-destructive method to assess in the vineyard grape berry anthocyanins under different seasonal and water conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **17**:181-189.