

EFEITO BENÉFICO DO CAULINO NO COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DAS VIDEIRAS E NA COMPOSIÇÃO FENÓLICA DAS UVAS

Lia-Tânia DINIS⁽¹⁾, Sara BERNARDO⁽¹⁾, Helena FERREIRA⁽¹⁾, Igor GONÇALVES⁽²⁾, Virgílio FALCO⁽³⁾, Aureliano MALHEIRO⁽¹⁾, Carlos CORREIA⁽¹⁾, José MOUTINHO-PEREIRA⁽¹⁾

Resumo

O sector vitivinícola tem uma importância económica, social e cultural crucial em Portugal, nomeadamente em muitas regiões do interior do país como é o caso do Alto Douro Vinhateiro, a mais antiga região vitícola regulamentada no mundo. Com verões muito quentes e secos, típico de um clima mediterrânico, é fundamental a utilização de medidas de adaptação de curto-prazo para minimizar esses stresses, como por exemplo a aplicação de caulino, como agente refletor da radiação incidente nas folhas. Num estudo, desenvolvido na Quinta do Vallado (Régua), foi aplicado caulino (Surround[®]) a 5%, no início do período estival, em videiras da casta Touriga Nacional. Os resultados obtidos em 2012 e 2013 permitiram constatar uma redução significativa da temperatura foliar e uma melhoria do potencial hídrico e da atividade fotossintética nas folhas com caulino, em estreita associação com um menor grau de stresse oxidativo, a atestar pela maior concentração de pigmentos fotossintéticos e menor grau de peroxidação lipídica. Em termos de metabolitos primários e secundários, foi notório um aumento de concentração de açúcares solúveis e proteínas solúveis naquelas folhas e uma redução da concentração de fenóis totais. Já em 2014, numa análise efetuada nos frutos, constatou-se que os bagos das videiras tratadas com caulino apresentaram maior quantidade de fenóis, flavonóides e antocianinas. Em conclusão, este estudo revelou que o caulino poderá constituir uma estratégia expedita e de baixo custo para proteger as videiras durante períodos de stresse estival mais severo, potenciando uma melhoria de qualidade das uvas.

Palavras-chave: *Vitis vinifera*, bioquímica, fisiologia, Região do Douro

INTRODUÇÃO

Em consequência das alterações climáticas, é cada vez mais consensual que o clima estival das regiões vitícolas mediterrânicas, como é o caso do Douro Vinhateiro, já de si normalmente quente e seco (Malheiro, 2005), se torne ainda mais árido (Fraga et al., 2014) originando enormes alterações na adaptabilidade das castas e na qualidade e tipicidade dos vinhos produzidos. Em Portugal, onde predominam regiões com essas características climáticas, a vinha é uma cultura de extrema importância social, económica e cultural, assumindo-se cada vez mais como uma das principais alavancas de desenvolvimento do país. Contudo, as ameaças decorrentes das alterações climática

⁽¹⁾Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801 Vila Real, Portugal, correio eletrónico: liatdinis@utad.pt; sara.sbern@gmail.com; helenaf@utad.pt; amalheir@utad.pt; ccorreia@utad.pt; moutinho@utad.pt.

⁽²⁾Associação para o Desenvolvimento da Viticultura Duriense, 5050-106 Godim, Portugal.

⁽³⁾Centro de Química-Vila Real (CQVR), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801 Vila Real, Portugal, correio eletrónico: vfalco@utad.pt.

e a gestão dos recursos naturais cada vez mais responsável e mais amiga do ambiente (recursos hídricos, conservação do solo, biodiversidade) obrigam a que o sector implemente práticas culturais mais adaptadas aos cenários climáticos mais pessimistas que se perspectivam (Fraga et al., 2014). Estudos feitos pela nossa equipa (Malheiro, 2005; Moutinho-Pereira, 2000; Moutinho-Pereira et al., 2004; Moutinho-Pereira et al., 2007) permitiram constatar que a videira, apesar de ser considerada uma espécie bastante adaptada à aridez (Schultz and Stoll, 2010), quando submetida a condições de maior secura, combinadas com elevada radiação e calor, sofre uma queda na produtividade fotossintética devido a limitações do foro estomático e não estomático. Constatou-se igualmente que algumas das folhas mais expostas à radiação solar sofrem danos fotoinibitórios, logo irreversíveis, causando grande desfolha e excessiva exposição dos cachos ao sol tórrido, fazendo que também estes sofram escaldão. Nestas circunstâncias, o vigor, a produção e a qualidade das uvas são irremediavelmente afetados.

De entre um conjunto de protetores foliares, a aplicação exógena de caulino, uma argila quimicamente inerte com excelentes propriedades refletoras, tem produzido resultados promissores (Shellie, 2015; Shellie and King, 2013). Nesse contexto, o objetivo do nosso trabalho foi avaliar a eficiência da aplicação de caulino: i) na redução da temperatura foliar e, conseqüentemente, mitigar danos, teoricamente decorrentes da exposição excessiva da folha ao sol; ii) determinar como essa exposição influencia as relações hídricas, a fotossíntese e processos metabólicos associados e iv) estudar o seu efeito na qualidade do fruto.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado, de 2012 a 2014, na “Quinta do Vallado”, uma vinha comercial situada no Peso da Régua (41°09'44.5"N 07°45'58.2"W), na Região Demarcada do Douro, cujo clima tem como principal característica verões quentes e secos (Kotteck et al., 2006). O solo, de origem xistosa e textura franca, é classificado como um antrossolo árico surribico (Coba, 1991).

Para estudar o efeito de aplicação de caulino, três linhas de videiras, com vinte plantas cada uma, foram pulverizadas em meados de Junho com Surround WP 5% (w/v). Outras três linhas intercaladas entre as linhas tratadas mantiveram-se como controlo (para garantir condições semelhantes de solo e clima), ou seja, sem a aplicação de caulino. As plantas controlo, durante a pulverização do caulino, foram protegidas por uma tela de plástico para evitar que as algumas partículas de caulino atingissem essas

videiras. A variedade utilizada foi “Touriga Nacional” (*Vitis vinifera* L.), enxertada no porta-enxerto 110 R. A direção das linhas é N–S e as videiras tinham aproximadamente 6 anos de idade.

A temperatura foliar foi medida com um termómetro de infravermelhos (Infratrace KM800S, Inglaterra). As medições (n=8) foram feitas sempre em dias típicos de verão e em folhas completamente expandidas.

O potencial hídrico (Ψ) foi obtido de acordo com Dinis et al. (Dinis et al., 2014) e as medições foram feitas no período da manhã (Ψ_{pd}) e do meio-dia solar (Ψ_{md}). As trocas gasosas foram medidas de acordo com Dinis et al., 2014, usando um analisador de gás por radiação infravermelha (IRGA). As medições foram obtidas pela manhã (9:00 – 10:30) e durante a tarde (14:00–15:30). A quantificação dos pigmentos fotossintéticos foi obtida de acordo com Lichtenthaler (1987) e Sesták et al. (1971). O grau de peroxidação lipídica foi obtido através do método dos TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) (Heath and Packer, 1968). Os fenóis totais, quer da folha quer do fruto, foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965). Nas folhas também se quantificaram os teores em açúcares solúveis (Irigoyen et al., 1992) e em proteínas solúveis (Bradford, 1976). Nos bagos de uva foram ainda quantificados os teores em flavonóides (Jia et al., 1999) e em antocianinas (Meng et al., 2012). Todas as quantificações bioquímicas foram expressas em mg g⁻¹ MS (matéria seca).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de temperatura das folhas (Figura 1) foram inferiores nas plantas pulverizadas com caulino, não havendo diferenças significativas em agosto de 2012 em ambos os períodos do dia. As principais diferenças entre os tratamentos foram encontradas em julho, quer no período da manhã (18,2% e 17,7% inferiores em 2012 e 2013, respectivamente) quer ao meio-dia (11,4% e 12,1% inferiores em 2012 e 2013, respectivamente), bem como em setembro de 2013 (13,3% inferior). As plantas pulverizadas apresentaram temperaturas inferiores porque as partículas de caulino têm características refletoras de largo espectro, especialmente de radiação ultravioleta e infravermelha, protegendo as folhas do escaldão, sobretudo daquelas que estão expostas mais a poente.

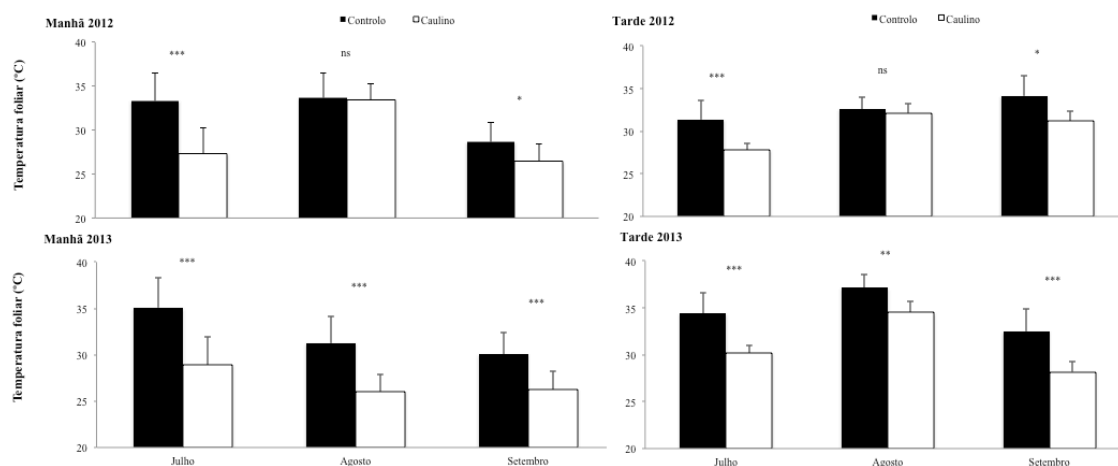


Figura 1 – Temperatura de folhas pulverizadas com caulino e folhas controle (sem caulino) (n=8), obtida de manhã e ao meio-dia solar em julho, agosto e setembro de 2012 e 2013. As colunas representam os valores médios e as barras o respectivo desvios-padrão. A significância: *** $p < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $p < 0,05$, NS não significativo .

Quanto às relações hídricas (Tabela 1), o potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}) das plantas tratadas com caulino foi superior em julho, seguindo a mesma tendência do potencial hídrico ao meio-dia (Ψ_{md}) que foi superior em todos os meses, com grandes diferenças em setembro de 2013.

Tabela 1- Potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}) e do meio-dia (Ψ_{md}) plantas pulverizadas com caulino e de plantas controle em 2012 e 2013 (n=8). A significância: *** $p < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $p < 0,05$, NS não significativo .

	Ψ_{pd}		Ψ_{md}		Ψ_{pd}		Ψ_{md}	
	(MPa)		(MPa)		(MPa)		(MPa)	
	Julho		Agosto		Setembro			
Tratamnto × Ano								
2012								
Controlo	-0,465	-1,16	-0,545	-1,39	-0,850	-1,48		
Caulino	-0,413	-1,05	-0,546	-1,24	-0,867	-1,37		
2013								
Controlo	-0,408	-1,23	-0,550	-1,43	-0,538	-1,45		
Caulino	-0,242	-1,15	-0,454	-1,41	-0,467	-1,19		
p	**	*	ns	*	ns	**		

No que respeita às trocas gasosas das folhas, as maiores diferenças nos valores de condutância estomática (g_s) e atividade fotossintética (A) entre os dois tratamentos foram registadas durante a tarde (Tabela 2). Com efeito, os valores de g_s foram 33,6% , 34,2% e 28,4 % maiores em videiras tratadas com caulino em julho de 2012, setembro de 2012 e setembro de 2013, respectivamente. Em julho de 2012, as folhas tratadas apresentaram um aumento de 35,6% relativamente à A, tendo este aumento atingido 45,9% e 58,7% em setembro de 2012 e 2013, respectivamente. Apenas em setembro de

2013 houve diferenças significativas na A/g_s , tendo sido superior nas plantas tratadas. A regulação mais apertada da abertura estomática nas videiras controlo limita a entrada de CO_2 em folhas e como consequência a A diminui devido à indisponibilidade de CO_2 ao nível do cloroplasto (Centritto et al., 2005). Esse comportamento, como já ilustrado na figura 1, pode também contribuir para o aumento da temperatura foliar das plantas controlo, cujos efeitos indiretos poderão notar-se na redução da eficiência da carboxilação, ou seja nas limitações não estomáticas e por conseguinte na quebra da razão A/g_s (Medrano et al., 2002).

Tabela 2 - Efeitos da aplicação de caulino na condutância estomática (g_s), na assimilação de CO_2 (A) e na eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) em julho (uma semana após a aplicação de caulino) e setembro (dois meses após a aplicação de caulino) em 2012 e 2013 (n=8). A significância: *** $p < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $p < 0,05$, NS não significativo.

	g_s	A	A/g_s	g_s	A	A/g_s
	($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	($\mu mol\ mol^{-1}$)	($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	($\mu mol\ mol^{-1}$)
2012	Manhã			Tarde		
Julho						
Controlo	199,7 ± 25,0	7,43 ± 2,90	57,8 ± 17,8	88,3 ± 33,5	5,31 ± 1,59	58,7 ± 9,54
Caulino	165,5 ± 46,1	10,8 ± 3,10	65,8 ± 7,65	133,0 ± 21,9	8,24 ± 1,16	66,7 ± 8,91
Significância	ns	ns	ns	*	**	ns
Setembro						
Controlo	47,5 ± 20,9	4,19 ± 2,11	80,2 ± 14,6	30,2 ± 8,63	2,65 ± 1,37	90,9 ± 18,3
Caulino	93,6 ± 25,3	7,85 ± 2,14	88,5 ± 6,34	45,9 ± 9,39	4,90 ± 0,851	87,1 ± 5,87
Significância	**	*	ns	*	*	ns
2013	Manhã			Tarde		
Setembro						
Controlo	68,8 ± 25,8	4,76 ± 0,938	63,1 ± 8,96	49,9 ± 13,1	3,05 ± 1,26	61,1 ± 19,3
Caulino	123,7 ± 35,8	9,57 ± 1,89	69,6 ± 4,54	69,7 ± 11,2	7,38 ± 1,74	83,4 ± 7,13
Significância	*	***	ns	*	***	*

Em setembro o teor em açúcares solúveis foi significativamente mais elevado nas plantas pulverizadas com caulino (Tabela 3), ao contrário dos fenóis totais, cujos teores foram inferiores. Certamente a inibição da atividade fotossintética nas videiras controlo refletiu-se numa menor concentração em açúcares solúveis (Patakas and Noitsakis, 2001). Do mesmo modo, relativamente às proteínas solúveis, as folhas das plantas tratadas tinham teores mais elevados num período mais avançado do ciclo vegetativo. Relativamente aos TBARS, só em setembro é que houve um decréscimo significativo nas plantas tratadas, sugerindo que a aplicação de caulino potencia a redução de danos oxidativos nas membranas celulares por peroxidação lipídica. Os fenóis totais,

apresentaram valores superiores em julho nas plantas controlo, o que demonstra a ativação de mecanismos de defesa contra o stresse oxidativo (Dinis et al., 2016). De acordo com a teoria do equilíbrio entre crescimento/diferenciação (Koricheva et al., 1998), as vias que conduzem quer à síntese de fenóis quer à síntese de proteínas têm a fenilalanina como o precursor comum. Sob condições de stresse, o carbono é desviado para a síntese fenóis, o que pode explicar o facto de as plantas controlo terem mais compostos fenólicos. No entanto, em condições adequadas de disponibilidade de água e de luz, o crescimento é a prioridade principal e a maior parte da fenilalanina é utilizada para a síntese de proteínas (Korichev et al., 1998). Este comportamento parece predominar nas videiras pulverizadas com caulino relativamente às videiras controlo.

Tabela 3 – Concentração de açúcares solúveis, fenóis totais, proteínas solúveis e concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em plantas pulverizadas com caulino e em plantas controlo. Determinações feitas em julho e em setembro de 2012 e de 2013 (n=6). A significância: *** $p < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $p < 0,05$, NS não significativo.

	Açúcares solúveis (mg g ⁻¹ MS)	Fenóis totais (mg g ⁻¹ MS)	Proteínas solúveis (mg g ⁻¹ MS)	TBARS (μmoles g ⁻¹ MS)		Açúcares solúveis (mg g ⁻¹ MS)	Fenóis totais (mg g ⁻¹ MS)	Proteínas solúveis (mg g ⁻¹ MS)	TBARS (μmoles g ⁻¹ MS)
	Julho					September			
2012					2012				
Controlo	110,7	316,0	79,2	10,8	Controlo	145,4	268,0	103,0	4,96
Caulino	117,8	236,8	64,8	8,55	Caulino	180,7	285,2	146,3	4,73
2013					2013				
Controlo	183,5	308,2	69,5	6,10	Controlo	197,5	364,7	128,0	5,93
Caulino	197,9	301,9	71,2	5,98	Caulino	227,3	292,8	204,8	5,13
<i>p</i>	ns	*	*	ns	<i>p</i>	*	ns	*	*

Os valores médios da concentração de pigmentos fotossintéticos estão apresentados na tabela 4. Em julho só os valores médios da razão $Chl_{a/b}$ foram significativamente diferentes entre tratamentos, tendo sido as razões mais baixas nas folhas tratadas com caulino. Mais tarde, em setembro as partículas de caulino tiveram efeito significativo sobre a concentração de pigmentos fotossintéticos. Na verdade, nesta fase do ciclo vegetativo, depois de quase dois meses sob o efeito do sol tórrido, os teores em clorofila (Chl_{a+b}) e em carotenóides (Car) foram significativamente inferiores nas folhas que não estavam protegidas pelas partículas de caulino. A menor concentração de Chl_{a+b} nesse tratamento, devido provavelmente à maior degradação da clorofila e/ou menor síntese de clorofila, representa um sinal de maior stresse oxidativo (Smirnoff, 1993). O teor mais elevado em Car nas folhas tratadas com caulino sugere um efeito benéfico destes pigmentos na proteção das moléculas de clorofila (Moutinho-Pereira et al., 2007).

Tabela 4 – Concentração de pigmentos fotossintéticos foliares (razão clorofila a/b, clorofila total e carotenóides) em plantas pulverizadas com caulino e em plantas controlo (sem caulino). Determinações feitas em julho e em setembro de 2012 e 2013 (n = 6). A significância: *** p < 0,001 , ** P < 0,01 , * p < 0,05 , NS não significativo .

	Chl_{a/b}	Chl_{a+b}	Car		Chl_{a/b}	Chl_{a+b}	Car
	(mg g-1MS)				(mg g-1MS)		
Julho				Setembro			
2012				2012			
Controlo	2,68	5,08	1,11	Controlo	2,36	3,37	0,774
Caulino	2,55	4,63	1,02	Caulino	2,37	4,65	0,894
2013				2013			
Controlo	3,13	3,60	0,936	Controlo	2,70	2,93	0,761
Caulino	3,03	3,45	0,914	Caulino	2,73	3,81	0,910
p	*	ns	ns	p	ns	**	ns

Relativamente ao fruto, de acordo com análises efetuadas em 2014, verificámos um aumento em fenóis totais de 32% (agosto) e de 66% (setembro) nos bagos das videiras tratadas com caulino (Tabela 5). No que respeita ao teor de flavonóides, o aumento com maior relevância ocorreu na maturação (setembro) com um aumento de 32% nos bagos provenientes das plantas pulverizadas. A presença de fenóis nos bagos de uva são de interesse notável devido às suas propriedades antioxidantes (Dinis L-T. et al., 2012; Orak, 2006) que, para além dos benefícios inerentes para a qualidade do vinho, podem ser exploradas biotecnologicamente em biomedicina para aliviar o stresse oxidativo associada a várias desordens humanas, incluindo cardiovasculares e doenças neurodegenerativas, aterosclerose, cataratas entre outras. Propriedades farmacológicas relevantes, incluindo efeitos antialérgicos, anti-inflamatórios e anticancerígenos, bem como a prevenção de diabetes e melhoria da visão (Ghosh and Konishi, 2007), têm sido atribuídas à presença de fenóis do bago de uva. Igualmente, a aplicação foliar deste protetor estimulou a produção de antocianinas, provocando um aumento de 47% nos bagos na época de maturação (setembro). Este aumento poderá estar relacionado com a função protetora do caulino contra os efeitos do calor, o qual inibe a síntese de antocianinas e/ou estimula a degradação das mesmas (Ramesh et al., 2010).

Tabela 5 - Variação sazonal dos fenóis totais, flavonóides e antocianinas (média \pm SD) em bagos de uva provenientes de plantas tratadas com caulino e plantas controlo (n=6) . A significância: *** $p < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $p < 0,05$, NS não significativo .

	Mês	Controlo	Caulino	<i>p</i>
Fenóis totais (mg g ⁻¹)	Agosto	29,6 \pm 4,38	39,0 \pm 3,16	**
	Setembro	23,4 \pm 1,64	39,0 \pm 2,78	***
	<i>p</i>	**	<i>ns</i>	
Flavonóides (μ g g ⁻¹)	Agosto	9,82 \pm 0,619	9,08 \pm 0,384	*
	Setembro	8,25 \pm 0,343	10,9 \pm 0,481	***
	<i>p</i>	***	***	
Antocianinas (mg g ⁻¹)	Agosto	488,9 \pm 5,65	485,0 \pm 14,2	0,542
	Setembro	355,6 \pm 15,6	521,8 \pm 10,4	***
	<i>p</i>	***	***	

CONCLUSÕES

A aplicação foliar de caulino demonstrou provocar a redução da temperatura foliar e um aumento quer do potencial hídrico quer da taxa fotossintética. Este aumento associado ao acréscimo de proteínas e açúcares solúveis nas folhas, bem como o aumento dos pigmentos fotossintéticos e o decréscimo dos teores de peroxidação lipídica, faz deste protetor (caulino) uma promissora medida de curto-prazo para mitigar os efeitos provocados pelo efeito combinado dos stresses térmico, radiativo e hídrico. Ao nível dos bagos, a aplicação exógena de caulino induziu o aumento de compostos antioxidantes tais como fenóis, flavonóides e antocianinas, traduzindo-se num efeito potencialmente positivo para a qualidade das uvas.

AGRADECIMENTOS

O presente estudo desenvolveu-se no âmbito do projeto PTDC/AGR-ALI/110877/2009 financiado pela ‘Fundação para a Ciência e a Tecnologia’ e pelo Projeto ENOEXEL - NORTE-07-0124-FEDER-000032, financiado pelo programa operacional Portugal Região Norte (ON.2 - O Novo Norte) através do FEDER, financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia. Os autores agradecem igualmente à “Quinta do Vallado” pela colaboração, apoio e disponibilização da parcela experimental. Por fim, agradecemos à FCT pela bolsa de Pós-doc de Lia Dinis (ref. SFRH/BPD/84676/2012) e à Fundação Maria Rosa pelo apoio financeiro que proporcionou à equipa para continuar este estudo no corrente ciclo vegetativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
- Centritto, M., Wahbi, S., Serraj, R., Chaves, M.M., 2005. Effects of partial rootzone drying (PRD) on adult olive tree (*Olea europaea*) in field conditions under arid

- climate. II. Photosynthetic responses. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 106, 303–311.
- Coba, A., 1991. Carta de solos, carta de uso actual da terra e carta de aptidão da terra, do Nordeste de Portugal. , in: UTAD (Ed.), Vila Real, Portugal.
- Dinis, L.-T., Correia, C.M., Ferreira, H.F., Gonçalves, B., Gonçalves, I., Coutinho, J.F., Ferreira, M.I., Malheiro, A.C., Moutinho-Pereira, J., 2014. Physiological and biochemical responses of Semillon and Muscat Blanc à Petits Grains winegrapes grown under Mediterranean climate. *Scientia Horticulturae* 175, 128–138.
- Dinis L.-T., Oliveira, M.M., Almeida, J., R., C., Gomes-Laranjo J., Peixoto F., 2012. Antioxidant activities of chestnut nut of *Castanea sativa* Mil. (Cultivar Judia) as function of origin ecosystem. *Food Chemistry* 132, 1-8.
- Dinis, L.T., Bernardo, S., Conde, A., Pimentel, D., Ferreira, H., Felix, L., Geros, H., Correia, C.M., Moutinho-Pereira, J., 2016. Kaolin exogenous application boosts antioxidant capacity and phenolic content in berries and leaves of grapevine under summer stress. *J Plant Physiol* 191, 45-53.
- Fraga, H., Malheiro, A.C., Moutinho-Pereira, J., Jones, G.V., Alves, F., Pinto, J.G., Santos, J.A., 2014. Very high resolution bioclimatic zoning of Portuguese wine regions: present and future scenarios. . *Reg. Environ. Change*.
- Ghosh, D., Konishi, T., 2007. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. . *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 16, 200-208.
- Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125 189–198.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., Sánchez-Diáz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Plant Physiol* 84, 55-60.
- Jia, Z., Tang, M., Wu, J., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64, 555–559.
- Koricheva, J., Larsson, S., Haukioja, E., Keinänen, M., 1998. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos* 83, 212–226.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F., 2006. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. . *Meteorologische Zeitschrift* 15, 259-263.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148, 350–382.
- Malheiro, A.N., 2005. Microclimate, yield and water-use of vineyards in the Douro Region, Portugal. Cranfield University, UK.
- Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J., Flexas, J., 2002. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. *Ann. Bot.* 89, 895-905.
- Meng, J.F., Fang, Y.L., Qin, M.Y., Zhuang, X.F., Zhang, Z.W., 2012. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (*Vitis davidii* Foex) in Chongyi County (China). *Food Chemistry* 134, 2049-2056.
- Moutinho-Pereira, J.M., 2000. An ecophysiological and agronomic characterisation of several viticultural strategies to alleviate summer stress in *Vitis vinifera* L. in the Douro Demarcated Wine Region. UTAD, Vila Real, Portugal.

- Moutinho-Pereira, J.M., Correia, C.M., Gonçalves, B., Bacelar, E.L., Torres-Pereira, J.M., 2004. Leaf gas exchange and water relations of grapevines grown in three different conditions. *Photosynthetica* 42, 81-86.
- Moutinho-Pereira, J.M., Magalhães, N., Gonçalves, B., Bacelar, E., Brito, M., Correia, C., 2007. Gas exchange and water relations of three *Vitis vinifera* L. cultivars growing under Mediterranean climate. *Photosynthetica* 45 202-207.
- Orak, H., 2006. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae*, 235-241.
- Patakas, A., Noitsakis, B., 2001. Leaf age effects on solute accumulation in water-stressed grapevines. *Journal of Plant Physiology* 158, 63-69.
- Ramesh, C., Khanal, L.R.H., Ronald, L.P., 2010. Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. *Food Research International* 43, 1464–1469.
- Rosati, A., Metcalf, S.G., Buchner, R.P., Fulton, A.E., Lampinen, B.D., 2006. Physiological effects of kaolin applications in well-irrigated and water-stressed walnut and almond trees. *Annals of Botany* 98, 267-275.
- Schultz, H.R., Stoll, M., 2010. Some critical issues in environmental physiology of grapevines: future challenges and current limitations. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16, 4-24.
- Sesták, Z., Castky, J., Jarvis, P.G., 1971. Plant photosynthetic production. in: *Manual of Methods*, Dr. W. Junk Publ., Haia, 818.
- Shellie, K., 2015. Foliar Reflective Film and Water Deficit Increase Anthocyanin to Soluble Solids Ratio during Berry Ripening in Merlot. *American Journal of Enology and Viticulture* 66, 348-356.
- Shellie, K.C., King, B.A., 2013. Kaolin Particle Film and Water Deficit Influence Malbec Leaf and Berry Temperature, Pigments, and Photosynthesis. *American Journal of Enology and Viticulture* 64, 223-230.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A.J., 1965. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144–158.
- Smirnoff, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist* 125, 27-58.