

Influenza del deficit idrico sulla qualità delle uve: aspetti fisiologici e molecolari

Simone Diego Castellarin*, Barbara Bucchetti, Luigi Falginella e Enrico Peterlunger

Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine

Ricezione: 11 maggio 2011; Accettazione: 18 luglio 2011

Impact of water deficit on grape quality: physiological and molecular aspects

Abstract. Grapevine is the most cultivated fruit crop in the world. Its cultivation is devoted to obtain table grapes consumed as fruit, berries to be dried to obtain raisins, and grapes to be transformed in wine. To produce grapes for wine transformation, a recent approach is to manage cultivation to get the best quality. Among environmental factors, water deficit (WD) has been studied by several authors in its capacity to modify quantity and quality of production. In general a moderate WD improves grape quality, while if too severe the deficit impairs maturation and quality. To achieve this improvement, three irrigation strategies have been proposed recently: deficit irrigation (DI), regulated deficit irrigation (RDI), partial root-zone drying (PRD), and all of these have proved to be beneficial in improving grape quality and achieving a better water use efficiency. WD impacts grapevine physiology through several mechanisms: reduction of shoot growth, stomatal closure, photosynthesis reduction, abscisic acid (ABA) synthesis induction in roots and shoots. Photosynthesis is reduced, but initially this is associated with an increase in water use efficiency. Metabolomic and proteomic studies have shown a modification of gene expression and protein abundance/composition under WD: e.g. proline accumulation in leaves underwent a 2- or 3-fold increase, with an activation of both synthesis and degradation genes. In roots, a more intense suberification under WD has been observed, but also a differentiated modification of hydraulic conductivity of roots: some rootstocks increased their conductivity in early WD, while others decreased it, probably as aspects of different adaptive strategies. The reproductive cycle is modified by WD (fig. 1): berry size is reduced, skin : pulp ratio is often increased, primary and secondary metabolisms are modified. Amino acids are increased, sugars are in some cases increased or remains unaffected, titratable acidity is reduced or remain unaffected. Anthocyanin, proanthocyanidin, C13-norisoprenoid, and thiol concentrations are

increased, while terpenes and esters are increased or remain unaltered probably depending on other environmental conditions. Secondary metabolites are crucial for grape and wine quality: under WD conditions some of them may improve their quality, thus benefiting the final product. In red cultivars, anthocyanins are generally increased with a moderate-severe WD; this is resulting from a more intense synthesis supported by an increased expression of genes related with anthocyanin synthesis. Proanthocyanidins (tannins) synthesis are rarely modified by WD, while stilbenes, nutraceutical components of wine, were observed to be more synthesised under water shortage. Genes codifying for wine aromatic compound precursors are induced in WD berries, and this results in wines with more fruity and less vegetal aroma. Therefore a moderate WD may be a very important and powerful tool to get a better grape and wine quality, together with a more rational water use in viticulture.

Key words: gene expression, primary metabolism, secondary metabolism, *Vitis vinifera*, ripening.

Introduzione

L'Italia è il primo produttore mondiale di uva sia per valore della produzione (3.615.312 US\$) che per quantità (8,15 MT) su una superficie adibita a vigneto di 818.000 ha (OIV, statistiche ufficiali aggiornate al 2009, <http://www.oiv.org>). Di questa produzione, il 16,2 % riguarda uva da tavola, l'83,8% riguarda l'uva da trasformare in vino (Castellucci 2010).

Il livello qualitativo delle uve è un fattore centrale nel determinare il valore commerciale delle stesse; per questo negli anni vi è stata un'attenzione sempre crescente nello studiare i fattori determinanti la qualità in vigneto. Nelle uve da vino, che sono l'oggetto di questo lavoro, vi sono diversi aspetti che determinano la qualità, tra questi quelli che definiscono la così detta qualità tecnologica, legata al grado zuccherino, al pH, all'acidità titolabile, e quelli che determinano la qualità organolettica e salustica dei vini, che sono legati alla composizione delle uve in metaboliti

* simone.castellarin@uniud.it

secondari come i polifenoli ed i composti aromatici.

In vigneto diversi fattori ambientali interagiscono con la fisiologia della pianta e influenzano in modo determinante lo sviluppo della stessa, i livelli di produzione e le caratteristiche qualitative delle uve.

Tra questi fattori ambientali la disponibilità idrica è sicuramente uno dei più importanti. La vite è una pianta che bene si adatta agli ambienti caldo aridi. Molti areali di coltivazione della vite sono caratterizzati da limitate precipitazioni stagionali, in alcuni casi vi è disponibilità di irrigare e si ricorre ad interventi irrigui pianificati o di soccorso, in altri casi l'impossibilità di ricorrere a questa pratica, o la scelta agronomica di non ricorrervi, comporta uno sviluppo vegetativo e riproduttivo in condizioni idriche limitanti che noi definiremo *deficit idrico*. Il deficit idrico limita la pianta nel suo sviluppo sia vegetativo che riproduttivo. Per quanto riguarda la maturazione del frutto, condizioni di deficit idrico ne influenzano sia l'accumulo dei metaboliti primari che dei metaboliti secondari e possono influenzare positivamente la qualità dei vini. Per questo in diversi areali viticoli l'irrigazione è proibita come accade per le *Appellation d'Origine Contrôlée* (AOC) francesi e come avveniva in tutta la Spagna fino a non molti anni fa.

L'irrigazione e la sua gestione rimangono comunque uno strumento nelle mani dell'agricoltore per ottimizzare le performance produttive del vigneto. In particolare, l'applicazione di un deficit idrico moderato e controllato permette di produrre uve di maggior qualità, mantenendo una soddisfacente produttività delle piante. D'altra parte un deficit idrico eccessivo porta come conseguenza a maturazioni incomplete con grado zuccherino insufficiente e polifenoli con eccessivo carattere di astringenza e amaro.

La scarsità della risorsa idrica sia per usi agricoli che per usi industriali e urbani ha negli anni recenti spostato l'attenzione verso una gestione moderna e accurata dell'acqua in viticoltura, in modo da massimizzarne l'efficienza d'uso. L'utilizzo delle così dette *deficit irrigation strategies*, che si basano su piani di irrigazione che apportano livelli idrici minori della perdita evapotraspirativa della coltura durante la stagione o durante particolari fasi fenologiche, è divenuto sempre più comune in frutticoltura così come in viticoltura (Fereres e Soriano, 2007). In viticoltura si sono affermate tre strategie: la così detta *deficit irrigation* (DI), la *regulated deficit irrigation* (RDI), e la *partial rootzone drying* (PRD) (Chaves *et al.*, 2010). La DI non richiede particolari accorgimenti e si basa su piani di irrigazione che apportano livelli idrici minori della perdita evapotraspirativa della coltura durante la stagione per ottimizzare l'output economi-

co quando la risorsa idrica è limitante. La RDI prevede di mantenere la pianta ad un predefinito livello di deficit idrico, utilizzando la misura del potenziale idrico fogliare come indicatore del suo stato idrico, durante certe fasi dello sviluppo fenologico. Infine, la PRD è sicuramente la strategia più elaborata. Essa prevede l'esposizione delle radici a cicli di asciutto/bagnato ad ogni irrigazione mantenendo una parte dell'apparato radicale irrigata e l'altra asciutta e turnando la parte dell'apparato radicale in asciutta con quella irrigata. Questa strategia permette di accoppiare i vantaggi del deficit idrico con quelli dell'irrigazione. La parte dell'apparato radicale in asciutta manderà segnali chimici alla parte aerea per indurre il risparmio idrico attraverso la chiusura degli stomi, mentre la parte dell'apparato radicale irrigato permetterà alla pianta condizioni di rifornimento idrico buone per il suo sviluppo con l'obiettivo di migliorare l'efficienza d'uso dell'acqua ($WUE = \text{Water Use Efficiency}$).

Le importanti implicazioni pratiche ed economiche di queste tecniche irrigue hanno portato i ricercatori a compiere molti studi riguardanti l'argomento. I risultati sono stati spesso contraddittori ed hanno evidenziato risposte fisiologiche dissimili tra le varietà e tra i diversi ambienti di coltivazione. Inoltre, molti di questi studi hanno valutato solo la risposta produttiva della pianta al deficit idrico trascurando l'aspetto legato alla qualità delle produzioni, aspetto che nella vitivinicoltura moderna ha assunto rilevanza primaria.

Nello scorso decennio, l'introduzione di nuove tecniche di analisi basate sulla biologia molecolare ha permesso di studiare più in dettaglio la risposta fisiologica e metabolica della vite al deficit idrico. In particolare molto è stato fatto per comprendere l'effetto del deficit sul metabolismo primario e secondario del frutto, visto il forte impatto che questo ha sulla qualità dei vini. Questa *review* ha come obiettivo quello di riassumere e analizzare criticamente i più recenti lavori in materia, focalizzandosi principalmente sull'effetto del deficit idrico sull'accumulo dei metaboliti secondari importanti per la qualità come i polifenoli e i composti volatili che sono in grado di conferire ai vini particolari note aromatiche.

Effetto del deficit idrico sulla fisiologia della pianta

La disponibilità idrica per la pianta dipende dall'apporto di acqua dovuto a piogge e irrigazioni, così come dalle perdite di acqua per percolazione ed evapotraspirazione. Quest'ultima è tanto più elevata quanto più alti sono il livello di radiazione solare, la temperatura dell'aria, la velocità del vento e quanto

più basso è il livello di umidità dell'aria. L'effetto combinato di siccità, alte temperature ambientali e elevata domanda evaporativa (bassa umidità relativa e ventosità) che si registra normalmente durante la stagione estiva in molte regioni viticole, limita lo sviluppo vegeto-riproduttivo della pianta coinvolgendo diversi aspetti della sua fisiologia. Si osserva, infatti, la riduzione della conduttanza stomatica, della traslocazione di linfa xilematica e floematica, della fotosintesi, della crescita in lunghezza dei germogli e della loro area fogliare, così come l'incremento del rapporto radici : germogli (Smart e Coombe, 1983; William e Matthews, 1990; Chaves *et al.*, 2010).

L'inibizione della crescita del germoglio è sicuramente uno dei primi sintomi della riduzione di disponibilità idrica nel terreno e può essere misurata in piante sottoposte a deficit idrico già dopo un giorno dall'applicazione del trattamento (Cramer *et al.*, 2007). Altri sintomi visibili sono la riduzione dell'angolo picciolo-lamina delle foglie, l'accorciamento degli internodi, la necrosi degli apici dei germogli e l'abscissione fogliare che inizia dalle foglie più vecchie e procede verso le regioni più giovani e apicali (Williams e Matthews, 1990).

Dal punto di vista fisiologico uno dei primi meccanismi di reazione della pianta al deficit idrico è la riduzione della conduttanza stomatica (Chaves *et al.*, 2010; Lovisolo *et al.*, 2010) che progredisce con l'acutizzarsi del deficit (Smart e Coombe, 1983). Un altro sintomo associato alla riduzione della disponibilità idrica è il declino del potenziale idrico della foglia e degli altri organi (Williams e Matthews, 1990). Per questo, la misura del potenziale idrico della foglia o del fusto, attraverso la camera a pressione di Scholander, viene usata in pieno campo per analizzare lo stato idrico delle piante ed il livello di deficit a cui esse sono sottoposte. La riduzione del potenziale idrico in risposta al deficit non avviene allo stesso modo tra le diverse varietà. Vi sono infatti varietà che mantengono il potenziale idrico della foglia sopra una certa soglia e abbassano la conduttanza stomatica con il ridursi della disponibilità idrica: queste varietà vengono classificate come isoidriche o "pessimiste". Altre varietà, invece, riducono il proprio potenziale idrico della foglia e non modificano prontamente la conduttanza stomatica anche in presenza di una riduzione della disponibilità idrica: esse sono classificate anisoidriche o "ottimiste". Tuttavia, dettagliati studi a riguardo hanno evidenziato che alcune varietà sembrano comportarsi come isoidriche e anisoidriche a seconda delle condizioni sperimentali o del momento stagionale in cui è applicato il deficit idrico. Per questo una netta e definitiva collocazione delle varietà in

queste categorie appare inappropriata. Per una più esaustiva trattazione della tematica si rimanda il lettore alle *review* pubblicate di recente sull'argomento (Lovisolo *et al.*, 2010; Chaves *et al.*, 2010; Ferrandino *et al.*, 2009).

In generale, il deficit idrico riduce l'attività fotosintetica. Tuttavia, la riduzione che si osserva nella fotosintesi avviene più tardivamente e meno marcatamente rispetto alla riduzione della conduttanza stomatica: questo determina un iniziale aumento della WUE in condizioni di deficit idrico moderato e quindi un risparmio idrico della coltura che viene riscontrato sia considerando diverse varietà che diversi areali di coltivazione (Chaves *et al.*, 2010). Infatti, con deficit debole o moderato l'attività degli enzimi del ciclo di Calvin non viene ridotta e sia il tasso di carbosilazione che il trasporto degli elettroni rimangono ottimali. Quando il deficit diviene severo invece la fotosintesi viene limitata; in questi casi la riduzione dell'attività fotosintetica non è solo dovuta alla limitazione della conduttanza stomatica e quindi della CO₂ disponibile, bensì all'alterazione di diversi processi metabolici: tra questi si osserva la riduzione dell'attività di diversi enzimi del ciclo di Calvin, tra cui la RuBisCo, e dell'efficienza del fotosistema II (Chaves *et al.*, 2010). Recenti studi di metabolomica e proteomica hanno evidenziato che nel germoglio il deficit idrico influenzava il metabolismo cellulare, modificando l'espressione di geni e la composizione in proteine legate al metabolismo cellulare, al trasporto, alla difesa cellulare e alle vie del segnale (Cramer *et al.*, 2007; Vincent *et al.*, 2007). Alcuni geni legati all'attività fotosintetica, di gluconeogenesi e fotorespiratoria venivano, infatti, indotti da situazioni di deficit. Trascritti codificanti per componenti del fotosistema I e II ed enzimi del ciclo di Calvin crescevano di 1-2 volte in viti sottoposte a deficit, così come aumentavano i trascritti coinvolti nelle vie fotorespiratorie, probabilmente per dare una via alternativa al flusso di elettroni, prevenendo così la fotoinibizione e proteggendo i tessuti dalla formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS = *Reactive Oxygen Species*) come ipotizzato da Cramer *et al.*, (2007, 2010). Anche il gene codificante per la RuBisCo-attivasi, un enzima in grado di modulare l'attività fotosintetica, cresceva in risposta al deficit idrico e alla riduzione di conduttanza stomatica. Probabilmente questo incremento serviva alle piante sottoposte a deficit ad aumentare l'efficienza fotosintetica incrementando la quantità di RuBisCo attivata per la fissazione della CO₂, compensando così la riduzione di conduttanza stomatica. Tuttavia, uno studio proteomico parallelo ha evidenziato che all'aumentare dello stress si osservava in realtà un decre-

mento nella quantità di proteine associate all'attività fotosintetica (Vincent *et al.*, 2007). Si evince che la reazione a livello metabolico delle piante sottoposte a deficit non è ancora del tutto chiara: dai dati ad ora disponibili, si può ipotizzare un'induzione della sintesi dei componenti delle vie fotosintetiche per sopperire alla ridotta disponibilità di CO₂ nei tessuti fotosintetizzanti ed un'attivazione dei meccanismi di protezione cellulare quali fotorespirazione e fotoinibizione. Tuttavia, lo studio delle proteine nei tessuti di piante sottoposte a deficit lascia anche ipotizzare meccanismi degradativi delle componenti proteiche degli apparati fotosintetici.

Il deficit idrico induce l'accumulo di diversi metaboliti nel germoglio: molti di questi svolgono il ruolo di osmoliti e composti antiossidanti, proteggendo le cellule dagli stress osmotici e ossidativi indotti dal deficit. L'accumulo di questi metaboliti è regolato da processi trascrizionali e traduzionali specifici (Cramer *et al.*, 2009). Nei tessuti del germoglio di piante sottoposte al deficit si osservava un maggior accumulo di zuccheri, in particolare un maggior accumulo di glucosio e fruttosio, ed un aumento dell'espressione dei geni legati alla sintesi di raffinosa e trealosio. Anche i due principali acidi organici accumulati nei tessuti della foglia, acido tartarico e acido malico, crescevano in concentrazione nei germogli di piante sottoposte a deficit. Nel caso dell'acido malico, il suo maggior accumulo in condizioni di deficit era accoppiato ad una maggior trascrizione di due geni codificanti per alcune malato deidrogenasi. Tra gli amminoacidi, l'accumulo di prolina nelle foglie di viti sottoposte al deficit cresceva di 2 o 3 volte e corrispondeva ad un aumento dell'espressione del gene codificante per la delta-1-pirrolina-5-carbossilato sintetasi (P5CS), l'enzima che catalizza i primi due step della via biosintetica della prolina. Infine, diversi trascritti coinvolti nel metabolismo degli acidi grassi e del ciclo del glicolito crescevano, probabilmente per facilitare la conversione di acetyl-CoA formato dal catabolismo dei lipidi in malato e avviare il processo di gluconeogenesi.

Il deficit idrico provoca delle reazioni fisiologiche anche a livello radicale. Quando le radici percepiscono disponibilità idriche limitanti, attivano diversi meccanismi di risposta che coinvolgono anche le altre parti della pianta. La prima risposta al deficit riguarda l'acidificazione dell'apoplasto con il trasferimento di protoni attraverso il plasmalemma dal citoplasma delle cellule allo spazio della parete. L'acidificazione stimola la sintesi di espansine, proteine coinvolte nell'estensione della parete cellulare, e di altre proteine di parete cellulare chiamate *Proline-Rich Proteins* (PRPs). Queste due classi di proteine influenzano le

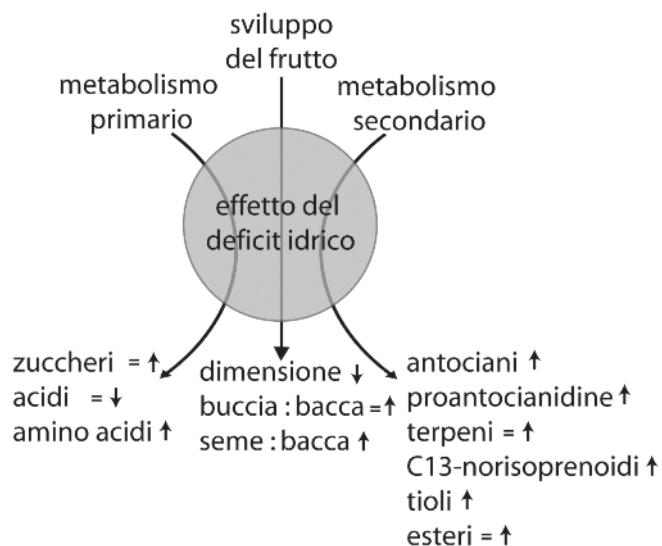


Fig. 1 - Effetto del deficit idrico sulla crescita e sul metabolismo del frutto in *Vitis vinifera*. Significato dei simboli: ↑ aumento dimensionale o di concentrazione, ↓ diminuzione dimensionale o di concentrazione, = dimensioni o concentrazione invariate.

Fig. 1 - Impact of water deficit on fruit growth and metabolism in *Vitis vinifera*. Symbol legend: ↑ increase, ↓ decrease, = no effect on growth or concentration, respectively.

proprietà meccaniche della parete e si ipotizza siano coinvolte nel processo di formazione di nuove radici che si osserva in piante sottoposte a deficit (Peterlunger *et al.*, 1990b). Nelle radici si osserva anche un processo di suberificazione delle pareti cellulari a livello dell'endoderma e dell'esoderma che viene associato alla riduzione della conducibilità idrica osservata in condizioni di deficit (Vandeleur *et al.*, 2009); tuttavia questa risposta non è generale e si è osservato che la conducibilità idrica radicale di portinnesti di vite nelle prime fasi di carenza idrica può aumentare o diminuire in dipendenza di diversi genotipi, presumibilmente come espressione di diverse strategie di adattamento alla carenza medesima (Peterlunger *et al.*, 1990a).

Infine, negli stessi tessuti il deficit stimola anche l'espressione dei geni codificanti per le acquaporine, proteine coinvolte nella regolazione del movimento radiale dell'acqua attraverso le radici. Tuttavia, comparando due diverse varietà, Chardonnay e Grenache, l'induzione della sintesi di acquaporine in caso di deficit avveniva solo in Chardonnay e non in Grenache; questo corrispondeva alla maggior permeabilità delle membrane cellulari all'acqua nelle viti di Chardonnay rispetto a Grenache in condizioni di deficit (Vandeleur *et al.*, 2009).

La variazione nella conduttanza idraulica lungo la pianta è uno dei principali segnali inviati dalle radici all'apparato aereo. La conduttanza idraulica, infatti, decresce in situazioni di deficit idrico sia nelle radici

che nei germogli (Lovisolo *et al.*, 2010). Tale riduzione è dovuta a diversi fattori che possono coinvolgere lo sviluppo dei vasi xilematici, l'attività delle acquaporine e l'insorgere di fenomeni cavitativi indotti da stress lungo i vasi (Lovisolo *et al.*, 2010).

Quello della cavitazione è uno dei processi più eclatanti a livello fisiologico. Quando il deficit diviene severo, le colonne d'acqua presenti nei vasi, sottoposte a forte depressione, possono essere interrotte dalla formazione istantanea di bolle di vapore acqueo e aria, emboli che riducono drasticamente la conduttanza idrica all'interno di quei vasi. Tale fenomeno, che avviene più frequentemente nelle radici che nei germogli, non è irreversibile e se la disponibilità idrica viene ripristinata le viti sono in grado di riparare gli embolismi ristabilendo in parte la conducibilità idrica del vaso cavitato (Chaves *et al.*, 2010, Lovisolo *et al.*, 2010).

Effetto del deficit idrico sulla crescita del frutto

Il deficit idrico influenza la produzione sia in termini quantitativi che in termini qualitativi. L'effetto del deficit sullo sviluppo del frutto e sulla sua composizione varia a seconda del periodo di imposizione del deficit. In vite, la curva di crescita del frutto, che definisce una doppia sigmoide, è divisa in tre fasi principali. La prima fase (fase I), caratterizzata da una crescita esponenziale del frutto, vede realizzarsi fenomeni sia di divisione che di distensione cellulare. La seconda fase (fase II), più breve, è una fase di forte rallentamento o non crescita in cui si osserva la transizione del frutto da organo verde a frutto in maturazione: questo momento è chiamato dai viticoltori *invaia-tura*. In questa fase il frutto cessa di essere un organo fotosintetizzante e diviene un organo di accumulo di zuccheri ed altri metaboliti importanti nel determinarne la qualità alla raccolta. L'ultima fase di crescita (fase III) è dovuta solo a distensione cellulare e identifica quella che è anche chiamata *maturazione*.

Il deficit idrico riduce la dimensione del frutto (fig. 2 A); diversi autori hanno evidenziato che l'effetto sulla crescita del frutto è maggiore se il deficit viene imposto nella fase I (Hardie e Considine, 1976; Matthews *et al.*, 1987; McCarthy, 1997; Ojeda *et al.*, 2002), altri non hanno evidenziato tale fenomeno, dimostrando che la crescita del frutto veniva ridotta maggiormente se il deficit era imposto in fase III (Castellarin *et al.*, 2007a; Ollé *et al.*, 2011). Il deficit idrico imposto in fase I può potenzialmente ridurre la dimensione del frutto sia limitando la divisione che la distensione cellulare, mentre se applicato in fase II e III, può ridurre solo la distensione cellulare; tuttavia,

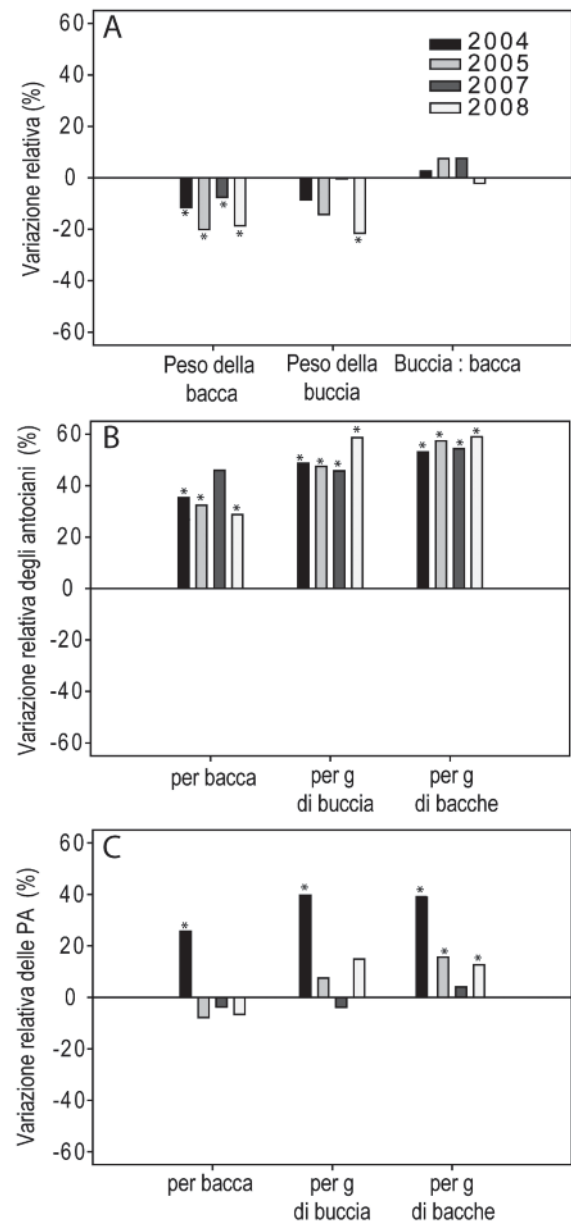


Fig. 2 - Effetto del deficit idrico sul peso della bacca, della buccia e sul rapporto di peso buccia : bacca (A); sugli antociani totali espressi per bacca, per g buccia, e per g di bacche (B); sulle proantocianidine (PA) della buccia espressi per bacca, per g buccia, e per g di bacche (C). I dati, estrapolati da Bucchetti *et al.* (2011) si riferiscono a viti della varietà Merlot nelle annate 2004, 2005, 2007, 2008. Variazioni percentuali positive indicano un effetto positivo del deficit idrico rispetto al controllo, mentre variazioni percentuali negative indicano un effetto negativo del deficit idrico. Gli asterischi identificano differenze significative con $P \leq 0,05$.

Fig. 2 - Impact of water deficit on berry weight, skin weight, and relative skin : berry weight (A); on anthocyanin expressed per berry, per g of skin, and per g of berry (B); on skin proanthocyanidins (PA) expressed per berry, per g of skin, and per g of berry (C). Data are reported from Bucchetti *et al.* (2011) and refer to Merlot grapes harvested in 2004, 2005, 2007, and 2008. Positive relative variations identify an increase of the considered factor in WD berries and negative relative variations identify a decrease of the considered factor in WD berries. Asterisks indicate significant differences for $P \leq 0.05$.

gli studi di Ojeda *et al.* (2002) hanno dimostrato che nella varietà Shiraz il deficit idrico non influenza la divisione cellulare indipendentemente dal momento in cui il deficit era imposto.

La riduzione delle dimensioni della bacca si ripercuote alla raccolta in una riduzione della produttività della pianta (Williams e Matthews, 1990) e la riduzione della produttività è maggiore se lo stress viene applicato in pre-invaiaura rispetto che in post-invaiaura (Hardie e Considine, 1976; Matthews e Anderson, 1989). Inoltre, l'applicazione del deficit può influenzare anche la produttività delle piante nelle stagioni successive (Matthews e Anderson, 1989); gli autori hanno rilevato che nell'annata successiva all'applicazione del deficit il numero di grappoli per pianta era minore nelle viti sottoposte a deficit rispetto al controllo, con un effetto maggiore nel caso di deficit applicati in pre-invaiaura, probabilmente per un'influenza più marcata sul processo di differenziazione a fiore delle gemme e sulla loro fertilità potenziale e reale.

La bacca si compone di tre principali tessuti: la buccia (esocarpo), la polpa (mesocarpo) ed il seme. Il deficit idrico modifica i rapporti relativi tra i diversi tessuti del frutto. Roby e Matthews (2004) dimostrarono che il deficit idrico applicato dall'invaiaura alla raccolta aumentava rispetto al controllo la quantità relativa di seme (+20-25%) e buccia (+20%) a scapito di quella della polpa. Tale effetto ha ricadute importanti nella determinazione della qualità delle uve da trasformare in vino. Infatti, molti metaboliti secondari sono sintetizzati solo nella buccia e nel seme, organi poveri di acqua che durante la macerazione delle uve a bacca rossa apportano ai mosti principalmente soluti. I tessuti della polpa, invece, ricchi in acqua, vanno a determinare la gran parte della soluzione acquosa dei mosti nella quale i metaboliti secondari di buccia e seme sono disciolti durante la macerazione. Per questo, l'aumento dei rapporti relativi "buccia:bacca" e "semi:bacca" osservati in caso di deficit idrico, può determinare nei mosti l'aumento della concentrazione dei metaboliti secondari estratti dalle bucce e dei semi. Non sempre il deficit idrico influenza positivamente tali rapporti; sia considerando la stessa varietà analizzata da Roby e Matthews (2004), Cabernet Sauvignon, che la varietà Merlot (fig. 2A), altri autori non hanno rilevato un effetto significativo del deficit sui rapporti sopra citati (Kondouras *et al.*, 2009, Bucchetti *et al.*, 2011).

Effetto del deficit idrico sul metabolismo del frutto

Il deficit idrico influenza sia il metabolismo prima-

rio che secondario del frutto (Deluc *et al.*, 2009; Grimplet *et al.*, 2009). Entrambi questi aspetti sono importanti per i viticoltori in quanto i metaboliti primari e secondari influenzano in modo rilevante la qualità delle uve da trasformare in vino. L'effetto del deficit su queste componenti diviene quindi un fattore fondamentale per la gestione della qualità delle uve in vigneto, anche in relazione ad un determinato obiettivo enologico. Nonostante negli scorsi decenni siano stati condotti numerosi studi sull'argomento, non sempre i risultati sono stati concordi, evidenziando un'interazione genotipo-ambiente che sottende una risposta fisiologica e metabolica al deficit diversa tra le varietà.

I tre tessuti della bacca sopra descritti differiscono fra loro in struttura e composizione. In particolare, nella buccia si accumulano principalmente zuccheri, acidi organici, amminoacidi e metaboliti secondari come sostanze fenoliche e composti volatili, nella polpa si accumulano zuccheri, acidi organici, amminoacidi e alcuni composti volatili, nel seme si accumulano principalmente sostanze fenoliche (oltre a lipidi di riserva nell'endosperma che però non interagiscono con i processi di vinificazione) (Lund e Bohlmann, 2006; Conde *et al.*, 2007). Recenti lavori hanno descritto dal punto di vista metabolico questi tre tessuti caratterizzandone il profilo dei trascritti, delle proteine e dei metaboliti. Questi studi hanno evidenziato differenze significative tra i tre metabolismi, soprattutto tra quello del seme e quello di buccia e polpa (Grimplet *et al.*, 2007 e 2009; Deluc *et al.*, 2007). Il deficit idrico modifica i processi fisiologici e metabolici dei tre tessuti in maniera differenziale: ad esempio, analizzando il profilo delle proteine alla raccolta, Grimplet *et al.* (2009) evidenziarono che il deficit influenzava l'accumulo di 31 proteine nella buccia, 28 nella polpa, e solo 6 nel seme. Nei seguenti paragrafi verrà analizzato nel particolare l'effetto del deficit sul metabolismo primario e secondario del frutto, considerando, quando possibile, le differenze di comportamento riscontrate tra i tessuti.

Effetto del deficit idrico sul metabolismo primario del frutto

Zuccheri, acidi organici ed amminoacidi sono i principali metaboliti primari accumulati nel frutto.

Il grado zuccherino del frutto determina il livello alcolico del vino da esso derivato. I due principali zuccheri della bacca sono glucosio e fruttosio, che si accumulano in modo massivo dall'invaiaura in poi, quando inizia la traslocazione via floema del saccarosio dalle foglie al grappolo. Il saccarosio subisce all'ingresso nel frutto l'azione dell'invertasi che lo

idrolizza nei suoi due componenti, appunto glucosio e fruttosio (Conde *et al.*, 2007). La concentrazione di saccarosio nel frutto rimane dunque molto bassa, tuttavia si è visto che nel seme questo zucchero viene accumulato in misura maggiore rispetto a glucosio e fruttosio (Grimplet *et al.*, 2009). Altri zuccheri che si accumulano nei tessuti della bacca sono il gluconato, più abbondante nella buccia che negli altri due tessuti, ed il trealosio, che si accumula principalmente nella buccia e nel seme e la cui funzione biologica non è ancora nota nonostante gli sia attribuita un'azione osmoprotettrice ed un contributo nella struttura della parete cellulare, nella divisione cellulare, nella glicolisi e nell'accumulo di amido (Grimplet *et al.*, 2009).

Anche se da alcuni lavori emergono differenze significative tra uve prodotte da viti sottoposte a deficit e uve prodotte da viti irrigate, i risultati dei diversi studi effettuati sono spesso contrastanti. In Pinot nero e in Bobal si osservava un incremento significativo della concentrazione di zuccheri solo se le piante venivano sottoposte a deficit severi durante tutte le fasi di sviluppo riproduttivo (Salon *et al.*, 2005; Girona *et al.*, 2006). In Cabernet Franc gli studi di Hardie e Considine (1976) hanno mostrato che se il deficit veniva applicato in fasi precoci, cioè in pre-invaiaura, la concentrazione degli zuccheri nel mosto non veniva influenzata rispetto al controllo irrigato, mentre se il deficit veniva imposto a cavallo o dopo l'invaiaura, la concentrazione diminuiva. Un comportamento simile della stessa varietà è stato riportato da Matthews e Anderson (1989). Studi condotti su altre varietà hanno fornito risultati contrapposti. In Cabernet Sauvignon il deficit idrico incrementava la concentrazione degli zuccheri sia che venisse imposto in pre- che in post-invaiaura (Castellarin *et al.*, 2007a; Deluc *et al.*, 2009), tuttavia l'effetto era maggiore in quest'ultimo caso (Castellarin *et al.*, 2007a). Nella cultivar Chardonnay, invece, il deficit idrico imposto durante tutte le fasi di sviluppo riproduttivo non modificava la concentrazione zuccherina rispetto ai controlli irrigati (Deluc *et al.*, 2009). Infine, in un nostro recente studio, l'effetto del deficit idrico applicato dall'invaiaura alla raccolta è stato valutato in Merlot (Bucchetti *et al.*, 2011): da questo lavoro, così come da altri condotti sulla stessa varietà (Sivilotti *et al.*, 2005; Bowen *et al.*, 2011), è emerso che non vi era un effetto significativo del deficit sulla concentrazione in zuccheri delle uve alla raccolta.

Va ricordato che i dati del contenuto degli zuccheri nel frutto sono riportati in termini di concentrazione e non in termini di contenuto per bacca. Infatti, come si evince chiaramente dal lavoro di Matthews e Anderson (1989), esprimendo l'accumulo di zuccheri

come quantitativo di zuccheri per bacca, emerge che questo è significativamente superiore nelle bacche di piante irrigate, in accordo con la maggior attività fotosintetica osservata in queste piante (Chaves *et al.*, 2010; Sivilotti *et al.*, 2005). Il limite all'attività fotosintetica imposto dallo stress severo determina probabilmente una minor produzione e traslocazione degli zuccheri: tuttavia la minor dimensione della bacca nelle piante sottoposte a deficit promuove la concentrazione di questi zuccheri, determinando concentrazioni uguali o superiori che nelle piante irrigate.

Per meglio comprendere questo fenomeno, Cramer *et al.* (2007) e Deluc *et al.* (2009) studiarono l'effetto del deficit idrico sul metabolismo primario del germoglio e del frutto. Sopra abbiamo già descritto come il deficit influenza l'attività fotosintetica e l'espressione dei geni ad essa legati nel germoglio. Per quanto riguarda il frutto, si è visto che prima dell'invaiaura le vie metaboliche legate alla fotosintesi sono attive (Grimplet *et al.*, 2007). Nei frutti di piante di Chardonnay sottoposte a deficit idrico si osservava un'induzione dei geni legati ai processi di fotoinibizione (Deluc *et al.*, 2009). In pre-invaiaura il deficit idrico aumentava la concentrazione di clorofilla nei tessuti del frutto, ma questo effetto non rimaneva significativo in post-invaiaura. Alcuni geni legati alla presenza di clorofilla dei tessuti venivano repressi in post-invaiaura sia nelle piante stressate che non stressate. Questo era in linea con il blocco della fotosintesi nei tessuti del frutto osservato in questa fase fenologica; tuttavia, l'espressione di altri geni legati ai processi fotosintetici e glicolitici veniva promossa dal deficit anche dopo l'invaiaura; tra questi geni vi sono quelli che codificano per la proteina D2 del fotosistema II, la fosforibulosio chinasi, la gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi e la fruttosio bifosfato aldolasi (Deluc *et al.*, 2009). Gli stessi autori ipotizzarono che l'attivazione di queste vie della fotosintesi e della glicolisi fosse legata ad una risposta della pianta ai processi di fotoinibizione causati dal deficit idrico. È interessante notare che gli effetti sopra riportati per la varietà Chardonnay non si manifestavano nel frutto di piante di Cabernet Sauvignon sottoposte allo stesso trattamento (Deluc *et al.*, 2009). Nella polpa delle bacche di Cabernet Sauvignon, invece, la proteina UDP-glucosio pirofosforilasi, che partecipa alla biosintesi di carboidrati e cellulosa negli organi di accumulo era presente in quantità minore nelle viti sottoposte a deficit rispetto alle irrigate e a questo corrispondeva anche un minor accumulo di saccarosio nei tessuti (Grimplet *et al.*, 2009).

Gli acidi organici sono dopo gli zuccheri i metaboliti primari più abbondanti del frutto. Anche questi

composti hanno un notevole impatto sulle caratteristiche organolettiche del frutto e dei vini. Inoltre, contribuiscono in maniera significativa a determinare il pH che a sua volta influenza la stabilità dei vini e la tonalità del colore soprattutto nei rossi. I due principali acidi del frutto sono acido tartarico e acido malico, seguiti da acido citrico, succinico, lattico e acetico (Conde *et al.*, 2007). Gli acidi organici si accumulano nella fase che precede l'invasatura, mentre in post-invasatura la crescita del frutto e la degradazione dell'acido malico riducono progressivamente la loro concentrazione. I risultati ottenuti da vari autori circa il loro accumulo nel frutto in rapporto al deficit idrico non sono univoci. Hardie e Conside (1976) riportarono effetti diversi del deficit sulla concentrazione degli acidi organici in Cabernet Franc in relazione al periodo di applicazione dello stesso: in particolare la concentrazione di acidi organici aumentava quando il deficit era imposto a cavallo dell'invasatura, mentre rimaneva invariata rispetto ai controlli irrigati se il deficit veniva applicato in una fase più precoce o più tardiva. Esteban *et al.* (1999) e Pedreira dos Santos *et al.* (2007) mostrarono che, in Tempranillo e Moscatel, il deficit idrico applicato durante lo sviluppo riproduttivo diminuiva la concentrazione di acidi organici nel frutto. Altri autori evidenziarono, invece, che il deficit applicato in pre-invasatura, in post-invasatura o durante tutte le fasi di sviluppo del frutto, non influenzava la concentrazione degli acidi, anche se riduceva il contenuto per bacca di questi composti (Matthews e Anderson, 1988; Sivilotti *et al.*, 2005; Bucchetti *et al.*, 2011). I risultati a disposizione rivelano, inoltre, la presenza di interazione tra diversi fattori tra cui, in particolare, l'interazione *genotipo x trattamento irriguo*. A dimostrazione di ciò, Deluc *et al.* (2009) confrontando due genotipi hanno dimostrato che la risposta al deficit di Chardonnay è diversa da quella di Cabernet Sauvignon. La concentrazione degli acidi era minore nelle uve di Chardonnay prodotte da piante sottoposte a deficit rispetto a quelle del controllo, mentre in Cabernet Sauvignon non si evidenziavano differenze significative tra i trattamenti. Il supporto di ulteriori studi, accoppiati ad indagini molecolari sull'espressione dei geni legati alla sintesi dei principali acidi organici, potrebbe aiutare nella comprensione dei meccanismi attraverso i quali il deficit influenza l'accumulo e la concentrazione degli acidi organici nel frutto: se cioè le differenze indotte dai trattamenti irrigui, quando osservate, siano dovute ad un effetto del deficit sulla sintesi degli acidi organici o sui fenomeni degradativi che si osservano a discapito dell'acido malico durante le fasi di maturazione del frutto. Inoltre, l'effetto del deficit sulla degradazione dell'a-

cido malico potrebbe essere un effetto indiretto del cambiamento delle condizioni microclimatiche del grappolo. Viti sottoposte a deficit riducono la propria vigoria e promuovono l'abscissione delle foglie basali del germoglio, favorendo l'esposizione del grappolo alla radiazione solare (Castellarin *et al.*, 2007b) e, di conseguenza, l'aumento della temperatura dell'acino. Temperature dell'acino più elevate favorirebbero la degradazione dell'acido malico (Conde *et al.*, 2007) e quindi la riduzione della concentrazione degli acidi organici come osservato in alcuni degli studi sopra citati.

Gli amminoacidi sono per quantità la terza classe di metaboliti primari accumulati nel frutto. Nei mosti si possono trovare a concentrazione variabile (300-500 mg/l); essi sono una delle fonti principali di azoto per i lieviti durante la fermentazione (Conde *et al.*, 2007). La prolina è sicuramente l'amminoacido più presente nel frutto e viene accumulata a partire dall'invasatura (Deluc *et al.* 2009). Matthews e Anderson (1989) riportarono che viti di Cabernet Franc sottoposte a deficit in pre-invasatura, in post-invasatura o durante tutto lo sviluppo riproduttivo aumentavano la concentrazione della prolina nel frutto. Allo stesso modo, anche in Cabernet Sauvignon si osservava un incremento significativo della concentrazione di prolina nel frutto delle piante sottoposte a deficit ma non in Chardonnay (Deluc *et al.*, 2009). L'analisi dei trascritti evidenziava che nelle bacche di viti sottoposte a deficit, l'espressione dei geni coinvolti nel metabolismo della maggior parte degli amminoacidi era significativamente più elevata. In particolare, alcuni geni codificanti per enzimi coinvolti nel metabolismo del glutammato erano maggiormente espressi nelle uve di viti di Cabernet Sauvignon sottoposte a deficit idrico (Deluc *et al.*, 2009).

Effetto del deficit idrico sull'accumulo dei polifenoli

Tra i metaboliti secondari del frutto, i polifenoli sono i composti che più determinano la qualità dei vini rossi sia dal punto di vista organolettico che salutistico; ma anche nei vini bianchi hanno un ruolo di primo piano. Nel frutto di vite si accumula un vasto spettro di composti polifenolici che variano in relazione alla cultivar. Le principali classi di composti polifenolici dell'uva sono: gli stilbeni, i flavonoli, gli antociani, le catechine e le loro forme polimeriche dette proantocianidine (Castellarin *et al.*, 2011). Ciascuna di queste classi ricopre una propria funzione biologica nel frutto e contribuisce in modo diverso alla determinazione della qualità dei vini. I polifenoli sono accumulati principalmente nei tessuti del seme e della buccia: la polpa, invece, è un tessuto che contri-

buisce poco all'accumulo di questi composti, se non nelle varietà così dette *tintorie*, dove viene attivata la sintesi degli antociani anche in questo tessuto.

Il deficit idrico influenza in modo significativo l'accumulo dei polifenoli del frutto; gli antociani in particolare sono quelli che hanno mostrato più sensibilità al deficit. Nella gran parte delle varietà a bacca rossa gli antociani si accumulano solo nei tessuti della buccia, da dove vengono estratti durante i processi fermentativi conferendo la colorazione tipica ai vini rossi. Molti lavori hanno evidenziato che mosti e vini ottenuti da uve di piante sottoposte a deficit mostravano colorazioni più intense e questo veniva attribuito ad un maggior rapporto "peso buccia / peso bacca". Tuttavia, su questo effetto finale nel vino esiste un'importante influenza dell'estraibilità di antociani e polifenoli che in risposta al deficit può venire ridotta (Peterlunger *et al.*, 2002); dunque è necessario adattare la tecnica enologica a tali uve per ottimizzarne la potenzialità qualitativa. In Cabernet Franc sottoposto a deficit pre- e post-invaiaatura aumentava l'accumulo degli antociani nella buccia e l'effetto del deficit era maggiore quando il deficit veniva imposto prima dell'invaiaatura (Matthews e Anderson, 1989; Koundouras *et al.*, 2009). Altri studi, invece, hanno mostrato che l'effetto del deficit era maggiore se applicato in post-invaiaatura (Castellarin *et al.*, 2007; Ollé *et al.*, 2011); mentre Hardie e Considine (1976) e Esteban *et al.* (2001) hanno riportato un effetto nullo o negativo del deficit sull'accumulo di antociani sia in Cabernet Franc che in Tempranillo. Queste incongruenze tra gli studi lasciano ipotizzare un effetto di interazione di altri fattori ambientali presenti in vigneto con la disponibilità idrica del terreno nell'influenzare la sintesi e l'accumulo degli antociani nella bacca. In uno studio effettuato dal nostro gruppo di ricerca, l'effetto del deficit idrico sulla qualità della bacca in Merlot è stato valutato per quattro annate (Bucchetti *et al.*, 2011). La ricerca ha evidenziato che l'effetto positivo del deficit sulla concentrazione degli antociani veniva mantenuto negli anni (fig. 2B), ma l'intensità dell'effetto cambiava tra le annate, probabilmente in relazione alla severità del deficit, al momento di applicazione o all'interazione con altri fattori ambientali presenti in vigneto.

Roby e Matthews (2004) e Roby *et al.* (2004), come riportato in precedenza, dimostrarono che in piante stressate vi è un incremento in termini relativi della massa di buccia, e che questo era uno dei fattori che determinava l'aumento di concentrazione di antociani nelle bacche stressate. Gli autori ipotizzarono anche un effetto diretto del deficit sulla sintesi di questi composti nella buccia. In anni più recenti, diversi

studi hanno cercato di analizzare più in profondità l'effetto del deficit sulla biosintesi degli antociani, così come di altri composti polifenolici, sfruttando le tecniche di analisi di espressione dei geni coinvolti nella via biosintetica che porta all'accumulo di questi composti (Castellarin *et al.*, 2007a, b; Deluc *et al.*, 2009). Questi studi hanno dimostrato che sia in Cabernet Sauvignon che in Merlot il deficit incrementava la sintesi di antociani per bacca attraverso l'aumento della trascrizione di diversi geni sia strutturali che regolatori della via biosintetica degli antociani (fig. 3 A, B, C). Tra questi geni, ricordiamo quelli codificanti per il fattore di trascrizione VvMYBA che attiva la sintesi di antociani nella buccia ed il gene codificante per l'enzima UDP-glucosio:flavonoide glucosil transferasi (UFGT), che catalizza il legame delle antocianidine, composti instabili, con il glucosio, permettendo così l'accumulo di antociani nel vacuolo delle cellule della buccia (Castellarin *et al.*, 2011).

Il deficit non solo influenza l'accumulo di antociani nel frutto, ma ne modifica anche la composizione. Generalmente in *Vitis vinifera*, vengono accumulati 15-20 antociani (Mattivi *et al.*, 2006). Questi composti differiscono per il numero ed il tipo di sostituenti legati ad uno degli anelli aromatici che compongono la struttura tipo degli antociani, così come per la presenza e il tipo di sostituente legato al glucosio dell'antociano. Il rapporto relativo tra le diverse forme di antociani sintetizzati è peculiare di ciascuna varietà e varia in misura limitata in relazione a fattori extravarietali. Castellarin *et al.* (2007a, b) e Ollé *et al.* (2011) hanno dimostrato che in Cabernet Sauvignon, Merlot e Shiraz, il deficit oltre ad indurre l'accumulo degli antociani ne modifica anche le proporzioni relative. In particolare, favorisce l'accumulo di antociani con tre sostituenti all'anello B (fig. 3 D) e con un livello di metilazione superiore. Il deficit idrico, infatti, induce l'espressione dei geni strutturali codificanti per le flavonoide-3',5'-idrossilasi, che promuovono l'idrossilazione in posizione 3' e 5' dell'anello aromatico B dei precursori degli antociani e che determinano la sintesi dei composti tri-sostituiti (fig. 3 F) (Castellarin *et al.*, 2007 a, b; Deluc *et al.*, 2009). Si comporta allo stesso modo anche un gene che codifica per una O-metiltransferasi (OMT) che promuove la metilazione degli antociani a livello dell'anello aromatico B (Castellarin *et al.*, 2007 b). Non sono ancora stati effettuati studi *ad hoc* sull'argomento, tuttavia la modifica del profilo degli antociani presenta un interesse notevole poiché può avere delle ricadute importanti anche sulla qualità organolettica dei vini derivati. Infatti, gli antociani con un livello di sostituzione

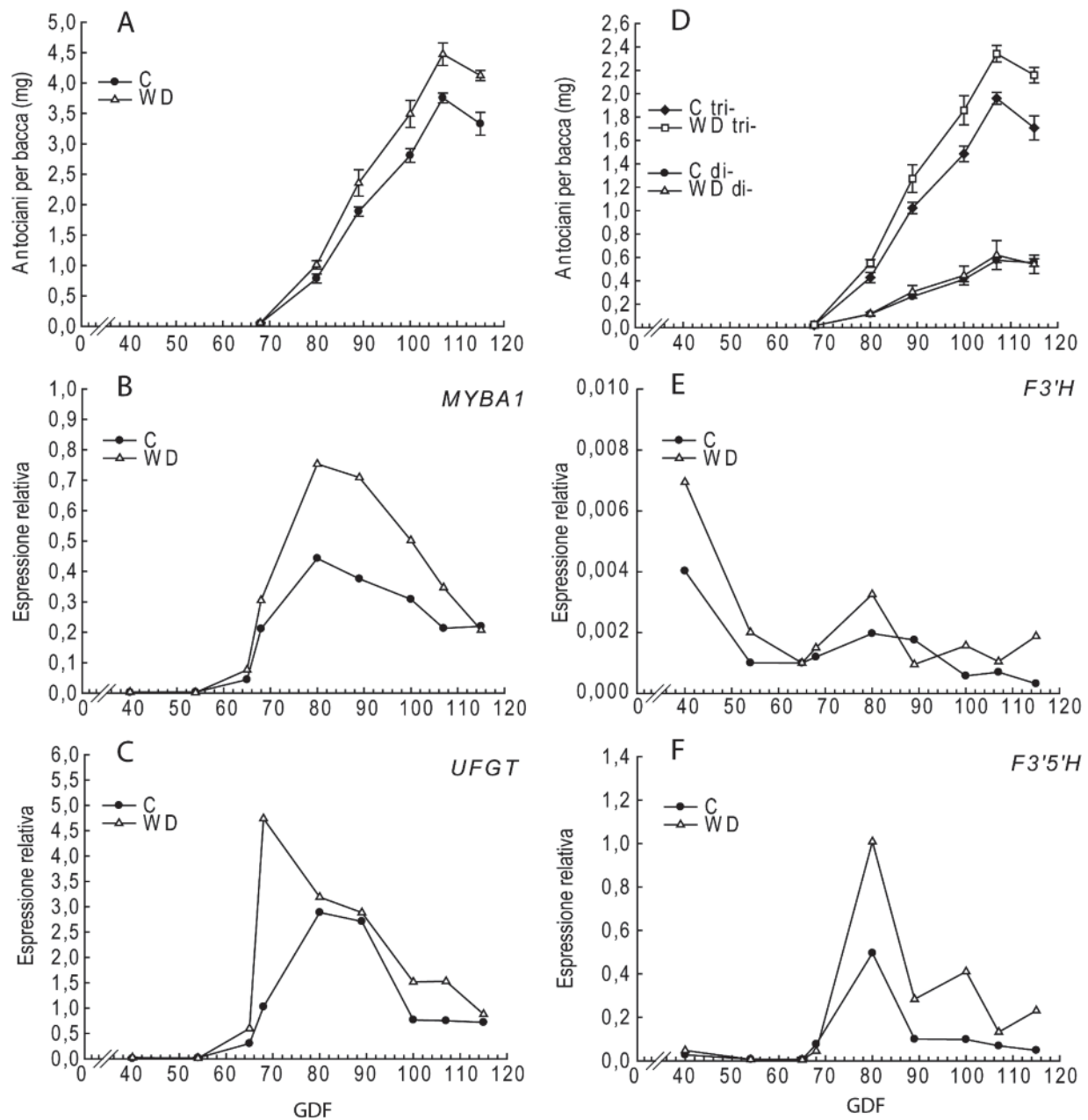


Fig. 3 - Effetto del deficit idrico sulla sintesi degli antociani totali (A); sull'espressione del gene *MYBA1* (B) e del gene *UFGT* (C); sulla composizione in antociani di- e tri- sostituiti (D); sull'espressione del gene *F3'H* (E); sull'espressione del gene *F3'5'H* nel frutto di *Vitis vinifera* 'Merlot'. In ascissa sono riportati i giorni dalla fioritura (GDF). C = controllo, WD = deficit idrico. I grafici si riferiscono all'annata 2004 e sono estrapolati da Castellarin et al. (2007b).

Fig. 3 - Impact of water deficit on total anthocyanin biosynthesis (A); on *MYBA1* (B) and *UFGT* (C) gene expression; on di- and tri-substituted anthocyanin synthesis (D); on *F3'H* (E); and *F3'5'H* (F) gene expression in *Vitis vinifera* 'Merlot' grapes. The X axis indicates the Days after Anthesis (GDF). C = control, WD = water deficit. The data reported refer to the 2004 season and have been published in Castellarin et al. (2007b).

maggiore hanno tonalità di colore più scure, blu e porpora, e antociani con un maggior numero di metili sono potenzialmente più stabili in soluzione acquosa (Halbwirth, 2010).

Gli altri principali costituenti della frazione polifenolica delle uve, le proantocianidine (anche chiamate tannini) sono influenzate dal deficit in maniera minore. In generale l'effetto del deficit sull'accumulo di

questi composti nel frutto è limitato se non nullo. Le proantocianidine vengono accumulate sia nei tessuti del seme che della buccia (Castellarin et al., 2011), e vengono estratte da questi tessuti durante la macerazione delle uve rosse. Nei vini conferiscono caratteristiche organolettiche importanti come le note di amaro, astringente, nonché ne determinano la struttura e contribuiscono a stabilizzarne il colore mediante la

copigmentazione, ovvero la formazione di un legame fra proantocianidina e antociano che migliora la stabilità nel tempo di quest'ultima molecola. Le proantocianidine del seme differiscono in termini strutturali da quelle della buccia, in quanto sono composti a grado di polimerizzazione meno elevato e sono in parte esterificate con l'acido gallico (Castellarin *et al.*, 2011): queste caratteristiche comportano delle note organolettiche forti associate all'amaro e all'astringente, che nei vini sono generalmente considerate negative. Inoltre, il contenuto e la composizione delle proantocianidine del seme viene influenzato in misura limitata o nulla dai fattori ambientali o dalle pratiche colturali applicate in vigneto (Castellarin *et al.*, 2011). Le proantocianidine della buccia, invece, conferiscono ai vini delle note sensoriali più gradevoli e il loro accumulo è influenzato significativamente dai fattori esogeni a cui è esposta la pianta. Il deficit idrico promuoveva la concentrazione delle proantocianidine della buccia nel frutto in diverse varietà a bacca rossa (Ojeda *et al.*, 2002; Roby *et al.*, 2004; Bucchetti *et al.*, 2011), tuttavia altri studi hanno evidenziato effetti non significativi e variabili in relazione ad altri fattori tra cui l'annata (Koundouras *et al.*, 2009; Bowen *et al.*, 2011). L'incremento della concentrazione delle proantocianidine non sembrava avvenire attraverso un effetto diretto sulla loro biosintesi ma principalmente attraverso un effetto indiretto legato all'inibizione dello sviluppo della bacca che comporta una maggior concentrazione di questi composti nei tessuti (fig. 2 C). Infatti, il quantitativo totale di proantocianidine della buccia espresso in valori assoluti (mg per bacca) non cambia tra viti irrigate e viti sottoposte a deficit (Bucchetti *et al.*, 2011; Ollè *et al.*, 2011). Anche l'analisi dell'espressione dei geni chiave della sintesi delle proantocianidine, *LAR* (*leucoantocianidin reductasi*) e *ANR* (*antocianidin reductasi*) ha confermato che non vi è induzione della sintesi delle forme monomeriche delle proantocianidine. Infatti, l'espressione di questi geni non veniva influenzata dal deficit idrico (Castellarin *et al.*, 2007a, b).

Da questi studi emerge che antociani e proantocianidine, pur condividendo gran parte della via enzimatica che porta alla loro sintesi, sono influenzati in maniera diversa dal deficit idrico: esso ha, infatti, un effetto chiaro e marcato solo nella sintesi degli antociani a livello di cellule della buccia, come evidenziato dall'induzione dell'espressione dei geni della via biosintetica dei flavonoidi comuni sia agli antociani che alle proantocianidine, e dei geni regolatori e strutturali specifici degli antociani; mentre non si sono evidenziati effetti significativi sull'induzione dei geni specifici per l'accumulo delle proantocianidine. Va

comunque sottolineato che la sintesi delle proantocianidine inizia nelle fasi di sviluppo della bacca appena successive alla fioritura, completandosi generalmente all'invaiaitura (Castellarin *et al.*, 2007a,b; Bucchetti *et al.*, 2011). Nei lavori sopra riportati, livelli di deficit moderato-severo venivano applicati solo a partire da circa 30 giorni dopo la fioritura; è possibile quindi che deficit severi imposti durante la fioritura o a pochi giorni da questa abbiano un effetto significativo anche sulla biosintesi di questi composti.

Gli stilbeni sono una categoria di polifenoli che esibisce proprietà salutistiche importanti per il prodotto vino. Le loro proprietà antiossidanti e anti-infiammatorie ne fanno dei composti anti-carcinogenici e protettivi delle malattie cardiovascolari dell'uomo. Per questo, nonostante non siano presenti in quantità elevata nelle uve e nei vini, e non abbiano particolari caratteristiche organolettiche, i ricercatori hanno focalizzato la propria attenzione anche sui meccanismi di accumulo di questi composti nell'uva. Recentemente, Deluc *et al.* (2011) hanno studiato l'effetto del deficit idrico sull'accumulo degli stilbeni in due varietà, una a bacca bianca e una a bacca rossa. Da questo studio è emerso che il deficit influenzava positivamente l'accumulo di *trans*-piceide, una forma glucosilata del resveratrolo. Ma mentre in Cabernet Sauvignon il deficit ne promuoveva un accumulo cinque volte maggiore che nel controllo irrigato, in piante di Chardonnay sottoposte allo stesso trattamento non si osservavano differenze tra i trattamenti. Gli autori hanno evidenziato che in Cabernet Sauvignon al maggior accumulo di *trans*-piceide nelle piante stressate corrispondeva un aumento dell'espressione dei geni della via biosintetica dei flavonoidi e degli stilbeni. In particolare sono risultati essere sovraespressi i geni codificanti per enzimi come la fenilalanina ammonio liasi (PAL), la cinnamato 4 idrossilasi (C4H), e la 4 cumaroil-CoA ligasi (4CL) insieme ad alcuni geni della famiglia delle stilbene sintasi (STS), enzimi chiave della sintesi degli stilbeni. Una STS era espressa ad un livello dieci volte superiore nelle viti sottoposte a deficit rispetto a quelle irrigate. Lo stesso studio di espressione genica effettuato nel frutto di viti di Chardonnay sottoposte ad un simile trattamento irriguo portava a risultati diversi: in caso di deficit idrico, infatti, il livello di espressione dei geni sopra citati rimaneva uguale a quello del controllo irrigato o, in alcuni casi, diminuiva. Gli autori hanno così cercato di investigare le varianti che a livello genetico determinano una diversa risposta dei due genotipi allo stesso fattore ambientale (deficit idrico). Dall'analisi della sequenza nucleotidica nella regione del promotore della *STS* che risultava maggiormente influenzata dal

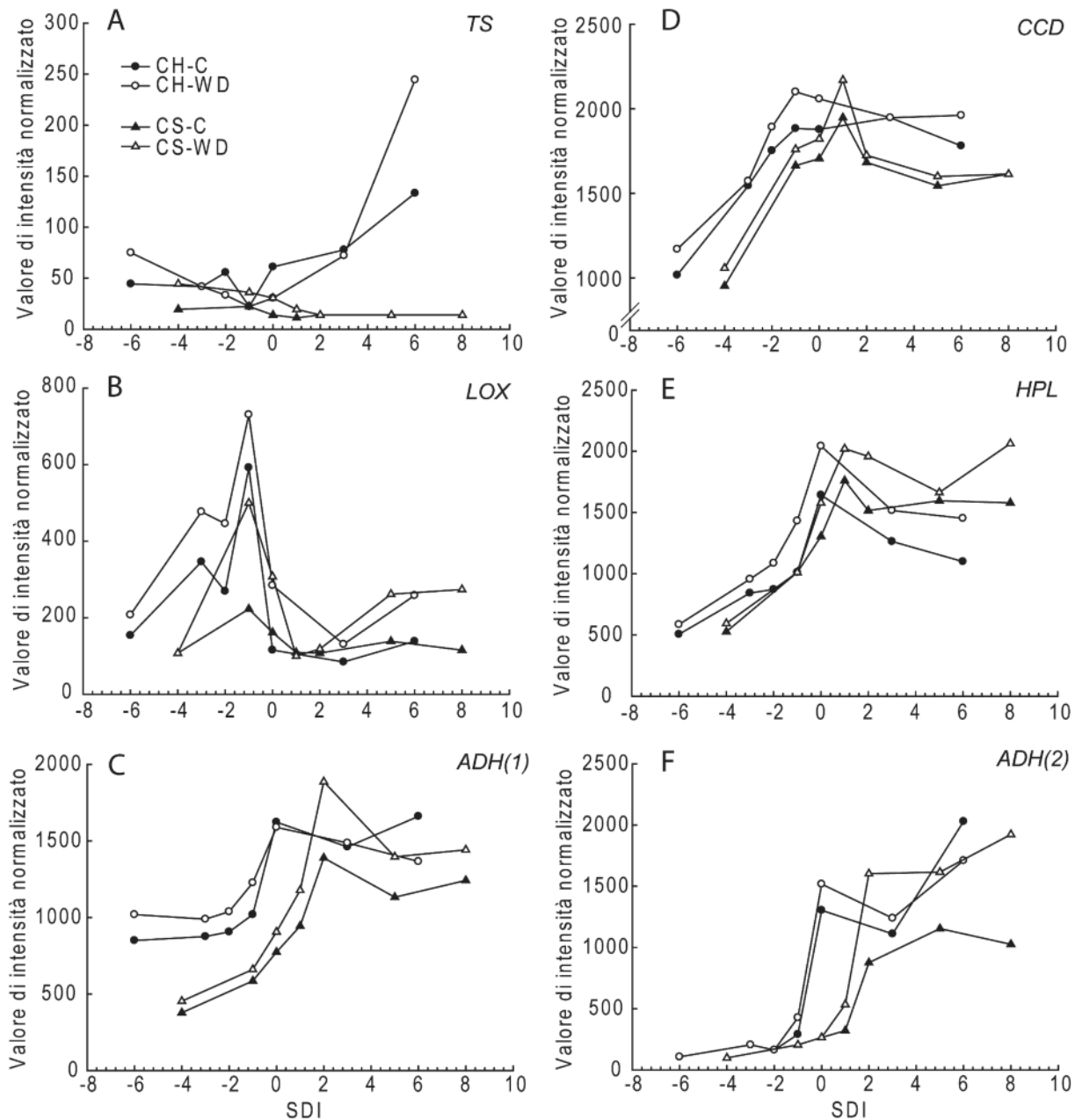


Fig. 4 - Effetto del deficit idrico sull'espressione di geni legati alla sintesi di aromi nel frutto di Chardonnay (cerchio aperto = deficit idrico, cerchio chiuso = controllo) e Cabernet Sauvignon (triangolo aperto = deficit idrico, triangolo chiuso = controllo): TS = *terpenoid synthetase* (A); LOX = *lipoxygenase* (B); ADH(1) = *alcohol dehydrogenase 1616500_at* (C); CCD = *carotenoid cleavage dioxygenase* (D); HPL = *hydroperoxide lyase* (E); ADH(2) = *alcohol dehydrogenase 1609372_at* (F). I grafici sono elaborati dai dati riportati in figura 10 da Deluc et al. (2009). In ascissa sono indicate le settimane dall'invasatura (SDI).

Fig. 4 - Impact of water deficit on the expression levels of genes related to the synthesis of aroma compounds in Chardonnay ((open dot = water deficit, solid dot = control) and Cabernet Sauvignon (open triangle = water deficit, solid triangle = control) berries: TS = *terpenoid synthetase* (A); LOX = *lipoxygenase* (B); ADH(1) = *alcohol dehydrogenase 1616500_at* (C); CCD = *carotenoid cleavage dioxygenase* (D); HPL = *hydroperoxide lyase* (E); ADH(2) = *alcohol dehydrogenase 1609372_at* (F). Graphs have been rearranged from figure 10 of Deluc et al. (2009). The X axis indicates the Weeks after Veraison (SDI).

deficit, è emerso che tra la sequenza di Cabernet Sauvignon e Chardonnay vi sono presenti 12 polimorfismi di una singola base (SNPs = *Single Nucleotide Polymorphisms*) che causano modificazioni in otto elementi regolatori presenti nella zona del promotore. Si può ipotizzare quindi che siano queste diversità di

sequenza a rendere un genotipo più sensibile al deficit rispetto all'altro.

Effetto del deficit idrico sull'accumulo dei composti aromatici

Una delle componenti più importanti nel determi-

nare la qualità dei vini è sicuramente quella aromatica. Nonostante l'importanza di questa componente le informazioni a disposizione sui composti che la determinano e su come la sintesi di questi composti nelle uve sia modulata dai fattori esogeni non sono del tutto esaustive. L'aroma dei vini è determinato in parte da un complesso spettro di metaboliti secondari volatili che vengono sintetizzati nelle uve, spesso sotto forma di precursori non volatili, e trasferiti ai vini durante la fermentazione. Si ipotizza la presenza di centinaia di composti volatili nel frutto, dei quali quelli ad ora noti appartengono alle classi chimiche degli esteri, alcoli, aldeidi, terpeni, norisoprenoidi, tioli e pirazine (Lund e Bohlmann, 2006; Kalua e Boss, 2009). Questi composti, sono in alcuni casi presenti a concentrazioni bassissime sia nelle uve che nei vini (ad esempio le pirazine sono presenti al massimo in pochi ng/kg di frutto), ma vista la loro bassa soglia di percezione (circa 4 ng/kg) sono in grado di influenzarne ugualmente l'aroma. L'accumulo dei composti volatili e dei loro precursori è sotto controllo varietale, ma può essere modulato da fattori ambientali e dalle pratiche colturali (Lund e Bohlmann, 2006). La numerosità e la diversità delle specie chimiche coinvolte, così come la bassissima concentrazione alla quale si trovano nel frutto e nei vini rendono l'analisi di questi composti molto complessa. Ad oggi le tecniche sviluppate e utilizzate hanno permesso solo delle analisi *targeted* di alcune classi o gruppi di composti, ma lo sviluppo dell'approccio metabolomico che sta avvenendo in questi anni, permetterà in futuro di studiare i profili metabolici delle uve e l'effetto di fattori esogeni sugli stessi in un modo molto più esaustivo.

Al momento i dati a disposizione della comunità scientifica riguardano soprattutto la componente aromatica dei vini e l'influenza dei fattori ambientali e delle pratiche agronomiche sulla stessa, mentre ancora poco si sa sull'effetto del deficit idrico sull'accumulo dei metaboliti volatili nelle uve.

L'analisi sensoriale di vini prodotti da viti di Cabernet Sauvignon sottoposte a deficit idrico e irrigate ha evidenziato che il deficit idrico influenzava significativamente l'aroma dei vini favorendo lo sviluppo di note aromatiche legate al frutto maturo, come il fruttato, la mora, il lampone, la marmellata, la frutta passita, mentre diminuivano le note legate al frutto non maturo come quelle di vegetale, di erbaceo, di peperone verde, di pepe nero che invece rimanevano percepibili nei vini prodotti da viti irrigate (Chapman *et al.*, 2005).

Dagli studi di Qian *et al.* (2009) e Ou *et al.* (2010) sull'effetto del deficit idrico sulla componente aromatica dei vini Merlot, è emerso un effetto significativo

del deficit sulla concentrazione di diversi composti volatili. Il maggior numero di composti volatili identificati da questo studio apparteneva alla categoria degli esteri, tra questi solo il 2-metilpropanoato e l'etil 3-metilbutanoato (dal sentore di frutti rossi), erano presenti in concentrazione maggiore nei vini ottenuti da piante sottoposte a deficit. I norisoprenoidi C₁₃ sono una categoria di composti volatili accumulati nelle uve sia in forma libera che in forma glicosidica; nei vini queste molecole conferiscono note aromatiche di floreale e fruttato. Il deficit idrico favoriva l'accumulo di vitispirano (componente del sentore di eucalipto) e β -damascenone (floreale), mentre diminuiva la concentrazione di β -ionone (violetta) (Qian *et al.*, 2009; Ou *et al.*, 2010). Gli alcoli terpenici, linalolo, citronellolo, nerolo, geraniolo e nerolidolo, che conferiscono le note floreali di rosa, geranio e moscato alle uve e ai vini, erano presenti a concentrazioni maggiori nei vini prodotti da piante sottoposte a deficit (Ou *et al.*, 2010).

Queste indagini lasciano ipotizzare un effetto significativo del deficit sulla sintesi dei composti aromatici e dei loro precursori. Ad oggi vi sono ancora pochi studi che hanno analizzato l'effetto del deficit idrico sull'accumulo dei composti volatili e dei precursori degli aromi nelle uve. Bindon *et al.* (2007) analizzarono l'effetto del deficit idrico applicato con la tecnica del PRD sull'accumulo dei norisoprenoidi C₁₃ e dei loro precursori carotenoidi in Cabernet Sauvignon. Gli autori evidenziarono un aumento significativo dei norisoprenoidi C₁₃ β -damascenone, β -ionone, 1,1,6-trimetil-1,2-diidronaftalene, e dei loro precursori carotenoidi, luteina e β -carotene nei frutti delle viti sottoposte a PRD rispetto a quelli del controllo irrigato. Altri studi hanno evidenziato un effetto positivo del deficit sull'accumulo dei metaboliti secondari glucosilati tra cui i precursori delle sostanze aromatiche, sia in varietà a bacca bianca, Moscatel, che a bacca rossa, Cabernet Sauvignon (Pedreira dos Santos *et al.*, 2007; Koundouras *et al.*, 2009). Inoltre in Sauvignon blanc ridotte disponibilità idriche della pianta erano associate ad un incremento della concentrazione dei precursori cisteinati di composti tiolici che conferiscono ai vini della stessa varietà note aromatiche caratteristiche (Peyrot des Gachons *et al.*, 2005).

Gli studi molecolari di Deluc *et al.*, (2009) descritti anche in precedenza, hanno permesso di evidenziare un effetto significativo del deficit idrico sull'accumulo nel frutto di diversi trascritti legati alla sintesi di metaboliti secondari volatili descritti sopra. In generale il deficit idrico aumentava l'accumulo di questi trascritti nei tessuti della bacca (fig. 4). L'espressione di

una terpenoide sintasi (*TS*) legata alla sintesi di sesquiterpenoidi in vite era indotta dal deficit idrico in Chardonnay durante la maturazione del frutto e in Cabernet Sauvignon nelle fasi di pre-invaiaitura. Allo stesso modo, il gene codificante per una carotenoide diossigenasi (CCD = carotenoid cleavage dioxygenase) responsabile della scissione del carotenoide zeaxantina a dare due composti volatili (un norisoprenoide C_{13} ed una dialdeide C_{14}) era sovra espresso in viti stressate di Chardonnay e Cabernet Sauvignon. L'espressione di diversi geni codificanti per delle lipossigenasi (LOX = lipoxygenase) aumentava nel frutto di viti stressate sia in Chardonnay che in Cabernet Sauvignon. Le lipossigenasi sono parte della via biosintetica che porta alla formazione degli esteri volatili e convertono gli acidi grassi in idroperossidi, che sono dei precursori degli esteri volatili. Il deficit aumentava anche il livello di espressione del gene codificante per la idroperossido liasi (HPL = *Hydro Peroxide Lyase*), un enzima che promuove la sintesi di aldeidi volatili come l'esanale, e di due geni codificanti per l'alcol deidrogenasi (ADH = *Alcohol DeHydrogenase*), enzima che trasforma l'esanale in esanolo. Questi composti conferiscono ai vini delle note aromatiche legate all'erbaceo.

Deficit idrico e segnali ormonali

Come visto in precedenza, il deficit idrico induce diverse risposte biochimiche e fisiologiche nella vite. La risposta vegetativa e riproduttiva della pianta a condizioni di deficit riguarda diverse vie di segnale, che permettono la regolazione delle risposte al deficit sia a livello di singolo tessuto che a livello di intera pianta. Oltre a segnali chimici, anche segnali di natura idraulica prendono parte alla diffusione del segnale di deficit nella pianta.

Negli anni recenti approcci molecolari hanno permesso di approfondire le conoscenze della risposta ormonale al deficit idrico; Cramer *et al.* (2007) hanno mostrato che in germogli di Cabernet Sauvignon sottoposti a deficit idrico l'espressione di molti geni legati alla sintesi e alla risposta ormonale veniva modificata. La maggior parte di questi geni appartenevano alla via dell'acido abscissico (ABA), altri a quella dell'etilene, mentre solo due geni erano associati con il metabolismo dell'acido gibberellico. L'espressione della maggior parte dei geni delle classi sopra descritte veniva aumentata dal deficit.

In generale, l'ABA è riconosciuto come l'ormone chiave nel regolare la risposta della pianta a diverse condizioni di stress e, in particolare, a condizioni di deficit idrico. Nei diversi tessuti della pianta, i livelli

di ABA sono influenzati da diversi fattori ambientali e determinano risposte fisiologiche a livello di cellula, tessuto, organo e pianta. Le condizioni di deficit stimolano la produzione di questo ormone che è responsabile della diffusione del segnale attraverso i diversi organi della pianta, della regolazione di meccanismi di risposta allo stress come la chiusura stomatica, dell'induzione dell'espressione di geni, dell'accumulo di proteine e metaboliti coinvolti nella risposta al deficit (Seki *et al.*, 2007; Lovisolo *et al.*, 2010).

Uno dei processi fisiologici di risposta allo stress ABA dipendenti è la riduzione della conduttanza stomatica nelle foglie. La chiusura degli stomi in risposta al deficit idrico è regolata sia idraulicamente, sia attraverso controllo ormonale dall'acido abscissico (ABA) (Ferrandino *et al.*, 2009). I meccanismi fisiologici in gioco sono tuttavia complessi e non del tutto caratterizzati. Sicuramente questi coinvolgono diversi organi e tessuti; i ricercatori concordano sul fatto che le radici percepiscano la carenza idrica ed inviino segnali ormonali alle parti aeree della pianta principalmente attraverso la neosintesi di ABA e la traslocazione dello stesso per via xilematica alle foglie, dove arriva per via apoplastica agli stomi inducendone la chiusura (Soar *et al.*, 2004 e 2006; Lovisolo *et al.*, 2010). La conduttanza stomatica, infatti, correla negativamente con le concentrazioni in ABA nella foglia e nello xilema (Soar *et al.*, 2004). Tuttavia gli stessi autori hanno dimostrato che la presenza di ABA nella foglia è dovuta anche a sintesi *in situ*, come dimostrato dai livelli di espressione di geni chiave della biosintesi dell'ABA, *NCED1* e *NCED2* (*NCED* = 9-cis-epossicarotenoide diossigenasi). Sperimentazioni condotte su altre specie hanno evidenziato che l'attivazione della sintesi dell'ABA nelle radici avveniva solo in condizioni di stress prolungati, mentre l'incremento di ABA nello xilema si osservava subito dopo la percezione del deficit grazie alla sintesi di ABA nelle foglie, la sua traslocazione nelle radici e da lì allo xilema (Goodger e Schachtman, 2010). La crescita quindi delle concentrazioni di ABA nello xilema e nella foglia del germoglio potrebbero essere indotte da un altro segnale radice-germoglio che stimolerebbe la sintesi dell'ABA nelle parti aeree della pianta. Entrambi i seguenti meccanismi, neosintesi e traslocazione di ABA da radici a foglie da una parte, induzione della sintesi e modifica della compartimentazione subcellulare di ABA a livello di foglia dall'altra, potrebbero concorrere ad aumentare la concentrazione di ABA apoplastico nella parete delle cellule di guardia dello stoma, provocandone la chiusura. Nella regolazione stomatica ABA-dipendente anche il pH è un fattore importante nel determinare la concen-

trazione di ABA nei siti di azione delle cellule di guardia. Infatti, il pH del succo xilematico è influenzato dal deficit idrico e diviene più alcalino in piante sottoposte a deficit (Li *et al.*, 2011). Le variazioni di pH dello xilema indotte da deficit modificano l'accumulo di ABA nei siti d'azione e di conseguenza la conduttanza stomatica della foglia (Schachtman e Goodger, 2008; Li *et al.*, 2011).

La regolazione della conduttanza stomatica non è la sola risposta fisiologica al deficit ABA-dipendente. Altri meccanismi di risposta fisiologica della pianta al deficit, come la riduzione della conducibilità idrica, l'induzione dell'espressione dei geni delle acquaporine e la riparazione degli embolismi sembrano, almeno in parte, coinvolgere questo ormone (Cramer, 2010; Lovisolo *et al.*, 2010).

Se l'ABA è un ormone importante sia nel regolare la risposta della pianta al deficit nella radice e nel germoglio che nella trasmissione dei segnali tra questi organi, il suo ruolo nella regolazione della risposta nel frutto assume dei contorni ancora più interessanti. L'ABA è un ormone chiave nella regolazione dei processi di maturazione del frutto in *Vitis vinifera* (Davies e Robinson, 1996; Gambetta *et al.*, 2010). In corrispondenza dell'inizio della maturazione la concentrazione di ABA nella buccia e nella polpa cresce in maniera esponenziale (Owen *et al.*, 2009), anche grazie all'attivazione transiente di geni chiave della sua biosintesi (ad esempio le 9-cis-epossicarotenoide diossigenasi) (Wheeler *et al.*, 2009; Deluc *et al.*, 2009), e diverse vie del segnale ABA-dipendenti vengono attivate (Gambetta *et al.*, 2010). Inoltre, trattamenti di ABA esogeno in pianta e colture di tessuto stimolano la maturazione del frutto inducendo anche l'espressione di geni legati all'accumulo di metaboliti secondari (Gambetta *et al.*, 2010; Koyama *et al.*, 2010) e l'accumulo di proteine legate alla maturazione (Giribaldi *et al.*, 2010).

In viti sottoposte a deficit idrico si osserva un aumento della concentrazione di ABA nei tessuti della bacca (Antolin *et al.*, 2008; Deluc *et al.*, 2009). Deluc *et al.* (2009) riportarono un effetto significativo del deficit nei profili dei trascritti dei geni legati al metabolismo dell'ABA: il deficit idrico incrementava significativamente il livello di espressione di geni che codificano per enzimi chiave della sintesi dell'ABA. Tra questi geni c'erano la β -carotene idrossilasi (BHASE), la 9-cis-epossicarotenoide diossigenasi (NCED), la (+)-acido abscissico 8' idrossilasi (ABAHASE), e la xantoxina deidrogenasi (ABA2). Anche un fattore di trascrizione della famiglia basic leucin zipper (bZIP) il cui omologo in *Arabidopsis* veniva indotto nella risposta ABA-mediata al deficit

idrico, veniva sovra espresso nelle bacche di viti sottoposte a deficit.

Nonostante il ruolo dell'ABA nella regolazione dei processi di maturazione e di risposta al deficit idrico nel frutto non sia ancora esaustivamente indagato, le informazioni tratte dai lavori citati lasciano ipotizzare un ruolo chiave di questo ormone nella regolazione fisiologica della risposta al deficit nel frutto di *Vitis vinifera* ed aprono la strada ad ulteriori studi volti a comprendere come modulare in vigneto, attraverso la gestione dell'irrigazione, l'accumulo di questo ormone nel frutto per regolarne i processi di maturazione in modo da ottimizzarne la qualità alla raccolta.

Conclusioni

L'imposizione di un deficit idrico moderato-severo in vigneto riduce la produzione in termini quantitativi, ma può influenzare positivamente la qualità delle uve da trasformare in vino; l'imposizione di un deficit eccessivo può rallentare o impedire la maturazione delle uve con effetti di riduzione della quantità ma anche della qualità della produzione. Anche se la risposta al deficit non è univoca tra le diverse varietà, il deficit influenza il contenuto di metaboliti primari e secondari del frutto. Soprattutto, il deficit aumenta la sintesi dei pigmenti antocianici e la concentrazione delle proantocianidine (tannini) nelle varietà rosse. Nonostante gli studi a riguardo siano ancora pochi, anche la sintesi di alcuni composti volatili e dei loro precursori risulta essere influenzata dal deficit. L'effetto del deficit sul metabolismo secondario del frutto ha ricadute positive sulla qualità organolettica dei vini. Un'accurata e fine modulazione delle varie tecniche di trasformazione enologica di uve sottoposte a deficit idrico potrà ottimizzare l'esito positivo in termini qualitativi di un'irrigazione controllata, portando ad un prodotto finito di maggior pregio. Un'analisi dettagliata della risposta fisiologica e molecolare delle diverse varietà al deficit idrico permetterà di graduare la pratica irrigua in vigneto per ridurre l'utilizzo della risorsa idrica e ottimizzare la qualità dei vini anche in relazione agli altri fattori ambientali che caratterizzano i diversi territori vitati nazionali e internazionali.

Riassunto

La vite dimostra un'ottima adattabilità alle regioni aride e semi aride grazie ai suoi meccanismi di tolleranza del deficit idrico. Esso influenza l'accumulo di metaboliti primari e secondari nell'uva, incrementando - quando non eccessivamente pronunciato - il valore qualitativo delle produzioni. La

gestione della qualità in vigneto è un aspetto di notevole importanza nel caso delle uve destinate alla trasformazione in vino. In questa *review* vengono analizzati gli studi più recenti sull'effetto del deficit idrico sulla fisiologia della pianta nelle varietà da vino, evidenziando gli aspetti metabolici, l'espressione genica e la quantità/composizione proteica a livello di pianta e di frutto.

Parole chiave: espressione genica, maturazione, metabolismo primario, metabolismo secondario, *Vitis vinifera*.

Bibliografia

- ANTOLIN M.C., SANTESTEBAN H., MARIA ES, AGUIRREOLEA J., SANCHEZ-DIAZ M., 2008. *Involvement of abscisic acid and polyamines in berry ripening of Vitis vinifera L. subjected to water deficit irrigation*. Austr. J. Grape Wine Res. 14: 123-133.
- BINDON K.A., DRY P.R., LOVEYS B.R., 2007. *Influence of plant water status on the production of C13-norisoprenoid precursors in Vitis vinifera L. cv. Cabernet Sauvignon grape berries*. J. Agr. Food Chem. 55: 4493-4500.
- BOWEN P., BOGDANOFF C., USHER K., ESTERGAARD B., WATSON M., 2011. *Effects of irrigation and crop load on leaf gas exchange and fruit composition in red winegrapes grown on a loamy soil*. Am. J. Enology and Viticulture 62: 1-9.
- BUCCETTI B., MATTHEWS M.M., FALGINELLA L., PETERLUNGER E., CASTELLARIN S.D., 2011. *Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons*. Scientia Horticulturae 128: 297-305.
- CASTELLARIN S.D., MATTHEWS M.A., DI GASPERO G., GAMBETTA G.A., 2007a. *Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berry*. Planta 227: 101-112.
- CASTELLARIN S.D., PFEIFFER A., SIVILOTTI P., DEGAN M., PETERLUNGER E., DI GASPERO G., 2007b. *Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit*. Plant Cell and Environment 30: 1381-1389.
- CASTELLARIN S.D., BAVARESCO L., FALGINELLA L., VAN ZELLER DE MACEDO BASTO GONCALVES M.I., DI GASPERO G., 2011. *Phenolics in grape berry and key antioxidants*. In: The biochemistry of the grape berry, Bentham Sciences Publishers (Sharjah, United Arab Emirates.: In press
- CASTELLUCCI F., 2010. *Rapporto del Direttore Generale dell'OIV sulla situazione della vitivinicoltura mondiale nel 2009*. Website: www.oiv.org
- CHAPMAN D.M., ROBY G., EBELER S.E., GUINARD J.X., MATTHEWS M.A., 2005. *Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different water status*. Austr. J. Grape Wine Res. 11: 339-347.
- CHAVES M.M., ZARROUK O., FRANCISCO R., COSTA J.M., SANTOS T., REGALADO A.P., RODRIGUES M.L., LOPES C.M., 2010. *Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data*. Annals of Botany 105: 661-676.
- CONDE C., SILVA P., FONTES N., DIAS A.C.P., TAVARES R.M., SOUSA M.J., AGASSE A., DELROT S., GERÒ S.H., 2007. *Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality*. Food 1: 1-22.
- CRAMER G.R., ERGÜL A., GRIMPLET J., TILLET R.L., TATTERSALL E.A.R., BOHLMAN M.C., VINCENT D., SONDEREGGER J., EVANS J., OSBORNE C., QUILICI D., SCHLAUCH K.A., SCHOOLEY D.A., CUSHMAN J.C., 2007. *Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles*. Functional Integrative Genomics 7: 111-134.
- CRAMER G.R., 2010. *Abiotic stress and plant responses from the whole vine to the genes*. Austr. J. Grape Wine Res. 16: 86-93.
- DAVIES C., ROBINSON S.P., 1996. *Sugar accumulation in grape berries: cloning of two putative vacuolar invertase cDNAs and their expression in grapevine tissue*. Plant Phys. 111: 275-283.
- DELUC L.G., GRIMPLET J., WHEATLEY M.D., TILLET R.L., QUILICI D.R., OSBORNE C., SCHOOLEY D.A., SCHLAUCH K.A., CUSHMAN J.C., CRAMER G.R., 2007. *Transcriptomic and metabolite analyses of Cabernet Sauvignon grape berry development*. BMC Genomics 8: 429.
- DELUC L.G., QUILICI D.R., DECENDIT A., GRIMPLET J., WHEATLEY M.D., SCHLAUCH K.A., MERILLON J.M., CUSHMAN J.C., CRAMER G.R., 2009. *Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay*. BMC Genomics 10: 212-245.
- DELUC L.G., DECENDIT A., PAPASTAMOULIS Y., MERILLON J.M., CUSHMAN J.C., CRAMER G.R., 2011. *Water deficit increases stilbene metabolism in Cabernet Sauvignon berries*. J. Agr. Food Chem. 59: 289-297.
- ESTEBAN M.A., VILLANUEVA M.J., LISSARRAGUE J.R., 1999. *Effect of irrigation on changes in berry composition during maturation. Sugars, organic acids, and mineral elements*. Am. J. Enology and Viticulture 50: 418-434.
- ESTEBAN M.A., VILLANUEVA M.J., LISSARRAGUE J.R., 2001. *Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (Vitis vinifera L) grape berries during ripening*. J. Sci. Food Agr. 81: 409-420.
- FERERES E., SORIANO M.A., 2007. *Deficit irrigation for reducing agricultural water use*. J. Exp. Bot. 58: 147-159.
- FERRANDINO A., PERRONE I., TRAMONTINI S., LOVISOLO C., 2009. *Meccanismi fisiologici e molecolari di resistenza a stress idrico in Vitis vinifera L : aspetti del metabolismo primario e secondario e adattamenti di genotipi diversi*. Italus Hortus 16: 23-44.
- GAMBETTA G.A., MATTHEWS M.A., SHAGHASI T.H., MCELRONE A.J., CASTELLARIN S.D., 2010. *Sugar and abscisic acid signaling orthologs are activated at the onset of ripening in grape*. Planta 232: 219-234.
- GIRIBALDI M., GENY L., DELROT S., SCHUBERT A., 2010. *Proteomic analysis of the effects of ABA treatments on ripening Vitis vinifera berries*. J. Exp. Bot. 61: 2447-2458.
- GIRONA J., MATA M., DEL CAMPO J., ARBONÉS A., BATRA E., MARSAL J., 2006. *The use of midday leaf water potential for scheduling deficit irrigation in vineyards*. Irrigation Sciences 24: 115-127.
- GOODGER J.Q., SCHACHTMAN D.P., 2010. *Nitrogen source influences roots to shoot signaling under drought*. Abiotic Stress Adaptation in Plant 1: 165-173.
- GRIMPLET J., DELUC L.G., TILLET R.L., WHEATLEY M.D., SCHLAUCH K.A., CRAMER G.R., CUSHMAN J.C., 2007. *Tissue-specific mRNA expression profiling in grape berry tissues*. BMC Genomics 8: 187.
- GRIMPLET J., WHEATLEY M.D., JOUIRA H.B., DELUC L.G., CRAMER G.R., CUSHMAN J.C., 2009. *Proteomic and selected metabolite analysis of grape berry tissues under well-watered and water-deficit stress conditions*. Proteomics 9: 2503-2528.
- HALBWIRTH H., 2010. *The creation and physiological relevance of divergent hydroxylation patterns in the flavonoid pathway*. Int. J. Molecular Sciences 11: 595-621.
- HARDIE W.J., CONSIDINE J.A., 1976. *Response of grapes to water deficit stress in particular stages of development*. Am. J. Enology and Viticulture 27: 55-61.
- KALUA C.M., BOSS P.K., 2009. *Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (Vitis vinifera L.)*. J. Agr. Food Chem. 57: 3818-3830.
- KOUNDOURAS S., HATZIDIMITRIOU E., KARAMOLEGKOU M.,

- DIMOPOULOU E., KALLITHRAKA S., TSIALTAS J.T., ZIOZIOU E., NIKOLAOU N., KOTSERIDIS Y., 2009. *Irrigation and rootstock effects on the phenolic concentration and aroma potential of Vitis vinifera L. cv. Cabernet Sauvignon grapes*. J. Agr. Food Chem. 57: 7805-7813.
- KOYAMA K., SADAMATSU K., GOTO-YAMAMOTO N., 2010. *Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape*. Functional and Integrative Genomics 10: 367-381.
- LI B., FENG Z., XIE M., SUN M., ZHAO Y., LIANG L., LIU G., ZHANG J., JIA W., 2011. *Modulation of the root-sourced ABA signal along its way to the shoot in Vitis riparia x Vitis labrusca under water deficit*. J. Exp. Bot. 62: 1731-1741.
- LOVISOLO C., PERRONE I., CARRA A., FERREINO A., FLEXAS J., MEDRANO H., SCHUBERT A., 2010. *Drought-induced changes in development and function of grapevine (Vitis spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update*. Functional Plant Biology 37: 98-116.
- LUND S.T., BOHLMANN J., 2006. *The molecular basis for wine grape quality - a volatile subject*. Science 311: 804-805.
- MATTHEWS M.A., ANDERSON M.M., SCHULTZ H.R., 1987. *Phenological and growth responses to early and late season water deficits in Cabernet franc*. Vitis 26: 147-160.
- MATTHEWS M.A., ANDERSON M.M., 1988. *Fruit ripening in Vitis vinifera L.: responses to seasonal water deficits*. Am. J. Enology and Viticulture 39: 313-320.
- MATTHEWS M.A., ANDERSON M.M., 1989. *Reproductive development in grape (Vitis vinifera L.) responses to seasonal water deficits*. Am. J. Enology and Viticulture 40: 52-59.
- MATTIVI F., GUZZON R., VRHOVSEK U., STEFANINI M., VELASCO R., 2006. *Metabolite profiling of grape: flavanoids and anthocyanins*. J. Agr. Food Chem. 54: 7692-7702.
- MCCARTHY, M.G., 1997. *The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (Vitis vinifera L.)*. Austr. J. Grape and Wine Res. 3: 102-108.
- OJEDA H., EARY C., CREABA E., CARBONNEAU A., DELOIRE A., 2002. *Influence of pre- and post veraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of Vitis vinifera var. Shiraz*. Am. J. Enology and Viticulture 53: 261-267.
- OLLÉ D., GUIRAUD J.L., SOUQUET J.M., TERRIER N., AGEORGES A., CHEYNIER V., VERRIES C., 2011. *Effect of pre- and post-veraison water deficit on proanthocyanidin and anthocyanin accumulation during Shiraz berry development*. Austr. J. Grape and Wine Res. 17: 90-100.
- OU C.R., DU X.F., SHELLIE K., ROSS C., QIAN M.C., 2010. *Volatile compounds and sensory attributes of wine from cv. Merlot (Vitis vinifera L.) grown under differential levels of water deficit with or without a kaolin-based, foliar reflectant particle film*. J. Agr. Food Chem. 58: 12890-12898.
- OWEN S.J., LAFOND M.D., BOWEN P., BOGDANOFF C., USHER K., ABRAMS S.R., 2009. *Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (Vitis vinifera) berries*. Am. J. Enology and Viticulture 60: 277-284.
- PEDREIRA DOS SANTOS T., LOPES C.M., RODRIGUES M.L., DE SOUZA C.R., RICARDO-DA-SILVA J.M., MAROCO J.P., PEREIRA J.S., CHAVES M.M., 2007. *Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines*. Sci. Hort. 112: 321-330.
- PETERLUNGER E., CIPRIANI G., MARANGONI B., 1990a. *Root conductivity and gas exchanges of grape rootstocks under water stress*. Proc. 23rd IHC Firenze, August 27 - September 1, vol. 2: 3168.
- PETERLUNGER E., MC LEAN M., FLORE J.A., 1990b. *Effect of crop load and water stress on grapevine carbohydrate partitioning*. Proc. 23rd IHC Firenze, August 27 - September 1, vol. 1: 477.
- PETERLUNGER E., SIVILOTTI P., BONETTO C., PALADIN M., 2002. *Water stress induces changes in polyphenol concentration in Merlot grapes and wines*. Rivista di Viticoltura e di Enologia, 55(1): 51-66.
- PEYROT DES GACHONS C., VAN LEEUWEN K., TOMINAGA T., SOYER J.P., GAUDILLÈRE J.P., DUBOURDIEU D., 2005. *Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of Vitis vinifera L. cv. Sauvignon blanc in field conditions*. J. Sci. Food Agr. 85: 73-85.
- QIAN M.C., FANG Y., SHELLIE K., 2009. *Volatile composition of Merlot wine from different vine water status*. J. Agr. Food Chem. 57: 7459-7463.
- ROBY G., MATTHEWS M.A., 2004. *Relative proportions of seed, skin flesh, in ripe berries from Cabernet Sauvignon grapevines grown in a vineyard either well irrigated or under water deficit*. Austr. J. Grape and Wine Res. 10: 74-82.
- ROBY G., HARBERTSON J.F., ADAMS D.A., MATTHEWS M.A., 2004. *Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: Anthocyanins and tannins*. Austr. J. Grape and Wine Res. 10: 100-107.
- SALON J.L., CHIRIVELLA C., CASTEL J.R., 2005. *Response of cv. Bobal to timing of deficit irrigation in Requena, Spain: water relations, yield, and wine quality*. Am. J. Enology and Viticulture 56: 1-8.
- SCHACHTMAN D.P., GOODGER, J.Q., 2008. *Chemical root to shoot signaling under drought*. Trends in Plant Sci. 13: 281-287.
- SEKI M., UMEZAWA T., URANO K., SHINOZAKI K., 2007. *Regulatory metabolic networks in drought stress responses*. Current Opinion in Plant Biology 10: 296-302.
- SIVILOTTI P., BONETTO C., PALADIN M., PETERLUNGER E., 2005. *Effect of soil moisture availability on Merlot: from leaf water potential to grape composition*. Am. J. of Enology and Viticulture 56: 9-18.
- SMART R.E., COOMBE B.G., 1983. *Water relations in grapevine*. In: Water deficit and plant growth. Vol. VII. Academic Press (London, UK; New York, USA): 136-196.
- SOAR C.J., SPEIRS J., MAFFEI S.M., LOVEYS B.R., 2004. *Gradients in stomatal conductance, xylem sap leaf ABA along canes of Vitis vinifera cv. Shiraz: molecular physiological studies investigating their source*. Functional Plant Biol. 31: 659-669.
- SOAR C.J., SPEIRS J., MAFFEI S.M., PENSROSE A.B., MC CARTHY M.G., LOVEYS B.R., 2006. *Grape vine varieties Shiraz and Grenache differ in their stomatal response to VPD: apparent links with ABA physiology and gene expression in leaf tissue*. Austr. J. Grape and Wine Research 12: 2-12.
- VANDELEUR R.K., MAYO G., SHELDEN M.C., GILLIHAM M., KAISER B.N., TYERMAN S.D., 2009. *The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine*. Plant Physiology 149:445-460.
- VINCENT D., ERGUL A., BOHLMAN M.C., TATTERSALL E.A.R., TILLET R.L., WHEATLEY M.D., WOOLSEY R., QUILICI D.R., JOETS J., SCHLAUCH K., SCHOOLEY D.A., CUSHMAN J.C., CRAMER G.L., 2007. *Proteomic analysis reveals differences between Vitis vinifera L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity*. J. Exp. Bot. 58: 1873-1892.
- WHEELER S., LOVEYS B., FORD C., DAVIES C., 2009. *The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of Vitis vinifera L. berry ripening by abscisic acid*. Austr. J. Grape and Wine Research 15: 195-204.
- WILLIAMS L.E., MATTHEWS M.A., 1990. *Grapevine*. In: Irrigation of Agricultural Crops, Agronomy Series No. 30. Am. Soc. Agronomy (Madison, WI, USA): 1019-1055.