

USE OF GROWTH REGULATORS ON THE TOTAL PHENOLIC CONTENT AND THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF “RED GLOBE” GRAPE

USO DE REGULADORES DE CRECIMIENTO EN EL CONTENIDO FENÓLICO TOTAL Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA UVA “RED GLOBE”

Ambrosio Franco-Bañuelos¹, Sergio Hernández-Trujillo¹, Cristina S. Contreras-Martínez², José Carranza-Téllez³, José Carranza-Concha^{2*}

¹Universidad Autónoma de Zacatecas, Facultad de Agronomía. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 15, 98160, Cieneguillas, Zacatecas. México. ²Universidad Autónoma de Zacatecas, Departamento de Nutrición, Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido “La Escondida”, 98160. Zacatecas, Zacatecas. México. (joseconcha10@hotmail.com). ³Universidad Autónoma de Zacatecas Facultad de Ciencias Químicas. Programa de Químico en Alimentos. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido “La Escondida”, 98160. Zacatecas, Zacatecas. México

ABSTRACT

Table grape is one of the most consumed fruits in the world and it is one of the main sources of phenolic compounds and antioxidants. Plant growth regulators (PGR) are used in grapes to increase their size, improve their quality, and anticipate the harvesting period. The objective of this work was to determine the effect of the use of plant growth regulators on the total phenolic content (TPC) and the antioxidant capacity (AC) of the “Red Globe” grape. For this experiment a completely random block design was used, with 3 treatments (Ethrel®, Maxi-grow®, Ethrel® + Maxi-Grow®) and a control, with 5 blocks; thus, each sample would represent 1/60 experimental units. Significant differences ($p \leq 0.05$) were observed in soluble solids, titratable acidity, total phenolic content and antioxidant capacity with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS·+) methods as a function of growth regulators. Significant differences ($p \leq 0.05$) were also found between blocks for the same treatment in the analyzed parameters, except for the water content. The highest average value for total phenolic content was found with the use of Ethrel® (124.5 mg of gallic acid equivalents 100 g⁻¹), while the control yielded the highest antioxidant capacity (63.8 and 22.2 μmol of Trolox equivalent antioxidant capacity 100 g⁻¹ with the ABTS+ and DPPH assay, respectively).

Key words: *Vitis vinifera* L., grapes, plant hormones, commercial auxins, antioxidants.

RESUMEN

La uva de mesa es una de las frutas más consumidas en el mundo y una de las principales fuentes de compuestos fenólicos y antioxidantes. Los reguladores del crecimiento de las plantas (PGR) se utilizan en las uvas para aumentar su tamaño, mejorar su calidad y anticipar el período de cosecha. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del uso de los reguladores del crecimiento de las plantas sobre el contenido fenólico total (TPC) y la capacidad antioxidante (AC) de la uva “Red Globe”. Para este experimento se utilizó un diseño de bloques aleatorizados, con 3 tratamientos (Ethrel®, Maxi-grow®, Ethrel® + Maxi-Grow®) y un control, con 5 bloques; así, cada muestra representaría 1/60 unidades experimentales. Diferencias significativas ($p \leq 0.05$) se observaron en sólidos solubles, acidez titulable, contenido fenólico total y capacidad antioxidante con los métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6- de ácido sulfónico (ABTS·+), como una función de los reguladores del crecimiento. También se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los bloques para el mismo tratamiento en los parámetros analizados, excepto en el contenido de agua. El valor promedio más alto para el contenido fenólico total se encontró con el uso de Ethrel® (124.5 mg de equivalentes de ácido gálico 100 g⁻¹), mientras que el control produjo la capacidad antioxidante más alta (63.8 y 22.2 μmol de capacidad antioxidante equivalente Trolox en 100 g⁻¹, en las pruebas con ABTS + y DPPH, respectivamente).

Palabras clave: *Vitis vinifera* L., uvas, hormonas vegetales, auxinas comerciales, antioxidantes.

* Author for correspondence ♦ Autor responsable.

Received: July, 2018. Approved: May, 2019.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 53: 881-894. 2019.

INTRODUCTION

Table grapes are some of the most consumed fruits in the world (Baiano *et al.*, 2012) with a significant impact on the global economy. In Mexico, the harvesting area covers 19 171.45 ha, with an annual production of 282 008.32 Mg and an average yield of 15.75 Mg ha⁻¹. The state of Sonora is the largest producer with a harvesting area of 16 269 ha, and an annual production of 248 870.80 Mg; Sonora is followed by the state of Zacatecas regarding production (SIAP, 2015).

In the municipality of Ojocaliente, Zacatecas, grape producers, mainly of the Red Globe grape variety, face difficulties for selling their production, mainly due to national over production which causes a price drop. In order to stimulate competitiveness in local and national markets, attempts were made to delay the harvesting period and thereby reduce production costs, without compromising the quality of the grape.

Improvements in grape quality are occasionally obtained using growth regulators (PGR), agrochemicals with plant hormones or hormone-like compounds (Ferrara *et al.*, 2015). Growth regulators, whether natural from a plant or synthetic, are small organic molecules that act within the cells of plants modulating their growth and development (Giannakoula *et al.*, 2012). Their functions include regulating physiological processes, cell division, enlargement, differentiation, senescence, maturation, germination, reproduction and protective responses of plants against stress (Davies, 1995; Han *et al.*, 2012 cited by Ugare *et al.*, 2013). Ethephon (2-chloroethylphosphonic acid) is a generator of ethylene hormones which favors bud germination and facilitates defoliation before fruit pruning; besides, it promotes uniform berry ripening (Chadha and Shikhamany, 1999 cited by Ugare *et al.*, 2013). Gibberellic acid is the main plant growth regulator used to increase size of seedless berries and can be applied during inflorescence or in the early stages of fruit setting in order to affect cluster structure and size of berries (Davies and Bottcher, 2009 cited by Raban *et al.*, 2013). Cytokinins are growth regulators which increase cell division. Synthetic cytokinin (N- (2-chloro-4-pyridyl) -N-phenylurea; CPPU) was introduced into vineyards to increase size of

INTRODUCCIÓN

Las uvas de mesa son algunas de las frutas más consumidas en el mundo (Baiano *et al.*, 2012), con un impacto significativo en la economía global. En México, el área de cosecha abarca 19 171.45 ha, con una producción anual de 282 008.32 Mg y un rendimiento promedio de 15.75 Mg ha⁻¹. El estado de Sonora es el mayor productor de uvas de mesa, con un área de cosecha de 16 269 ha, y una producción anual de 248 870.80 Mg; le sigue el estado de Zacatecas en términos de producción (SIAP, 2015).

En el municipio de Ojocaliente, Zacatecas, los productores de uva, principalmente de la variedad de uva Red Globe, enfrentan dificultades para vender su producción, principalmente debido a la sobreproducción nacional que provoca una caída en los precios. Con el fin de estimular la competitividad en los mercados locales y nacionales, se intentó retrasar el período de cosecha y reducir así los costos de producción, sin poner en riesgo la calidad de la uva.

Las mejoras en la calidad de la uva se obtienen en ocasiones con el uso de reguladores de crecimiento (PGR), agroquímicos con hormonas vegetales o compuestos similares a hormonas (Ferrara *et al.*, 2015). Los reguladores del crecimiento ya sean extraídos de una planta o sintéticos, son pequeñas moléculas orgánicas que actúan dentro de las células de las plantas para modular su crecimiento y desarrollo (Giannakoula *et al.*, 2012). Sus funciones incluyen la regulación de procesos fisiológicos, la división celular, crecimiento, diferenciación, senescencia, maduración, germinación, reproducción y respuestas que protegen a las plantas del estrés (Davies, 1995; Han *et al.*, 2012 citado por Ugare *et al.*, 2013). El etefón (ácido 2-cloroetilfosfónico) es un generador de hormonas de etileno que favorece la germinación de yemas y facilita la defoliación antes de la poda para producción de frutos; además, promueve la maduración uniforme de las bayas (Chadha y Shikhamany, 1999, citado por Ugare *et al.*, 2013).

El ácido giberélico es el principal regulador del crecimiento de las plantas el cual se usa para aumentar el tamaño de las bayas sin semillas y se puede aplicar durante la inflorescencia o en las etapas tempranas de emergencia de la fruta para cambiar la estructura del racimo y el tamaño de las bayas (Davies y Bottcher, 2009 citado por Raban *et al.*, 2013).

berry and more round or oval berries (Zoffoli *et al.*, 2009), as well as size of spine and thickness of pedicel (Reynolds *et al.*, 1992; Retamales *et al.*, 1995; Ben-Arie *et al.*, 1997, cited by Raban *et al.*, 2013). Auxins, the first plant hormones discovered, are characterized by their ability to induce cell lengthening in stems and leaves, as well as increasing photosynthetic activity (Giannakoula *et al.*, 2012).

Beyond sugar accumulation, the major determinants of grape quality are the secondary metabolites (polyphenols). The concentrations of total phenols increased in the grape seed, skin and pulp during grape ripening, and then decreased slightly from the 40th day after véraison (Andjelkovic *et al.*, 2013). In plants, increased synthesis of phenols is a common response to stress (Dixon and Paiva, 1995 cited by Garrido *et al.*, 2016). Ripening involves changes in the composition and accumulation of phenolic substances in the grapes, substances which later extraction and transfer to the wine is essential. Antioxidant activity in grapes is positively correlated with the concentration of the phenols they contain (Lambdo and Meyer, 2001, cited by Garrido *et al.*, 2016), and the oxidation of compounds during ripening (Jordao *et al.*, 2001, cited by Garrido *et al.*, 2016) may be due to enzymatic changes, as well as with the oxidation of phenols by phenol oxidases.

Compared to other fruits and vegetables (Mulero *et al.*, 2015), grapes are one of the main sources of phenolic compounds (flavonoids, phenolic acids and resveratrol) (Carrieri *et al.*, 2013). Antioxidant properties attributed to these compounds make the grape a more attractive fruit (Šeruga *et al.*, 2011).

Grapes consumption was associated with preventing certain diseases, such as cancer (Nandakumar *et al.*, 2008), cardiovascular diseases (Frankel *et al.*, 1995) as well as the development of Alzheimer's disease (Anastasiadi *et al.*, 2010). There are many factors reputed to affect phenolics biosynthesis in plants, including light, temperature, altitude, soil type, water, nutritional status, microbial interactions, pathogenesis, defoliation, plant growth regulators, and various developmental processes (Downey *et al.*, 2006).

Accelerating berry ripening in table grapes to obtain an earlier berry harvest may be a good market strategy; however, there is little information about the impact of growth regulators in the total phenolic content and the antioxidant capacity of the

Las citoquininas son reguladoras del crecimiento que aumentan la división celular. Citoquinina sintética (N-(2-cloro-4-piridil)-N-fenilurea; CPPU) se introdujo en los viñedos para aumentar el tamaño de las bayas y que fueran más redondas u ovals (Zoffoli *et al.*, 2009), así como el tamaño del raquis y el grosor del pedicelo (Reynolds *et al.*, 1992; Retamales *et al.*, 1995; Ben-Arie *et al.*, 1997, citado por Raban *et al.*, 2013). Las auxinas, que son las primeras hormonas vegetales descubiertas, se caracterizan por su capacidad para inducir el alargamiento de las células en los tallos y hojas, así como también aumentar la actividad fotosintética (Giannakoula *et al.*, 2012).

Más allá de la acumulación de azúcar, los principales determinantes de la calidad de la uva son los metabolitos secundarios (polifenoles). Las concentraciones de fenoles totales aumentaron en la semilla, la piel y la pulpa de la uva durante su maduración, y luego disminuyeron ligeramente a partir del día 40 después del envero (Andjelkovic *et al.*, 2013). El aumento de la síntesis de los fenoles en las plantas es una respuesta común al estrés (Dixon y Paiva, 1995 citado por Garrido *et al.*, 2016). La maduración implica cambios en la composición y acumulación de sustancias fenólicas en las uvas, sustancias que luego son esenciales para su extracción y transferencia al vino.

La actividad antioxidante en las uvas se correlaciona positivamente con la concentración de fenoles que contienen (Lambdo y Meyer, 2001, citado por Garrido *et al.*, 2016), y la oxidación de los compuestos durante la maduración (Jordao *et al.*, 2001, citado por Garrido *et al.*, 2016) puede deberse a cambios enzimáticos, así como a la oxidación de los fenoles por las fenoloxidasas.

En comparación con otras frutas y verduras (Mulero *et al.*, 2015), las uvas son una de las principales fuentes de compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos y resveratrol) (Carrieri *et al.*, 2013). Las propiedades antioxidantes atribuidas a estos compuestos hacen de la uva una fruta más atractiva (Šeruga *et al.*, 2011).

El consumo de uvas se asoció con la prevención de ciertas enfermedades, como el cáncer (Nandakumar *et al.*, 2008), enfermedades cardiovasculares (Frankel *et al.*, 1995), así como el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (Anastasiadi *et al.*, 2010). Hay muchos factores que se considera que afectan la biosíntesis de los fenólicos en las plantas, incluidos la luz, la tem-

grape. Therefore, the objective of this study was to determine the effect of the use of growth regulators on the total phenolic content and the antioxidant capacity of Red Globe grape.

MATERIALS AND METHODS

Characteristics of the vineyard

The experimental area is located on the limits of the locality “La Concepción,” in the municipality of Ojocaliente, Zacatecas, at 22° 30' 43.47" N, 102° 15' 47.90" W and 2 041.27 m above the Geoidal surface. Climate in the area is semi-arid and temperate with rain in summer with an average annual precipitation of 400 to 500 mm, and a temperature range of 14 to 18 °C.

Each treatment received consecutive foliar applications of 1 L ha⁻¹ every 25 d from April to *veraison* (a stage during which berries soften and their color changes from green to red for red varieties and green to translucent yellow for white varieties) (Parker *et al.*, 2013); the last two applications were made in 7-day intervals. The size of the plot was 13.5 m², with three plants, and the plant from the center was the experimental unit. Each experimental unit was labeled with a color strip to know which application corresponds to each block: Ethrel (red ribbon), Maxigrow (blue ribbon), Ethrel + Maxigrow (purple ribbon) and Control (white ribbon).

The whole vineyard is planted with Red Globe grape variety, 5 years old, without grafting. In the vineyard, there is a distance of 1.5 m between plants and 3 m between rows (20 rows of 100 m and 20 of 140 m), in a trellis with a bilateral cordon system. The astronomical orientation is from North to South, with a particular moisture gradient flow concentrated in the South-eastern area and irrigated under a drip system.

Experimental design and statistical analysis

A completely randomized block design was used: 3 PGR treatments, Ethrel® (Et) that contain (2-chloroethylphosphate acid), Maxi-grow® (MG), Ethrel® + Maxi-grow® (Et + MG) and a control, each with 5 blocks, and 4 replications; thus, each sample would represent 1/60 experimental units. Experiments were carried out in triplicate and the results were expressed as mean values ± standard deviation. To determine statistically significant differences among the data, a variance analysis for a completely randomized block design with subsampling (triplicate) was carried out. If significant, a Tukey test ($p \leq 0.05$) was applied. The values of antioxidant activity and total phenol content were analyzed using Pearson correlation and linear regression. All statistical analyses were performed using Statgraphics® Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA).

peratura, la altitud, el tipo de suelo, el agua, el estado nutricional, las interacciones microbióticas, la patogénesis, la defoliación, los fitoreguladores y diversos procesos de desarrollo (Downey *et al.*, 2006).

Acelerar la maduración de las bayas en uvas de mesa para obtener una cosecha de bayas más temprana puede ser una buena estrategia de mercado; sin embargo, hay poca información sobre el impacto de los reguladores del crecimiento en el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante de la uva. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto del uso de los reguladores del crecimiento sobre el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante de la uva Red Globe.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del viñedo

El área experimental se ubica en los límites de la localidad “La Concepción”, en el municipio de Ojocaliente, Zacatecas, a 22° 30' 43.47" N, 102° 15' 47.90" O y 2041.27 m sobre la superficie Geoidal. El clima en el área es semiárido y templado, con lluvias en verano, con una precipitación promedio anual de 400 a 500 mm y un intervalo de temperatura de 14 a 18 °C.

Cada tratamiento recibió aplicaciones foliares consecutivas de 1 L ha⁻¹ cada 25 días desde abril hasta el inicio del *envero* (etapa durante la cual las bayas se ablandan y su color cambia de verde a rojo para las variedades rojas y de verde a amarillo translúcido para las variedades blancas) (Parker *et al.*, 2013); las dos últimas aplicaciones se realizaron en intervalos de siete días.

El tamaño de la parcela fue de 13.5 m², con tres plantas, y la planta del centro fue la unidad experimental. Cada unidad experimental fue etiquetada con una franja de color para saber qué aplicación correspondía a cada bloque: Ethrel (cinta roja), Maxi-grow (cinta azul), Ethrel + Maxi-grow (cinta púrpura) y Control (cinta blanca).

Toda la viña es planta de la variedad de uva Red Globe de 5 años, sin injertar. En el viñedo, existe una distancia de 1.5 m entre plantas y 3 m entre hileras (20 filas de 100 m y 20 de 140 m), en un enrejado con un sistema de cordón bilateral. La orientación astronómica es de norte a sur, con un flujo de gradiente de humedad concentrado en el área sudeste y bajo sistema de riego por goteo.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño usado fue de bloques completamente al azar: 3 tratamientos con PGR, Ethrel® (Et) que contienen (ácido 2-cloroetilfosfato), Maxi-grow® (MG), Ethrel® + Maxi-grow® (Et + MG)

Analysis

All samples were analyzed for moisture content (AOAC 934.06 method, 2000) and soluble solids in their liquid phase (°Brix) at 20 °C (refractometer Atago NAR-3T, Tokyo, Japan). The pH was measured with a digital pH meter (Denver instruments pH Meter TP 214, Germany). Total acidity was measured by potentiometric titration with NaOH (0.1 N) and expressed in mg of tartaric acid (TA) 100 g⁻¹ of fresh grape (AOAC 942.15, 2000).

Extraction of phenolic compounds

Phenolic compounds were extracted (Tomás-Barberán *et al.*, 2001) by homogenizing 35 g of the grape sample an Ultraturrax homogenizer (T-25, IKA, Staufen, Germany) during 10 min, at room temperature, with 40 mL of methanol, 10 mL of HCl 6N and 2 mg of NaF to inactivate the polyphenol oxidases and prevent phenolic degradation. After extraction, the mixture was centrifuged (2701 x g; 4 °C) for 10 min. The supernatant obtained was stored (24 h) in opaque vials at 4 °C until analyzed.

Determination of total phenolic content (TPC)

The TPC was quantified using the Folin-Ciocalteu test (Li *et al.*, 2006); 250 µL of extract was mixed with 15 mL deionized water and 1.25 mL of Folin-Ciocalteu phenol reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis MO. USA). After 5 min 3.75 mL of Na₂CO₃ (7.5%) was added and leveled to 25 mL with deionized water and it incubated 2 h at room temperature in the dark. Absorbance was measured at 765 nm in a spectrophotometer UV-Vis (Thermo Scientific 10S, Thermo Fisher Scientific Inc, USA). The results were reported as mg of gallic acid equivalents (mg GAE 100 g⁻¹ fresh grape).

Antioxidant capacity (AC) ABTS·⁺ + scavenging ability and DPPH scavenging activity

The same extract obtained for TPC quantification was used to evaluate AC, which was determined through a modification of the spectrophotometric technique developed by Re *et al.* (1999), using the ABTS·⁺ radical (Sigma-Aldrich, St. Louis MO. USA) generated by 2.45 mM potassium persulfate (K₂S₂O₈). The mixture remained in the dark at room temperature (-20 °C) for 16 h before use, and then the ABTS⁺ solution was diluted to give an absorbance of 0.7 ± 0.1 at 734 nm. Afterwards, 100 µL of grape extract was mixed with 900 µL of the ABTS·⁺ + diluted solution, and the absorbance was measured at 734 nm after 2.5 min at 20 °C. The results were expressed as antioxidant

and control, cada uno con 5 bloques, y 4 repeticiones; así, cada muestra representa 1/60 unidades experimentales.

Los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como valores medios ± desviación estándar. Para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los datos, se realizó un análisis de varianza para un diseño de bloques completamente aleatorizados con submuestreo (triplicado).

Cuando las diferencias fueron significativas, se aplicó la prueba de Tukey (p ≤ 0.05). Los valores de la actividad antioxidante y el contenido total de fenol se analizaron mediante la correlación de Pearson y la regresión lineal. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando Statgraphics® Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, EE. UU.).

Análisis

Todas las muestras se analizaron para determinar el contenido de humedad (método AOAC 934.06, 2000) y los sólidos solubles en su fase líquida (°Brix) a 20 °C (refractómetro Atago NAR-3T, Tokio, Japón). El pH se midió con un medidor digital de pH (Medidor de pH Denver Instruments TP 214, Alemania). La acidez total se midió mediante la valoración potenciométrica con NaOH (0.1 N) y se expresó en mg de ácido tartárico (TA) 100 g⁻¹ de uva fresca (AOAC 942.15, 2000).

Extracción de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se extrajeron (Tomás-Barberán *et al.*, 2001) homogeneizando 35 g de la muestra de uva con un homogeneizador Ultraturrax (T-25, IKA, Staufen, Alemania) durante 10 minutos, a temperatura ambiente, con 40 mL de metanol, 10 mL de HCl 6N y 2 mg de NaF para inactivar las polifenol-oxidases y prevenir la degradación fenólica. Después de la extracción, la mezcla se centrifugó (2701 x g; 4 °C) durante 10 min. El sobrenadante obtenido se almacenó (24 h) en viales opacos a 4 °C antes de su análisis.

Determinación del contenido fenólico total (TPC)

El TPC se cuantificó utilizando la prueba de Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2006); se mezclaron 250 µL de extracto con 15 mL de agua desionizada y 1.25 mL de reactivo de fenol de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, EE. UU.). Después de 5 minutos, se agregaron 3.75 mL de Na₂CO₃ (7.5%) y se nivelaron a 25 mL con agua desionizada y se incubaron durante 2 h a temperatura ambiente en la oscuridad.

La absorbancia se midió a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific 10S, Thermo Fisher Scientific Inc, EE. UU.).

activity equivalent to μmol units of Trolox (TEAC) 100 g^{-1} of fresh sample. All the experiments were replicated thrice.

Also, a slightly modified version of the method described by Brand-Williams *et al.* (1995) to analyze the AC of samples, was used: $100\ \mu\text{L}$ of grape extract were added to $1\ \text{mL}$ of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) mM ($3\text{mg}\ 100\ \text{mL}^{-1}$ in methanolic solution). The scavenging activity of the free radicals, using the free radical reaction DPPH, was evaluated by measuring the absorbance at $515\ \text{nm}$, after $2.5\ \text{min}$ at $20\ ^\circ\text{C}$, in a spectrophotometer. Results were expressed as μmol equivalents of Trolox $100\ \text{g}^{-1}$ of fresh sample.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Statistically significant differences were found ($p \leq 0.05$) in $^\circ\text{Brix}$, titratable acidity, antioxidant activity (with both methods) and total phenolic content between use of growth regulators and the control (Table 1).

Humidity values (% Xw) were obtained in the control and Ethrel[®] with 80.9% as maximum value and 78.7% as minimum value when Maxi-Grow[®] was used. An average value of $16.7\ ^\circ\text{Brix}$ was obtained with the application of Ethrel[®]; they are a very significant aspect for table grape cultivation and the production of wine due to the high level of sugars required during maturation for enhanced berry quality (Casanova *et al.*, 2009).

Shulman *et al.* (1985) mentioned that regardless of the endogenous role of ethylene in grape

Los resultados se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico ($\text{mg GAE}\ 100\ \text{g}^{-1}$ de uva fresca).

Capacidad antioxidante (AC) ABTS \cdot + capacidad de eliminación y Actividad de captación de DPPH

El mismo extracto obtenido para la cuantificación de TPC se utilizó para evaluar la AC, que se determinó a través de una modificación de la técnica espectrofotométrica desarrollada por Re *et al.* (1999), para utilizar ABTS \cdot + radical (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, EE. UU.), generado por $2.45\ \text{mM}$ ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) de persulfato de potasio. La mezcla permaneció en la oscuridad a temperatura ambiente ($\sim 20\ ^\circ\text{C}$) durante $16\ \text{h}$ antes de su uso, y luego la solución ABTS \cdot + se diluyó para dar una absorbancia de 0.7 ± 0.1 a $734\ \text{nm}$. Luego, se mezclaron $100\ \mu\text{L}$ de extracto de uva con $900\ \mu\text{L}$ de la solución diluida ABTS \cdot +, y se midió la absorbancia a $734\ \text{nm}$ después de $2.5\ \text{min}$ a $20\ ^\circ\text{C}$.

Los resultados se expresaron como actividad antioxidante equivalente a unidades μmol de Trolox (TEAC) $100\ \text{g}^{-1}$ de muestra fresca. Todos los experimentos fueron replicados tres veces. Además, se utilizó una versión ligeramente modificada del método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995) para analizar la CA de las muestras, que consistió en: $100\ \mu\text{L}$ de extracto de uva se agregaron a $1\ \text{mL}$ de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) mM ($3\ \text{mg}\ 100\ \text{mL}^{-1}$ en solución metanólica).

La actividad de eliminación de los radicales libres, utilizando el DPPH de reacción de radicales libres, se evaluó midiendo la absorbancia a $515\ \text{nm}$, después de $2.5\ \text{minutos}$ a $20\ ^\circ\text{C}$, en un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron como μmol equivalentes a Trolox en $100\ \text{g}^{-1}$ de muestra fresca.

Table 1. Mean values ($n=15$) and standard deviation in the variables analyzed according to the treatment, and regardless of the block.
Cuadro 1. Valores medios ($n=15$) y desviación estándar en las variables analizadas según el tratamiento, e independientemente del bloque.

	Ethrel [®]	MG	Et + MG	Control
% Xw (g/g H ₂ O)	80.90 (1.5) ^a	78.70 (5.4) ^a	80.40 (3.8) ^a	80.90 (0.8) ^a
$^\circ\text{Brix}$	16.70 (0.4) ^a	18.20 (0.9) ^b	16.96 (1.15) ^a	17.50 (1.5) ^{ab}
pH	3.44 (0.16) ^a	3.65 (0.30) ^a	3.61 (0.50) ^a	3.47 (0.34) ^a
TA	144.70 (25.1) ^{ab}	133.00 (28) ^a	139.50 (11.9) ^a	163.00 (40) ^b
ABTS \cdot +	62.90 (0.90) ^a	62.90 (1.1) ^a	63.10 (0.5) ^{ab}	63.80 (0.5) ^b
DPPH	14.20 (11.9) ^a	14.00 (10) ^a	19.50 (7.6) ^{ab}	22.20 (14.1) ^b
TPC	124.50 (57.3) ^b	104.2 (37) ^{ab}	107.80 (27.4) ^{ab}	89.90 (17.7) ^a

Different lower in a row indicate statistically significant differences between plant growth regulators (Tukey; $p \leq 0.05$). ♦ Letras diferentes en una línea indican diferencias estadísticamente significativas entre los reguladores del crecimiento de las plantas (Tukey; $p \leq 0.05$).

development, the use of Ethrel® in viticulture advances the fruit ripening processes, including the accumulation of soluble solids. However, for a careful statistical examination similar results were obtained for ET+MG, Ethrel® and control experiments in our study. In contrast, a maximum °Brix value of 18.2 was recorded with Maxi-Grow®, which contains cytokinins that often delay the accumulation of soluble solids (Zabadal and Bukovac, 2006; Peppi and Fidelibus, 2008). Nonetheless, in our study, grapes treated with this growth regulator did not show this behavior, as the level of soluble solids may be influenced by gibberellins and auxins. Zhenming *et al.* (2008), Casanova *et al.* (2009) and Macedo *et al.* (2010) reported that exogenous applications of gibberellic acid (GA₃) produced positive effects in early maturation, which resulted in a higher °Brix in grapes. However, Oliveira-Souza *et al.* (2016) found that the application of GA₃ decreased the accumulation of soluble solids, with a 6% decrease in content as compared to the control.

The most acidic value was obtained with Ethrel® (3.44) while the highest pH (3.65) was obtained with Maxi-Grow® and also the lowest value of total acidity (133 mg of AT 100 g⁻¹). The pH indicates the strength of the acids present in the must (Blouin and Guimberteau, 2003), while acidity is the result of complex physiological processes in which respiration plays an important role, *i.e.*, acids are used as metabolites for respiration during growth and maturation in some fruits (Dorey *et al.*, 2016). Other studies attempted to link a single climatic variable to fruit acidity, *e.g.*, temperature was linked to grape acidity (Etienne *et al.*, 2013).

In grapes, tartaric and malic acids constitute almost all the organic acids (Saxton *et al.*, 2009). Also, acidity decreases during the ripening stage due to dilution of acids with the increment of berries size. This is caused by the migration of alkaline compounds that neutralize the acidic compounds and, as a consequence, pH is increased (Champagnol, 1984). Ethylene exogenous, present and released in the Ethrel® (Royer *et al.*, 2006), is needed to increase the diameter of the berries, decrease the acidity and for the accumulation of anthocyanins that occurs after *veraison* (Chervin *et al.*, 2004; Delgado *et al.*, 2004). El-Kereamy *et al.* (2003) showed an increase in the gene expression of enzymes involved in anthocyanin biosynthesis, such

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) se encontraron en °Brix, acidez titulable, actividad antioxidante (con ambos métodos) y contenido fenólico total entre el uso de reguladores de crecimiento y el control (Tabla 1).

Los valores de humedad (% Xw) se obtuvieron en el control y Ethrel® con 80.9% como valor máximo y 78.7% como valor mínimo cuando se utilizó Maxi-Grow®. Se obtuvo un valor promedio de 16.7 °Brix con la aplicación de Ethrel®; los valores de humedad constituyen un aspecto muy importante para el cultivo de uva de mesa y la producción de vino debido al alto nivel de azúcares requeridos durante la maduración para mejorar la calidad de la baya (Casanova *et al.*, 2009).

Shulman *et al.* (1985) mencionaron que, independientemente del papel endógeno del etileno en el desarrollo de la uva, el uso de Ethrel® en la viticultura hace avanzar los procesos de maduración de la fruta, incluida la acumulación de sólidos solubles. Sin embargo, con un examen estadístico cuidadoso se obtuvieron resultados similares para ET+MG, Ethrel® y el control en el presente estudio. En contraste, se registró un valor máximo de °Brix de 18.2 con Maxi-Grow®, que contiene citoquininas que a menudo retrasan la acumulación de sólidos solubles (Zabadal y Bukovac, 2006; Peppi y Fidelibus, 2008). No obstante, en nuestro estudio, las uvas tratadas con este regulador de crecimiento no mostraron este comportamiento, ya que el nivel de sólidos solubles pudo verse afectado por las giberelinas y las auxinas. Zhenming *et al.* (2008), Casanova *et al.* (2009) y Macedo *et al.* (2010) informaron que las aplicaciones exógenas del ácido giberélico (GA₃) produjeron efectos positivos en la maduración temprana, lo que resultó en un mayor °Brix en las uvas. Sin embargo, Oliveira-Souza *et al.* (2016) encontraron que la aplicación de GA₃ disminuyó la acumulación de sólidos solubles, con una disminución de 6% del contenido en comparación con el control.

El valor más ácido se obtuvo con Ethrel® (3.44), mientras que el pH más alto (3.65) se obtuvo con Maxi-Grow® y también el valor más bajo de acidez total (133 mg de AT 100 g⁻¹). El pH indica la fuerza de los ácidos presentes en el mosto (Blouin y Guimberteau, 2003), mientras que la acidez es el resultado de procesos fisiológicos complejos en los que

as UDP-flavonoid glycosyltransferase (UFGT), with concomitant increase in anthocyanin accumulation in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon (Gardin *et al.*, 2012). The absorption of Ethrel® by plant tissue is influenced by temperature, relative humidity and pH of the surface (Turnbull *et al.*, 1999). According to Oliveira-Souza *et al.* (2016), GA₃ applications did not produce significant changes in titratable acidity (TA) in cashew apple.

The total phenolic content values were between 89.4 to 124.5 mg of GAE 100 g⁻¹. Higher concentrations of phenolic content were found in Ethrel®, followed by Maxi-Grow® and the combined method. Phenolic compounds are mostly health-beneficial because of their antioxidant activity. As such, they are capable of eliminating free radicals, chelating metal catalysts, activating antioxidant enzymes and inhibiting oxidases (Heim *et al.*, 2002). Phenolic composition of grapes varieties is dependent on different factors, including the intrinsic potential of each variety (Costa *et al.*, 2015) and this determines the concentration, distribution and accumulation of polyphenols in grapes (Mazza *et al.*, 1999; Rebello *et al.*, 2013). The quantity and quality of polyphenols in fruits and vegetables can also vary significantly according to intrinsic and extrinsic factors, such as soil composition and growth conditions, maturity stage and post-harvest conditions (Jeffery *et al.*, 2003).

According to Downey *et al.* (2006), the use of growth regulators, specifically flavonoids, could affect the biosynthesis of polyphenols. Giannakoula *et al.* (2012) reported a significant increase in phenolic compounds (gallic acid and rutin) in lentils due to the foliar application of GA₃ and indoleacetic acid (IAA). Weir *et al.* (2004) found that the application of IAA in lentils greatly reduced the amount of catechins, which significantly decreases their dietary benefits (Ness and Powles, 1997) due to the fact that catechin is the predominant polyphenol in lentil seeds (Dueñas *et al.*, 2002). This is similar to what would happen in grapes, which are characterized by high concentrations of catechin. However, Oliveira-Souza *et al.* (2016) did not find significant differences in the total phenolic content of cashew apple with the application of GA₃.

As for antioxidant capacity, values between 62.1 to 63.8 μmol of TEAC 100 g⁻¹ were obtained with the ABTS·⁺ technique, and they were higher than

la respiración juega un papel importante, es decir, los ácidos se utilizan como metabolitos para la respiración durante el crecimiento y la maduración, en algunas frutas (Dorey *et al.*, 2016).

Otros estudios intentaron vincular una variable climática única a la acidez del fruto; por ejemplo, la temperatura se vinculó a la acidez de la uva (Etienne *et al.*, 2013). En la uva, los ácidos tartárico y málico constituyen casi todos los ácidos orgánicos (Saxton *et al.*, 2009). Además, la acidez disminuye durante la etapa de maduración debido a la dilución de ácidos con el incremento del tamaño de las bayas. Esto se debe a la migración de compuestos alcalinos que neutralizan los compuestos ácidos y, como consecuencia, aumenta el pH (Champagnol, 1984).

El etileno exógeno, presente y liberado en el Ethrel® (Royer *et al.*, 2006), es necesario para aumentar el diámetro de las bayas, disminuir la acidez y para la acumulación de antocianinas que se produce después del envero (Chervin *et al.*, 2004; Delgado *et al.*, 2004).

El-Kereamy *et al.* (2003) reportaron un aumento en la expresión génica de enzimas involucradas en la biosíntesis de antocianinas, como la glucosiltransferasa UDP-flavonoide (UFGT), con un aumento concomitante en la acumulación de antocianinas en *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon (Gardin *et al.*, 2012).

La temperatura, la humedad relativa y el pH de la superficie influyen en la absorción de Ethrel® por el tejido vegetal (Turnbull *et al.*, 1999). Según Oliveira-Souza *et al.* (2016), las aplicaciones de GA₃ no produjeron cambios significativos en la acidez titulable (TA) en la manzana de anacardo.

Los valores de contenido fenólico total estuvieron entre 89.4 y 124.5 mg GAE 100 g⁻¹. Concentraciones más altas de contenido fenólico se encontraron en Ethrel®, seguido de Maxi-Grow® y el método combinado. Los compuestos fenólicos son en su mayoría benéficos para la salud debido a su actividad antioxidante. Como tales, son capaces de eliminar radicales libres, quelar catalizadores metálicos, activar enzimas antioxidantes e inhibir las oxidases (Heim *et al.*, 2002). La composición fenólica de las variedades de uvas depende de diferentes factores, incluido el potencial intrínseco de cada variedad (Costa *et al.*, 2015) y esto determina la concentración, distribución y acumulación de polifenoles en las uvas (Mazza *et al.*, 1999; Rebello *et al.*, 2013).

those found with the DPPH method. The statistical analysis showed no significant differences between the treatments and the control when antioxidant activity was measured with the ABTS+ method. But the DPPH showed significant differences, and the untreated grapes had the highest antioxidant capacity. Dan and Lee (2004, cited by Downey *et al.*, 2006) mentioned that gibberellins (GA_3) application in the grape, decreases levels of anthocyanins, and similar effects were observed with the application of the growth regulator CPPU.

Gibberellic acid is applied to table grapes to increase the size of the berry, causing dilution and anthocyanin levels are decreased (Downey *et al.*, 2006). This would explain the higher value in antioxidant capacity of grapes that did not receive growth regulators. Nonetheless, Mohamed *et al.* (2014) (cited by Oliveira-Souza *et al.*, 2016) found that a pre-harvest application of GA_3 increased the antioxidant capacity in 'Barhee' dates, as compared to the control. Auxins and cytokinins are also plant growth regulators used to manage plant production. Although these growth regulators increase anthocyanin biosynthesis in plants (Deikman and Hammer, 1995; Nakamura *et al.*, 1980; Ozeki and Komamine 1981, cited by Downey *et al.*, 2006), the application of naphthaleneacetic auxin inhibit accumulation of anthocyanins in grape berries of Cabernet Sauvignon (Jeong *et al.*, 2004, cited by Downey *et al.*, 2006). The application of the synthetic benzothiazole-2-oxyacetic auxin to Shiraz vines delayed the onset of maturation and the accumulation of anthocyanins in the skin of the grape (Davies *et al.*, 1997 cited by Downey *et al.*, 2006).

Table 2 includes the values obtained for the humidity percentage (% Xw), pH and for the °Brix under the application of the same growth regulator for each block. Statistically significant differences were found in soluble solids between each block for each treatment as well as in the control. Humidity values differed only when a growth regulator was not applied in the control.

There were significant differences in total phenolic content (mg of GAE 100 g^{-1}) and titratable acidity (mg of tartaric acid 100 g^{-1}) during the application of the same growth regulator in each block (Table 3). Grapes are among fruits with the highest content of phenolic substances and the synthesis of these

La cantidad y calidad de los polifenoles en frutas y verduras también pueden variar significativamente según los factores intrínsecos y extrínsecos, como la composición del suelo y las condiciones de crecimiento, el estado de madurez y las condiciones posteriores a la cosecha (Jeffery *et al.*, 2003). Según Downey *et al.* (2006), el uso de reguladores del crecimiento, específicamente los flavonoides, podría afectar la biosíntesis de los polifenoles.

Giannakoula *et al.* (2012) reportaron un aumento significativo en los compuestos fenólicos (ácido gálico y rutina) en las lentejas debido a la aplicación foliar de GA_3 y ácido indoleacético (IAA). Weir *et al.* (2004) encontraron que la aplicación de IAA en lentejas redujo en gran medida la cantidad de catequinas, esto disminuye significativamente sus beneficios dietéticos (Ness y Powles, 1997) debido al hecho de que la catequina es el polifenol predominante en las semillas de lentejas (Dueñas *et al.*, 2002).

Esto es similar a lo que sucedería en las uvas, que se caracterizan por altas concentraciones de catequina. Sin embargo, Oliveira-Souza *et al.* (2016) no encontraron diferencias significativas en el contenido fenólico total de la manzana de anacardo con la aplicación de GA_3 .

En cuanto a la capacidad antioxidante, los valores entre 62.1 y $63.8\ \mu\text{mol}$ de TEAC 100 g^{-1} se obtuvieron con la técnica ABTS·+, y fueron más altos que los encontrados con el método DPPH. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los tratamientos y el control cuando se midió la actividad antioxidante con el método ABTS·+. Pero el DPPH mostró diferencias significativas, y las uvas sin tratar tenían la mayor capacidad antioxidante. Dan y Lee (2004, citados por Downey *et al.*, 2006) mencionaron que la aplicación de giberelinas (GA_3) en la uva disminuye los niveles de antocianinas, y se observaron efectos similares con la aplicación del regulador de crecimiento CPPU.

El ácido giberélico se aplica a las uvas de mesa para aumentar el tamaño de la baya, lo cual provoca dilución y que los niveles de antocianina disminuyan (Downey *et al.*, 2006). Esto explicaría el mayor valor en la capacidad antioxidante de las uvas que no recibieron reguladores de crecimiento. Sin embargo, Mohamed *et al.* (2014) (citado por Oliveira-Souza *et al.*, 2016) encontraron que una aplicación previa a la cosecha de GA_3 aumentaba la capacidad antioxidante en las fechas de 'Barhee', en comparación con

Table 2. Mean values (n=3) in moisture content, soluble solids (°Brix) and pH for each growth regulator as a function of the block.
Cuadro 2. Valores medios (n=3) en contenido de humedad, sólidos solubles (°Brix) y pH para cada regulador de crecimiento como función del bloque.

	Block	Ethrel®	MG	Et + MG	Control
% Xw (g g ⁻¹ H ₂ O)	1	81.1 (1.3) ^{aA}	81.9 (0.6) ^{aA}	80.6 (3.2) ^{aA}	80.9 (0.4) ^{abA}
	2	79.5 (0.8) ^{aA}	79.2 (0.2) ^{aA}	80.2 (0.2) ^{aA}	81.5 (0.4) ^{bA}
	3	81.8 (1.9) ^{aA}	81.3 (0.6) ^{aA}	82.5 (1.8) ^{aA}	81.6 (0.4) ^{bA}
	4	82.1 (0.4) ^{aA}	80.7 (3.1) ^{aA}	76.1 (6.6) ^{aA}	80.0 (0.6) ^{aA}
	5	79.9 (1.4) ^{aAB}	76.4 (2.6) ^{aA}	82.5 (0.5) ^{aB}	80.2 (0.4) ^{aAB}
°Brix	1	16.4 (0.2) ^{aA}	17.0 (0.05) ^{aB}	17.8 (0.1) ^{cC}	17.9 (0.1) ^{cC}
	2	17.20 (0.05) ^{cA}	18.9 (0.1) ^{bC}	17.8 (0.05) ^{cB}	17.2 (0.1) ^{bA}
	3	16.3 (0.1) ^{aC}	18.8 (0.05) ^{bD}	15.2 (0.05) ^{aB}	14.8 (0.1) ^{aA}
	4	16.8 (0.5) ^{bA}	19.1 (0.1) ^{cD}	17.9 (0.1) ^{cB}	18.6 (0.1) ^{dC}
	5	17.0 (0.2) ^{bcB}	17.1 (0.1) ^{aB}	16.1 (0.1) ^{bA}	19.0 (0.1) ^{dC}
pH	1	3.35 (0.06) ^{bA}	4.16 (0.15) ^{cB}	4.50 (0.01) ^{eC}	3.50 (0.01) ^{cA}
	2	3.48 (0.01) ^{cB}	3.57 (0.01) ^{bC}	3.32 (0.03) ^{bA}	3.31 (0.03) ^{bA}
	3	3.71 (0.03) ^{dD}	3.33 (0.01) ^{aC}	3.12 (0.03) ^{aB}	2.97 (0.02) ^{aA}
	4	3.25 (0.01) ^{aA}	3.53 (0.01) ^{bC}	3.44 (0.02) ^{cB}	3.95 (0.01) ^{eD}
	5	3.39 (0.02) ^{bA}	3.64 (0.01) ^{bB}	3.66 (0.01) ^{dB}	3.63 (0.02) ^{dB}

Different lowercase letters between blocks, in a column and for the same parameter, indicate significant differences (Tukey; p≤0.05); and different capital letters between treatments in row, in the same block, indicate significant differences (Tukey; p≤0.05). ♦ Las letras minúsculas diferentes entre bloques, en una columna y para el mismo parámetro, indican diferencias significativas (Tukey; p≤0.05); y las letras mayúsculas diferentes entre los tratamientos en las hileras de los bloques indican diferencias significativas (Tukey; p≤0.05).

Table 3. Mean values (n=3) of total phenolic content and titratable acidity for each growth regulator as a function of the block and treatment.

Cuadro 3. Valores medios (n=3) del contenido fenólico total y acidez titulable para cada regulador de crecimiento como función del bloque y el tratamiento.

	Block	Ethrel®	MG	Et + MG	Control
Total acidity (mg of tartaric acid 100 g ⁻¹)	1	165.8 (0.4) ^{cC}	123.8 (4.9) ^{bA}	132.9 (1.7) ^{aB}	140.1 (2.4) ^{bB}
	2	131.1 (7) ^{bB}	87.6 (1.3) ^{aA}	132.2 (2.5) ^{aB}	172.5 (0.4) ^{cC}
	3	123.1 (3.1) ^{abA}	152.0 (4.9) ^{cB}	162.1 (1.9) ^{bC}	247.7 (3.9) ^{dD}
	4	165.1 (1.3) ^{cB}	133.9 (3.9) ^{bA}	133.5 (1.5) ^{aA}	131.5 (2.4) ^{aA}
	5	118.3 (1.7) ^{aA}	166.4 (4.7) ^{dC}	136.8 (1.5) ^{bB}	134.7 (0.2) ^{abB}
Total phenolics (mg of GAE 100 g ⁻¹)	1	85.9 (0.7) ^{bB}	51.4 (0.6) ^{aA}	108.9 (1.4) ^{bC}	111.7 (0.3) ^{cC}
	2	151.5 (5.9) ^{dB}	84.4 (0.3) ^{bA}	76.6 (0.9) ^{aA}	78.7 (1.9) ^{aA}
	3	106.1 (1.7) ^{cB}	150.6 (3.9) ^{dC}	147.8 (9.4) ^{dC}	105.4 (1.8) ^{bA}
	4	63.9 (3.3) ^{aA}	93.1 (2.5) ^{bC}	89.4 (3.2) ^{aC}	78.1 (0.7) ^{aB}
	5	217.7 (6.1) ^{e;C}	135.1 (7.5) ^{c;B}	122.1 (2.1) ^{c;B}	83.5 (3.4) ^{ab;A}

Different lowercase letters between blocks, in a column and for the same variable, indicate significant differences (Tukey; p≤0.05); and different capital letters between treatments, in row and in the same block, indicate significant differences (Tukey; p≤0.05). ♦ Las letras minúsculas diferentes entre los bloques en una columna y para la misma variable indican diferencias significativas (Tukey; p≤0.05); y las letras mayúsculas diferentes entre los tratamientos en hileras y en el mismo bloque indican diferencias significativas (Tukey; p≤0.05).

compounds is genetic. Between grape types there is a significant difference in the amounts of phenolic compounds and antioxidants, which also changes according to the part of the plant. Moreover, the developmental stage of the flower and the fruit also affect the phenolic compound content; it is at its peak 50 d after flowering, decreasing with grain maturation (Arnaldos *et al.*, 2001 cited by Sedighi *et al.*, 2014). Plant growth regulators play a crucial role in the growth and the production of secondary metabolites in plant cell cultures and tissues. For example, concentration levels and the type of auxin or cytokinin, as well as the auxin-cytokinin ratio, have significant effects on growth and the accumulation of secondary metabolites in plants.

Statistically significant differences in antioxidant capacity were observed between blocks for each treatment as well as in the control. High variability between blocks occurred with the the DPPH method (Table 4). Han and Lee (2004) and Teszłak *et al.*, (2005 cited by Raban *et al.* 2013) emphasized that an optimal concentration of growth regulators should aim to balance its positive effects (size of the berry and length of cluster) and its negative effects (delayed maturity, cluster stiffness, fruit fragmentation and sprout fertility): these factors also tend to vary depending on the grape variety.

el control. Las auxinas y las citoquininas también son reguladores del crecimiento de las plantas que se utilizan en el manejo de la producción vegetal. Aunque estos reguladores del crecimiento aumentan la biosíntesis de las antocianinas en plantas (Deikman y Hammer, 1995; Nakamura *et al.*, 1980; Ozeki y Komamine 1981, citados por Downey *et al.*, 2006), la aplicación de auxina naftalenacética inhibe la acumulación de antocianinas en las bayas de uva de Cabernet Sauvignon (Jeong *et al.*, 2004, citado por Downey *et al.*, 2006).

La aplicación de la auxina sintética benzotiazol-2-oxiacética a las vides Shiraz retrasó el inicio de la maduración y la acumulación de antocianinas en la piel de la uva (Davies *et al.*, 1997 citados por Downey *et al.*, 2006).

El Cuadro 2 incluye los valores obtenidos para el porcentaje de humedad (% Xw), pH y °Brix bajo la aplicación del mismo regulador de crecimiento para cada bloque. Diferencias estadísticamente significativas en los sólidos solubles se encontraron entre cada bloque por tratamiento, así como en el control. Los valores de humedad difirieron solo cuando no se aplicó un regulador de crecimiento en el control.

Hubo diferencia significativa en el contenido fenólico total (mg de GAE 100 g⁻¹) y en acidez titulable (mg de ácido tartárico 100 g⁻¹) durante la aplicación

Table 4. Antioxidant capacity (DPPH and ABTS+method) ($\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$) of the Red Globe grape for each treatment as function of the block.

Cuadro 4. Capacidad antioxidante (DPPH y ABTS+método) ($\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$) de la uva Red Globe para cada tratamiento como función del bloque.

	Block	Ethrel®	MG	Et + MG	Control
DPPH	1	21.80 (2.9) ^{cC}	12.5 (1.3) ^{bB}	17.4 (0.3) ^{abC}	6.7 (1.6) ^{aA}
	2	3.43 (0.23) ^{aA}	15.5 (0.1) ^{bB}	17.7 (1.4) ^{abB}	23.8 (1.2) ^{cC}
	3	12.27 (1.5) ^{bB}	4.9 (0.25) ^{aA}	31.9 (1.4) ^{cC}	45.3 (0.4) ^{dD}
	4	31.70 (2.3) ^{dB}	31.5 (0.5) ^{cB}	19.8 (4.1) ^{bA}	25.0 (0.4) ^{cA}
	5	1.60 (0.3) ^{aA}	5.6 (0.18) ^{aAB}	10.4 (4.3) ^{abB}	10.3 (1.1) ^{bB}
ABTS +	1	61.90 (0.4) ^{aB}	61.0 (0.5) ^{aA}	62.7 (0.1) ^{aBC}	62.9 (0.1) ^{aC}
	2	64.10 (0.1) ^{cA}	63.4 (0.2) ^{bA}	63.9 (0.4) ^{cA}	63.7 (0.5) ^{bA}
	3	63.70 (0.2) ^{cB}	63.7 (0.7) ^{bB}	62.6 (0.3) ^{aA}	64.3 (0.01) ^{bB}
	4	62.80 (0.1) ^{bA}	62.9 (0.5) ^{bA}	63.1 (0.4) ^{abA}	64.1 (0.1) ^{bB}
	5	62.01 (0.01) ^{aA}	63.4 (0.2) ^{bB}	63.4 (0.1) ^{abB}	64.0 (0.1) ^{bC}

Different lowercase letters between blocks, in a column and for the same variable, indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$); and different capital letters between treatments, in a row in the same block, indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$). ♦ Las letras minúsculas diferentes entre bloques, en una columna y para la misma variable, indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$); y las letras mayúsculas diferentes entre los tratamientos, en una fila en el mismo bloque, indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$).

The highest correlations between total phenolic content and antioxidant capacity were observed only with Ethrel ($r = -0.894$, DPPH test) and Maxigrow ($r=0.809$, ABTS \cdot + test). But, no correlations between AC and TPC were observed with DPPH method by using MG and Et+MG, neither when AC was tested with the ABTS \cdot + method by adding Ethrel and Et+MG.

CONCLUSIONS

Red Globe variety as an important source of dietary antioxidants, as this study demonstrated. Plant growth regulators play a crucial role in growth and production of secondary metabolites in plants.

There was a good effect in enhancing the physicochemical variables and total phenolic content of grapes by adding plant growth regulators. The use of Maxi-grow[®] and Ethrel[®] increased the total phenolic content as in Brix degrees. However, the use of growth regulators did not imply with certainty an increase in antioxidant capacity.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors acknowledge the Research and Food Safety Laboratory of the Nutrition Department of the Universidad Autónoma de Zacatecas for their technical support and authorization to access their facilities; they also acknowledge financial support from the Programa de Fortalecimiento de la Calidad Educativa (PFCE 2019).

LITERATURE CITED

- Anastasiadi, M., H. Pratsinis, D. Kletsas, A. Skaltsounis, and S. Haroutounian. 2010. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by-products: Evaluation of the antioxidant activities of their extracts. *Food Res. Int.* 43: 805–813.
- Andjelkovic, M., B. Radobanovic, A. Radovanovic, and A. M. Andjelkovic. 2013. Changes in polyphenolic content and antioxidant activity of grapes cv Vranac during ripening. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 34: 147–155
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. *Official Methods of Analysis of AOAC international* (17th ed.) Gaithersburg, MD, USA. 2200 p.
- Baiano A., C. Terracone, G. Peri, and R. Romaniello. 2012. Application of hyperspectral imaging for prediction of physico-chemical and sensory characteristics of table grapes. *Comput. Electron. Agr.* 87: 142–151.
- Blouin, J., y G. Guimberteau. 2003. *Maduración y Madurez de la Uva*. Mundiprensa, Madrid. 157 p.

del mismo regulador de crecimiento en cada bloque (Cuadro 3). Las uvas están entre las frutas con mayor contenido de sustancias fenólicas y la síntesis de estos compuestos es genética. Entre los tipos de uva hay una diferencia significativa en cantidad de compuestos fenólicos y antioxidantes, que también cambia según la parte de la planta. Además, la etapa de desarrollo de la flor y el fruto también afectan el contenido de los compuestos fenólicos; está en su punto máximo 50 días después de la floración, y disminuyen con la maduración (Arnaldos *et al.*, 2001 citado por Sedighi *et al.*, 2014). Los reguladores del crecimiento de las plantas desempeñan un papel crucial en el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios en cultivos y tejidos de células vegetales. Por ejemplo, los niveles de concentración y el tipo de auxina o citoquinina, así como la relación auxina-citoquinina, tienen efectos significativos en el crecimiento y acumulación de metabolitos secundarios en las plantas.

En la capacidad antioxidante entre los bloques para cada tratamiento se observaron diferencias estadísticamente significativas, así como en el control. Una alta variabilidad entre bloques ocurrió con el método DPPH (Cuadro 4).

Han y Lee (2004) y Teszlak *et al.*, (2005, citado por Raban *et al.* 2013) enfatizaron que una concentración óptima de reguladores del crecimiento debería apuntar a equilibrar sus efectos positivos (tamaño de la baya y longitud del racimo) y los negativos (madurez tardía, rigidez del racimo, fragmentación de la fruta y fertilidad del brote); estos factores tienden también a variar según la variedad de uva.

Las mayores correlaciones entre el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante se observaron solo con Ethrel ($r = -0.894$, prueba DPPH) y Maxigrow ($r = 0.809$, prueba ABTS \cdot +). Pero no se observaron correlaciones entre AC y TPC con el método DPPH mediante el uso de MG y Et + MG, ni tampoco cuando se probó AC con el método ABTS \cdot + al agregar Ethrel y Et + MG.

CONCLUSIONES

La variedad de uva Red Globe es una fuente importante de antioxidantes en la dieta, como quedó demostrado. Los reguladores del crecimiento de las plantas desempeñan un papel crucial en el crecimiento y producción de metabolitos secundarios en las plantas.

- Brand-Williams W., M. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci. Technol.* 22: 25-30.
- Carrieri C., R. Milella, F. Incampo, P. Crupi, D. Antonacci, N. Semeraro, and M. Colucci. 2013. Antithrombotic activity of 12 table grape varieties. Relationship with polyphenolic profile. *Food Chem.* 140: 647-653
- Casanova L., R.Casanova, A. Moret, and M. Agustí. 2009. The application of gibberellic acid increases berry size of 'Emperatriz' seedless grape. *Span. J. Agric. Res.* 7: 919-927.
- Champagnol, F. 1984. *Elements de Physiologie de la Vigne et de Viticulture Generale.* Saint-Gely-du-Fesc: Champagnol. 351 p.
- Chervin C., A. El-Kereamy, J. Roustan, A. Latche, J. Lamon, and M. Bouzayen. 2004. Ethylene seems required for the berry development and ripening in grape, a non-climacteric fruit. *Plant Sci.* 167: 1301-1305.
- Costa, E., J. da Silva, F. Cosme, and A. Jordão 2015. Adaptability of some French red grape varieties cultivated at two different Portuguese terroirs: Comparative analysis with two Portuguese red grape varieties using physicochemical and phenolic parameters. *Food Res. Int.* 78: 302-312.
- Delgado R., J. Gallegos, P. Martín, and M. González. 2004. Influence of ABA and Ethephon treatments on fruit composition of 'Tempranillo' grapevines. *Acta Hort.* 640: 321-326.
- Dorey E., P. Fournier, M. Léchaudel, and P. Tixier. 2016. A statistical model to predict titratable acidity of pineapple during fruit developing period responding to climatic variables. *Sci Hort.* 210: 19-24.
- Downey M., N. Dokoozlian, and M. Krstic. 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *Am. J. Enol. Vitic.* 57: 257-268
- Dueñas M., T. Hernández, and I. Estrella. 2002. Phenolic composition of the cotyledon and the seed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 215: 478-483.
- El-Kereamy A., C. Chervin, J. Roustan, V. Cheynier, J. Souquet, M. Moutoumet, J. Raynal, C. Ford, A. Latché, J. Pech, and M. Bouzayen. 2003. Exogenous ethylene stimulates the long-term expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in grape berries. *Physiologia Plantarum.* 119: 175-182.
- Etienne, A., M. Genard, P. Lobit, D. Mbeguie-A-Mbeguie, and C. Bugaud. 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *J. Exp. Bot.* 64: 1451-1469.
- Ferrara G., A. Mazzeo, A. Matarrese, C. Pacucci, R. Punzi, M. Faccia, A. Trani, and G. Gambacorta. 2015. Use of abscisic acid (S-ABA) and sucrose for improving colour, anthocyanin content and antioxidant activity of 'Crimson Seedless' grape berries. *Aust. J. Grape Wine Res.* 21: 18-29.
- Frankel, E., A. Waterhouse, and P. Teissedre 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low- low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* 43: 890-894.
- Gardin J., R. Schumacher, C. Bettoni, J. Petri, e E. de Souza. 2012. Ácido abscísico e Etefom: influência sobre a maturação e qualidade das uvas Cabernet Sauvignon. *Rev. Bras. Frutic.* 34: 321-327.
- La adición de reguladores de crecimiento en las plantas tuvo un efecto favorable en la mejora de las variables fisicoquímicas y el contenido fenólico total de las uvas.
- El uso de Maxi-grow® y Ethrel® aumentó el contenido fenólico total, tanto como los grados Brix. Sin embargo, el uso de reguladores del crecimiento no implicó que hubiera certeza sobre un aumento en la capacidad antioxidante.

—Fin de la versión en Español—



- Garrido, I., D. Uriarte, M. Hernández, J. L. Llerena, M. E. Valdez, and F. Espinosa. 2016. The evolution of total phenolic compounds and antioxidant activities during ripening of grapes (*Vitis vinifera* L., cv. Tempranillo) grown in semiarid region: Effects of cluster thinning and water deficit. *Int. J. Mol. Sci.* 17: 1923.
- Giannakoula A., I. Illias, J. Dragisic-Maksimovic, V. Maksimovic, and B. Zivanovic. 2012. The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. *J. Food Compos. Anal.* 28: 46-53
- Heim K.E., A. Tagliaferro, and D. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13: 572-584.
- Jeffery, E., A. Brown, A. Kurilich, A. Keek, N. Matusheski, and B. Klein. 2003. Variation in content of bioactive components in broccoli. *J. Food Compos. Anal.* 16: 323-330.
- Li, B.B., B. Smith, and M. Hossain. 2006. Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Sep. Purif. Tech.* 48: 182-188.
- Macedo, W., M. Terra, M. Tecchio, P. Paioli, G. Fernandes, L. Villar, and M. Moura. 2010. Growth regulators applied on seedless grape 'Centennial Seedless'. *Cienc. Rural.* 40: 1714-1719.
- Mazza, G., L. Fukumoto, P. Delaquis, B. Girard, and B. Ewert. 1999. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4009-4017.
- Mulero J., G. Martínez, J. Oliva, S. Cermeño, J. Cayuela, P. Zafrilla, A. Martínez-Cachá, and A. Barba. 2015. Phenolic compounds and antioxidant activity of red wine made from grapes treated with different fungicides. *Food Chem.* 180: 25-31.
- Nandakumar V., T. Singh, and S. Katiyar. 2008. Multi-targeted prevention and therapy of cancer by proanthocyanidins. *Cancer Lett.* 269: 378-387.
- Ness, A., and J. Powles. 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int. J. Epidemiol.* 26: 1-13.
- Oliveira-Souza K., R. Melo-Viana, L. Siqueira-Oliveira, C. Herbster, and M. Alcântara-Miranda. 2016. Preharvest treatment of growth regulators influences postharvest quality and storage life of cashew apples. *Sci. Hortic.* 209: 53-60

- Parker A., I. Garcia de Cortázar-Atauri, I. Chuine, G. Barbeau, B. Bois, J. M. Boursiquot, J. Y. Cahurel, M. Claverie, T. Dufourcq, L. Geny, G. Guimberteau, R. W. Hofmann, O. Jacquet, T. Lacombe, C. Monamy, H. Ojeda, L. Panigai, J. C. Payan, B. Rodríguez Lovelle, E. Rouchaud, C. Schneider, J. L. Spring, S. Paolo, D. Tomasi, W. Trambouze, M. Trought and C. Van Leeuwen. 2013. Classification of varieties for their timing of flowering and veraison using a modelling approach: A case study for the grapevine species *Vitis vinifera* L. *Agr. Forest Meteorol.* 180: 249–264
- Peppi, M., and M. Fidelibus. 2008. Effects of forchlorfenuron and abscisic acid the quality of 'Flame Seedless' grapes. *Hort Sci.* 43: 173–176.
- Raban E., T. Kaplunov, Y. Zutahy, A. Daus, V. Alchanatis, V. Ostrovsky, S. Lurie, and A. Lichter. 2013. Rachis browning in four table grape cultivars as affected by growth regulators or packaging. *Postharvest Biol. Tec.* 84: 88–95.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26: 1231–1237.
- Rebello, L., E. Lago-Vanzela, M. Barcia, A. Ramos, P. Stringheta, R. Da Silva, N. Castillo-Muñoz, S. Gómez-Alonso, and I. Hermosín-Gutiérrez. 2013. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubra × IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI–MS/MS. *Food Res. Int.* 54: 354–366.
- Royer, A., F. Laporte, S. Bouchonnet, and P. Communala. 2006. Determination of ethephon residues in water by gas chromatography with cubic mass spectrometry after ion-exchange purification and derivatisation with N-(tert-butyltrimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide. *J. Chromatogr. A.* 1108: 129–135.
- Saxton, V., G. Creasy, A. Paterson, and M. Trought. 2009. Behavioral responses of European blackbirds and Australasian silvereyes to varying acid and sugar levels in artificial grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 60: 82–86.
- Šeruga, M., I. Novak, and L. Jakobek. 2011. Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chem.* 124: 1208–1216.
- Shulman Y., S. Cohen, and C. Loinger. 1985. Improved maturation and wine quality of Carignane grapes by ethephon treatment. *Am. J. Enol. Viticult.* 36: 264–267.
- SIAP (Sistema de información agropecuaria). 2015. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola (Vid). <http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Accessed: julio 2017).
- Tomás-Barberán F., M. Gil, P. Cremin, A. Waterhouse, B. Hess-Pierce, and A. Kader. 2001. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4748–4760.
- Turnbull C., E. Sinclair, K. Anderson, R. Nissen, A. Shorter, and T. Lanham. 1999. Routes of ethephon uptake in pineapple (*Ananas comosus*) and reasons for failure of flower induction. *J. Plant Growth Regul.* 18: 145–152.
- Ugare B., K. Banerjee, S. Ramteke, S. Pradhan, D. Oulkar, S. Utture, and P. Adsule. 2013. Dissipation kinetics of forchlorfenuron, 6-benzyl aminopurine, gibberellic acid and ethephon residues in table grapes (*Vitis vinifera*). *Food Chem.* 141: 4208–4234.
- Weir, T., S. Park, and J. Vivanco. 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biol.* 7: 472–479.
- Zabada, T. and M. Bukovac. 2006. Effect of CPPU on fruit development of selected seedless and seeded grape cultivars. *Hort Science.* 41: 154–157.
- Zhenming, N., X. Xuefeng, W. Yi, L. Tianzhong, K. Jin, and H. Zhenhai. 2008. Effects of leaf-applied potassium, gibberellin and source-sink ratio on potassium absorption and distribution in grape fruits. *Sci. Hortic.* 115: 164–167.
- Zoffoli, J., B. Latorre, and P. Naranjo. 2009. Preharvest applications of growth regulators and their effect on postharvest quality of table grapes during cold storage. *Postharvest Biol. Tec.* 5: 183–192.