



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO

***This is an author version of the contribution published on:***

*Questa è la versione dell'autore dell'opera:*

Chorti E., Guidoni S., Ferrandino A., Novello V. (2010) **Condizioni microclimatiche e profilo antocianico della cultivar 'Nebbiolo'**, ITALUS HORTUS (ISSN:1127-3496), pp. 54- 60. Vol. 17 suppl. n.3..

***The definitive version is available at:***

*La versione definitiva è disponibile alla URL:*

## CONDIZIONI MICROCLIMATICHE E PROFILO ANTOCIANICO DELLA CULTIVAR ‘NEBBIOLO’

*Evaghelia CHORTI, Silvia GUIDONI\*, Alessandra FERRANDINO, Vittorino NOVELLO.*

Dipartimento di Colture Arboree, Università degli Studi di Torino, Via Leonardo da Vinci 44, 10095 Grugliasco (TO).

\*autore corrispondente: [silvia.guidoni@unito.it](mailto:silvia.guidoni@unito.it), fax.: +39-011-2368659

### **Riassunto**

Si sono valutati gli effetti di modificazioni del microclima termico e luminoso della zona dei grappoli sul contenuto e sul profilo antocianico del ‘Nebbiolo’. Si sono confrontati cinque trattamenti diversi per illuminazione e durata: piante testimoni (T), piante ombreggiate tra allegagione e invaiatura (AI), piante ombreggiate tra allegagione e raccolta (AR), piante ombreggiate tra invaiatura e raccolta (IR), piante sfogliate all’allegagione (SF). La sfogliatura non ha influenzato né il contenuto né il profilo antocianico, forse perché l’effetto favorevole della maggiore PAR è stato contrastato dall’elevata temperatura dei grappoli. L’ombreggiamento ha provocato una diminuzione del contenuto di antociani totali, soprattutto di-idrossilati e un aumento dei tri-idrossilati.

**Parole chiave:** PAR (Radiazione fotosinteticamente attiva), temperatura, ombreggiamento, sfogliatura, maturazione.

### **MICROCLIMATIC CONDITIONS AND ANTHOCYANIN PROFILE OF ‘NEBBIOLO’ GRAPES**

### **Abstract**

Leaf shading delays the anthocyanin accumulation, but has no significant effect on final anthocyanin content. It is generally accepted that cluster shading reduces anthocyanin accumulation. Furthermore, excessively high temperatures can reduce anthocyanin accumulation. The aim of this study was to evaluate the effects of modifications of the bunch-zone microclimate on Nebbiolo grape anthocyanin composition. During 2006 and 2007, five exposure levels were assigned to fruit-zone by means of leaf removal or the application of shading nets: vines exposed to a natural shading throughout the experimental season (control, T), fruit-zone shaded vines from fruit-set to veraison (AI), fruit-zone shaded vines from fruit-set to harvest (AR), fruit-zone shaded vines from veraison to harvest (IR) and fruit-zone leaf-removed vines at fruit-set (SF). Leaf removal did not alter either the total anthocyanin content or the anthocyanin profile. Fruit-zone artificial shading reduced total anthocyanin and di-substituted anthocyanin contents and increased tri-substituted anthocyanin content in comparison with control vines. It seems that natural shading gave the best results as to the parameters studied in this experiment. Results confirm that temperature, together with solar radiation, can influence the anthocyanin total amount and profile.

**Key words:** *Photosynthetic active radiation (PAR), temperature, shading, leaf-removal, ripening.*

### **INTRODUZIONE**

L’ombreggiamento della chioma ritarda l’accumulo degli antociani nelle bucce ma non ha alcun effetto significativo sul loro contenuto finale (Rojas-Lara e Morrison, 1989). Invece, è generalmente accettato che l’ombreggiamento del grappolo possa contenere l’accumulo degli antociani (Gao e Cahoon, 1994; Haselgrove *et al.*, 2000; Bergqvist *et al.*, 2001; Jeong *et al.*, 2004) e influenzarne il profilo (Keller e Hrazdina 1998). Questo concorda con le osservazioni di Dokoozlian e Kliewer (1996), i quali hanno suggerito l’ipotesi che, per una massima produzione di pigmenti nelle bucce, sia necessaria

l'esposizione dei grappoli alla luce prima dell'invasatura. Diversi studi concordano sul fatto che temperature eccessivamente elevate, quali quelle derivate dall'esposizione diretta dei grappoli alla luce, soprattutto in zone o stagioni a clima più caldo, possono ridurre l'accumulo degli antociani nelle bucce (Haselgrove *et al.*, 2000; Bergqvist *et al.*, 2001; Spayd *et al.*, 2002; Mori *et al.*, 2005; Yamane *et al.*, 2006) e influenzarne il profilo (Mori *et al.*, 2007).

L'obiettivo di questo lavoro è stato di valutare gli effetti di mutate condizioni del microclima termico e luminoso dei grappoli sull'evoluzione del profilo antocianico delle uve 'Nebbiolo'.

## **MATERIALI E METODI**

La sperimentazione è stata condotta negli anni 2006-2007 sulla cultivar 'Nebbiolo'. Il vigneto, in cui è stata realizzata la prova nel 2006, impiantato nel 1996, è situato a Vignane (Barolo, CN), su una collina esposta ad Ovest con pendenza del 40 %. Le piante sono allevate a controspalliera con potatura Guyot, le distanze di impianto sono 2,30 x 0,80 m, e l'altezza della parete fogliare è di 1,50 m. Nel 2007, a seguito di un forte attacco di nottua nel vigneto di Vignane, la sperimentazione è stata effettuata nella località Valmaggione (Veza d'Alba, CN) in un vigneto impiantato nel 1999 con pendenza intorno al 100 %, esposizione Ovest e distanze d'impianto 1,30 x 0,98 m. Forma di allevamento e altezza della parete fogliare erano come nel vigneto di Vignane. I trattamenti eseguiti sulle piante in prova (12 per ogni ripetizione per tre ripetizioni per tesi) sono stati:

- piante testimoni, con ombreggiamento naturale (T);
- piante ombreggiate tra post allegazione (BBCH 73) e invasatura (BBCH 81) (AI);
- piante ombreggiate tra invasatura (BBCH 81) e raccolta (BBCH 89) (IR);
- piante ombreggiate tra post allegazione (BBCH 73) e raccolta (BBCH 89) (AR);
- piante sfogliate in post allegazione (BBCH 73) (SF), esponendo totalmente i grappoli alla luce.

L'ombreggiamento è stato ottenuto in entrambi gli anni sperimentali applicando sulla fascia produttiva e sui due lati del filare una rete ombreggiante di 1 m di altezza. La rete, applicata in doppio strato, era costituita da un polimero PE HD stabilizzato UV dal peso di 50 g m<sup>-2</sup> a maglie rettangolari di 0.5 cm e presentava un fattore di ombreggiamento del 16 %.

Ai fini di monitorare le condizioni microclimatiche della maturazione sono state registrate la temperatura degli acini nelle diverse condizioni di esposizione mediante sensori ipodermici a termocoppia (TC6-T Thermocouple) collegati a *data logger* (HOBO H12) e la radiazione fotosinteticamente attiva (PAR) totale e quella che raggiungeva i grappoli nelle diverse condizioni di ombreggiamento. La PAR è stata misurata mediante sensori (S-LIA-M003) collegati a *data logger* (HOBO H 21-002) posizionati sul filo di banchina all'interno della vegetazione. Sensori e *data logger* sono prodotti dalla ditta Onset (Pocasset, MA). I valori di temperatura e di PAR sono stati elaborati per ottenere l'andamento della temperatura e della PAR nel "giorno tipo", calcolando la media aritmetica delle medie orarie dei giorni tra l'invasatura e la raccolta. Dall'invasatura in poi e ogni due settimane sono stati prelevati campioni di acini dei diversi trattamenti per la determinazione degli antociani delle bucce per HPLC (Di Stefano e Maggiorotto, 1995).

L'estrazione degli antociani dalle bucce, separate dalla polpa, è avvenuta immergendole immediatamente in una soluzione contenente metanolo e HCl 12N, 99:1 v/v (Revilla *et al.*, 1998). L'estrazione è stata completata con passaggio in stufa a 30 °C per 72 ore.

Tutti i dati sono stati analizzati per mezzo di analisi della varianza univariata (SAS, SAS Institute, Cary), testando le differenze tra le medie per mezzo del test di Tukey.

## **RISULTATI**

Il 2007 è stata un'annata precoce rispetto al 2006: le temperature invernali e primaverili più elevate hanno provocato un notevole anticipo del germogliamento (18 giorni), mentre fioritura e vendemmia hanno anticipato di circa 6 giorni. L'elevata e inusuale ventosità anche durante il periodo finale della maturazione ha provocato parziale disidratazione degli acini nelle piante T, SF e AI i cui acini hanno perso rispettivamente il 12,7 %, il 10,4 % e il 4,2 % del peso, mentre lo stesso fatto non si è verificato nel caso dei trattamenti ombreggiati (AR e IR) grazie, probabilmente, alla presenza della rete che ha mantenuto una maggiore umidità nella zona fruttifera. La produzione delle piante sfogliate ha riportato notevoli danni da bruciature.

**Temperatura degli acini e quantificazione della PAR.** Nel 2006, la temperatura degli acini delle piante SF è stata simile a quella degli acini delle piante T, mentre quella degli acini del trattamento AR è risultata leggermente più bassa rispetto a T durante le ore più calde della giornata e cioè dalle 11:00 alle 18:00 (fig. 1). Nel 2007 in tutte le tesi, la temperatura media degli acini è stata più elevata rispetto all'anno precedente; infatti nel 2006 non ha quasi mai superato i 30 °C, mentre nel 2007 i valori medi orari hanno anche raggiunto i 37 °C durante il pomeriggio. L'innalzamento della temperatura dell'aria nel 2007 ha determinato anche l'incremento delle differenze tra i trattamenti, fino a 3 °C durante le ore più calde (fig. 1).

La radiazione fotosinteticamente attiva (PAR) a cui erano esposti gli acini, è risultata significativamente maggiore per il trattamento SF rispetto al trattamento AR in entrambi gli anni (fig. 2). Invece, la PAR alla quale sono stati esposti gli acini del testimone nel 2006 è risultata più bassa e nel 2007 leggermente più alta rispetto alla PAR del trattamento SF.

### **Antociani**

**Anno sperimentale 2006.** Per quanto riguarda gli antociani totali, non sono state rilevate differenze statisticamente significative tra i diversi trattamenti per tutto il processo di maturazione, tranne che per il caso del trattamento IR in cui l'accumulo di questi composti, immediatamente dopo l'applicazione dell'ombreggiamento, ha avuto un rallentamento rispetto al testimone e al trattamento AI, forse come risposta all'applicazione dell'ombreggiamento stesso (tab. 1). L'accumulo è però ripreso con un ritmo maggiore rispetto agli altri trattamenti anche se la concentrazione finale non è risultata significativamente diversa. Relativamente al profilo antocianico, il rapporto antociani di-idrossilati/antociani tri-idrossilati alla raccolta è risultato inferiore a quello del testimone per tutti i trattamenti eccetto che per il trattamento AI (tab. 1) a causa di una concentrazione maggiore di antociani tri-idrossilati e minore di antociani di-idrossilati. L'ombreggiamento post invaiatura (IR) ha bloccato temporaneamente, a 28 giorni dall'invaiatura (dpv), l'accumulo degli antociani e, in particolare, quello della peonidina-3-glucoside e della cianidina-3-glucoside; la loro sintesi è però ripresa in misura anche maggiore di quella riscontrata per gli altri trattamenti. Il contenuto totale in antocianine acilate (tab. 1) è risultato statisticamente inferiore per le piante ombreggiate, rispetto al testimone, solo nelle prime fasi di osservazione.

**Anno sperimentale 2007.** Il contenuto in antociani totali alla raccolta, per tutti i trattamenti è risultato inferiore rispetto al 2006 (tab. 2); fin dall'invaiatura l'ombreggiamento ha influenzato in modo negativo l'accumulo degli antociani totali, mentre la sfogliatura ha determinato un momentaneo anticipo della sintesi e un incremento del rapporto antociani di-idrossilati/tri-idrossilati rispetto al testimone (differenza significativa solo a 32 dpv) dovuto, contrariamente alla stagione precedente, alla diminuzione della percentuale di antociani tri-sostituiti e all'incremento di quella dei di-sostituiti, anche se le differenze non sono quasi mai risultate significative. L'ombreggiamento precoce (AI e AR) non ha modificato significativamente questo rapporto rispetto al testimone, se non a 20 dpv, ma ha provocato una diminuzione tendenziale del suo valore, in quanto, come successo anche nell'anno precedente, ha

depresso la produzione della cianidina-3-glucoside e della peonidina-3-glucoside. Da notare che, alla raccolta, anche se con concentrazioni minori rispetto agli altri trattamenti, il peso percentuale della malvidina-3-glucoside nelle piante ombreggiate AI e AR è stato significativamente superiore sia rispetto al testimone sia alle piante sfogliate. L'ombreggiamento tardivo (IR) ha depresso la sintesi degli antociani più di quanto non abbia fatto quello precoce ma senza modificare i rapporti fra le classi di composti. La composizione percentuale delle antocianine acilate ha raggiunto i valori maggiori nelle piante AR e quelle inferiori nelle piante SF anche se non sempre le differenze sono state significative. Le differenze hanno riguardato, in particolare, l'acilazione con l'acido p-cumarico (dati non mostrati) in accordo con altri studi (Spayd *et al.*, 2002; Downey *et al.*, 2004).

## DISCUSSIONE

A circa 30 °C diversi processi metabolici della vite si fermano o rallentano notevolmente e con temperature superiori ai 30 °C, (Spayd *et al.*, 2002; Yamane *et al.*, 2006) l'accumulo netto degli antociani nelle bucce verrebbe limitato, anche se non è ancora del tutto noto quali siano realmente questi limiti e se possano dipendere anche dal vitigno (Tarara *et al.*, 2008). Il minor accumulo di antociani registrato per tutti i trattamenti nel 2007 rispetto al 2006, potrebbe essere stato il risultato delle più elevate temperature degli acini che hanno superato i 30 °C per diverse ore durante il giorno, indipendentemente dal trattamento (fig. 1).

Anche se la maggior parte degli studi concorda sul fatto che un'elevata esposizione del grappolo alla luce consente una maggiore sintesi di antociani (Rojas-Lara e Morrison, 1989; Morrison e Noble, 1990; Gao e Cahoon, 1994; Dokoozlian e Kliever, 1996; Haselgrove *et al.*, 2000; Bergqvist *et al.*, 2001; Spayd *et al.*, 2002; Jeong *et al.*, 2004) altri hanno evidenziato come la sintesi degli antociani non sia così strettamente dipendente dalla luce (Downey *et al.*, 2004). La sfogliatura, pur incrementando la radiazione solare sui grappoli, non ha modificato la concentrazione di antociani nelle bucce rispetto al testimone. Ciò probabilmente a causa delle elevate temperature raggiunte dagli acini che potrebbero aver attenuato gli effetti positivi della maggiore esposizione dei grappoli, confermando che l'accumulo degli antociani è influenzato più dalla temperatura che dall'esposizione alla luce (Spayd *et al.*, 2002; Mori *et al.*, 2005; Tarara *et al.*, 2008). È stato, infatti, sottolineato che, oltre 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  di PAR, l'effetto della luce sulla sintesi degli antociani dipende da quanto, in conseguenza dell'aumento dell'esposizione, aumenta la temperatura degli acini (Bergqvist *et al.*, 2001). Per quanto attiene la sperimentazione descritta, l'esposizione dei grappoli di piante testimoni e sfogliate, soprattutto nel 2007, ha raggiunto o superato i livelli di PAR di 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  per parecchie ore durante il giorno (Fig. 2), raggiungendo, contemporaneamente, livelli di temperatura molto al di sopra delle soglie precedentemente descritte (fig. 1). Nel 2006 la PAR è stata inferiore a quella registrata nel 2007, risultando per le piante testimoni mediamente intorno alle 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e per quelle ombreggiate ben al di sotto di questi valori (Fig. 2); contestualmente la temperatura degli acini non ha quasi superato i 30 °C. Poiché la concentrazione antocianica delle piante ombreggiate non è stata diversa da quella del testimone o delle piante sfogliate, è ipotizzabile che le condizioni di illuminazione e di temperatura, se pur apparentemente limitate, siano state sufficienti per la sintesi degli antociani. Inoltre, poiché le concentrazioni di tali composti sono state più elevate nel 2006 rispetto al 2007, parrebbe anche che tale situazione microclimatica sia stata migliore al fine dell'ottenimento di una maggiore colorazione delle uve. Nel 2007, l'ombreggiamento per mezzo di reti ha depresso la produzione di antociani fin dall'inizio delle osservazioni e indipendentemente dalla fase in cui era stato applicato; ciò concorderebbe con studi che hanno messo in luce che l'illuminazione ridotta può essere

un fattore limitante per l'accumulo degli antociani (Rojas-Lara e Morrison, 1989; Gao e Cahoon, 1994; Dokoozlian e Kliewer, 1996; Haselgrove *et al.*, 2000; Bergqvist *et al.*, 2001; Spayd *et al.*, 2002; Jeong *et al.*, 2004), se non fosse che nell'anno 2006, con valori di PAR inferiori, sono stati raggiunti livelli di antociani superiori, confermando che la luce può non essere una necessità assoluta per il completamento della sintesi degli antociani nell'uva (Downey *et al.*, 2004) e che questa possa venir compromessa solo quando la bassa intensità luminosa sia abbinata a temperature al di sopra (Tarara *et al.*, 2008) o al di sotto dei livelli ottimali per la sintesi.

Poiché nel 2007, nelle uve delle piante sfogliate e di quelle testimoni è stato raggiunto un ammontare antocianico superiore a quello delle uve delle piante ombreggiate pur sollecitate da temperature superiori e, per le piante sfogliate, anche da maggiore intensità luminosa, sembrerebbero possibili altri tipi di interazioni fra luce e temperatura non facilmente evidenziabili con i dati in nostro possesso quali, per esempio, un'azione non deprimente della temperatura elevata se abbinata ad alte intensità luminose.

In entrambi gli anni sperimentali, l'ombreggiamento ha indotto una diminuzione del contenuto degli antociani di-idrossilati e un aumento del contenuto della malvidina-3-glucoside specialmente nelle piante AR (tab. 1 e 2). Questo risultato è in contrasto con quanto osservato da altri (Spayd *et al.* 2002; Downey *et al.* 2004; Cortell e Kennedy 2006; Ristic *et al.* 2007), ma in accordo con studi da cui si evince che a parità di temperatura, uve provenienti da piante ombreggiate presentano un profilo antocianico con minore presenza di antociani di-idrossilati (Tarara *et al.*, 2008). È stato anche riferito, però, che con temperature diurne più basse il profilo antocianico presenta una maggiore proporzione di di-idrossilati (Cohen *et al.*, 2008). L'insieme di questi studi sembra indicare che radiazione solare e temperatura, possano influenzare, in particolare, la sintesi degli antociani di-idrossilati. Maggiore sensibilità dell'enzima F3'H, idrossilasi che porta alla biosintesi delle antocianine di-idrossilate alle condizioni ambientali era già stata ipotizzata in un altro lavoro riguardante il Nebbiolo (Guidoni *et al.*, 2007). Infine, è stato ipotizzato anche che l'effetto dell'ombreggiamento e delle alte temperature sull'accumulo degli antociani dipenda anche dalla cultivar in quanto alcune sono poco o niente affatto sensibili mentre altre lo sono maggiormente (Kliewer e Torres, 1972; Spayd *et al.*, 2002; Downey *et al.*, 2004). Le cultivar più sensibili potrebbero essere proprio quelle in cui sono presenti elevate percentuali di antocianine di-idrossilate, come in Nebbiolo.

La complessità dell'interazione fra luce e temperatura può anche manifestarsi sulla sintesi delle antocianine acilate. È stato ipotizzato che le alte temperature possano avere effetto sull'attività dell'enzima antocian acetil transferasi (AAT), responsabile della reazione di acilazione come si evince dal mutevole effetto dell'annata su questo parametro (Spayd *et al.*, 2002; Downey *et al.*, 2004).

## CONCLUSIONI

In due annate climaticamente diverse l'uso delle reti ombreggianti ha abbassato l'intensità di illuminazione ma non ha abbassato la temperatura degli acini posizionati al di sotto. La sfogliatura della fascia produttiva ha provocato rilevanti danni da bruciature sui grappoli, causando un tale decadimento quantitativo della produzione da non giustificare l'applicazione ai fini di migliorare la colorazione dell'uva. L'ombreggiamento naturale, ottenuto con la copertura delle foglie, ha dato, in entrambi gli anni, le risposte più apprezzabili. I risultati hanno confermato che la temperatura, interagendo con la radiazione solare può influenzare il livello quantitativo degli antociani e i rapporti tra le singole molecole anche se non è del tutto chiaro quali siano le sinergie tra questi due parametri.

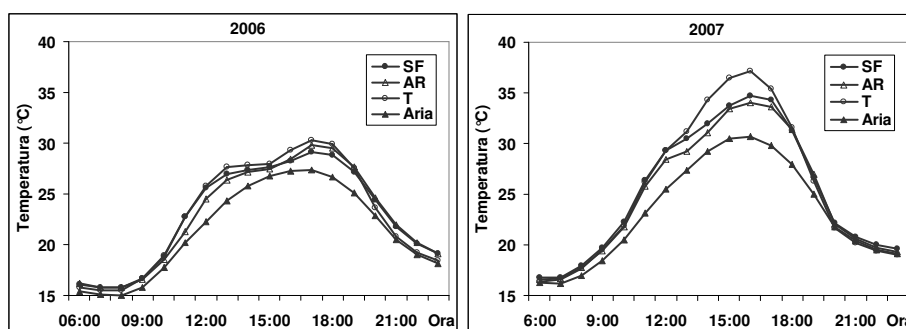
## BIBLIOGRAFIA

- BERGQVIST J., DOKOOZLIAN N., EBISUDA N., 2001. *Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of 'Cabernet Sauvignon' and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California*. Am. J. Enol. Vitic., 52: 1-7.
- COHEN S.D., TARARA J.M., KENNEDY J.A., 2008. *Assessing the impact of temperature on grape phenolic metabolism*. Analytica Chimica Acta, 621 (1): 57-67.
- CORTELL J.M., KENNEDY J.A., 2006. *Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (Vitis vinifera L.) Pinot noir fruit and extraction in a model system*. J. Agric. Food Chem., 54: 8510-8520.
- DI STEFANO R., MAGGIOROTTO G., 1995. *Antociani, acidi idrossicinnamiltartarici e flavonoli del frutto, delle foglie, dei raspi e dei tralci della vite*. Riv. Vitic. Enol., 12: 51-65.
- DOKOOZLIAN N.K., KLIEWER W.M., 1996. *Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 121: 869-874.
- DOWNEY M.O., HARVEY J.S., ROBINSON S.P., 2004. *The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation on 'Shiraz' grapes*. Austr. J. Grape Wine Res., 10: 55-73.
- GAO Y., CAHOON G.A., 1994. *Cluster shading effects on fruit quality, fruit skin color, and anthocyanin content and composition in Reliance (Vitis hybrid)*. Vitis, 33: 205-209.
- GUIDONI S., FERRANDINO A., NOVELLO V., 2008. *Climate and agronomical practice effects on anthocyanin accumulation in cv. 'Nebbiolo' (Vitis vinifera L.) Berries*. Am.J.Enol.Vitic., 59: 22-29.
- HASELGROVE L., BOTTING D., VAN HEESWIJCK R., HØI P.B., DRY P.R., FORD C., ILAND P.G., 2000. *Canopy microclimate and berry composition: the effect of bunch exposure on the phenolic composition of Vitis vinifera L cv. Shiraz grape berries*. Austr. J. Grape Wine Res. 6: 141-149.
- JEONG S. T., GOTO-YAMAMOTO N., KOBAYASHI S., ESAKA M., 2004. *Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins*. Plant Sci. 167: 247-252.
- KELLER M., HRAZDINA G., 1998. *Interaction of Nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening*. Am. J. Enol. Vitic., 3: 341-349.
- KLIEWER W.M., 1970. *Effects of day temperature and light intensity on coloration of Vitis vinifera L. grapes*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 95: 693-697.
- KLIEWER W.M., TORRES R.E., 1972. *Effect of controlled day and night temperatures on grape coloration*. Am. J. Enol. Vitic., 23: 71-77.
- MORI K., SUGAYA S., GEMMA H., 2005. *Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition*. Sci. Hortic., 105: 319-330.
- MORI K., GOTO-YAMAMOTO N., KITAYAMA M., HASHIZUME K., 2007. *Effect of high temperature on anthocyanin composition and transcription of flavonoid hydroxylase genes in 'Pinot noir' grapes (Vitis vinifera)*. J. Hort. Sci. Biotech., 82 (2): 199-206.
- REVILLA E., RYAN J.M., MARTÍN-ORTEGA G., 1998. *Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes*. J. Agric. Food Chem., 46: 4592-4597.
- ROJAS-LARA B.A., MORRISON J.C., 1989. *Differential effects of shading fruit or foliage on the development and composition of grape berries*. Vitis, 28: 199-208.

SPAYD S.E., TARARA J.M., MEE D.L., FERGUSON J.C., 2002. *Separation of sunlight and temperature effects on the composition of Vitis vinifera cv Merlot berries*. Am. J. Enol. Vitic., 53: 171-182.

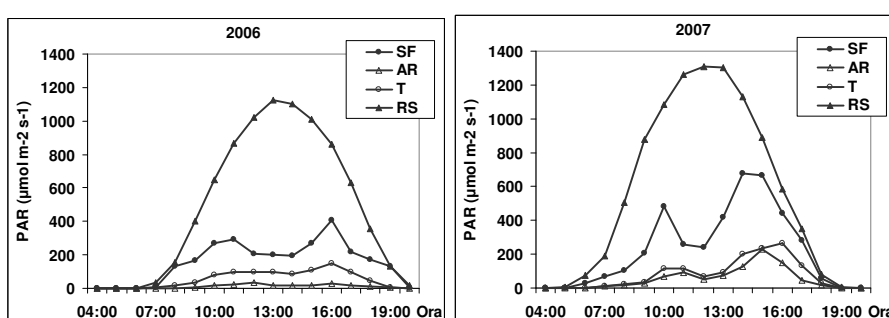
TARARA J.M., LEE J., SPAYD S.E., SCAGEL C.F., 2008. *Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin Merlot grapes*. Am. J. Enol. Vitic., 59: 235-247.

YAMANE T., JEONG S. T., GOTO-YAMAMOTO N., KOSHITA Y., KOBAYASHI S., 2006. *Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins*. Am. J. Enol. Vitic., 57: 54-59.



**Fig. 1.** Temperatura media oraria degli acini calcolata nel periodo tra invaiatura e raccolta nel 2006 e nel 2007 confrontata con la temperatura dell'aria (SF = piante sfogliate; AR = ombreggiamento tra allegagione e raccolta, T = piante testimoni). La temperatura oraria riportata è stata calcolata mediando la temperatura, ora per ora, di ognuno dei giorni del periodo di riferimento.

**Fig. 1.** Typical diurnal pattern of berry average temperatures as influenced by different shading conditions in comparison with air temperature during the period between veraison and harvest in 2006 and 2007 (SF = leaf-removed vines; AR = artificially shaded-vines from fruit-set to harvest; T = control vines; aria = air). The hourly temperature was calculated averaging daily temperature values, hour by hour, of each day during the period between veraison and harvest.



**Fig. 2.** Radiazione fotosinteticamente attiva (PAR) del giorno 'tipo' (media oraria) del periodo compreso tra invaiatura e raccolta nel 2006 (54 giorni) e nel 2007 (47 giorni). (RS = Radiazione solare; SF = piante sfogliate; AR = ombreggiamento tra allegagione e raccolta, T = piante testimoni).

**Fig. 2.** Typical pattern of hourly photosynthetically active radiation (PAR), from veraison to harvest in 2006 (54 days) and 2007 (47 days). (RS = Solar radiation; SF = leaf-removed vines; AR = shading from fruit-set to harvest; T = control).



**Tab. 1.** Concentrazione dei singoli antociani e degli antociani totali (**IAT**), profilo antocianico delle bucce (%), concentrazione delle antocianine acilate (**acilate**) e rapporto tra gli antociani di e tri-idrossilati (**di/tri**) nell'anno sperimentale 2006. A parità di giorni dall'invasatura (**dpv**), valori affiancati da lettere differenti sono statisticamente diversi per  $P \leq 0.05$ . **df:** delphinidina-3-glucoside; **cy:** cianidina-3-glucoside; **pt:** petunidina-3-glucoside; **pn:** peonidina-3-glucoside; **mv:** malvidina-3-glucoside.

**Tab. 2.** Individual and total skin anthocyanin concentration (**IAT**), skin anthocyanin profile (%), acylated anthocyanin concentration (**acilate**) and di-hydroxylated/tri-hydroxylated (**di/tri**) anthocyanin ratio in 2006. At the same **dpv** (days post-veraison), values followed by different letters are statistically different for  $P \leq 0.05$ . **df:** delphinidin-3-glucoside; **cy:** cyanidin-3-glucoside; **pt:** petunidin-3-glucoside; **pn:** peonidin-3-glucoside; **mv:** malvidin-3-glucoside.

dpv	Tesi	antocianine libere (mg/kg uva)					IAT	antocianine libere (%)					di/tri		
		df	cy	pt	pn	mv	acilate	mg/kg	df	cy	pt	pn		mv	acilate
14	T	26.7 a	99.0 a	20.5 a	215 a	73 a	25.1 a	459 a	5.71 a	21.4 ab	4.45 a	46.9 a	16.1 ab	5.50 a	2.60 a
14	SF	28.0 a	96.4 a	19.5 a	185 a	63 a	19.7 a	411 a	6.83 a	23.5 a	4.74 a	44.9 a	15.3 b	4.78 ab	2.61 a
14	AI	23.0 a	67.8 a	18.1 a	177 a	76 a	16.3 a	378 a	6.18 a	18.1 ab	4.79 a	46.7 a	20.0 ab	4.26 b	2.22 a
14	AR	23.8 a	65.5 a	19.8 a	182 a	87 a	19.1 a	397 a	5.96 a	16.4 b	4.97 a	45.9 a	22.0 a	4.78 ab	1.93 a
14	IR	21.5 a	84.6 a	16.6 a	170 a	59 a	18.6 a	371 a	5.77 a	22.8 a	4.46 a	46.1 a	16.1 ab	5.05 ab	2.66 a
28	T	41.2 a	115.1 a	33.4 a	358 a	156 a	45.4 a	749 a	5.50 b	15.3 a	4.46 b	47.7 a	20.9 b	6.07 a	2.04 a
28	SF	47.3 a	98.2 ab	36.5 a	269 ab	158 a	38.8 ab	647 ab	7.34 a	15.0 a	5.68 a	41.4 b	24.6 ab	6.01 a	1.57 ab
28	AI	47.5 a	107.6 ab	37.8 a	358 a	168 a	44.2 a	763 a	6.21 b	14.1 a	4.95 ab	46.9 a	22.0 b	5.79 ab	1.83 ab
28	AR	44.9 a	91.6 ab	36.6 a	332 ab	173 a	37.3 ab	715 ab	6.28 ab	12.8 a	5.13 ab	46.4 a	24.1 ab	5.21 b	1.69 ab
28	IR	35.1 a	65.2 b	29.3 a	230 b	164 a	33.3 b	556 b	6.28 ab	11.6 a	5.25 ab	41.2 b	29.7 a	5.98 a	1.31 b
42	T	35.2 b	82.3 a	27.1 b	290 a	143 a	51.5 a	629 a	5.51 b	12.8 ab	4.26 c	46.2 a	22.9 a	8.23 a	1.81 a
42	SF	57.8 a	100.7 a	43.5 a	313 a	191 a	61.4 a	767 a	7.53 a	13.2 ab	5.67 a	40.8 b	24.8 a	7.98 a	1.44 a
42	AI	39.6 b	73.7 a	33.2 ab	342 a	179 a	60.7 a	728 a	5.43 b	10.1 b	4.56 bc	46.9 a	24.7 a	8.36 a	1.65 a
42	AR	40.7 b	70.9 a	33.3 ab	301 a	178 a	60.1 a	684 a	5.95 b	10.4 b	4.86 b	44.0 ab	26.0 a	8.75 a	1.50 a
42	IR	46.6 ab	104.9 a	35.5 ab	330 a	160 a	64.6 a	742 a	6.28 b	14.1 a	4.78 bc	44.5 ab	21.6 a	8.71 a	1.78 a
54	T	43.4 b	109.1 a	35.4 b	408 a	176 a	56.4 a	829 a	5.27 b	13.2 a	4.28 b	49.2 a	21.2 b	6.79 a	2.03 a
54	SF	53.2 a	96.4 a	42.9 a	341 a	205 a	38.7 a	796 a	6.69 a	12.1 ab	5.39 a	42.8 a	25.7 ab	4.86 a	1.47 b
54	AI	43.7 b	93.6 a	37.6 ab	402 a	200 a	61.5 a	838 a	5.21 b	11.2 ab	4.48 b	48.0 a	23.8 ab	7.34 a	1.78 ab
54	AR	42.8 b	80.2 a	38.2 ab	370 a	212 a	61.8 a	805 a	5.33 b	9.9 b	4.77 ab	45.9 a	26.4 a	7.66 a	1.56 b
54	IR	44.6 ab	88.3 a	37.4 ab	341 a	203 a	62.0 a	775 a	5.75 ab	11.4 ab	4.82 ab	43.9 a	26.1 ab	7.99 a	1.54 b

**Tab. 2.** Concentrazione dei singoli antociani e degli antociani totali (**IAT**), profilo antocianico delle bucce (%), concentrazione delle antocianine acilate (**acilate**) e rapporto tra gli antociani di e tri-idrossilati (**di/tri**) nell'anno sperimentale 2007. Vedi tabella 2 per legenda.

**Tab. 3.** Individual and total skin anthocyanin concentration (**IAT**), skin anthocyanin profile (%), acylated anthocyanin concentration (**acilate**) and di-hydroxylated/tri-hydroxylated (**di/tri**) anthocyanin ratio in 2007. See Table 2 for key legend.

dpv	Tesi	antocianine libere (mg/kg uva)					IAT		antocianine libere (%)					di/tri	
		df	cy	pt	pn	mv	acilate	mg/kg	df	cy	pt	pn	mv		acilate
5	T	10.7 a	33.5 b	8.6 a	72 b	33 a	13.6 b	171 b	6.23 a	19.6 ab	5.03 b	41.9 ab	19.3 ab	7.92 ab	2.01 ab
5	SF	17.1 a	69.8 a	12.4 a	124 a	43 a	19.2 b	286 a	5.94 a	24.1 a	4.32 c	43.5 a	15.4 b	6.73 b	2.69 a
5	AR	9.4 a	17.0 b	7.5 a	45 b	39 a	12.0 b	130 b	7.13 a	12.5 b	5.76 a	33.9 b	31.2 a	9.51 a	1.14 b
20	T	24.1 a	88.3 a	19.5 a	202 a	82 a	38.7 a	455 a	5.29 b	19.4 a	4.28 c	44.5 a	18.1 c	8.5 ab	2.26 a
20	SF	26.8 a	89.0 a	20.9 a	205 a	86 a	38.4 a	466 a	5.75 ab	19.1 a	4.47 bc	44.0 a	18.4 c	8.3 b	2.16 a
20	AI	22.2 ab	50.3 b	18.9 a	138 b	95 a	33.4 ab	358 b	6.20 a	14.1 b	5.29 ab	38.4 b	26.7 b	9.4 a	1.38 b
20	AR	16.6 b	23.1 c	15.2 a	85 c	91 a	23.8 c	254 c	6.50 a	9.1 c	5.97 a	33.4 c	35.7 a	9.4 a	0.92 b
20	IR	22.4 ab	66.6 b	17.5 a	155 b	76 a	29.1 bc	366 b	6.09 ab	18.2 a	4.73 bc	42.4 ab	20.6 c	7.9 b	1.96 a
32	T	30.5 a	63.1 ab	26.4 a	206 ab	135 a	55.4 a	516 a	5.91 a	12.1 abc	5.12 a	39.8 ab	26.3 abc	10.7 b	1.38 bc
32	SF	26.3 ab	84.3 a	21.3 b	221 a	93 b	48.1 ab	494 a	5.33 a	17.1 a	4.32 a	44.7 a	18.8 c	9.7 b	2.08 a
32	AI	24.8 ab	39.8 bc	22.1 ab	146 bc	120 ab	41.8 b	396 b	6.26 a	9.8 bc	5.61 a	36.7 bc	30.7 ab	10.6 b	1.15 bc
32	AR	23.4 b	31.6 bc	21.5 b	127 c	129 a	47.0 ab	378 b	6.18 a	8.4 c	5.67 a	33.5 c	33.8 a	12.4 a	0.94 c
32	IR	27.6 ab	63.6 ab	22.9 ab	180 abc	107 ab	45.0 b	446 ab	6.21 a	14.2 ab	5.15 a	40.2 ab	24.2 bc	10.1 b	1.55 ab
47	T	33.2 a	83.4 ab	28.4 a	257 a	142 a	71.0 a	615 a	5.40 a	13.5 ab	4.61 ab	41.8 a	23.1 c	11.6 a	1.65 ab
47	SF	30.6 a	102.5 a	26.1 a	266 a	117 a	63.6 ab	606 a	5.05 a	16.9 a	4.31 b	44.0 a	19.3 c	10.5 a	2.06 a
47	AI	29.0 a	43.7 c	28.1 a	191 b	155 a	59.1 ab	506 b	5.74 a	8.6 cd	5.55 a	37.7 a	30.7 ab	11.7 a	1.13 b
47	AR	25.6 a	36.0 c	25.0 a	177 b	158 a	59.0 ab	482 b	5.32 a	7.5 d	5.19 ab	36.9 a	32.8 a	12.2 a	1.05 b
47	IR	26.0 a	58.9 bc	23.0 a	198 b	115 a	55.0 b	477 b	5.45 a	12.4 bc	4.83 ab	41.7 a	24.1 bc	11.5 a	1.64 ab