

Reuniones del

G **Grupo de Trabajo**
de Experimentación
en Viticultura y
Enología

32^a REUNIÓN



**INSTITUTO TECNOLÓGICO AGRARIO
DE LA CONSEJERÍA DE AGRICULTURA
Y GANADERÍA DE LA JUNTA DE CASTILLA
Y LEÓN. VALLADOLID**

19 y 20 de abril de 2017



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN

Reuniones del

Grupos de Trabajo de Experimentación
en Viticultura y Enología

32ª REUNIÓN

**Instituto Tecnológico Agrario
de la Consejería de Agricultura
y Ganadería de la Junta de Castilla
y León. Valladolid**

19 y 20 de abril de 2017



Madrid, 2018



Aviso Legal: los contenidos de esta publicación podrán ser reutilizados, citando la fuente y la fecha, en su caso, de la última actualización.



MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN

Edita:

© Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
Secretaría General Técnica
Centro de Publicaciones

Distribución y venta:

Paseo de la Infanta Isabel, 1
28014 Madrid
Teléfono: 91 347 55 41
Fax: 91 347 57 22

Impresión y encuadernación:

Talleres del Centro de Publicaciones del MAPA

NIPO: 013-18-102-2

ISBN: 978-84-491-1505-9

Depósito Legal: M-16198-2018

Tienda virtual: www.mapama.es
centropublicaciones@mapama.es

Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado:

<http://publicacionesoficiales.boe.es/>

Datos técnicos: Formato: 21x29,7 cm. Caja de texto: 15x24 cm. Composición: una columna. Tipografía: Arial Narrow a cuerpo 12. Encuadernación: fresado. Papel: Corel Book de 90 gramos. Cubierta en cartulina gráfica mate de 250 gramos plastificada..

Impreso en papel reciclado al 100%

ÍNDICE

Introducción	Pág. 5
Programa	Pág. 6
Relación de asistentes	Pág. 9
Desarrollo de la Reunión	Pág. 14
Conclusiones	Pág. 14
Trabajos presentados	Pág. 19
Viticultura	Pág. 21
Enología	Pág. 105

INTRODUCCIÓN

Durante los días 19 y 20 de abril de 2017 ha tenido lugar la Reunión, que con carácter itinerante y periodicidad anual, realiza el Grupo de Experimentación en Viticultura y Enología.

Estas reuniones, coordinadas por la Subdirección General de Calidad Diferenciada y Agricultura Ecológica del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, se vienen desarrollando sin interrupción desde 1988, siendo la celebrada en esta ocasión su 32º edición.

El Grupo está integrado por especialistas en viticultura y enología de las Comunidades Autónomas y del Estado, incorporándose a lo largo del tiempo significativas personalidades de la investigación y la docencia con inquietudes convergentes con el Grupo.

Atendiendo la invitación efectuada en la anterior Reunión del Grupo, celebrada en la UPM (Madrid) en abril de 2016, la 32º edición se ha realizado en el Instituto Tecnológico Agrario de la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León, ITACyL, encargándose de la organización el personal de dicho instituto. Resaltar la excelente organización de la Reunión así como la hospitalidad manifestada por todos los organizadores hacia los componentes del Grupo.

Durante las sesiones de trabajo se presentaron y debatieron trabajos relacionados con las materias previstas en la anterior Reunión y otros en turno libre, siempre relacionados con la actualidad y problemática de la vitivinicultura española, así mismo se realizaron excelentes visitas técnicas que han permitido conocer parte de la realidad de vitivinicultura vizcaína.

PROGRAMA

Miércoles 19 de abril de 2017

08:30-08:50: Recepción de los participantes y entrega de documentación.

08:50-09:00: Inauguración de las Jornadas por Pablo Gómez Conejo, Subdirector de Investigación y Tecnología del ITACyL.

09:00-09:30: Conferencia inaugural: "Denominaciones de Origen Protegidas e Indicaciones Geográficas Protegidas: Profundización en la diferenciación de los vinos". D. Luis Leza del MAPAMA.

09:30-11:10: Comunicaciones de viticultura. **Sesión Variedades de vid**

Comparación agronómica y cualitativa de 3 clones preseleccionados de la variedad blanca Godello, en Valladolid, durante el periodo 2011-2016. Jesús Yuste Bombín (ITACyL).

Moscatel de Grano Menudo Rosa. Maite Rodríguez Lorenzo (ICVV).

Caracterización preliminar, agronómica y enológica, de 6 variedades minoritarias de vid en Arribes del Duero". José Antonio Rubio Cano (ITACyL).

Selección clonal de la Garnacha Blanca en el Valle del Ebro. Continuación de los trabajos. Maite Rodríguez Lorenzo (ICVV).

11:10-11:30: Coloquio.

11:30-12:00: Pausa Café.

12:00-12:45: Comunicaciones de Viticultura. **Sesión Técnicas de cultivo**

Influencia de la Cubierta Espontánea vs. Laboreo sobre el Estado Nutricional de la Vid, el Rendimiento y la Calidad del Mosto. Ignacio Martín Rueda (ICVV).

Análisis comparativo de la respuesta fisiológica de diez variedades de vid frente a estrés hídrico severo. Guillermo Moreno Ortega (IFAPA-Málaga).

Respuesta agronómica y cualitativa bienal de la variedad Verdejo a la fase de aplicación de riego en la D.O. Rueda. Jesús Yuste Bombín (ITACyL).

12:45-13:30: Comunicaciones de Enología. Sesión **Potencial enológico vinífera**.

Selección de cruces de Monastrell por métodos rápidos. Cosecha 2016. José Ignacio Fernández Fernández (IMIDA).

Perfil aromático de variedades tintas cultivadas en Galicia. Emilia Díaz Losada (EVEGA-INGACAL).

Potencial de variedades de uva blanca y tinta de Castilla y León para la elaboración de vinos espumosos naturales. Silvia Pérez Magariño (ITACyL).

Diferenciación de vinos monovarietales de Mencía y Alicante Bouschet de la D.O. Valdeorras basada en su composición fenólica y su color. Manuel Losada (E.T.S.I.A.A.B).

13:30-14:00: Coloquio.

14:00-14:45: Traslado en autobús a la bodega YLLERA en Rueda.

15:00-18:00: Comida y visita técnica a la bodega.

18:00-18:45: Regreso a la sede del ITACyL (Valladolid).

21:00-22:30 Visita guiada nocturna "Ríos de Luz" (Valladolid).

Jueves 20 de abril de 2017

8:30-09:15: Comunicaciones de Enología. **Sesión Potencial enológico vinífera.**

Caracterización del perfil de aminoácidos en variedades blancas de vid. Implicaciones enológicas. Juana Martínez García (ICVV-SIV).

Resultados preliminares del potencial enológico de variedades blancas minoritarias andaluzas. Belén Puertas García (IFAPA Rancho de la Merced).

Perfil aromático de vinos de Moscatel de Grano Menudo en la Comunidad de Madrid. Gregorio Muñoz Organero (IMIDRA).

Primeras experiencias con la variedad Morate en la DO Vinos de Madrid. Juan Mariano Cabellos (IMIDRA).

09:15-10:00: Comunicaciones de Enología. **Sesión Microbiología.**

Utilización de la microbiología y de biosustancias para la reducción del contenido en SO₂ de vinos blancos. Julián Suberviola Sección de Viticultura y Enología. Gobierno de Navarra-INTIA).

Fermentación de mostos de la variedad Treixadura con levaduras no-*Saccharomyces* autóctonas de Galicia. Pilar Blanco Camba (EVEGA-INGACAL).

Levaduras aisladas de *Vitis vinífera subsp. Sylvestris*: ¿una herramienta para afrontar las consecuencias enológicas del cambio climático? Anna Puig Pujol (INCAVI).

Selección de levaduras autóctonas en la D.O. Empordà: un ejemplo de nicho ecológico para diferenciar “terroir”. Anna Puig Pujol (INCAVI).

10:00-10:30: Coloquio.

10:30-11:00: Pausa Café.

11:00-11:20: Comunicaciones de Enología. **Sesión Varios.**

Evolución de los marcadores que discriminan los vinos tintos de barrica de los macerados con de fragmentos de roble. Comportamiento de vinos añejos. Ernesto Franco (Centro de Transferencia Agroalimentaria).

Aplicación de un fitorregulador de crecimiento en viñedo de Garnacha Tinta y efectos en la maduración de la uva y la calidad del vino. José Félix Cibriáin Sabalza (Sección de Viticultura y Enología. Gobierno de Navarra-INTIA).

10:20-10:30: Coloquio.

11:30-12:00: Comunicaciones de Viticultura. **Sesión Enfermedades de la vid.**

Alternativas al uso del azufre en la lucha contra oídio. Reducción de azufre en espolvoreo. José Félix Cibriáin Sabalza (Sección de Viticultura y Enología. Gobierno de Navarra-INTIA).

Estudio sobre la resistencia al lavado de diferentes formulaciones de cobre en aplicaciones en vid (2012-2013). Lluís Giralt Vidal (INCAVI).

Situación de las enfermedades de madera en el viñedo de Castilla y León. Enrique Barajas Tola (ITACyL).

Estudio preliminar: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinífera L.* a hongos asociados a las enfermedades de la madera de la vid. María del Pilar Martínez Diz (EVEGA-INGACAL).

12:30-13:00: Coloquio.

13:00-13:15: Conclusiones por el coordinador del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. Ernesto Franco.

13:15-13:30: Clausura a cargo de Pablo Gómez Conejo (Subdirector de Investigación y tecnología del ITACyL).

13:30: Comida.

RELACIÓN DE ASISTENTES

ÁLVAREZ FRANCO, M.^a LUZ
ESTACIÓN ENOLÓGICA DE ALMENDRALEJO
Avda. Presidente Juan Carlos Rodríguez Ibarra, s/n. ALMENDRALEJO 6200,
924017201//202
luz.alvarez@juntaex.es

ARAUS GONZÁLEZ, ISMAEL
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071
aragonis@itacyl.es

BARAJAS TOLA, ENRIQUE
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071
bartolen@itacyl.es

BLANCO CAMBA, PILAR
Estación de Viticultura y Enología de Galicia
Ponte San Clodio. 32427. Leiro (Orense) 988488033
pilar.blanco.camba@xunta.es

BUENO HERRERA, MARTA M^a
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071 983415209
bueherm@gmail.es

CABELLOS CABALERO, JUAN MARIANO
IMIDRA-Comunidad de Madrid
Finca El Encín. N II. Km. 38,200. 28800 Alcalá de Henares (Madrid) 918879408
juan.cabellos@madrid.org

CANO MOZO, ESTELA
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071
ita-canmozes@itacyl.es

CASARES GÁNDARA, JUAN
Estación de Viticultura e Enoloxía de Galicia (EVEGA-INGACAL)
Ponte San Clodio S/N, Leiro (Ourense) 32428, 988 788094
juan.manuel.casares.gandara@xunta.gal

CIBRIÁIN SABALZA, JOSÉ FÉLIX
DRMAyAL-Gobierno de Navarra-INTIA
Valle de Orba, 34, Olite 31390 949 70 17 07
jcibrias@cfnavarra.es

CRETAZZO, ENRICO

Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA)
Cortijo de la Cruz s/n (Churriana) Málaga 29140 671532821
enrico.cretazzo@juntadeandalucia.es

DÍAZ LOSADA, EMILIA

Estación de Viticultura e Enología de Galicia" (EVEGA-INGACAL)
Ponte San Clodio s/n Leiro 32427 988788085/090
emilia.diaz.losada@xunta.gal

ELORDUY VIDAL, XOÁN

INCAVI

Plaça Agora 2-3 Vilafranca del Penedès 8720 938900211
xoan.elorduy@gencat.cat

FERNÁNDEZ ESCUDERO, JOSÉ ANTONIO

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Santisimo Cristo nº 16. 47490. Rueda (Valladolid). 983 868149
ferescjo@itacyl.es

FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, JOSÉ IGNACIO

IMIDA

Avenida de la Asunción Nº 24, JUMILLA, 30520, 968757580
josei.fernandez@carm.es

FRANCO ALADRÉN, ERNESTO

Centro de Transferencia Agroalimentaria
Av. Movera s/n Zaragoza, 50194 976 586500
efranco@aragon.es

GIRALT VIDAL, LLUÍS

Institut Català de la Vinya i el Vi
Pl. Àgora, 2. Pol. Ind. Domenys II, Vilafranca del Penedès, 8720, 938900211
lluis.giralt@gencat.cat

GONZÁLEZ HUERTA, DOMINGO CARLOS

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Santisimo Cristo nº 16. 47490. Rueda (Valladolid). 983 868149
gonhueca@itacyl.es

GRAMAJE PÉREZ, DAVID

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino
Finca La Grajera. Ctra. Burgos, Km: 6 Logroño (La Rioja). 26071, 941 894 980.
Ext: 410058
david.gramaje@icvv.es

IÑIGUEZ CRESPO, MONTSERRAT

Estacion Enologica de Haro
Breton de los Herreros 4, Haro, 26200, 941-311545
miniguezc@larioja.org

LAUZIRIKA ALONSO, MANUEL
Bodega Experimental de Zalla
Avda. Lehendakari Aguirre 44, Zalla, 48860, 944066882
manu.lauzirika@bizkaia.eus

LEZA CAMPOS, LUIS
MAPAMA
Pº Infanta Isabel, Madrid, 28071
llezacam@mapama.es

LÓPEZ DE LA CUESTA, PEDRO
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071
lopcuepe@itacyl.es

LOSADA ARIAS, MANUEL MAXIMINO
E.T.S.I.A.A.B.
Ciudad Universitaria s/n Madrid 28040 91-3363704
manuelmaximino.losada@upm.es

MARTÍN RUEDA, IGNACIO
Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino
Finca La Grajera. Ctra. Burgos, Km: 6 Logroño (La Rioja). 26071, 941 894 980.
Ext: 410056
ignacio.martin@icvv.es

MARTÍNEZ DIZ, MARÍA DEL PILAR
Estación de Viticultura e Enología de Galicia (EVEGA-INGACAL)
Ponte San Clodio s/n Leiro, 32427, 988788085/090
pilar.martinez.diz@xunta.gal

MARTINEZ GARCIA, JUANA
ICVV-SIV (Servicio de Investigación Vitivinícola-Gobierno de La Rioja)
Ctra. Burgos, km. 6 Finca La Grajera, LOGROÑO, 26071, 941-894980 Ext.
410035
jmartinezg@larioja.org

MARTÍNEZ PORRO, DANIEL
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071
marporda@itacyl.es

MORENO ORTEGA, GUILLERMO
Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA)
Cortijo de la Cruz s/n (Churriana) Málaga 29140 671532798
guillermo.moreno.o@juntadeandalucia.es

MUÑOZ ORGANERO, GREGORIO

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA)

Finca El Encín. Ctra. A-2. Km 38,200. Alcalá de Henares 28800 918879483

gregorio.munoz@madrid.org

PAVÓN FREIRE, ALBERTO

Centro de Transferencia Agroalimentaria (Gobierno de Aragón)

Avda Movera 580 MOVERA (ZARAGOZA) 50194 976586500 656595146

apavon@aragon.es

PÉREZ MAGARIÑO, SILVIA

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León

Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071

permagsi@itacyl.es

PUERTAS GARCÍA, BELÉN

IFAPA Rancho de la Merced

Carretera Cañada de la Loba Km 3,1 Jerez de la Frontera 11471 956 03 46 00

mariab.puertas@juntadeandalucia.es

PUIG PUJOL, ANNA

INCAVI (Institut Català de la Vinya i el Vi)

Plaça Àgora, 2 Vilafranca del Penedès 8720 93 890 02 11

apuigpujol@gencat.cat

RIBES LORDA, ANA MARIA

Centro de Transferencia Agroalimentaria

Avda. de Movera s/n ZARAGOZA 50194 976586500

aribes@aragon.es

RODRÍGUEZ LORENZO, MAITE

Instituto de las Ciencias de la Vid y del Vino

Ctra. Burgos, km. 6 Logroño 26071 941 89 49 80

maite.rodriguez@icvv.es

RODRÍGUEZ TORRES, INMACULADA

IFAPA Rancho de la Merced

Carretera Cañada de la Loba Km 3,1 Jerez de la Frontera 11471

icrodrigueztorres@gmail.com

RUBIO CANO, JOSÉ ANTONIO

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León

Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071. 983 317452

rubcanjo@itacyl.es

SUBERVIOLA RIPA, JULIAN

Sección de Viticultura y Enología. Gobierno de Navarra

C/ Valle de Orba, 34 Olite (Navarra) 31390 948741707

jsubervr@cfnavarra.es

USÓN BALLESTAR, JESÚS JUAN

Centro de Transferencia Agroalimentaria (Gobierno de Aragón)

Avda Movera 580 MOVERA (ZARAGOZA) 50194 976586500 654225468

jjuson@aragon.es

YUSTE BOMBÍN, JESÚS

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León

Ctra Burgos 119, FINCA ZAMADUEÑAS Valladolid, 47071. 983317321

yusbomje@itacyl.es

ZAMORA DE ALBA, EMILIANO

ESTACIÓN ENOLÓGICA DE ALMENDRALEJO

Avda. Presidente Juan Carlos Rodríguez Ibarra s/n. ALMENDRALEJO, 6200,
924017201//202

emiliano.zamora@juntaex.es

DESARROLLO DE LA REUNIÓN

La Reunión se ha desarrollado en todos los aspectos de forma ágil y organizada, solventando con gran eficacia los imprevistos surgidos, que no han afectado al buen desarrollo de la misma. La documentación se ha entregado a los participantes en formato pendrive.

La inauguración de las jornadas corrió a cargo de D. Pablo Gómez Conejo, Subdirector de Investigación y tecnología del ITACyL, quien manifestó su gratitud por la elección del Instituto como sede de la 32ª reunión del GTEVE, y a quien se le agradeció la efusiva y calurosa acogida y la perfecta organización. En sus palabras de bienvenida indicó la importancia del Grupo de Trabajo, por la puesta en común y trabajos conjuntos que se desarrollan entre los diferentes Centros, haciendo hincapié en la importancia de las variedades minoritarias y en las enfermedades de madera que afecta de forma transversal al viñedo mundial y en particular al español.

A la reunión han asistido 38 técnicos e investigadores de 15 Centros e Institutos, disculparon su asistencia, por diferentes motivos, varios investigadores y técnicos habituales en las Reuniones anteriores. Se han presentado un total de 25 comunicaciones, 11 de viticultura, 14 de enología y se dictó la conferencia de apertura de la Reunión.

CONCLUSIONES

El Grupo agradece al ITACyL la cálida acogida así como su hospitalidad y atenciones recibidas a lo largo de de toda la 32ª Reunión, en particular a los técnicos, personal y responsables que han hecho posible que la Reunión se desarrolle de forma magistral y con gran eficiencia.

Agradecer la asistencia a la Reunión y dictar la conferencia magistral a D. Luis Leza, “Denominaciones de Origen Protegidas e Indicaciones Geográficas Protegidas: Profundización en la diferenciación de los vinos”. El ponente

comenzó haciendo un breve repaso de cómo eran las DDOO, en particular las de Castilla y León y su evolución reciente. Posteriormente se centró en la actual normativa comunitaria en la materia, en particular en las opciones de diferenciación de las mismas, especialmente utilizando las Unidades Geográficas Menores (UGMs), siendo éstas un vehículo de modernización de las actuales DDOO, por su mayor vinculación con el territorio. Entre las UGMs destacó las subzonas, los vinos de municipio y los parajes calificados, haciendo también referencia a otras opciones de diferenciación como son los términos tradicionales y la utilización de la explotación vitícola.

El Grupo sigue teniendo gran interés por el material vegetal, diversidad genética de variedades y clones. Se han presentado un total de doce comunicaciones, el 50% de las presentadas, que abordan aspectos vitícolas y enológicos relacionados con clones varietales, así como de variedades minoritarias. Este año se ha aportado información muy interesante sobre los cruzamientos de Monastrell con C. Sauvignon y Syrah que está realizando el IMIDA desde hace más de veinte años.

Ha sido de gran interés, la puesta al día de los trabajos conjuntos entre Centros de Aragón, Cataluña, Navarra y Rioja relativos a los diferentes estadios en la que se encuentra la selección clonal de la variedad Garnacha Blanca.

En tres comunicaciones se han estudiado otras técnicas de manejo del viñedo como el riego, la cubierta vegetal y la respuesta al estrés hídrico. En cuatro comunicaciones se han abordado aspectos de enfermedades de la vid, de especial interés las dos relacionadas con enfermedades de madera, tema muy preocupante en la actual viticultura.

En cuatro comunicaciones microbiológicas, se han abordado aspectos relacionados con la selección de levaduras como elemento diferenciador de los *terroir*, o la importancia de aislamientos en *Vitis sylvestris*, levaduras no *Saccharomyces* y la gestión de biosustancias para la reducción del contenido de sulfuroso en los vinos.

Una comunicación relativa a los marcadores volátiles para discriminar el uso de la madera de roble. Otra relativa a la aplicación de un fitoregulador de crecimiento en viñedo observando disminución del grado alcohólico y que suscitó gran interés por la mayoría de los presentes.

De especial interés ha sido la visita a la bodega YLLERA en Rueda, donde los técnicos de Bodega explicaron las características de los diferentes tipos de vinos, suscitando gran interés tanto el espumoso de Verdejo, como su línea de vinos de 5%, este último especialmente por la tecnología usada y la aceptación comercial de este vino de éxito; los anfitriones contestaron y resolvieron las numerosas preguntas y dudas que plantearon los miembros de GTEVE.

El Grupo después del debate de las comunicaciones, presenta las siguientes recomendaciones:

- Seguir recomendando a los diferentes Centros el estudio de las levaduras no *Sacharomyces*, en particular con las variedades autóctonas y nuevas aplicaciones de las mismas.
- Remitir al MAPAMA las experiencias de enología que afecten a prácticas en fase de autorización o aquellas que modifican las condiciones de aplicación de cuando fueron autorizadas.
- Animar el trabajo que cuatro Centros están realizando conjuntamente en la selección clonal de la variedad Garnacha Blanca. Coordinando los trabajos D. José Félix Cibriáin, del Departamento de Desarrollo Rural del Gobierno de Navarra.
- Recomendando a los diferentes Centros la continuación de la recopilación de información sobre variedades minoritarias de vid para robustecer la Guía de variedades minoritarias, en aspectos vitícolas y enológicos.
- En el debate técnico se puso de manifiesto el interés por el tratamiento Hormonal del viñedo con FRUITEL 180. Aragón, Madrid, Murcia, Navarra y La Rioja manifestaron interés en probar este año 2017 el producto, con el interés de comprobar si puede ser una herramienta para reducir la concentración de azúcares de los mostos. El trabajo que se abordaría en el Grupo lo coordinará D. Alberto Pavón del CTA de Aragón.
- Tomando como base la conferencia de D. Luis Leza Campos, animar a

los diferentes Centros para que potencien las herramientas técnicas, que serán necesarias para diferenciar las tipologías de vinos, mediante las Unidades Geográficas Menores que contempla la normativa europea.

- Se insistió nuevamente sobre la sugerencia al MAPAMA de la aceleración de los trámites para la certificación por la Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV) de las variedades minoritarias.
- Así mismo se estimó conveniente realizar las gestiones oportunas ante el Ministerio para explorar la posibilidad que se vuelva a convocar al grupo de “Variedades de Vid”, siempre al margen del GTEVE.

Se aceptó la invitación de la Estación Enológica de Galicia para la celebración de la trigésima tercera Reunión del Grupo en el año 2018; que se celebrará en fechas que se determinen, preferentemente en los meses de abril y mayo.

El Coordinador del Grupo
Ernesto Franco Aladrén
Unidad de Enología del CTA
Dep. Desarrollo Rural y Sostenibilidad.
Gobierno de Aragón.

TRABAJOS PRESENTADOS

VITICULTURA

Comparación agronómica y cualitativa de 3 clones preseleccionados de la variedad blanca Godello, en Valladolid, durante el periodo 2011-2016

Jesús Yuste, Enrique Barajas, Alejandro Vicente, José Antonio Rubio

*Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos km 119, 47071 Valladolid
Tfno.: +34 983317460, Email: yusbomje@itacyl.es*

Resumen

La variedad de vid blanca denominada Godello se cultiva mayoritariamente en el Noroeste de España y en Portugal con el nombre de Gouveio. En Castilla y León se cultiva mayormente en la D.O. Bierzo. Algunas de sus características cualitativas han propiciado el interés por su desarrollo y difusión comercial. En el año 2002 se inició un programa de prospección de Godello en las zonas de mayor intensidad de cultivo por parte del ITACyL, que permitió identificar cepas que se encontraban en viñedos heterogéneos de elevada edad. Tras un proceso de evaluación de aspectos morfológicos y agronómicos en los viñedos originales, se llevó a cabo una primera preselección de cepas procedentes de diferentes parcelas que presumiblemente pudieran presentar cierta variabilidad genética, para iniciar un proceso de selección clonal de la variedad Godello, incluida en el Registro de Variedades Comerciales de vid del MAPAMA. Dicha preselección se hizo a través de la plantación de 10 cepas de cada uno de los tres clones previamente elegidos en viñedos originales, en una colección del ITACyL ubicada en Valladolid. Se ha llevado a cabo un estudio plurianual del comportamiento vegetativo, productivo y cualitativo de los tres clones durante el periodo 2011-2016.

El clon CL-35 ha resultado ser más productivo, con un aumento del 33% en la producción de uva respecto a CL-46 y CL-68. Las diferencias en el rendimiento han sido debidas principalmente al peso del racimo, aunque el número de racimos por cepa también contribuyó a ello. El clon CL-68 ha resultado más vigoroso que el CL-46 y éste más que el CL-35, con incrementos de peso de madera sucesivos del 17% y del 16%, debido al aumento del peso del sarmiento. El índice de Ravaz ha mostrado diferencias estadísticamente significativas favorables al clon CL-35 y desfavorables al CL-68, situándose el CL-46 en posición intermedia. La calidad de la uva ha mostrado algunas diferencias entre clones, así el clon CL-46 ha mostrado niveles ligeramente más altos de azúcares y pH y más bajos de acidez total y ácido tartárico, lo que podría relacionarse con un proceso de maduración tecnológica más intenso. Por el contrario, el clon CL-35, el más productivo, ha mostrado un nivel más alto de acidez total y ácido tartárico. En definitiva, existe la posibilidad de llevar a cabo la elección de clones de Godello de acuerdo con los objetivos productivos y cualitativos específicos de la plantación de dicha variedad.

1. Introducción

La variedad de vid blanca denominada Godello ha sido localizada tanto en el Noroeste de España, principalmente en Galicia, como en Portugal con el nombre de Gouveio. En España se contabilizan más de 1.200 ha de superficie de Godello (SeVi 2011). En Castilla y León se cultiva mayormente en la Denominación de Origen Bierzo, al Noroeste de la provincia de León (Chomé *et al.* 2003). La presencia de Godello en esta zona era más bien escasa en las últimas décadas, exclusivamente dispersa en viñedos bastante viejos, a pesar de ser muy apreciada por sus cualidades organolépticas. Sin embargo, debido a dicha valoración cualitativa, su plantación se está incrementando en los últimos años, a partir de la superficie aproximada de 150 ha existente a finales de la última década (E.A.A.B. 2006).

Algunos viñedos viejos han prevalecido a la reestructuración y el arranque de cepas, favorecidos por una situación de cierto aislamiento, lo que ha permitido que se hayan conservado poblaciones de cepas que constituyen un material vegetal de gran importancia genética y que puede dar lugar a la caracterización de distintos clones (Yuste *et al.* 2006).

El origen de la variedad Godello, como el de muchas otras variedades, no se conoce con exactitud, pero las referencias más antiguas en España son de finales del siglo XIX (Cabello *et al.* 2011) y en Portugal del siglo XVIII (Böhm *et al.* 2011). Está reconocida y recogida oficialmente en el Registro de Variedades Comerciales de vid del MAPAMA (Chomé *et al.* 2003).

La observación detallada de cepas individuales de la variedad Godello en la comarca del Bierzo permitió vislumbrar que algunas de sus características, tanto de tipo morfológico, por ejemplo el tamaño moderado del racimo, como de tipo cualitativo, por ejemplo el apreciable nivel de acidez y el interesante contenido aromático, despiertan un enorme interés por su desarrollo comercial en diversas zonas potenciales de cultivo (E.A.A.B. 2006).

El Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL) inició en el año 2002 un programa de prospección de la variedad Godello en las zonas de mayor intensidad de cultivo. Este programa permitió identificar numerosas cepas de dicha variedad que se encontraban aisladas en viñedos heterogéneos de elevada edad, apoyándose en técnicas de identificación molecular y ampelográfica. La evaluación de aspectos morfológicos y agronómicos durante varios años en los viñedos originales dio lugar a una primera elección de cepas procedentes de diferentes viñedos que presumiblemente pudieran presentar cierta variabilidad genética. Dicha elección ha pretendido el inicio de un proceso que pueda desembocar en una selección clonal de la variedad Godello.

La diversidad de posibles condiciones climáticas de cultivo del viñedo, e incluso la tendencia general observada hacia una posible situación de cambio climático que podría acarrear variaciones en el comportamiento de las variedades de vid (Schultz 2000, Seguin 2007), hacen aconsejable conocer el comportamiento de distintos clones de esta variedad para adaptar su cultivo a los objetivos productivos y cualitativos que el sector vitivinícola plantea (Yuste *et al.* 2006).

La primera preselección clonal de Godello se llevó a cabo a través de la plantación de 10 cepas de cada uno de los tres clones previamente elegidos en distintos viñedos, en una colección experimental del ITACyL ubicada en la finca Zamadueñas, en Valladolid. Este planteamiento se basa en la consideración de que cualquier programa de selección clonal debe evaluar el comportamiento de los posibles clones en un mismo ámbito geográfico y edafoclimático, para que la comparación entre clones sea objetiva (Yuste *et al.* 2006).

El objetivo de este trabajo es el estudio plurianual de la respuesta agronómica y cualitativa de tres clones de la variedad blanca Godello, previamente preseleccionados en su zona de origen, en las condiciones edafoclimáticas del valle del río Duero, a través de un modo de cultivo bastante estandarizado en España, basado fundamentalmente en la conducción en espaldera y la poda corta en cordón Royat bilateral.

2. Material y Métodos

El material vegetal empleado es *Vitis vinifera* L. cv. Godello, injertado sobre patrón 110 Richter. Los barbados de portainjerto fueron plantados en 2005 e injertados con yemas de 3 clones preseleccionados del cv. Godello en la primavera de 2006. Se dispuso de 10 cepas de cada clon,

en una colección que incluye clones preseleccionados de otras 5 variedades minoritarias tradicionales de Castilla y León. Los clones preseleccionados a estudiar son: CL-35, CL-46, CL-68. La colección experimental se localiza en la finca Zamadueñas, perteneciente al ITACyL, en el término municipal de Valladolid, a una altitud de 695 m y cuyas coordenadas geográficas son 41° 42' 8" N, 4° 42' 31" O.

Las cepas están dispuestas con un marco de plantación de 2,7 m x 1,4 m (2.645 cepas/ha). Están conducidas en espaldera, con un sistema de poda en cordón Royat bilateral, en el que se ha dejado una carga de 16 yemas, distribuidas en 4 pulgares por brazo. La orientación de las filas es NNE (N+25°). El viñedo ha sido cultivado en régimen de riego deficitario, mediante aplicación semanal por goteo equivalente al 25% de la ETo, desde la parada de crecimiento de pámpanos principales hasta la semana de vendimia. La cantidad de agua de riego aportada en las campañas de 2011 a 2016 ha sido, sucesivamente, de 47, 117, 134, 0, 96 y 84 mm, correspondiente aproximadamente a un 30% de la ETo durante los meses de verano, excepto en 2011 que se redujo al 15% y en 2014 que se cultivó en secano.

En el suelo del viñedo experimental se distinguen tres horizontes cuyas principales características se detallan en la tabla 1. Se trata de un suelo con alta pedregosidad interna y superficial, sin limitaciones físicas ni químicas en profundidad, lo que le confiere un buen drenaje y una adecuada velocidad de infiltración del agua. La mayor parte del sistema radicular del viñedo se sitúa en los 60 cm más superficiales.

Tabla 1. Características físicas de los horizontes en el perfil del suelo del viñedo experimental.

Profundidad (cm)	Elementos gruesos (%)	Textura U.S.D.A.			Clase textural
		Arena	Limo	Arcilla	
0-20	70,7	45,3	19,4	35,3	AcAr
20-45	68,8	47,4	19,5	33,1	FrAcAr
45-100	74,8	61,4	9,5	29,1	FrAcAr

El período de estudio corresponde a los años 2011 a 2016. Los datos termopluviométricos han sido recogidos en la estación meteorológica situada en la propia finca experimental (tabla 2).

Se han determinado, como parámetros productivos, el rendimiento (kg/cepa), el número de racimos por cepa, el peso de racimo (g), el peso de baya (g) y el número de bayas del racimo. Como parámetros de desarrollo vegetativo se han determinado el peso de madera de poda (kg/cepa), el número de sarmientos y el peso de sarmiento (g), así como el índice de Ravaz. Por último, como parámetros de calidad de la uva se han determinado la concentración de azúcares (°brix), el pH, la acidez total (g TH₂/L), el ácido tartárico (g/L), el ácido málico (g/L) y la concentración de potasio (mg/L). El análisis estadístico de los datos se ha realizado a través de análisis de varianza (ANOVA), con el correspondiente test de separación de medias de Duncan, mediante el programa STATISTICA 7.0.

Tabla 2. Temperatura media, Tm (°C), y precipitación, P (mm), del período 2011-2016 (octubre 2010 – septiembre 2016), registrados en la estación meteorológica de la finca experimental, en Valladolid.

	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Año
Tm 2011	11,0	6,0	3,6	4,8	5,1	7,9	13,7	16,4	18,3	19,7	21,0	18,5	12,2
Tm 2012	13,1	8,5	4,0	2,2	2,6	8,6	8,6	16,0	19,2	20,4	21,5	17,4	11,8
Tm 2013	12,0	7,4	5,1	4,6	4,0	7,1	9,5	11,0	16,3	23,0	20,9	17,6	11,5
Tm 2014	13,2	6,8	2,7	5,9	5,4	8,7	13,0	14,1	18,5	20,3	20,5	18,5	12,3
Tm 2015	15,0	9,3	3,8	1,6	4,3	8,4	11,8	15,7	19,7	23,7	21,1	16,1	12,5
Tm 2016	12,8	8,3	5,3	6,2	5,8	6,1	9,1	13,1	19,1	23,0	22,4	18,6	12,5
P 2011	10,8	28,2	108,8	46,5	29,8	44,0	49,4	37,0	18,6	0,0	34,8	0,0	408
P 2012	17,2	64,4	11,0	28,4	1,0	7,6	66,8	20,2	12,6	12,2	1,4	21,8	265
P 2013	72,6	60,4	21,4	36,8	31,2	117,7	28,6	26,4	28,7	9,4	2,4	53,8	489
P 2014	75,2	3,2	40,3	85,8	57,1	11,0	22,4	18,8	9,6	66,2	0,2	61,2	451
P 2015	37,0	71,4	17,2	28,0	16,4	16,8	66,0	19,8	76,2	4,2	5,2	23,6	382
P 2016	54,2	46,8	18,4	116,0	38,8	32,2	99,4	47,4	1,9	5,4	0,2	13,0	474

3. Resultados

Producción de uva. La producción de uva ha sido significativamente superior en el clon CL-35, con un valor alrededor de 3,7 kg/cepa, que en los clones CL-46 y CL-68, con aproximadamente 2,7 kg/cepa, lo que ha supuesto un aumento con respecto a los dos últimos del 33% (tabla 3).

El número de racimos por cepa ha mostrado diferencias entre los clones estudiados, favorables al clon CL-35 y desfavorables al CL-68, con aumento del 9%, que ha contribuido al incremento productivo del primero, mostrando el clon CL-46 un número de racimos intermedio, 24,3 por cepa. Una tendencia similar se ha observado en la fertilidad, expresada como número de racimos por sarmiento, sin que las diferencias resultasen estadísticamente significativas.

El peso del racimo ha presentado diferencias muy claras favorables al clon CL-35, habiendo contribuido decisivamente al incremento productivo de dicho clon con respecto a los otros dos clones. El aumento medio del peso de racimo del clon CL-35, con 149 g, ha sido aproximadamente del 25% con respecto a CL-46 y CL-68, con 119,3 y 118,4 g respectivamente. Las diferencias en el peso del racimo, favorables al clon CL-35, se han debido al aumento del número de bayas del mismo, incrementado un 30% y un 21% respecto de CL-68 y CL-46 respectivamente. El peso de baya, sin embargo, fue mayor en el clon CL-68, con 1,84 g, que en CL-46, con 1,68 g, situándose el CL-35 en posición intermedia, con 1,75 g.

Tabla 3. Datos de producción de uva (kg/cepa), rendimiento (t/ha), número de racimos por cepa, peso de racimo (g), peso de baya (g), número de bayas del racimo y fertilidad (racimos / sarmiento), de los clones CL-68, CL-46, CL-35. Valores medios del período 2011-2016. Nivel de significación estadística (Sig.): ns, no significativo; *, p<0,05.

Clon	Producción (kg/cepa)	Rendimiento (t/ha)	Nº racimos por cepa	Peso de racimo (g)	Peso de baya (g)	Bayas / racimo	Fertilidad
CL-68	2,65 b	7,01 b	23,0 b	118,4 b	1,84 a	69 b	1,45
CL-46	2,83 b	7,48 b	24,3 ab	119,3 b	1,68 b	74 b	1,48
CL-35	3,66 a	9,68 a	25,0 a	149,1 a	1,75 ab	90 a	1,54
Sig.	*	*	*	*	*	*	ns

Desarrollo vegetativo. El peso de madera de poda ha mostrado diferencias estadísticamente significativas entre clones, de manera que el clon CL-68 ha incrementado dicho peso un 17% respecto del CL-46, y éste lo ha incrementado un 16% respecto del CL-35 (tabla 4). El número medio de sarmientos totales no ha mostrado apenas diferencias entre clones, estando en torno a 16 sarmientos por cepa. Sin embargo, el número de sarmientos francos ha mostrado diferencias desfavorables al clon CL-46, mientras que el número de chupones las ha mostrado favorables a dicho clon, en tal modo que ambos tipos de diferencias se han visto compensados en el número de sarmientos totales de la cepa. El peso del sarmiento ha mostrado la misma tendencia que el peso de madera de poda, con un valor más alto del clon CL-68, con 114 g, intermedio del CL-46, con 94 g, y más bajo del CL-35, con 80 g, lo que ha supuesto incrementos del 21% y del 17% respectivamente. Por tanto, las diferencias de peso de madera de poda entre clones se han debido principalmente a las variaciones significativas en el peso medio del sarmiento.

El índice de Ravaz ha mostrado diferencias estadísticamente significativas entre los tres clones estudiados, favorables al clon CL-35 y desfavorables al CL-68, situándose el CL-46 en posición intermedia, como consecuencia fundamentalmente del mayor nivel productivo del CL-35 y del mayor desarrollo vegetativo del CL-68 (tabla 4).

Tabla 4. Datos de peso de madera de poda (kg/cepa), número de sarmientos totales por cepa, número de sarmientos francos por cepa, número de chupones por cepa, peso del sarmiento (g) e índice de Ravaz, de los clones CL-68, CL-46, CL-35. Valores medios del período 2011-2016. Nivel de significación estadística (Sig.): ns, no significativo; *, p<0,05.

Clon	Madera poda (kg/cepa)	Sarmientos totales	Sarm. francos	Chupones	Peso de Sarmiento	Índice de
CL-68	1,78 a	15,8	12,6 a	3,4 b	114 a	1,64 c
CL-46	1,52 b	16,3	11,1 b	5,4 a	94 b	2,12 b
CL-35	1,31 c	16,4	12,6 a	3,9 b	80 c	3,29 a
Sig.	*	ns	*	*	*	*

Composición de la uva. Los parámetros básicos indicadores de calidad de la uva han mostrado algunas diferencias en el comportamiento de los clones estudiados, aunque en general las diferencias no hayan resultado estadísticamente significativas (tabla 5). La concentración de azúcares y el pH han sido muy ligeramente superiores en el clon CL-46 que en los otros dos clones. La acidez total y el ácido tartárico, por el contrario, han mostrado un nivel menor en dicho clon, CL-46, que en el CL-35. Estas tendencias podrían relacionarse con un proceso de maduración tecnológica más intenso en el clon CL-46. El ácido tartárico ha resultado significativamente mayor y el ácido málico algo menor en CL-35, el clon más productivo, aunque el ácido málico no haya mostrado diferencias significativas entre clones. La concentración de potasio apenas ha mostrado diferencias entre clones, aunque el valor más alto correspondió al CL-35 y el más bajo al CL-46. En resumen, el clon CL-46 ha mostrado cierta capacidad de intensificación de la maduración tecnológica, con el posible inconveniente de favorecer la reducción de la acidez total de la uva en su relación con la concentración de azúcares.

Tabla 5. Datos de concentración de azúcares (°brix), pH, acidez total (g TH₂/L), concentración de ácido tartárico (g/L), concentración de ácido málico (g/L) y concentración de potasio (mg/L), de los clones CL-68, CL-46, CL-35. Valores medios del período 2011-2016. Nivel de significación estadística (Sig.): ns, no significativo; *, p<0,05.

Clon	Azúcares (°brix)	pH	Acidez total (TH ₂ g/L)	Ácido tartárico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Potasio (mg/L)
CL-68	23,2	3,38	6,11 b	7,14 b	2,32	1504
CL-46	23,4	3,43	5,93 ab	6,51 b	2,25	1484
CL-35	23,0	3,36	6,35 a	8,02 a	2,07	1520
Sig.	ns	ns	*	*	ns	ns

4. Conclusiones

Los clones estudiados han mostrado diferencias de comportamiento en muchos de los aspectos analizados. El clon CL-35 ha resultado ser más productivo, con un aumento medio del 33% en producción de uva, respecto a CL-46 y CL-68. Las diferencias en el rendimiento han sido debidas principalmente al peso del racimo, aunque el número de racimos por cepa también contribuyó a ello, particularmente en las reducidas diferencias entre los clones CL-46 y CL-68. El aumento del peso del racimo del CL-35 se ha debido al número de bayas del racimo, mientras el peso de racimo similar de CL-46 y CL-68 se ha debido a la compensación entre el número de bayas mayor en CL-46 y el peso de baya mayor en CL-68.

El peso de madera de poda ha mostrado claras diferencias entre clones, de manera que el clon CL-68 ha resultado más vigoroso que el CL-46 y éste más que el CL-35, con incrementos de peso sucesivos del 17% y del 16%. La variación del peso del sarmiento ha sido la causa de las diferencias en el peso de madera de poda, con incrementos correspondientes de 21% y 17%. El índice de Ravaz ha mostrado diferencias estadísticamente significativas favorables al clon CL-35 y desfavorables al CL-68, situándose el CL-46 en posición intermedia.

La calidad de la uva ha mostrado algunas diferencias entre los clones estudiados, aunque en general no hayan resultado estadísticamente significativas. El clon CL-46 ha mostrado niveles ligeramente más altos de azúcares y pH y más bajos de acidez total y ácido tartárico, lo que podría relacionarse con un proceso de maduración tecnológica más intenso. Por el contrario, el clon CL-35, el más productivo, ha mostrado un nivel más alto de acidez total y ácido tartárico. Apenas se han observado diferencias en el ácido málico ni el potasio.

En definitiva, según el comportamiento de los clones estudiados, tanto en los aspectos productivo y vegetativo como en la calidad de la uva, existe la posibilidad de llevar a cabo la elección de clones de Godello de acuerdo con los objetivos productivos y cualitativos específicos de cada posible plantación de dicha variedad.

5. Bibliografía

1. ESTACIÓN DE AVISOS AGRÍCOLAS DEL BIERZO (E.A.A.B.). 2006. **Guía de variedades de vid de la Denominación de Origen Bierzo**. Ed. Junta de Castilla y León, León.
2. BOHM, J.; TELLES, M.; LEHMANN, J.; MARTÍNEZ, J.M.; GÓMEZ, V.; MALHEIRO, A.; SANTOS, J.; MARTINS, A.; CABELLO, F.; MUÑOZ, G.; YUSTE, J. 2011. **Atlas das castas da Península Ibérica**. Ed. Dinalivro, Lisboa, 319 pgs.
3. CABELLO, F.; ORTIZ, J.M.; MUÑOZ, G.; RODRÍGUEZ, I.; BENITO, A.; RUBIO, C.; GARCÍA, S.; SÁIZ, R. 2011. **Variedades de vid de España**. Ed. Agrícola Española S.A., Madrid, 489 pgs.

4. CHOMÉ, C.; SOTÉS, V.; BENAYAS, F.; CAYUELA, M.; HERNÁNDEZ, M.; CABELLO, F.; ORTIZ, J.; RODRÍGUEZ-TORRES, I.; CHAVES, J. 2003. **Variedades de vid. Registro de variedades comerciales**. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica, Madrid, 303 pgs.
5. LA SEMANA VITIVINÍCOLA S.L. (SeVi). 2011. **Extraordinario Estadísticas**. La Semana Vitivinícola 3.355: 1.190-1.191.
6. SCHULTZ, H.R. 2000. **Climatic change and viticulture: a European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects**. Australian Journal of Grape and Wine Research 6: 2-12.
7. SEGUIN, B. 2007. **Perspectives d'évolution du climat pour les principaux vignobles**. Le Progrès Agricole et Viticole 124 (17): 481-486.
8. YUSTE, J.; ARRANZ, C.; ALBURQUERQUE, M^a.V.; RUBIO, J.A. 2006. **Variedades autóctonas de vid en Castilla y León: clones certificados a disposición de la viticultura**. La Semana Vitivinícola 3123: 1942-1947.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias al soporte económico de la Junta de Castilla y León y de fondos FEDER, la ayuda financiera parcial del INIA, y la colaboración de los compañeros de la Estación Enológica y del Grupo de Viticultura (Unidad de Cultivos Leñosos y Hortícolas) del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.

Moscatel de Grano Menudo Rosa

Julián Suberviola Ripa (1), José Félix Cibriáin Sabalza (1), Ana Sagüés Sarasa (1), Francisco Javier Abad Zamora (1), Blanca Mayor Azcona (1), Laura Caminero Lobera (2), M^a Carmen Serrano Busto (2), Maite Rodríguez Lorenzo (3), Yolanda Gogorcena Aoiz (4), Rosa Giménez Soro (4)

Gregorio Muñoz Organero (5), Maite de Andrés Domínguez (5)

(1) Sección de Viticultura y Enología. Gobierno de Navarra-INTIA. C/ Valle de Orba, 34 - 31390 Olite (Navarra).

Tlf.: 948 74 17 07. E-mail: evena@cfnavarra.es.

(2) Negociado de Laboratorio Enológico. Gobierno de Navarra. (3) ICVV Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino, Ctra. Burgos, km. 6, 26071 Logroño. (4) Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC), Avda de Montañana 1005, 50059 Zaragoza. (5) Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural Agrario y Alimentario (IMIDRA).

Ctra. A-2 Km 38. 28800 Alcalá de Henares (Madrid).

1. Introducción

El vino elaborado a partir de uvas pasificadas de Moscatel es uno de los más antiguos de la humanidad. Algunos autores mantienen la teoría de que el “néctar de ambrosía” mencionado en la mitología griega y que Ulises sirvió a Polifemo, fue elaborado a partir de uvas de Moscatel pasificado.

El Moscatel se ha difundido históricamente en la cuenca del Mediterráneo y también ha sido cultivado fuera de esta zona. Se trata de un viñedo de difusión mundial y de una gran plasticidad. Tal como se indicó en el artículo “Moscatel de Grano Menudo. Selección clonal y sanitaria en Navarra” del N^o 178 de Navarra Agraria, el término Moscatel es un concepto muy amplio que supera al factor exclusivamente varietal. En realidad estamos hablando de un conjunto de variedades, cultivares e híbridos que se caracterizan por su alta carga en moléculas terpénicas.

En la numerosa familia del Moscatel (más de 200 cultivares), existen viñedos que derivan tanto del cruzamiento espontáneo o artificial como de mutaciones de yemas. Entre ellos se diferencian por caracteres ampelográficos evidentes como el tamaño de racimo y baya (Moscatel de Alejandría y Moscatel de Grano Menudo), o por el color de baya (Moscatel Rosado y el Morado) y también por la cantidad de aromas terpénicos.

Dentro del abanico varietal del que se dispone en un espacio y en un tiempo, las variedades pueden clasificarse en función de la superficie cultivada, como variedades con importante implantación y/o variedades de cultivo minoritario. Una de estas variedades minoritarias en la Comunidad Foral es el Moscatel y dentro de este grupo, en los trabajos de recopilación emprendidos en Navarra, se han encontrado algunas rarezas vitícolas como es el caso que nos ocupa, el Moscatel de Grano Menudo Rosa.

En concreto se han encontrado tres biotipos de Moscateles de Grano Menudo Rosa que tienen como denominador común los aromas frutales y florales típicos de esta uva y en los que el color de sus bayas vira desde el rosa al granate, diferencias ampelográficas evidentes y suficientes para categorizar su estatus como variedad.

Moscatel de grano menudo rosa

Referencias históricas

Simón Rojas Clemente en su "Ensayo sobre las variedades que vegetan en Andalucía" del año 1807, estableció una clasificación que denominó como tribu XV de los Moscateles, formada por cepas cuyas uvas tienen olor y sabor parecidos al del almizcle. Dentro de ella diferencia entre:

- Moscatel menudo blanco de uvas redondas, doradas. Sinonimias: Moscatel Castellano, Moscatel Común, Moscatel Morisco ó Moscatel Fino.
- **Moscatal Menudo Dorado**, de uvas redondas y rojas. Sólo difiere del anterior por el color de la uva.
- Moscatel Gordo Morado. De uvas trasovadas moradas.
- Moscatel Gordo Blanco. Con uvas trasovadas, algo doradas. Sinonimias: Moscatel Flamenco, Moscatel Real, Moscatel Romano, Moscatelón.

Nicolás García de los Salmones en el Congreso Nacional de Viticultura de 1912, en una de sus ponencias "Las variedades de vid propias de cada comarca española y sus vinos. Estudio general de conjunto" se refiere reiteradamente al cultivo de Moscatel como variedad de baya blanca. La ubica en 61 localidades pertenecientes a 44 provincias españolas. En lo que se refiere a los Moscateles de color menciona el Moscatel Negro en las provincias de Zaragoza y Cáceres y el **Moscatal Morado** en las Islas Canarias y Córdoba.

Secondo Schneider y col. (1998), en su investigación de numerosos moscateles concluye que, dentro de la numerosa familia de los moscateles, existen diversos grupos varietales: uno muy numeroso, capitaneado por el Moscatel Blanco; otro segundo cuyo referente es Moscatel de Alejandría (Zibibbo); otro tercero afín al Moscatel d'Amburgo; el cuarto representado mayoritariamente por el Moscatel Ottonel y moscateles obtenidos de sus cruces; y un quinto grupo formado por aquellos **moscateles rosados** o similares.

Mejora genética y registro varietal

Desde el punto de vista registral, desde el 4 de diciembre de 2007, el Moscatel de Grano Menudo Rosa se incluyó en el Registro de Variedades Comerciales de vid con el nombre de Moscatel Rojo, bajo la tutela del C.S.I.C.-Misión Biológica de Galicia. En la actualidad no está relacionada en la lista de variedades autorizadas para su cultivo en la Comunidad Foral de Navarra, y no consta como tal en el catastro vitícola.

La mejora genética del Moscatel para uva de vinificación se desarrolla principalmente a través de la producción de clones homologados. Estos trabajos en la actualidad se centran en las selecciones clonales que en Italia, Francia y España se han efectuado por parte de distintas entidades, instituciones y viveristas. Sin embargo, estos trabajos se han focalizado principalmente en el Moscatel de Grano Menudo Blanco, de modo que solo consta material clonal homologado para su variante rosa, el C.S.I.C. MR05, su existencia se constata en la base de datos de certificación de clones española. De igual modo parece encontrarse en fase conclusiva la certificación clonal en el Instituto de S. Michele all'Adige (Italia).

2. Material y métodos

Recopilación del material antiguo de vid

En los recientes trabajos de prospección y recuperación de variedades antiguas de vid que se vienen efectuando en España en 17 comunidades autónomas agrupadas en torno al

proyecto INIA RF2012-00027, se han localizado unas 300 variedades desconocidas o nuevas minoritarias. Este es el caso de la vinífera que nos ocupa, se trata de una variedad conocida y dotada de una apelación definida y que se distingue de otras similares por la particularidad del color de su baya rosada. El cultivo, en la actualidad, es minoritario e incluso pudiera adjetivarse como residual.

La metodología llevada a cabo en el trabajo de recopilación efectuado desde EVENA, es simple pero rigurosa. Básicamente consiste en la localización en los viñedos más antiguos, en este caso ubicados en los municipios de Corella, Bargota y Los Arcos, de aquellos cepajes de Moscatel de color y su marcaje en campo (ver tabla1), para una vez recogida la madera, multiplicarla vegetativamente mediante la realización de planta-injerto en cantidad suficiente como para nutrir el conservatorio de cepas ubicado en Olite.

Tabla 1. Localización de los tres biotipos de Moscatel de Grano Menudo Rosa

Referencia	Origen	Año plantación viña origen	Paraje
CS0035	Corella	1980	Tambarria
CS0040	Bargota	1945	Alto el Palo
CS0047	Los Arcos	1935	Las Cuestas



Fig. 1. Detalle de racimos de M.G.M Rosa (Los Arcos, Bargota y Corella respectivamente)

El material obtenido ha sido sometido a control sanitario de las principales virosis y se ha descrito ampelográficamente siguiendo los descriptores establecidos en el proyecto. Además, se ha llevado a cabo la identificación molecular mediante microsatélites. Los resultados se han comparado con la base de datos del IMIDRA en “El Encín” y con otras Bases de Datos Europeas.

En la tabla 2 se muestran los resultados de identificación con 8 microsatélites. En la misma se puede ver como la identificación no es capaz de discriminar entre Moscateles de diferentes colores, ya que los resultados son los mismos tanto para el Moscatel de Grano Menudo Blanco como para el Moscatel de Grano Menudo Rosa.

Tabla 2. Resultados de identificación molecular con 8 microsatélites

Variedad	Referencia de las accesiones	Variedad	VMC4F3-1		VVIN16		VVIV37		VVIV67		VVMD27		VVIP31		VVS2		ZAG79	
Moscatel de Grano Menudo Rosa	CS0035 CS0040 CS0047	MOSCATEL DE GRANO MENUDO (MOSCATEL MORISCO)	167	206	149	149	163	165	364	375	179	194	184	188	131	131	251	255
Moscatel de Grano Menudo Blanco	CS0008 CS0009 CS0028 CS0092	MOSCATEL DE GRANO MENUDO (MOSCATEL MORISCO)	167	206	149	149	163	165	364	375	179	194	184	188	131	131	251	255

3. Resultados

En 1952 la publicación con título *“Ideas y consideraciones sobre posibles planes a desarrollar por un consorcio de bodegas cooperativas de Navarra”*, el autor navarro Apolinar Azanza dedica un capítulo al Moscatel de Grano Menudo de Navarra *“Un apartado muy especial requieren los vinos generosos de aromáticos, con base de uva Moscatel. Las variedades de Moscatel vegetan y maduran muy bien en Navarra, especialmente las de grano menudo, que por su precocidad llegan perfectamente a su madurez en todas las comarcas, aunque en las del norte, su sensibilidad al oidium no las haga aconsejables. En el centro y en terrenos sanos, es susceptible de alcanzar el máximo de su singular riqueza en esencia, unida a la de azúcar, condiciones ambas fundamentales para conseguir magníficos vinos del tipo, que varios particulares y creo algunas cooperativas, han demostrado sus posibilidades de realización, que entiendo existe margen comercial para extender esos vinos por el mundo entero, en competencia ventajosa con los similares de Málaga”*. El autor, perfecto conocedor del Moscatel, nos habla de las variedades de Moscatel, circunstancia que permite deducir que en ese momento eran reconocibles distintos cultivares de Moscatel. Del mismo modo, nos plantea el inconveniente por su baja tolerancia a oídio y la importancia de elegir correctamente la ubicación de la parcela.

Comportamiento agronómico

En cuanto a enfermedades, el Moscatel de Grano Menudo, corroborando lo afirmado por Apolinar Azanza, es muy sensible a oídio y botrytis. En lo que respecta a plagas, la uva madura atrae fácilmente a todo tipo de himenópteros (avispa) y aves. Los pájaros llegan a comerse el grano entero mientras que las avispas suelen succionar el jugo, dejando del grano solo el hollejo. Estas heridas producidas en los granos son un foco de entrada a enfermedades como la botrytis o la podredumbre ácida. Respecto a enfermedades víricas, con frecuencia demuestra sensibilidad al entrenudo corto.

En la tabla 3, se muestran los parámetros correspondientes a la vendimia 2016 de los tres biotipos recopilados y situados en la finca de conservación del Extremal de EVENA. En los resultados se puede observar un comportamiento diferente entre biotipos. Diferencias destacables en cuanto al peso del racimo, peso de la baya y el grado alcohólico probable.

Tabla 3. Datos de los parámetros de producción y maduración de vendimia 2016 de los tres biotipos de Moscatel de Grano Menudo Rosa

Referencia	Producción cepa (kg)	Peso 100 bayas (g)	Peso racimo (g)	Grado Alcohólico Probable	pH	Acidez total (g/l ac. Tartárico)	A. málico (g/l)
CS0035	4,36	187,80	283,48	13,51	3,26	6,40	1,60
CS0040	2,12	194,40	165,19	15,32	3,33	6,50	1,80
CS0047	3,37	234,60	198,24	16,02	3,45	5,50	1,90

En la tabla 4 se muestran los valores productivos del Moscatel y parámetros básicos del mosto de Grano Menudo Rosa frente a los valores del Moscatel de Grano Menudo Blanco. Para valores de rendimiento similares el peso de la baya y peso del racimo muestra valores superiores en la variante Rosa frente al blanco.

Tabla 4. Datos medios (periodo 2014-2016) de los parámetros de producción y maduración de Moscatel de Grano Menudo Blanco y de Moscatel de Grano Menudo Rosa

Variedad	Producción cepa (kg)	Peso 100 bayas (g)	Peso racimo (g)	Grado Alcohólico Probable	pH	Acidez total (g/l ac. Tart.)	A. málico (g/l)
Moscatel de Grano Menudo Blanco	3,44	138,62	188,49	15,70	3,38	6,55	1,68
Moscatel de Grano Menudo Rosa	3,04	205,36	204,19	14,92	3,39	6,29	2,32

Comportamiento enológico

A partir de los tres biotipos situados en la viña del Extremal, se ha elaborado un único vino de Moscatel de Grano Menudo Rosa los años 2015 y 2016. En la tabla 5 se incluyen los parámetros básicos y de color del mosto de la cosecha del 2016.

Tabla 5. Parámetros básicos y de color del mosto de la vendimia de 2016

		Moscatel de Grano Menudo Blanco	Moscatel de Grano Menudo Rosa
DATOS MOSTO 2016	Grado alcohólico probable	14,08	12,28
	pH	3,29	3,17
	Acidez total (g/l tartárico)	6,20	6,20
	Ácido málico (g/l)	2,40	2,40
	D.O.420	0,219	0,536
	D.O.520	0,056	0,317
	D.O.620	0,128	0,387
	Intensidad colorante	0,403	1,240
	Tonalidad	3,911	1,691

Los parámetros de color (tabla 5 y figura 2) están próximos a un rosado de muy ligera capa con tonos amarillos y rojos, en línea con los rosados de color muy sutil, de nuevo cuño que van apareciendo en el mercado.

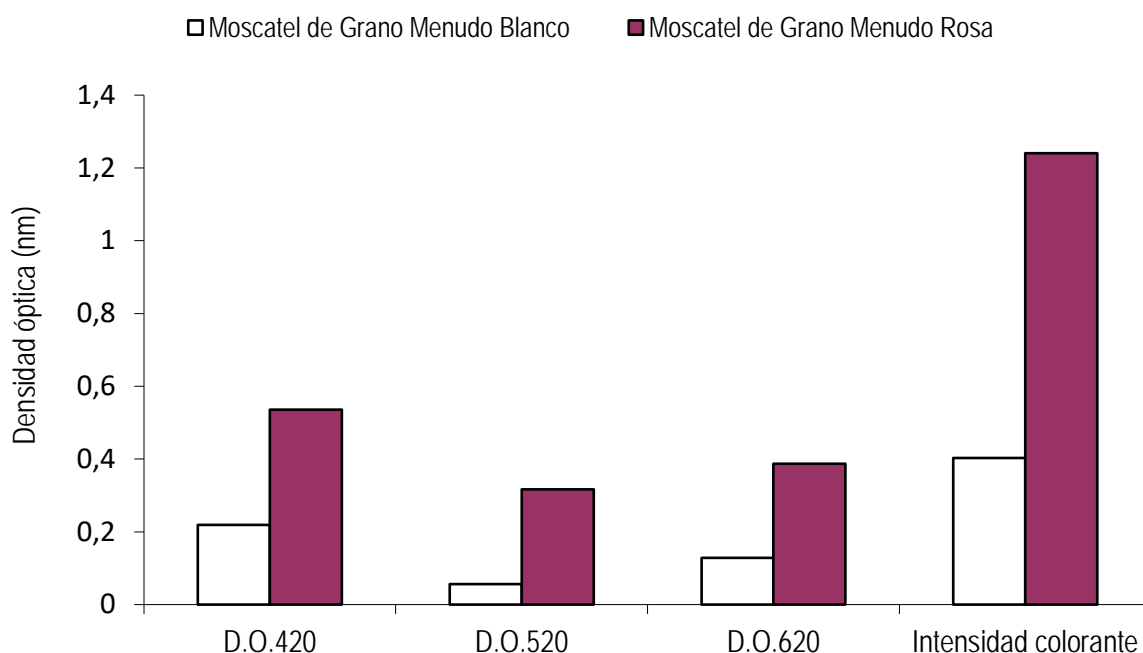


Fig. 2. Datos comparativos de color del mosto de Moscatel de Grano Menudo de la vendimia de 2016



Fig. 3. Copa con mosto de M.G.M. Rosa de la vendimia 2016

En la tabla 6 se detallan los datos analíticos del vino de la cosecha 2015. Se observa que el vino contiene azúcares residuales que lo catalogan como "semiseco", Reglamento (CE) N°607/2005 de la Comisión, oferta usual al mercado de los "moscateles". El resto de parámetros analíticos nos indican que se trata de vinos equilibrados con buena graduación, en general, acidez total notable con un buen pH, y bajo contenido en potasio y en calcio.

PARÁMETROS DEL VINO 2015	Grado Alc. Adquirido 20/20	13,4
	pH	3,19
	Acidez total tartárica (g/l)	7,1
	Ácido málico (g/l)	2
	Anhídrido sulfuroso libre (mg/l)	< LC 10
	Anhídrido sulfuroso total (mg/l)	99
	Calcio (mg/l)	62
	Hierro (mg/l)	<0,5
	Potasio (mg/l)	539
	Magnesio (mg/l)	87
	Acidez volátil acética (g/l)	< LC 0,15
	Azúcares reductores (g/l)	21,8

Tabla 6. Parámetros básicos de vino de Moscatel de Grano Menudo Rosa del 2015

La ficha de cata utilizada es la homologada por la Unión Internacional de Enólogos, con una puntuación sobre 100 puntos (tabla 7).

CATA 2015	Fase visual	7,90
	Fase olfativa	26,70
	Fase en boca	35,10
	Impresión general	9,50
	Puntuación total promedio	79,20
	Puntuación total mediana	77,50

Tabla 7. Resultados de la cata descriptiva de vino de Moscatel de Grano Menudo Rosa del 2015

La lista descriptiva del Moscatel de Grano Menudo Rosa de la campaña 2015, puede resumirse en:

- **Color:** Intensidad baja, tonos rosas pronunciados, limpio y brillante
- **Olor:** Intenso, netamente terpenico, muy elegante, notas miel
- **Sabor:** Entrada dulzona, amplio y sedoso, fresco pero muy bien equilibrado y sabroso. Paso de boca amable final muy agradable.

4. Conclusiones

Los resultados moleculares junto con el color de la baya, nos identifican este material como Moscatel de Grano Menudo Rosa, mutación somática del Moscatel de Grano menudo Blanco.

Ha sido posible recuperar en el viñedo antiguo de Navarra individuos de Moscatel de Grano Menudo Rosa, una rareza vitícola, de la cual se están desarrollando los tres biotipos seleccionados. Estos tres biotipos pasan a formar parte del conservatorio de cepas de Olite, donde su comportamiento tanto agronómico como enológico está siendo validado según el protocolo

establecido. Finalmente, se busca incluir esta variedad en la relación de variedades autorizadas para su cultivo en la Comunidad Foral de Navarra.

A partir de los resultados del estudio, el material genuino de Moscatel de Grano Menudo Rosa recuperado, puede ser utilizado para la implantación de futuros viñedos y la elaboración de vinos rosados originales, de calidad, manteniendo siempre la tipicidad de los vinos de Moscatel de Grano Menudo navarros.

5. Bibliografía

AGUIRREZABAL, F; SAGÜES, A; CIBRIAIN, JF; ERASO, JJ; SUBERVIOLA, J. 2010. **Moscatel de Grano Menudo. Selección clonal y sanitaria en Navarra.** Navarra Agraria, 178. 13-22.

AZANZA, APOLINAR. 1952. **Ideas y consideraciones sobre posibles planes a desarrollar por un consorcio de bodegas cooperativas de Navarra.**

GARCÍA DE LOS SALMONES, NICOLÁS. 1912. **Las variedades de vid propias de cada comarca española y sus vinos. Estudio general de conjunto.** Congreso Nacional de Viticultura, Villava.

ROJAS CLEMENTE, SIMÓN. 1807. **Ensayo sobre las variedades que vegetan en Andalucía.**

SECONDO SCHNEIDER Y COL. 1998. **Observations morpho-descriptives associees a l'analyse avec marqueurs moleculaires pour l'identification de cepages Muscats.** XXIII Congrès mondial de la vigne et du vin.

6. Agradecimientos

La caracterización molecular en este trabajo ha sido financiada por el INIA a través del proyecto RF2012-00027-C5-02, titulado "Documentación, caracterización y racionalización del germoplasma de vid prospectado y conservado en España. Creación de una colección nuclear".

Caracterización preliminar agronómica y enológica de 6 variedades minoritarias de vid en Arribes del Duero

José Antonio Rubio¹, Ángel García², Isabel Andrés¹, Enrique Barajas¹

(1). *Unidad de Cultivos Leñosos y Hortícolas. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL). Ctra. Burgos, Km 119. 47071 Valladolid. Tfno.: 983 317452. E-mail: rubcanjo@itacyl.es*
(2). *Estudiante de Máster en Ingeniería Agronómica. Universidad de Salamanca.*

Resumen

El interés por las variedades minoritarias no ha cesado de aumentar en los últimos años. Al interés científico y genético como reserva de material vegetal y de variabilidad genética, se puede unir un interés práctico de utilización comercial. Es posible encontrar algunas variedades minoritarias con buenas características y que puedan comenzar a cultivarse en las zonas interesadas tras pasar los controles y análisis legales correspondientes. Con este fin se ha establecido un ensayo de reserva y caracterización de variedades minoritarias de vid de la zona de Arribes del Duero, en Villarino de los Aires (Salamanca). Se dispone de material vegetal de 6 variedades minoritarias, con varios clones de cada una de ellas. Las variedades en estudio son Puesta en Cruz (blanca), y las variedades tintas Bastardillo Chico, Bruñal, Gajo Arroba, Mandón y Tinto Jeromo. Durante el año 2016 se controlaron los principales parámetros agronómicos, enológicos y el ciclo fenológico. Finalmente, se ha elaborado vino de dichas variedades a través de microvinificaciones. Se han encontrado diferencias en el comportamiento durante el ciclo y en los distintos parámetros productivos y de calidad del mosto. La variedad blanca Puesta en Cruz presenta de cara al futuro buenas características de calidad del vino y buena adaptación a la zona. Entre las variedades tintas destaca la variedad Bruñal, por sus cualidades de la uva, de tamaño de racimo y de cualidades del vino, y la variedad Mandón, por su ciclo tardío y su capacidad para mantener alta acidez con buena maduración.

1. Introducción

El proceso de localización e identificación de variedades minoritarias de vid es largo y laborioso y debe superar distintas fases para conseguir sus objetivos. El Instituto Tecnológico Agrario de Castilla León (ITACyL) ha llevado a cabo amplios trabajos de prospección y recuperación de variedades minoritarias de vid en la mayor parte de las zonas vitivinícolas de Castilla y León, y tras abordar las primeras fases de localización e identificación (Rubio *et al.*, 2005; Yuste *et al.*, 2006), se están estableciendo los trabajos de las siguientes fases para intentar caracterizar y conocer el potencial y las cualidades de algunas de las variedades encontradas en los trabajos precedentes. Dentro de ese conjunto de variedades, algunas presentan un aparente interés comercial futuro ya que parte de sus características coinciden con algunas características de los vinos actuales. No obstante, aunque el camino para la obtención y el uso de nuevas variedades de vinificación es largo y difícil, la conexión de variedades minoritarias con su zona de origen hace más fácil su aceptación por el sector productor y el mercado. Quizá algunas de las variedades en vías de recuperación podrían aportar cualidades útiles frente a las predicciones para todo este siglo XXI en que seguramente las condiciones ambientales van a variar, presumiblemente hacia vendimias más tempranas y con grados alcohólicos más elevados (López-Bustins *et al.*, 2014).

La vía más práctica para la conservación y el mantenimiento de las variedades locales que se han localizado e identificado es el reconocimiento como variedades en el correspondiente registro oficial y su uso en la zona de donde procede o en otras zonas que así lo consideren o lo

permitan. A este respecto, como fruto de la recuperación de algunas variedades minoritarias, éstas se están incluyendo en el registro de variedades y posteriormente autorizándose en los reglamentos de diferentes Denominaciones de Origen (Cabello *et al.*, 2013). Es el caso de la variedad Bruñal que tras los trabajos de localización e identificación y correspondiente solicitud a la OEVV, en el año 2011 fue reconocida y recogida en el Registro de Variedades Comerciales de España. (BOE, 2011).

El origen de la variedad Bruñal es difícil de precisar, aunque García de los Salmones (1914) citó su presencia en la provincia de Salamanca. En consonancia con este origen, Santana *et al.* (2010) destacan la posibilidad de haber contribuido a la génesis de las variedades del noroeste de la Península Ibérica. Las sinonimias encontradas de la variedad Bruñal (Rubio *et al.* 2005, Zerolo y Cabello 2006) son: Alfrocheiro Preto, Albarín Tinto y Baboso Tinto. La variedad Bastardillo Chico se localizó ampliamente en la comarca vitivinícola de Arribes, y tras diversos trabajos se ha comprobado que coincide plenamente con la variedad Merenzao.

Puesta en Cruz es una variedad blanca que coincide con la variedad portuguesa Rabigato, que está relativamente extendida por el Noreste de Portugal. De modo similar, la variedad Gajo Arroba coincide con la variedad portuguesa Cornifesto (Rubio *et al.* 2005). La variedad Mandón, localizada en Arribes del Duero, coincide con la variedad Garro, que se localizó en Cataluña y la Comunidad Valenciana. Finalmente, Tinto Jeromo es una variedad minoritaria que no coincide con ninguna otra, por lo que ha sido reconocida como variedad y recogida en el Registro de Variedades Comerciales de España. (BOE, 2016).

Este grupo de variedades minoritarias presentan algunas cualidades interesantes que inducen a pensar que pueden poder utilizarse en las zonas de donde proceden. Para comprobarlo, se precisan ensayos previos para conocer bien su comportamiento y sus características

El presente trabajo pretende profundizar en la caracterización de 6 variedades minoritarias con posibilidades de llegar a utilizarse por parte del sector en sus zonas de origen, a partir de su estudio en la misma parcela y con las mismas condiciones de cultivo, para tratar de conocer sus características básicas y contribuir a su posible difusión en el futuro.

2. Material y Métodos

El viñedo experimental donde están ubicadas las plantas de las variedades estudiadas está localizado en una parcela (Finca "Las Bozas") perteneciente al Ayuntamiento de Villarino de los Aires (Salamanca), a una altitud de 622 metros, con coordenadas geográficas 41° 16' Norte y 6° 23' Oeste.

El ensayo ocupa una superficie de 0,52 ha, está situado en una ladera con orientación Sur. El suelo corresponde a los suelos representativos de la comarca, Cambisoles eútricos, y presenta un pH de 6,45, ligeramente ácido, poca materia orgánica (0,75 %) y textura franco-arenosa. En cuanto a las características climáticas, la temperatura media anual es de 12,8 °C y la precipitación media anual es de 583 mm, aunque en 2016 la precipitación sólo fue de 390 mm.

Las variedades minoritarias establecidas en la parcela son las siguientes:

Puesta en Cruz (blanca). Es sinonimia de la variedad portuguesa Rabigato.
Bruñal, cuyas sinonimias oficiales son Albarín Tinto y Baboso Tinto (B.O.E., 2011).
Bastardillo Chico, que corresponde a la variedad Merenzao.

Gajo Arroba, que corresponde a la variedad portuguesa Cornifesto.
Mandón, que corresponde a la variedad Garro.
Tinta Jeromo, variedad nueva reconocida oficialmente en 2016 (B.O.E., 2016).

También se dispone en la parcela como testigos de comparación de la variedad Juan García (clon CL-21), de un clon comercial de Cabernet Sauvignon y del clon CL-98 de Tinta del País (Tempranillo). Las mismas variedades y los mismos clones fueron injertados sobre los portainjertos 110-R y 3309-C. Las plantas están conducidas en espaldera, con poda en cordón Royat bilateral, con 8 pulgares cortos de 2 yemas por cepa. Los datos corresponden al año 2016 y en el presente trabajo se exponen los datos referentes a las variedades minoritarias citadas injertadas sobre el portainjerto 110-R.

La orientación de las filas es Noreste-Suroeste. El marco de plantación es 2,5 m x 1,5 m (2.666 cepas/ha). Se realizaron 3 riegos deficitarios (10% ETo) de apoyo entre mitad de julio hasta enero, para suavizar el fortísimo estrés que sufrieron las cepas en el verano de 2016. Se ha controlado, mediante operaciones en verde, el número de brotes fijado en la poda de invierno y la recogida y posicionamiento de los pámpanos. Las técnicas de cultivo utilizadas en el ensayo a lo largo del año fueron idénticas para todas las variedades.

Todas las determinaciones referentes a los parámetros vegetativos, agronómicos y enológicos básicos se han realizado sobre una repetición de 8 cepas de control por cada clon (10 cepas/clon). La media de cada variedad se ha constituido con la media de los clones de cada una de ellas, siendo la población de 4 clones en las variedades Puesta en Cruz y Gajo Arroba y 8 clones en las variedades Bastardillo Chico, Bruñal, Mandón y Tinto Jeromo.

Los datos fenológicos se tomaron a lo largo del ciclo vegetativo utilizando los estados referenciados por Baggiolini (1952), utilizando el valor medio de 3 cepas por clon de cada variedad para ponderar las fechas medias de los estados fenológicos. El momento de maduración se estimó cuando las variedades alcanzaron el entorno de 22 °Brix a partir de muestreos semanales. Desde ese momento, se decidió agrupar la vendimia en dos momentos distintos, según el estado de madurez de las variedades.

Los parámetros relacionados con el comportamiento productivo se tomaron en su mayor parte durante la vendimia. Se tomó el número de racimos por cepa, el peso de la cosecha de cada cepa, y se obtuvo el peso medio del racimo. El peso de la baya se obtuvo de muestreos de 150 bayas en las 8 cepas de control de cada clon.

En cuanto al desarrollo vegetativo de las plantas, se controló el peso de la madera de poda y el número de sarmientos de cada cepa, y por tanto el peso medio del sarmiento.

Los parámetros relativos a la calidad de la uva se midieron a lo largo de la maduración a través de muestreos semanales básicos y de modo más completo en el momento de vendimia, que son los datos que se exponen en el presente trabajo. Se midió en vendimia el contenido en sólidos solubles totales (a través de °Brix), el pH y la acidez total, así como el contenido de ácido málico, ácido tartárico y de potasio. El índice de polifenoles totales se obtuvo por la medida de la absorbancia del mosto a 280 nm.

Se elaboró 1 vino de cada una de las variedades Puesta en Cruz, Bastardillo Chico, Bruñal, Mandón y Tinto Jeromo a partir de 100-120 Kg de uva de cada variedad, que procedía de la mezcla de los clones de cada variedad sobre el portainjerto 110-R (4 clones en el caso de Puesta en Cruz y Gajo Arroba, 8 clones en el caso de Bastardillo Chico, Bruñal, Mandón y Tinto Jeromo).

3. Resultados

Fenología. Las variedades estudiadas han mostrado comportamientos distintos en referencia a los estados fenológicos básicos de desarrollo de la vid (Baggiolini, 1952). La tabla 1 muestra los principales estados fenológicos de las 6 variedades minoritarias en estudio y de las 3 variedades testigo de comparación (Juan García, Cabernet Sauvignon y Tempranillo). La variedad más precoz en cuanto al momento de desborre es Bruñal, que se adelanta en torno a 5 días a Puesta en Cruz, Bastardillo Chico y Gajo Arroba, que desborran en una época similar a Tempranillo. En cambio, Mandón y Tinto Jeromo desborran casi dos semanas después que Bruñal, en un grupo tardío en el que también lo hacen Juan García y Cabernet Sauvignon. Sin embargo, el momento de floración se iguala bastante entre las variedades estudiadas, excepto para Tinto Jeromo, Juan García y Mandón, la última variedad en florecer.

Tabla 1. Fechas de los estados fenológicos desborre, floración, envero y maduración (Baggiolini 1952) de las variedades minoritarias Puesta en Cruz (blanca) y Bastardillo Chico, Bruñal, Gajo Arroba, Mandón y Tinto Jeromo (tintas), así como de 3 variedades de comparación, Juan García, Cabernet Sauvignon y Tempranillo, en el año 2016. Parcela en la Finca "Las Bozas" (Villarino de los Aires, Salamanca). * Maduración: cuando alcanza 22 °Brix.

Variedad	Desborre	Floración	Envero	Maduración *	Vendimia
Puesta en Cruz	6 de abril	11 de Junio	23 de Agosto	19 de Septiembre	21 de Septiembre
Bastardillo chico	7 de abril	13 de Junio	17 de Agosto	14 de Septiembre	21 de Septiembre
Bruñal	2 de abril	13 de Junio	16 de Agosto	20 de Septiembre	21 de Septiembre
Gajo Arroba	6 de abril	13 de Junio	17 de Agosto	29 de Septiembre	6 de octubre
Mandón	17 de abril	21 de Junio	24 de Agosto	5 de Octubre	6 de octubre
Tinto Jeromo	16 de abril	16 de Junio	19 de Agosto	3 de Octubre	6 de octubre
Juan García	16 de abril	18 de Junio	17 de Agosto	-	6 de octubre
Cabernet Sauvignon	15 de abril	13 de Junio	21 de Agosto	25 de septiembre	6 de octubre
Tempranillo	8 de abril	10 de Junio	21 de Agosto	24 de Septiembre	6 de octubre

El envero en el año 2016 se retrasó y se ralentizó debido a las altísimas temperaturas registradas desde final de julio y casi todo el mes de agosto. El momento está igualado para la mayor parte de las variedades, excepto Tempranillo, Cabernet Sauvignon y Mandón, las últimas en enverar. Finalmente el ritmo de maduración es distinto entre las variedades, siendo Bastardillo Chico la primera en hacerlo, en un grupo más adelantado con Bruñal y Puesta en Cruz, mientras que el resto necesitan varios días más y al igual que en fases anteriores, es Mandón la más tardía, aunque Juan García no llegó a completar la maduración en el momento de vendimia.

Comportamiento productivo. La tendencia de algunos de los parámetros productivos indican que las variedades más productivas (Gajo Arroba, Mandón y Puesta en Cruz) lo son por la combinación de mayor tamaño de racimo (Mandón y Puesta en Cruz) o por el alto número de racimos (Gajo Arroba). Bruñal y Bastardillo Chico alcanzan rendimientos medio-bajos, con racimos pequeños y bayas pequeñas (Tabla 2). En la parcela en estudio el rendimiento de estas variedades (Bruñal y Bastardillo Chico) es similar al que obtuvieron Arranz *et al.* (2014) y Rubio *et al.* (2015) en una parcela en Valladolid, con Bruñal y Merenzao, mientras que el rendimiento de Bruñal en Arribes del Duero es algo inferior al obtenido por Yuste *et al.* (2016) en la comparación de 3 clones de Bruñal en Valladolid.

Tabla 2. Valores medios (año 2016) de los parámetros: Número de racimos, producción, peso del racimo, peso de la baya y rendimiento de las 6 variedades minoritarias en estudio y de las 3 variedades de comparación. Parcela en la Finca "Las Bozas" (Villarino de los Aires, Salamanca). Puesta en Cruz y Gajo Arroba, media con 4 clones. B. Chico. Bruñal, Mandón y Tinto Jeromo, media con 8 clones.

Variedad	N Racimos	Prd (Kg/cepa)	P Racimo (g)	P Baya (g)	Rdto (t/ha)
Puesta en Cruz	13,5	3,44	248	1,23	9,18
Bastardillo Chico	23,5	1,93	81,2	1,17	5,14
Bruñal	17,5	2,04	113	1,08	5,42
Gajo Arroba	19,6	3,61	180	1,20	9,61
Mandón	14,1	3,12	219	1,43	8,30
Tinto Jeromo	17,2	1,97	111	1,27	5,25
Juan García	20,0	3,49	171	1,54	9,31
Cabernet Sauvignon	21,2	1,82	83,3	1,72	4,85
Tempranillo	15,6	-	-	1,49	-

Desarrollo vegetativo. Las plantas sufrieron durante la segunda mitad del ciclo vegetativo en 2016 un fuerte estrés hídrico, que se manifiesta en un bajo peso de madera de poda por cepa y en muy bajo peso del sarmiento (Tabla 3), ya que en primavera brotaron la mayoría de yemas francas dejadas en la poda, pero el estrés de las plantas desde mediados de julio impidió que los pámpanos desarrollaran su potencial. Teniendo en cuenta la situación de estrés y debilidad que se ha citado, destacan Puesta en Cruz y Bastardillo Chico como variedades un poco más vigorosas vegetativamente que el resto de variedades, con peso de madera de poda ligeramente superior al de Tempranillo. La fertilidad en cuanto a número de racimos por pámpano es baja, siendo mayores las de B. Chico y Gajo Arroba a las del resto.

El Índice de Ravaz resulta alto en alguna de las variedades, especialmente en Gajo Arroba, Mandón y Tinta Jeromo, por lo que a priori en estas variedades se debe tratar de equilibrar la parte productiva respecto a la vegetativa para conseguir un manejo adecuado.

Tabla 3. Valores medios (año 2016) de los parámetros: Número de sarmientos, peso de la madera de poda, peso del sarmiento, fertilidad e Índice de Ravaz (producción/peso madera de poda) de las 6 variedades minoritarias en estudio y de las 3 variedades de comparación. Parcela en la Finca "Las Bozas" (Villarino de los Aires, Salamanca).

Variedad	Nº Sarmientos	Madera poda (Kg/cepa)	P Sarmiento (Kg)	Fertilidad (racimos/pámpano)	Índice de Ravaz
Puesta en Cruz	16,8	0,95	0,056	0,82	3,61
Bastardillo Chico	17,9	0,80	0,045	1,33	2,44
Bruñal	15,4	0,56	0,036	1,18	3,67
Gajo Arroba	14,4	0,36	0,024	1,37	10,3
Mandón	14,9	0,56	0,037	0,97	5,54
Tinto Jeromo	14,6	0,42	0,029	1,18	4,71
Juan García	15,4	0,59	0,039	1,32	5,93
Cabernet Sauvignon	15,8	0,54	0,034	1,36	3,39
Tempranillo	16,3	0,79	0,048	0,98	-

Composición de la uva. Los parámetros de calidad del mosto se muestran en la tabla 4. Se puede observar el efecto del estrés en las plantas al reducir considerablemente la acidez total, que resulta muy baja en Bastardillo Chico, que es una variedad que se debe vendimiar pronto, antes de que la acidez baje excesivamente. Esta variedad madura con rapidez y pronto en la zona y especialmente en las condiciones de la parcela, orientada al sur, con pendiente apreciable y suelo franco arenoso. Por otro lado, las variedades Bruñal, Mandón y Tinto Jeromo mantienen la acidez en valores apreciables sin que suba en exceso el contenido en azúcares, lo que otorga una base interesante para obtener un buen equilibrio en la elaboración posterior de los vinos. Bastardillo Chico y Tinto Jeromo, así como Tempranillo, acumulan las cantidades más altas de potasio entre las variedades en estudio, lo que puede representar un problema por alto pH en el vino, mientras que Puesta en Cruz y Mandón son las que menos potasio acumulan.

Tabla 4. Valores medios (año 2016) de los parámetros: Concentración de azúcares, S.S.T., pH, acidez total, IPT, Índice de Polifenoles Totales, contenido de ácido málico, ácido tartárico y potasio de las 6 variedades minoritarias en estudio y de las 3 variedades de comparación. Parcela en la Finca “Las Bozas” (Villarino de los Aires, Salamanca).

Variedad	S.S.T. (° Brix)	pH	Ac. Total (g/L Ac. Tart.)	Ac. Málico (g/L)	Ac. Tartárico (g/L)	Potasio (mg/l)	I.P.T.
Puesta en Cruz	22,3	4,46	2,12	2,12	5,29	1634	-
Bastardillo Chico	26,2	4,38	2,71	1,75	5,03	2536	11,6
Bruñal	22,0	4,00	3,86	1,85	4,79	2055	16,4
Gajo Arroba	22,8	3,92	3,15	1,07	5,16	2035	14,1
Mandón	23,4	3,49	3,99	0,84	5,17	1708	16,2
Tinto Jeromo	24,1	3,97	3,95	2,37	5,11	2560	15,1
Juan García	20,9	3,78	3,81	2,08	4,84	2165	20,0
Cabernet Sauvignon	24,3	3,83	4,06	1,32	5,17	1675	18,0
Tempranillo	24,8	4,12	3,64	1,96	5,98	2610	21,5

Características del vino. Los vinos obtenidos presentan un excelente equilibrio entre el grado alcohólico y la acidez total, especialmente en la variedad blanca Puesta en Cruz y en las tintas Bruñal y Mandón (Tabla 5). Puesta en Cruz, Bastardillo Chico y Bruñal se vendimiaron dos semanas antes que Mandón y Tinto Jeromo, y en todos los casos la acidez total era muy baja en las uvas de los muestreos realizados en el momento de vendimia. Este hecho parece indicar que las bayas del interior de los racimos mantenían claramente mayor acidez que las bayas recogidas en los muestreos, ya que la acidez en el vino elaborado es muy superior a la de los muestreos realizados.

Tabla 5. Valores medios (año 2016) de los parámetros del vino: Grado alcohólico, pH, Acidez total y extracto seco de 4 variedades minoritarias en estudio. Parcela en la Finca “Las Bozas” (Villarino de los Aires, Salamanca).

Variedad	Grado Alcohólico (% Vol)	Extracto seco (g/L)	pH	Acidez total (g/L Ac. Tart.)
Puesta en Cruz	13,4	18,4	3,17	5,91
Bastardillo Chico	14,2	-	4,1	4,21
Bruñal	13,2	30,4	3,5	6,39
Mandón	13,6	27,2	3,82	5,02
Tinto Jeromo	15,4	34,1	4,1	4,59

4. Conclusiones

Las variedades que están situadas en la parcela experimental han comenzado a mostrar su personalidad. Se distinguen dos grupos de variedades: Puesta en Cruz (blanca), Bastardillo Chico y Bruñal, de maduración media-temprana, y Gajo Arroba, Mandón y Tinto Jeromo, de maduración tardía, relacionada además de sus características fenológicas con su mayor rendimiento y tamaño de baya. En conjunto las 6 variedades han obteniendo unos rendimientos aceptables con un escaso desarrollo vegetativo, provocado por las condiciones tremendamente limitantes de la parcela y de la propia zona, por lo que se podría considerar que de algún modo están adaptadas a la zona de cultivo.

En conjunto también destaca que en condiciones de fuerte estrés, como ha sucedido en la campaña 2016, producen unos vinos que mantienen una acidez destacable, con un interesante equilibrio con el grado alcohólico, que no se dispara en exceso. Finalmente, Puesta en Cruz presenta posibilidades de manejo que con una vendimia bien planificada puede obtener vinos interesantes, con apreciables producciones. Bruñal destaca por una lenta acumulación de azúcares que combina bien con acidez apreciable y con posibilidades por su baya pequeña con el hollejo fuerte. Mandón y Tinto Jeromo pueden contribuir a mantener la acidez y el nervio en mezclas enriquecedoras con otras variedades como la propia Gajo Arroba.

Por tanto, algunas variedades de este grupo presentan cualidades que si se confirman en próximas campañas pueden resultar muy apropiadas para productores de esta zona de donde proceden (Arribes del Duero), así como de zonas adyacentes.

5. Bibliografía

1. ARRANZ, C.; RODRÍGUEZ, D.; YUSTE, J.; BARAJAS, E.; RUBIO, J.A. 2014. **Caracterización y comparación de 5 variedades tintas minoritarias, próximas entre si filogenéticamente, localizadas en el oeste de Castilla y León.** Actas de la 28ª Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. Imida (Murcia). 16 y 17 de abril de 2013. Centro de Publicaciones. Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid. 53-63 pp. ISBN: 978-84-491-1382-6.
2. BAGGIOLINI, M. 1952. **Les stades repères dans le développement annuel de la vigne.** *Rev. Romande Agric. et Vitic* 8: 4-6.
3. B.O.E. 2011. **Orden ARM/624/2011, de 18 de marzo (B.O.E. de jueves 24 de marzo de 2011).** Ministerio de Presidencia. Madrid.
4. B.O.E. 2016. **Orden AAA/1440/2016, de 1 de septiembre (B.O.E. de jueves 8 de septiembre de 2016).** Ministerio de Presidencia. Madrid.
5. CABELLO, F.; MUÑOZ, G.; DE ANDRÉS, T.; GAFORIO, L.; SAIZ, R.; BENITO, A.; BENAYAS, F.; CHOMÉ, P. 2013. **Situación de la identificación varietal de la vid en España.** Actas de la 26ª Reunión del GTEVE. Olite (Navarra). 4 y 5/mayo/ 2011. Centro de Publicaciones. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid. ISBN: 978-84-491-1269-0.
6. GARCÍA DE LOS SALMONES, N. 1914. **Memoria General de las Sesiones del Congreso y Ponencias Presentadas. C. N. de Viticultura,** Pamplona. Imp. Provincial.
7. LÓPEZ-BUSTINS, J.A.; PLA, E.; NADAL, M.; DE HERRALDE, F.; SAVÉ, R. 2014. **Global change and viticulture in the Mediterranean region: a case of study in north-eastern Spain.** *Span. J. Agric. Res.* 12(1): 78-88.
8. RUBIO, J.A.; YUSTE, J.; ARRANZ, C.; MARTÍN, J.P.; ORTIZ, J.M. 2005. **Variedades autóctonas de vid de Arribes del Duero: descripción y sinonimias.** *Viticultura y Enología Profesional* 99: 5-17.
9. RUBIO, J.A.; RODRÍGUEZ, D.; YUSTE, J.; BARAJAS, E.; ARRANZ, C. 2015. **Caracterización preliminar fenológica, agronómica y enológica de 12 variedades minoritarias localizadas en**

Castilla y León. Actas de la 29ª Reunión del G. T. E. V. E.. ICVV (La Rioja): 6 y 7 de mayo de 2014. Centro de Publicaciones. Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid: 49-56 pp. ISBN: 978-84-491-0022-2.

10. SANTANA, J.C.; HUERTZ, M.; ARRANZ, C.; RUBIO, J.A.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J.M.; HIDALGO, E. 2010. **Genetic Structure, origins, and relationships of grapevine cultivars from the Castilian Plateau of Spain.** *Am. J. Enol. Vitic.* 61 (2): 214-224.

11. YUSTE, J.; MARTÍN, J.P.; RUBIO, J.A.; HIDALGO, E.; RECIO, P.; SANTANA, J.C.; ARRANZ, C.; ORTIZ, J.M. 2006. **Identification of autochthonous grapevine varieties in the germplasm collection at the ITA of "Castilla y León" in Zamadueñas Station, Valladolid, Spain.** *Span. J. Agric. Res.* 4(1): 31-36.

12. YUSTE, J.; ARRANZ, C.; BARAJAS, E.; RUBIO, J.A. 2016. **Comparación preliminar, agronómica y cualitativa, de 3 clones preseleccionados de la variedad tinta Bruñal, en Valladolid, durante el periodo 2012-2014.** Actas de la 30ª Reunión del GTEVE. Zalla (Vizcaya). 25 y 26 de marzo de 2015. Centro de Publicaciones. Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid. 91-98 pp. ISBN: 978-84-491-1450-2.

13. ZEROLO, J.; CABELLO, F. 2006. **Variedades de vid de cultivo tradicional en Canarias.** Instituto Canario de Calidad Agroalimentaria, 222 pp. La Sem. Vitivinícola 2815/16: 2677-2686.

6. Agradecimientos

La elaboración de este trabajo ha sido posible gracias al soporte económico de la Junta de Castilla y León y de fondos FEDER, y a la colaboración de los compañeros del Grupo de Viticultura de la Unidad de Cultivos Leñosos, del Laboratorio de Enología y de la Estación Enológica, todos ellos del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, así como del Ayuntamiento de Villarino de los Aires.

Selección clonal de la Garnacha Blanca en el Valle del Ebro: continuación de los trabajos

Javier Andreu (1), Ernesto Franco (1), Jesús Usón (1), Alberto Pavón (1), Yolanda Gogorcena (2), Carme Domingo (3), Xoán Elorduy (3), Elisa Baroja (4), Juana Martínez (4), Maite Rodríguez (4), José Félix Cibriáin (5), Julián Suberviola (5)

(1) Centro de Transferencia Agroalimentaria, Av. Movera, s/n 50194 Zaragoza. (2) Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC), Avda de Montañana 1005, 50059 Zaragoza. (3) Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI), Pl. Àgora, 2 08720 Vilafranca del Penedès (4) ICVV Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino, Ctra. Burgos, km. 6, 26071 Logroño.

(5) Sección de Viticultura y Enología. Gobierno de Navarra-INTIA. C/ Valle de Orba, 34 - 31390 Olite (Navarra).

1. Introducción

En el año 2015 comenzó una iniciativa común entre las cuatro Comunidades Autónomas que conforman el Valle del Ebro, La Rioja, Navarra, Aragón y Cataluña, en torno a la variedad de vid Garnacha Blanca. Se había detectado una demanda creciente por parte del sector de dicha variedad que, junto con la escasa oferta de diversidad de material vegetal para realizar nuevas plantaciones, llevaron al planteamiento de los diferentes centros que trabajan en esta región (ICVV de La Rioja, EVENA de Navarra, el CTA y el CSIC en Aragón y el INCAVI de Cataluña) de trabajar conjuntamente con el fin de aumentar la disponibilidad y diversidad en el mercado de material vegetal de Garnacha Blanca.

Durante el año 2015 se trabajó desde Aragón y Cataluña en la prospección de viñas viejas, el marcaje de todas aquellas cepas que respondían a las características varietales de la Garnacha Blanca y la caracterización de las mismas en campo origen. En Rioja y Navarra el trabajo de prospección, marcaje y recopilación se había llevado a cabo en años previos, por lo que durante el año 2015 se continuó con la caracterización (ya iniciada anteriormente) del material en los campos de recopilación. Durante el año 2016 se continuó con el trabajo en el mismo sentido. De cara a la campaña 2017 y siguientes se ha planteado poner en conocimiento de todos los integrantes del grupo metodologías que permitan llevar a cabo la caracterización de aspectos agronómicos y enológicos de interés de una manera más coordinada y/o completa, como son la detección de virosis, la densidad óptica de los mostos y la compacidad del racimo.

En este trabajo se presentan los trabajos realizados durante 2016 así como la previsión para las siguientes campañas y las metodologías puestas en común.

2. Material y Métodos

Trabajos realizados en 2016

En Aragón y Cataluña se ha continuado con la caracterización agronómica y el análisis de los mostos sobre las cepas marcadas en campo. En Cataluña además, se ha comenzado con la recogida del material libre de virus para la realización de injertos.

En Navarra se ha continuado con la caracterización del material recopilado e instalado en campo de conservación. En Rioja se cuenta con datos de cuatro años de estudio sobre las cepas instaladas en campo de conservación, por lo que durante 2016 no se han realizado nuevos controles.

Previsión trabajos 2017 y siguientes

De cara a 2017, se va a continuar un año más con la caracterización en campo de los biotipos tanto en Aragón como en Cataluña. Se llevarán a cabo los controles de virosis que permitirán seleccionar los biotipos libres de virus y proceder a la recogida de madera para la realización de injertos e instalación de sus campos de conservación. En Navarra se continuará un año más con los controles sobre el material recopilado.

Para llevar a cabo la certificación de material se va a instalar un campo de homologación en cada comunidad. Cada campo tendrá 30 cepas (3 repeticiones de 10 cepas con un único portainjerto) de los biotipos recopilados en la Comunidad correspondiente, más cuatro biotipos de cada una de las restantes comunidades.

Debido a las diferencias en el ritmo de trabajo entre comunidades, La Rioja y Navarra van a plantar en 2018 dichos campos con los biotipos propios que consideren de interés más cuatro biotipos que le proporcione la otra comunidad (Rioja o Navarra), y barbados suficientes para en 2019 injertar el material proporcionado por Aragón y Cataluña (que instalarán sus campos más adelante).

Derivado de ello, en La Rioja y Navarra se ha recogido madera durante el inicio de este año para la realización de injertos que se plantarán durante 2018.

Puesta en común de metodologías

Se ha puesto de manifiesto que algunas comunidades tienen protocolos específicos para el desarrollo de algunos de los trabajos y cuyo conocimiento resulta de interés para el resto de comunidades.

Poner en común dichas metodologías permitirá que en ciertos aspectos los resultados sean comparables, como es el caso de las virosis y de la densidad óptica de los mostos. En otros casos supone un conocimiento de los trabajos llevados a cabo en otros grupos y que podría ayudar a caracterizar de manera más objetiva ciertos caracteres como es el caso de la compacidad del racimo.

Análisis de virosis

Es importante poner en común para el análisis de virosis cual es la mejor época de detección para cada virus mediante test ELISA. De los trabajos de Milagros Marín (2015) respecto a ello se desprende que:

- Entrenudo corto, mosaico del Arabis y jasepado: se puede detectar la presencia del virus en cualquier momento
- Enrollado I y III: no se detecta la presencia de virus en primavera

Por lo tanto, lo más apropiado es llevar a cabo el análisis de la presencia de virus en hoja vieja de otoño (septiembre-octubre), o en madera del 2º tercio de la longitud del sarmiento (invierno).

Densidad óptica de los mostos

Se apunta que las medidas más interesantes en una variedad como la Garnacha Blanca son el IPT280, la DO 320 (indicador del contenido, entre otros, en ácidos hidroxicinámicos, relacionados con la potencial capacidad de oxidación; a valores más altos más potencialidad de oxidación y por tanto de pardeamiento) y la DO 420 (indicador del contenido en la componente amarilla del color de los vinos, relacionada también con la oxidación).

Al ser una variedad que se oxida con facilidad, es importante realizar el muestreo justo antes de llevar a cabo los análisis, intentando reducir los tiempos de muestreo entre biotipos. Por el mismo motivo, se debe mantener en la medida de lo posible la cadena de frío desde la toma de muestras hasta el análisis de los mostos, intentando así reducir la oxidación.

De igual manera, es necesario acortar el tiempo en la preparación de los mostos de los biotipos (para lo que se utilizará licuadora o masticador) y en la realización de las mediciones.

Compacidad del racimo

En la variedad Garnacha Blanca la calidad está relacionada con el grado de compacidad del racimo, debido a la alta compacidad que presenta en general.

Derivado de su importancia, se está llevando a cabo en Navarra un estudio en profundidad de caracteres de racimo en biotipos de Garnacha Blanca que permita ver si alguno o algunos de ellos pueden explicar las diferencias entre racimos de diferente compacidad (Rodríguez-Lorenzo et al., 2016). Si así fuera, se podría complementar la valoración visual de la compacidad mediante el descriptor OIV 204 con mediciones de cierto/os carácter/es que aportaran más objetividad.

3. Resultados

Situación actual del estudio en cada comunidad

En Aragón se dispone de 22 parcelas prospectadas, con unos 4-5 biotipos marcados por parcela. En Cataluña se tienen en la actualidad 76 biotipos marcados en campo: 44 biotipos libres de virus y con algunos injertos realizados. Se tienen dos años de caracterización de los biotipos en campo en ambos casos.

En Rioja se tienen 25 biotipos recopilados, 18 de los cuales están libres de virosis. Se tienen 5 cepas por biotipo. Se han llevado a cabo controles desde el año 2012 hasta el año 2015, ambos inclusive. En la actualidad, Rioja está preparada para instalar el campo de homologación.

En Navarra se tienen 55 biotipos recopilados, de los cuales 19 están libres de virosis. Se tienen tres años de estudio de caracterización (2014-2016), con cinco cepas por biotipo. Los 19 biotipos están ya dentro del proceso de indexaje leñoso. Durante el año 2015 se ha llevado a cabo un estudio en detalle del racimo con el fin de comprobar si algún carácter de racimo podría explicar las diferencias de compacidad encontrada. Al igual que La Rioja, Navarra está en disposición de instalar el campo de homologación.

4. Conclusiones

1. Se continúa trabajando en el objetivo inicial de incrementar la diversidad en la oferta de material vegetal de Garnacha Blanca en el Valle del Ebro.

2. Las comunidades integrantes llevan diferentes ritmos de trabajo: Rioja y Navarra están en la fase de instalar los campos de homologación; Aragón y Cataluña están en la fase de selección en campo origen.
3. Se van a plantar cuatro campos de homologación, uno por comunidad, con los biotipos más interesantes de la Comunidad más los cuatro mejores de cada una de las restantes.
4. Se ha compartido conocimiento en diferentes metodologías de trabajo para poder comparar los resultados y mejorar en la realización de los trabajos.

5. Bibliografía

1. MARÍN, M. 2015. **Análisis de virus para la certificación de plantas de vid, ¿cuándo realizarlo?** II Reunión del Grupo Especializado en Detección, Diagnóstico e Identificación (GEDDI-SEF), Sevilla.
2. RODRÍGUEZ-LORENZO, M et al. 2016. **Datos preliminares sobre la variación en caracteres relacionados con la productividad y la calidad en distintos biotipos de Garnacha Blanca.** II Jornadas de Viticultura de la SECH, Madrid.

Influencia de la Cubierta Espontánea vs. Laboreo sobre el Estado Nutricional de la Vid, el Rendimiento y la Calidad del Mosto

Ignacio Martín, Juana Martínez, Natalia Domínguez, Diego López, Enrique García-Escudero

*Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino, ICVV (CSIC, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja).
Servicio de Investigación Vitivinícola. Finca La Grajera, Ctra. Burgos km 6. 26071 Logroño (La Rioja; España).
Teléfono: +34 941 894 980, Extensión: 410056. Correo electrónico: imartinr@larioja.org*

Resumen

En las condiciones semiáridas españolas, la utilización de cubiertas vegetales como método alternativo de manejo del suelo puede suponer una fuerte competencia por el agua y los nutrientes. El objetivo de este trabajo es evaluar la competencia de la cubierta espontánea, en condiciones de secano, sobre el estado nutricional del viñedo, la biomasa, los rendimientos y los mostos obtenidos. En 2014, se llevó a cabo un seguimiento nutricional en un viñedo de 'Tempranillo blanco', situado en la finca La Grajera (Logroño). Con un diseño experimental con tres bloques a modo de repeticiones, se compararon: Laboreo Tradicional, Cubierta espontánea (2º año) y la combinación de ambos, sin llevar a cabo riegos de apoyo. Se muestrearon limbos y peciños en nueve momentos del ciclo, analizándose: N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu y B. Asimismo, se determinaron las exportaciones de nutrientes, componentes del rendimiento y parámetros de calidad de los mostos. Los resultados mostraron la competencia de la cubierta espontánea por los nutrientes, principalmente en la primera mitad del ciclo, afectando a los componentes de la producción y a algunas de las características del mosto.

1. Introducción

Las técnicas de mantenimiento de los suelos agrícolas tienen como objetivo establecer unas condiciones en el suelo que permitan un equilibrio adecuado entre las distintas fases del suelo: sólida, líquida y gaseosa, para así favorecer el correcto desarrollo del cultivo a nivel radicular y vegetativo. Para ello, las técnicas elegidas de mantenimiento de un suelo deben considerar las particularidades de cada caso concreto, ya que se verán afectadas por otras cuestiones relacionadas con la producción.

En España, con una climatología semiárida en muchas regiones y, por tanto, con frecuente limitación hídrica, la forma de mantenimiento del suelo más extendida es el laboreo tradicional. Al laboreo se le atribuyen diversos inconvenientes: formación de suela de labor, aumento de la erosión, degradación de la estructura del suelo en horizontes profundos o dificultad de circulación de la maquinaria en los períodos de lluvias (Peregrina *et al.*, 2010; Ibáñez, 2015). Asimismo, existen técnicas alternativas al laboreo, entre las que se encuentra el empleo de cubiertas vegetales. Esta técnica consiste en mantener una cubierta vegetal en el viñedo de forma temporal o permanente, ya sea sembrada o ya sea manteniendo la cubierta espontánea que coloniza el viñedo. Entre las ventajas que se le atribuye a las cubiertas se contarían: el incremento de materia orgánica; la mejora de la estructura, de la porosidad, de la infiltración y de la capacidad de almacenamiento de agua; la implantación de un sistema radicular del viñedo más denso y estructurado; la reducción de la erosión y de la formación de costra superficial; el aumento de biomasa y actividad microbiana; el mantenimiento de la biodiversidad y la reducción de la incidencia de algunas plagas, al favorecerse el equilibrio con sus depredadores naturales (Peregrina *et al.*, 2010; Pérez-Álvarez *et al.*, 2015; Ibáñez, 2015).

Al empleo de cubiertas vegetales se le atribuye cierta mejora de la fertilidad del suelo, ya que el incremento de materia orgánica aumentaría la liberación de nutrientes tras su mineralización y mejoraría la capacidad de fijación y retención de estos en la fracción orgánica coloidal, constituyendo una reserva y pérdidas por lixiviación. Se ha observado un aumento de P (Tescic *et al.*, 2007) y de K (Morlat y Jacquet, 2003) en el horizonte superficial de suelos bajo cubierta. Por el contrario, las cubiertas vegetales pueden promover una competencia por el agua y los nutrientes, especialmente al inicio del ciclo de cultivo, reduciendo su disponibilidad, el vigor y la superficie foliar total y expuesta, afectando por tanto a la capacidad fotosintética y a la composición y calidad de la uva (Tescic *et al.*, 2007; Ibáñez, 2015). Así, mientras en el laboreo tradicional aumenta la disponibilidad de N durante el ciclo al favorecer la mineralización, la cubierta puede reducir el N disponible (Tescic *et al.*, 2007; Pérez-Álvarez *et al.*, 2015).

El objetivo es determinar el efecto a nivel nutricional de la cubierta vegetal espontánea respecto al laboreo tradicional, en condiciones de secano, y su efecto sobre los componentes del rendimiento, la biomasa y la calidad de la uva en un viñedo con el cv. Tempranillo blanco.

2. Materiales y Métodos

A lo largo de la campaña de 2014, se llevó a cabo un estudio de seguimiento en un viñedo representativo de la DOCa. Rioja, situado en la finca experimental de La Grajera (Logroño). El viñedo se estableció en 2003, con la variedad 'Tempranillo blanco' injertada sobre 110-Richter, con orientación Este-Oeste y densidad de plantación de 3.135 cepas/ha (2,9x1,1 m). Las vides se conducen en espaldera, según un sistema Cordón Royat doble, manteniendo entre 10 y 12 yemas por cepa. La cubierta se implantó el año anterior (2013), por lo que se trataría del segundo año de mantenimiento de la cubierta vegetal en el viñedo.

El suelo de la parcela de ensayo se ha clasificado como *Haploxerepts* típico. La textura es franca en los dos horizontes más superficiales (prof: 55 y 70 cm), pasando a franca-arenosa en el horizonte subsuperficial (13 cm). El suelo no presentaba limitaciones a nivel físico-químico o nutricional. El viñedo fue manejado sin riego según las prácticas habituales en la región, con despunte, tratamientos fitosanitarios y la aplicación de herbicida en la línea cuando fue necesario. Las precipitaciones acumuladas entre enero y finales de agosto fueron de 325 mm.

El diseño experimental ha consistido en tres bloques, con tres tratamientos: **Laboreo Tradicional (T)**: Las calles se labran mecánicamente a una profundidad de 30 cm; **Manejo Mixto (M)**: Una de cada dos calles se labra mecánicamente y la contigua se mantiene con cubierta espontánea; **Cubierta Espontánea (C)**: Las calles mantienen una cubierta natural que se desarrolla en secano. Ocasionalmente, se siega para controlar la biomasa generada.

Se llevó a cabo un seguimiento nutricional en limbo y pecíolo, realizándose 9 muestreos desde prefloración a vendimia. En cada repetición, se muestrearon 30 hojas completas, sanas y totalmente desarrolladas, no senescentes, procedentes de 30 cepas representativas, de pámpanos fructíferos de vigor medio, en posición opuesta al primer racimo hasta envero y en posición opuesta al segundo racimo a partir del envero. Las diferentes exposiciones al sol también fueron consideradas. Las muestras se codificaron en base al porcentaje de tiempo transcurrido dentro de cada momento fenológico.

Para estimar la biomasa renovable y las exportaciones de nutrientes, se muestrearon 3 pámpanos completos por repetición. Seguidamente, se separaron hojas, pámpanos y racimos, se pesaron y se tomó una submuestra para calcular la humedad y llevar a cabo el análisis mineral.

La biomasa en forma de esferguras fue igualmente estudiada. En el momento de la vendimia se evaluaron componentes del rendimiento y algunas características físico-químicas de la uva. Se contabilizaron pulgares, pámpanos y racimos por cepa, así como el rendimiento en cada repetición. Asimismo, se muestrearon 500 bayas por repetición, a razón de 10 bayas por cepa de distintas posiciones en el racimo. En el laboratorio se contaron, se pesaron y se estrujaron en una estrujadora normalizada para obtener el mosto, analizándose inmediatamente.

Limbos, pecíolos y muestras vegetales se lavaron con agua corriente y agua destilada y se secaron en estufa a 70°C. Las muestras secas se molieron con un molino ultracentrífugo de tamiz inferior a 0.5 mm. Se determinó el N total (N-orgánico+N-NH₄⁺) mediante el método Kjeldahl, y los nutrientes: K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu y B, mediante digestión con H₂SO₄ (95%) y H₂O₂ (30%) y determinación con ICP-AES. Las concentraciones se expresan en peso seco (d.m.). En el mosto se determinó: Grado alcohólico probable, pH, Acidez total, Ácido tartárico, Ácido málico, K (AES) e Índice de Polifenoles Totales (D.O. a 280 nm).

El estudio estadístico incluyó el test no paramétrico de Normalidad Kolmogorov-Smirnov, el test de Levene para comprobar la homocedasticidad de los datos, así como la transformación a logaritmo cuando fue necesario. Para definir las diferencias entre tratamientos en cada momento de muestreo, los datos se analizaron mediante un procedimiento ANOVA factorial doble, seguido del test de separación de medias Duncan, a dos niveles de confianza ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.10$). El programa estadístico utilizado ha sido el SPSS 23.0.

3. Resultados

En cuanto a los **Componentes del rendimiento**, ni el número de pámpanos por cepa ni de racimos por pámpano mostraron diferencias entre los sistemas estudiados, por lo que la homogeneidad en cuanto al material vegetal estuvo garantizada. No obstante, se observó menor rendimiento para la cubierta espontánea respecto al laboreo, que está asociado al menor tamaño de la baya y al menor peso del racimo observado (Figura 1). El menor peso de racimo se debe atribuir a que los racimos del tratamiento con cubierta, y en menor medida los del manejo mixto, presentaron racimos más sueltos que en el laboreo. Este efecto de la cubierta ha sido descrito por otros autores (Royo *et al.*; 2005), y podría estar motivado por desequilibrios o carencias en aquellos nutrientes involucrados en la floración y cuajado de fruto, como el B, Zn o P.

El papel competidor de la cubierta y su efecto sobre el rendimiento debe valorarse en su contexto. En este ensayo, los rendimientos para el laboreo tradicional, manejo mixto y cubierta espontánea fueron de 11.332, 9.922 y de 8.685 kg/ha, respectivamente, lo que indicaría que el laboreo estaría por encima de la producción máxima permitida en la DOCa. Rioja, 9.000 kg/ha en variedades blancas, mientras que la cubierta vegetal mantendría una producción cercana a la autorizada. En un escenario vitícola orientado al control del rendimiento y la viticultura de calidad, contar con una herramienta que compita con el viñedo puede ayudar a controlar los excesos de producción y de vigor (Ibáñez, 2015), incluso en condiciones semiáridas.

En cuanto a las **Exportaciones de nutrientes**, el laboreo generó mayor peso de hojas, de pámpanos y nietos, de racimos y de esferguras que el tratamiento con cubierta espontánea, lo que supuso mayor cantidad de biomasa renovable en el laboreo frente a la cubierta, quedando el manejo mixto en una situación intermedia, sin mostrar diferencias. Diversos autores han observado la reducción de superficie foliar y de vigor de las cepas bajo cubiertas (Tesci *et al.*, 2007). Se debe comentar la mayor presencia de esferguras en el laboreo, que se pueden considerar exportaciones indeseadas. Estas diferencias en la biomasa generada se traducen en unas exportaciones netas, de la práctica totalidad de nutrientes, superiores en el laboreo frente a la

cubierta espontánea y el manejo mixto (Figura 3). Por tanto, el laboreo tradicional ha acumulado mayores cantidades de N, P, Ca, Fe, Mn y B que los manejos mixto y con cubierta espontánea, lo que indicaría que el laboreo presentó mayor disponibilidad de estos nutrientes en el suelo, mientras que el manejo mixto y la cubierta generaron una competencia por los nutrientes que reduciría su disponibilidad, afectando no sólo a las cantidades exportadas (Figura 3), sino también a la producción de biomasa en el tratamiento con cubierta vegetal (Figura 2).

De igual forma, el laboreo exportó mayor cantidad de K que la cubierta, aunque no frente al manejo mixto, similar a lo observado para la biomasa generada, lo que sería debido probablemente a que la absorción de K se produjese proporcional al desarrollo vegetativo. Esto supondría que el K no fue un elemento limitante. Respecto al Mg, Zn y Cu, no se observaron diferencias en las exportaciones a pesar de las diferencias en la biomasa generada, por lo que se entiende que la disponibilidad de estos nutrientes fue suficiente y estuvo garantizada en los tres manejos estudiados, siendo absorbidos en similar cantidad por la cepa (Figuras 2 y 3).

En cuanto a la **Evolución nutricional en limbo y pecíolo**, la concentración de los nutrientes a lo largo del ciclo de cultivo mostró resultados similares en limbo y pecíolo, con la excepción de P y K, que mostraron un resultado más claro en el pecíolo. Debido a ello, las Figuras 4 y 5 muestran la evolución en limbo, a excepción de estos dos elementos. Los nutrientes mantuvieron en general una evolución típica de sus concentraciones a medida que avanza la campaña, con descenso de la concentración en N, P y K, e incremento de la del Ca y el Mg, más acusado al inicio del ciclo para estabilizarse según se acerca el envero y la maduración (Figuras 4 y 5). El Cu únicamente se puede estudiar en los primeros muestreos, debido a la aplicación de productos fitosanitarios.

La comparación entre técnicas de mantenimiento del suelo ofreció distintas pautas de comportamiento. Una de ellas muestra que la concentración del nutriente en el laboreo presentaba concentraciones superiores a las observadas en el manejo con cubierta espontánea durante la práctica totalidad del ciclo de cultivo. En este grupo se encontrarían el P, Ca, Fe y B. El manejo mixto mantuvo un comportamiento similar al de la cubierta, aunque con diferencias no siempre tan claras respecto al laboreo (Figuras 4 y 5). Este comportamiento reflejaría la fuerte competencia que ha ejercido la cubierta por estos nutrientes, reduciendo su disponibilidad y afectando a la nutrición del viñedo. Las necesidades de la cubierta vegetal espontánea fueron lo suficientemente elevadas como para que la mayor concentración de nutrientes en los tejidos del laboreo se mantuviesen a pesar de los mayores requerimientos para mantener su mayor producción de biomasa (Figura 2). Resultados similares han sido observados por otros autores para el P (Linares, 2009), aunque dependía también del tipo de cubierta empleada; para el Ca (Ibáñez, 2015); el Fe (Tescic *et al.*, 2007) y el B (Ibáñez, 2015).

De forma parecida se comportaría el N, aunque sólo en los primeros muestreos, lo que coincide con la época de mayor requerimiento y mostraría la competencia por el N que ejercería la cubierta al inicio del ciclo (Figura 4), y descrito por numerosos autores para distintos momentos (Tescic *et al.*, 2007; Pérez-Álvarez *et al.*, 2015). A medida que avanzaba la campaña, la cubierta, y en menor medida el manejo mixto, presentaban mayor concentración de N en hoja respecto al laboreo (Figura 4). Esto puede deberse a dos circunstancias: al aumento de la disponibilidad de N debido a una mayor mineralización en la cubierta, aumentando la disponibilidad a medida que avanza el ciclo; o deberse a un efecto de dilución en el laboreo al no poder mantener la disponibilidad de N para sustentar la mayor producción de biomasa (Figura 2). La menor exportación de N en la cubierta (Figura 3) descartaría un aumento importante de la disponibilidad de N, pero su menor desarrollo vegetativo permitiría un efecto de concentración en sus tejidos

(Figuras 2 y 4). El laboreo, por su parte, ha dispuesto del N suficiente para aumentar su biomasa y mantener una mayor producción, aunque sin poder acumular tanto N como la cubierta en sus hojas (Figuras 1, 2 y 4). El Mn mostró un comportamiento similar al N, sin mostrar diferencias tan claras (Figura 4), coincidiendo con la bibliografía, que asocia en ocasiones un mayor contenido en Mn a las cubiertas (Tescic *et al.*, 2007; Linares, 2009).

Por su parte, la mayor concentración de K, Mg y Zn en el tratamiento de cubierta durante la práctica totalidad del ciclo indicaría un efecto de dilución en el laboreo como consecuencia del mayor desarrollo vegetativo (Figura 2, 4 y 5). Este comportamiento sugiere cierta dificultad para mantener la disponibilidad de K, Mg y Zn por en el suelo bajo laboreo que, sin embargo, ha sido suficiente para mantener la mayor producción de biomasa y uva. El efecto de dilución se observa más claramente en el Mg y en el Zn, dado que la mayor biomasa generada no se ha visto acompañada por una mayor exportación a órganos renovables (Figuras 2 y 3). Estos resultados también han sido observados por otros autores para el K (Linares, 2009; Ibáñez, 2015); para el Mg (Ibáñez, 2015); y el Zn (Tescic *et al.*, 2007; Linares, 2009; Ibáñez, 2015). Por tanto, se puede considerar que el viñedo bajo cubierta espontánea está asimilando cantidades de N, K, Mg y Zn superiores a las que está destinando a generar biomasa y producción y, por tanto, estos elementos no actuarían como los más limitantes en las condiciones de cultivo estudiadas.

Respecto a la **Calidad de la uva** en la vendimia, las modalidades de manejo del suelo no afectaron ni al grado alcohólico probable, al pH, a la acidez total ni al contenido en ácido málico. Sin embargo, se observó mayor concentración de ácido tartárico y K en los manejos con laboreo y mixto respecto a la cubierta (Tabla 1). En este sentido, el menor contenido en ácidos orgánicos es atribuido por Royo *et al.* (2005) a que la menor disponibilidad hídrica bajo cubierta reduciría la síntesis de ácidos orgánicos. Asimismo, esa menor disponibilidad hídrica podría reducir también la absorción de K, aunque la mayor concentración de K en hoja sugiere que podría haberse transferido al racimo en menor medida en el manejo con cubierta (Figura 4).

Respecto a la carga polifenólica de la uva, se observó un mayor IPT para la cubierta, lo que se relacionaría con una mayor concentración de polifenoles respecto a los otros dos manejos (Tabla 1). Algunos autores atribuyen esta mayor carga polifenólica en viñedos con cubierta al mayor estrés hídrico (Royo *et al.*, 2005), a la mayor exposición de los racimos (Spayd *et al.*, 2002), que favorecerían la síntesis de compuestos fenólicos y degradación de ácidos orgánicos, o a la mayor relación hollejo/pulpa por el menor tamaño de baya (Ibáñez *et al.*, 2009).

4. Conclusiones

En las condiciones del ensayo, de semiaridez y seco, la cubierta espontánea redujo la biomasa renovable ya desde el segundo año de implantación, reduciéndose las exportaciones de nutrientes y la producción, con racimos y bayas más pequeños, incluso en el manejo mixto.

El N al inicio del ciclo, y el P, Ca, Fe y el B durante todo el ciclo, serían los nutrientes más limitantes en el cultivo bajo cubierta espontánea o con manejo mixto, al afectar tanto a las exportaciones como a los niveles en hoja. Por otro lado, y aunque no han llegado a limitar el desarrollo ni la producción del viñedo bajo laboreo tradicional, N, K, Mg y Zn podrían llegar a ser limitantes si aumentan los requerimientos, ya sea por mayor desarrollo o por mayor producción.

Asimismo, la utilización de cubierta vegetal espontánea aumentó la carga polifenólica de la uva, debido a la reducción del tamaño de la baya y, quizás, a la reducción de biomasa y al mayor estrés hídrico que ejercería la cubierta sobre la cepa.

5. Bibliografía

1. IBAÑEZ, S.; PEREGRINA, F.; MARTÍN, I.; GARCÍA-ESCUADERO, E. 2009. **Respuesta de *Vitis vinifera* L, cv. Tempranillo, a sistemas de mantenimiento del suelo a través de cubierta vegetal en el ámbito de la D.O.Ca. Rioja.** Actas de Horticultura 54: 395-396.
2. IBAÑEZ, S. 2015. **Mantenimiento del suelo en viñedo mediante cubiertas vegetales.** Gobierno de La Rioja (Ed.). ISBN: 978-8481256789.
3. LINARES, R. 2009. **Estudio del empleo de cubiertas vegetales temporales para la regulación del régimen hídrico, crecimiento y manejo sostenible del viñedo.** Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
4. MORLAT, R.; JACQUET, A. 2003. **Grapevine root system and soil characteristics in a vineyard maintained long-term with or without interrow sward.** Am. J. Enol. Vitic. 54: 1-7.
5. PEREGRINA, F.; LARRIETA, C.; IBAÑEZ, S.; GARCÍA-ESCUADERO, E. 2010. **Labile organic matter, aggregates, and stratification ratios in a semiarid vineyard with cover crops.** Soil Sci. Soc. Am. J. 74: 2120-2130.
6. PÉREZ-ÁLVAREZ, E.P.; GARDE-CERDÁN, T.; SANTAMARÍA, P.; GARCÍA-ESCUADERO, E.; PEREGRINA, F. 2015. **Influence of two different cover crops on soil N availability, N nutritional status, and grape yeast-assimilable N (YAN) in a cv. Tempranillo vineyard.** Plant Soil 390: 143-156.
7. ROYO, J.B.; MIRANDA, C.; ZABALEGUI, S.; SANTESTEBAN, L.G. 2005. **Interés del uso de cubiertas vegetales como herramientas para el manejo del estrés hídrico en vid.** IV Congreso Ibérico-americano de Ciencias Hortícolas, Oporto (Portugal)
8. SPAYD, S.E.; TARARA, J.M.; MEE, D.K.; FERGUNSON, 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.
9. TESIC, D.; KELLER, M.; HUTTON, R.J. 2007. **Influence of vineyard floor management practices on grapevine vegetative growth, yield, and fruit composition.** Am. J. Enol. Vitic. 58: 1-11.

6. Agradecimientos

Trabajo financiado por la Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la C.A. de La Rioja (R-01-13, R-01-14). Agradecimientos a M. Carmen Arroyo, al personal del Laboratorio Regional de La Grajera, y a la Sección de Viticultura y Enología del SIV-ICVV.

Análisis comparativo de la respuesta fisiológica de diez variedades de vid frente a estrés hídrico severo

E. Cretazzo^{1*}, G. Moreno Ortega¹, L. Velasco¹, E. Martínez Ferri¹

¹Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), centro de Churriana. Cortijo de la Cruz s/n, 29140, Málaga. Tel. 671532821. *enrico.cretazzo@juntadeandalucia.es

Resumen

La escasez de agua en la agricultura mediterránea se está agudizando por efecto del cambio climático. Por ello, además de optimizar el riego, es fundamental identificar variedades que se adapten mejor a situaciones de baja disponibilidad hídrica. En este trabajo se compararon 10 variedades de vid incluyendo algunas de difusión internacional (Merlot, Garnacha, Shiraz, Malvasía, Moscatel de Alejandría) y otras de uso local en Andalucía (Palomino fino, Rome, Doradilla, Tinto Velasco, Pedro Ximénez). Se cultivaron 10 réplicas clonales por variedad a pie franco en macetas de 17L. Las vides se evaluaron en tres condiciones: a) capacidad de campo; b) desecación al 15% de CC; c) rehidratación tras desecación. Se midió la tasa de asimilación fotosintética (A_n), conductancia estomática (g_s), potencial hídrico al amanecer y al mediodía (Ψ_{pd} y Ψ_{md}) y conductividad hidráulica (Kh). Se encontraron diferencias tanto en la eficiencia en el uso del agua intrínseca (A_n/g_s) como en Ψ , distinguiéndose variedades más o menos “conservadoras” frente al consumo de agua. Tras cinco días post-estrés, A_n , g_s y Ψ no recuperaron sus valores iniciales. Es decir, el efecto del estrés hídrico severo ($\Psi_{pd} < -1.3\text{MPa}$) sobre la fisiología no permite una recuperación inmediata tras el restablecimiento de la disponibilidad hídrica.

1. Introducción

La vid (*Vitis vinifera* L.) posee un potencial único en el mundo vegetal para sobrevivir y producir en condiciones de déficit hídrico estacional, como en la cuenca de Mediterráneo, gracias a la capacidad de exploración radical, el eficiente control estomático de la transpiración y su eficaz ajuste osmótico (Chaves y col. 2010). Sin embargo, la viticultura a nivel mundial actualmente se está viendo afectada por los episodios de sequía cada vez más intensos y recurrentes. La creciente escasez de agua y elevadas temperaturas debidas al incremento de la población a nivel mundial y al proceso del cambio climático, en su conjunto pueden llegar a comprometer el futuro del cultivo. Así, las previsiones sobre la evolución de las zonas de cultivo de la vid prevén el desplazamiento de la franja apta para su cultivo hacia el norte y sur en los hemisferios norte y sur, respectivamente (Jones 2007). Esto conllevaría, que en el 2050 algunas zonas del Mediterráneo meridional, incluyendo gran parte de Andalucía, quedarían fuera de dicha franja (**Fig. 1**). Asimismo, las estimaciones para cultivo de la vid basadas en los modelos climáticos reconocidos por el IPCC, apuntan hacia una pérdida de hasta el 66% de la superficie de cultivo en España en 2080 (Tóth y Végvári 2016), si bien otros estudios son menos pesimistas (Van Leeuwen y col. 2013).

Con el fin de identificar aquellas variedades que potencialmente podrían adaptarse mejor a escenarios de sequía más pronunciada, se han realizado multitud de estudios comparativos de la respuesta fisiológica de distintas variedades ante situaciones de estrés hídrico más o menos severo (Escalona y col 1999, Bota y col. 2001, 2016, Tomás y col. 2012, 2014, Gómez del Campo y col. 2004, Islam y Berrios 2012, Costa y col. 2012, entre otros).

Northern Hemisphere 2049 Growing Season Average Temperatures (°C, Apr-Oct)

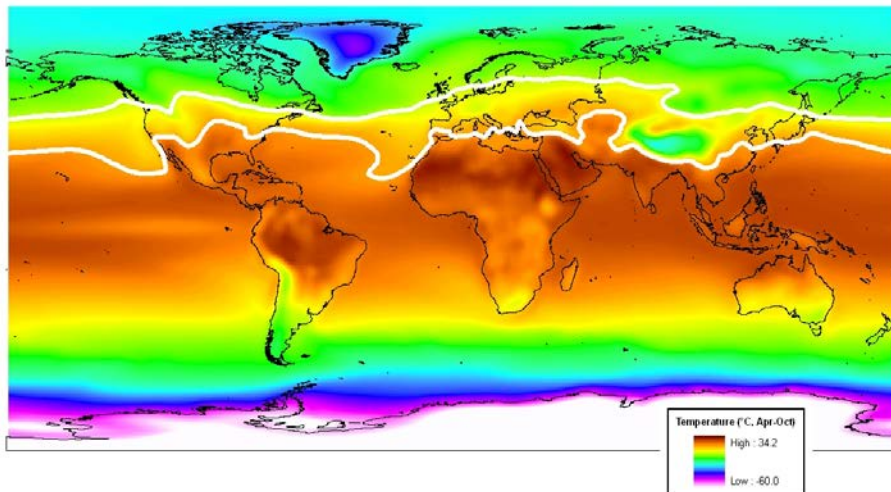


Fig. 1. Regiones geográficas del hemisferio norte (delimitadas por las líneas blancas) donde el clima permitirá una correcta viticultura en 2049. Tomada de Jones 2017.

Los distintos estudios han puesto de manifiesto la existencia de una amplia variabilidad genética en la eficiencia en el uso del agua (EUA) y en la capacidad para tolerar el déficit hídrico entre variedades, pero no están del todo claros los mecanismos fisiológicos ni los genes implicados en la misma. No obstante, pocos estudios han incluido variedades típicamente andaluzas, probablemente mejor preparadas para soportar la sequía, y cuyas características podrían representar una ventaja adaptativa frente a escenarios de estrés hídrico más severo. En este sentido, el presente trabajo se ha planteado el estudio del comportamiento fisiológico de cepas de 10 variedades, 5 de ellas de uso principalmente local en Andalucía y otras 5 de amplia difusión, ante la imposición gradual durante dos semanas de un estrés hídrico severo, así como la evaluación de su capacidad de recuperación tras la reposición del riego. Esta información en conjunto con el posterior análisis de la expresión génica, arrojará luz sobre aspectos de capital importancia para la selección de genotipos, tanto para su uso directo como en programas mejora, de cara a lograr una viticultura más sostenible, más eficiente en el uso del agua y por tanto, adecuada a las condiciones futuras.

2. Material y Métodos

Diseño experimental. El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del centro IFAPA de Churriana (Málaga) en septiembre de 2016. Se compararon diez variedades de vid (*Vitis vinifera* L.): Merlot, Garnacha, Shiraz, Malvasía y Moscatel de Alejandría (de amplia difusión) y Palomino Fino, Rome, Doradilla, Tinto Velasco y Pedro Ximénez (variedades locales de Andalucía). Se utilizaron diez plantas clonales de pie franco por variedad, crecidas en macetas de 17 L en una mezcla de turba y perlita. Se establecieron tres puntos de muestreo: punto 1, al inicio del experimento, con todas las plantas en buen estado de hidratación y con el sustrato a capacidad de campo (CC), punto 2, tras 16 días, una vez el sustrato alcanzó un 15% de la CC y punto 3, tras restablecer la CC durante 5 días con el objetivo de evaluar la recuperación de la planta. Para cada variedad, siete plantas fueron sometidas a un estrés hídrico gradual hasta alcanzar el 15% de la CC (grupo estrés, Water Stress, WS) mientras que las otras tres plantas se mantuvieron al 100% de la CC (grupo control, Well Watered, WW). En el punto 2, las tres plantas WW y otras tres WS fueron utilizadas para determinar biomasa, mientras que las otras cuatro WS se volvieron a llevar

al 100% de la CC hasta el punto 3. En cada uno de los puntos se realizaron una serie de medidas fisiológicas y muestreos de hojas para el análisis genómico.

Control de la humedad del sustrato. La humedad volumétrica del sustrato fue medida mediante un sensor de humedad (HH2 Moisture meter, Delta-T Devices). Previamente al inicio del experimento se estableció la relación entre humedad volumétrica registrada por el sensor y contenido en agua del sustrato de modo que la medida diaria de la humedad para cada planta nos permitió calcular el agua consumida y, en caso de ser necesario, reponer ese volumen de agua. Esto permitió que todas las plantas alcanzaran el mismo nivel de humedad volumétrica a la hora de realizar el punto 2, estableciendo un descenso escalonado y controlado desde el 100% hasta el 15% de la CC. La superficie del sustrato se cubrió con mantas de riego para evitar la evaporación.

Parámetros fisiológicos. Se realizaron medidas del potencial hídrico de la hoja antes del amanecer (5:00 a 6:00 a.m.) y al mediodía (12:00 a 13:00) usando una bomba de Schölander. Junto con la medida de potencial hídrico las plantas se pesaron para determinar el volumen de agua transpirado en ese intervalo de tiempo y utilizar el dato, junto con la diferencia de potencial hídrico, para calcular la conductividad hidráulica de cada planta gracias a la ley de Ohm's (Loviolo y col. 2002): $E = K_h \times (\Psi_{MD} - \Psi_{Soil})$. Para el cálculo del índice de área foliar (LMA) y el contenido hídrico relativo (RWC) se muestrearon círculos de 2 cm² que se pesaron en fresco, en saturación (tras 24 horas inmersos en agua destilada en oscuridad a 4°C) y secos (tras secado en estufa 24 horas a 60°C). El intercambio gaseoso fue realizada por medio de un LI-COR modelo LI-6400. Se calcularon los parámetros tasa de asimilación neta de CO₂ (A), conductancia estomática (gs), concentración intercelular de CO₂ (Ci) y transpiración (T) estimados a partir de la ecuación de Von Caemmerer y Farquhar (1981).

Determinación de la biomasa. Tras completar las medidas del punto 2, tres plantas WS y las tres WW fueron cosechadas, separando raíces, tallos y hojas y pesando cada parte en fresco. Tras ser pesadas las muestras se almacenaron en estufa a 80°C y se secaron hasta que alcanzaron un peso constante (peso seco).

3. Resultados y Discusión

Potencial hídrico. Las diferencias entre los puntos 1 y 2 (**Fig. 2**) resultaron más evidentes en la relación entre el potencial hídrico al amanecer (Ψ_{pd}) con respecto al potencial de mediodía (Ψ_{md}). Esto es debido a que en el amanecer el potencial depende prácticamente del estado hídrico de la planta en equilibrio con el del suelo, mientras que al mediodía sobre el potencial hídrico de hoja influyen también factores ambientales. En algunas variedades, el Ψ_{md} en condiciones de estrés alcanzó valores cercanos a -1.9 MPa (**Fig. 2B**). Tras la reposición de riego, todas las plantas recuperaron sus Ψ_{pd} , y a mediodía incluso alcanzaron niveles de hidratación superiores al control (es decir, mayor Ψ_{md} en el punto 3; **Fig. 2B**), probablemente como consecuencia de una menor demanda evaporativa durante el período de recuperación. Las diferencias intervarietales observadas, sin embargo, no se pueden asociar al hecho de que se trate de variedades de amplia difusión o locales andaluzas.

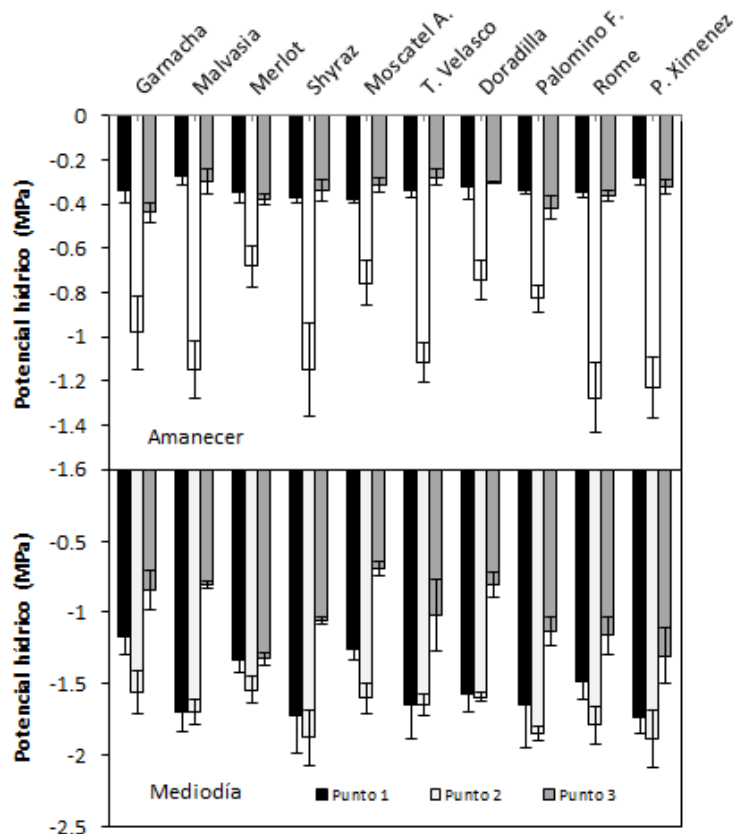


Fig. 2. Potencial hídrico de la hoja al amanecer (A) y a mediodía (B) en los tres puntos de muestreo. Las barras representan el error estándar.

Intercambio gaseoso y eficiencia en el uso del agua (EUA). Las medidas de intercambio gaseoso al comienzo del experimento, mostraron cierta uniformidad entre variedades, excepto para Shyras y Doradilla que tuvieron valores algo superiores (Fig. 3). El tratamiento de estrés hídrico severo (punto 2) provocó una supresión prácticamente total de la fotosíntesis (excepto en Doradilla y Merlot donde aún se apreció muy ligeramente) asociada a un cierre estomático casi completo. En 7 variedades, esto se tradujo en una mayor eficiencia en el uso del agua intrínseca (A/g_s), mientras que en las otras 3 la eficiencia disminuyó con respecto al punto 1. En otros estudios se ha demostrado que hay variedades de vid que con valores de g_s menores de 0,1 manifiestan disminuciones en A/g_s porque las limitaciones no estomáticas, es decir las bioquímicas, empiezan a tener más peso (Bota y col. 2004). Por otra parte, otras variedades siguen aumentando su A/g_s al disminuir g_s por debajo de 0,1 (predominancia de las limitaciones estomáticas). En nuestro experimento no consideramos preciso especular una diferenciación de las variedades en base a su comportamiento frente a $g_s < 0.1$ porque no tenemos datos intermedios entre este valor y el nivel próximo a 0 alcanzado en el punto 2. En el punto 3 todas las variedades restablecen alrededor de un 80% de su capacidad fotosintética acompañada de una recuperación en g_s ligeramente inferior. Por tanto la EUA intrínseca en el punto 3 es entre un 20 y un 50% más alta que en condiciones WW. Pese a que hubo diferencias entre variedades, no hay un patrón claro que nos permita distinguir las de amplia difusión de las consideradas de uso local en Andalucía.

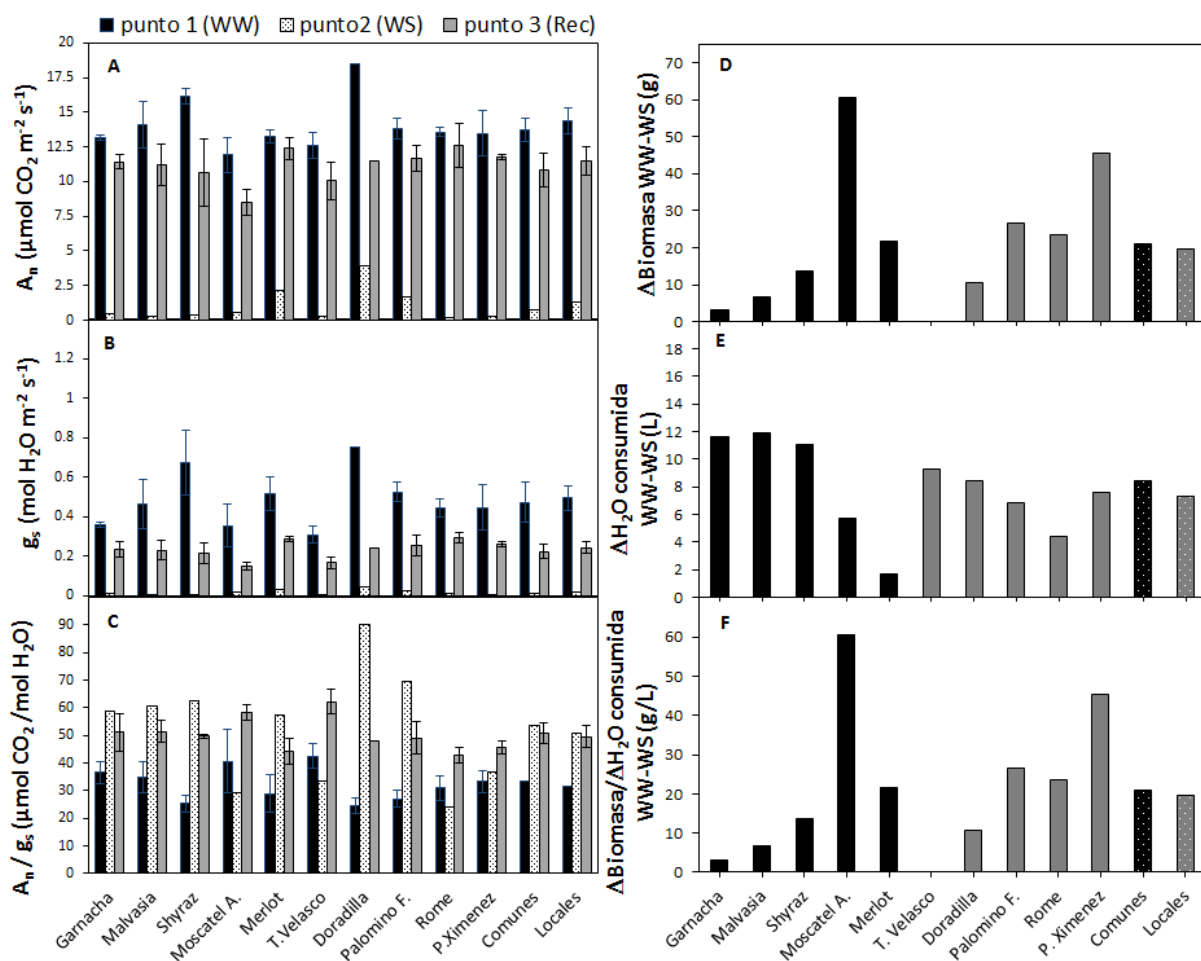


Fig. 3. Comparación de variedades con respecto: Asimilación neta de carbono (A), Conductancia estomática (B) y Eficiencia en el uso del agua intrínseca (C), Diferencia de biomasa total entre plantas WW y WS (D), Diferencias de agua consumida entre plantas WW y WS (E), Ratio entre diferencia de biomasa total y diferencias de agua consumida (F). Las barras indican el error estándar (para el punto 2 se han omitido).

Las variedades que presentan A/g_s más altos en el punto 1 y en el punto 3 son la Tinto Velasco (andaluza) y la Moscatel de Alejandría (de amplia difusión, pero muy importante en Andalucía, especialmente en la provincia de Málaga). Para tener una indicación de la eficiencia a nivel de planta entera, para cada variedad se ha considerado la diferencia entre el promedio del peso seco de las plantas WW y el de las plantas WS (Fig. 3D). Se puede asumir que una variedad es tanto más eficiente, cuanto menor sea la pérdida en biomasa de las plantas sometidas a estrés frente a las plantas control. En este sentido la Tinto Velasco parece ser otra vez la más eficiente puesto que no hay diferencia entre WW y WS. Sin embargo, siguiendo este criterio, la Moscatel de Alejandría sería la menos eficiente, lo que confirma que no siempre A/g_s y EUA a nivel de planta entera siguen la misma tendencia en una variedad (Tomás y col. 2012). Los promedios de peso seco total (datos no mostrados) oscilaron entre los 45 g para Moscatel A.-WS y los 111 g para 'Palomino Fino-WW. Por otra parte, se puede asumir que una variedad es tanto más eficiente, cuanto más ahorran en agua consumida en condición de estrés hídrico con respecto a cuándo están bien hidratadas, es decir cuanto mayor es la diferencia en agua consumida entre WW y WS (Fig. 3E). En relación a este parámetro, la Tinto Velasco sería la menos eficiente ya que las plantas WS consumen casi lo mismo que las WW. Sin embargo, para una estima más precisa podría

considerarse el ratio entre la pérdida de biomasa y el agua ahorrada comparando plantas WW versus WS (Fig. 3F) y asumir que valores más bajos están relacionados con eficiencias más altas. La Fig. 4 que muestra cómo ha ido evolucionando la humedad del sustrato en las macetas a lo largo del experimento y nos indica también el promedio del consumo hídrico de todas las plantas WW frente a las WS, puesto que el patrón ha sido muy semejante en todas las variedades.

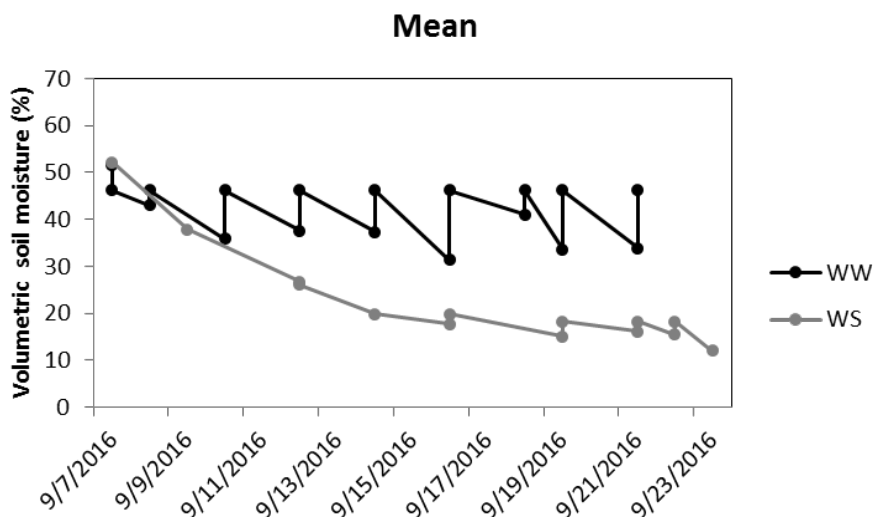


Fig.4. Evolución de la humedad del sustrato (promedios conjunto de todas las variedades)

Conductividad hidráulica. Se observaron diferencias entre variedades en el parámetro K_h tanto en las plantas WW como en la WS (Fig. 5). Tampoco para este parámetro ha sido posible discriminar entre variedades andaluzas y de amplia difusión. La variedad Tinto Velasco presenta los valores más bajos acorde a su g_s que es la más baja manifestada dentro del conjunto de variedades, sin embargo, la relación directa entre g_s y K_h (Martorell 2014) no sigue un patrón bien definido para este grupo de variedades.

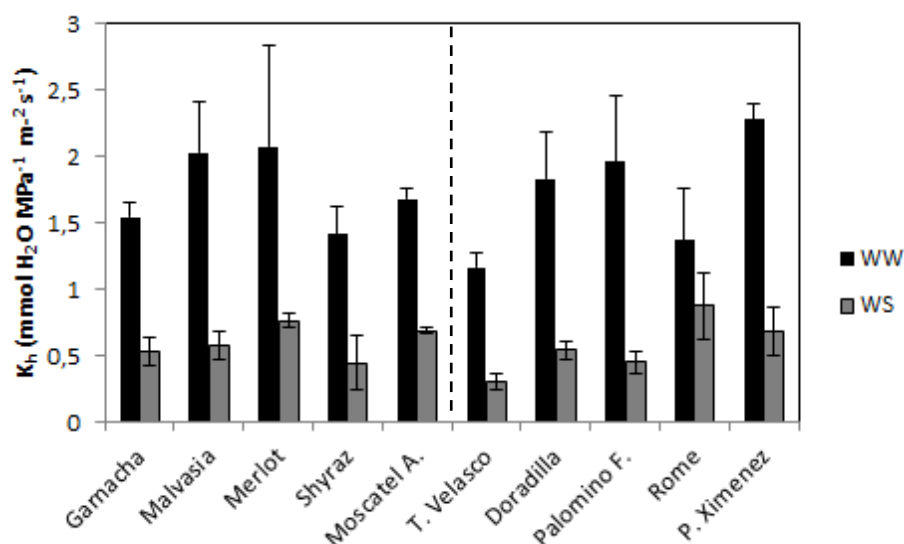


Fig. 5: Conductividad hidráulica (K_h). Las barras representan el error estándar.

Partición de Biomasa: La relación entre los pesos secos de la raíz y la parte aérea de la planta resultó afectada de forma significativa debido al tratamiento de estrés hídrico, mostrando un incremento en la mayoría de las variedades (Fig. 6). Hubo diferencias entre variedades pero, de nuevo, no hubo asociación con la zona geográfica del cultivo.

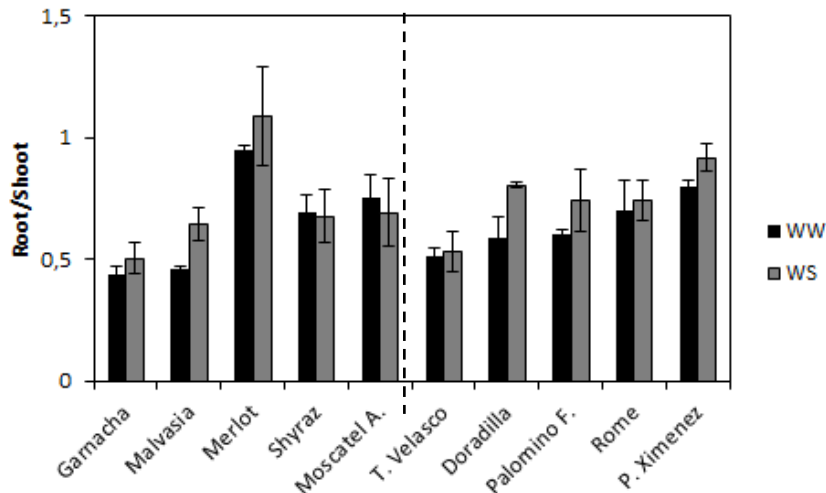


Fig. 6: Ratio entre peso seco de raíz y parte aérea (Root/Shoot). Las barras representan el error estándar.

4. Conclusiones

Nuestros resultados ponen de manifiesto que pese a la severidad del estrés hídrico impuesto, tal como indican los valores de potencial hídrico, todas las variedades mostraron una recuperación total de su potencial hídrico y alrededor de un 80% de sus tasas fotosintéticas, mientras que el porcentaje de recuperación de la conductancia estomática fue ligeramente inferior, lo que representó un incremento de A/g_s . No obstante, el hecho de que en cinco días tras la reposición de la humedad del suelo no se alcance la completa recuperación parece indicar que el efecto del estrés impuesto no sólo ha conllevado un cierre estomático sino que ha provocado algún tipo de daño que limita la recuperación. Asimismo, a pesar de que existe cierta variabilidad en el comportamiento fisiológico, los resultados no permiten diferenciar entre variedades según su ámbitos geográficos de cultivo, por lo que sería muy interesante el conocimiento de las relaciones filogenéticas entre ellas de cara a la selección de características fenotípicas (caracteres fisiológicos) que puedan estar asociadas a niveles de expresión génica/presencia de marcadores genómicos.

5. Bibliografía

1. BOTA, J.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H. 2001. Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Ann Appl Biol* 138, 353–365.
2. BOTA, J. 2004. Regulación de la fotosíntesis en respuesta al estrés hídrico, limitaciones metabólicas y de difusión del CO_2 . Tesis Doctoral. Universidad de las Islas Baleares.
3. BOTA, J.; TOMÁS, M.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H.; & ESCALONA, J. M. 2016. Differences among grapevine cultivars in their stomatal behavior and water use efficiency under progressive water stress. *Agric Water Manage* 164, 91-99.
4. COSTA, J.M.; ORTUÑO, M.F.; LOPES, C.M.; CHAVES, M.M. 2012. Grapevine varieties exhibiting differences in stomatal response to water deficit. *Funct Plant Biol* 39, 179-189.
5. CHAVEZ, M.M.; ZARROUK, O.; FRANCISCO, R.; COSTA, J.M.; SANTOS, T.; REGALADO, A.P.; RODRIGUES, M.L.; LOPES, C.M. 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Ann Bot* 105, 661-676

6. ESCALONA, J.M.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H. 1999 **Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines**. Aust J Plant Physiol 26, 421-433
7. GÓMEZ-DEL-CAMPO, M.; BAEZA, P.; RUIZ, C.; LISSARRAGUE, J.R. 2004. **Water-stress induced physiological changes in leaves of four container-grown grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.)**. Vitis, 43, 99-105
8. ISLAM, M.T.; BERRIOS, J.G. 2012. **Physiological behaviour and recovery responses of four Galician grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars under water stress**. J Stress Physiol Biochem 8(4), 302-321
9. JONES, G.V. 2007. **Climate change and the global wine industry**. Proceedings of the Thirteenth Australian Wine Industry Technical Conference, Adelaide, Australia.
10. LOVISOLO, C.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, A. 2002. **Whole-plant hydraulic conductance and root-to-shoot flow of abscisic acid are independently affected by water stress in grapevines**. Funct Plant Biol 29, 1349-1356
11. MARTORELL, S. 2014. **Understanding the regulation of leaf and plant gas exchange under water stress with a process-based model of stomatal conductance**. Tesis Doctoral
12. TOMÁS, M.; MEDRANO, H.; BRUGNOLI, E.; ESCALONA, J.M.; MARTORELL, S.; POU, A.; RIBAS-CARBO, M.; FLEXAS, J. 2014. **Variability of mesophyll conductance in grapevine cultivars under water stress conditions in relation to leaf anatomy and water use efficiency**. Aus J Grape Wine Res 20, 272-280
13. TOMÁS, M.; MEDRANO, H.; POU, A.; ESCALONA, J.M.; MARTORELL, S.; RIBAS-CARBÓ M.; FLEXAS, J. 2012. **Water-use efficiency in grapevine cultivars grown under controlled conditions: effects of water stress at the leaf and whole-plant level**. Aus J Grape Wine Res 18, 164-172
14. TÓTH, J.P.; VÉGVÁRI, Z. 2016. **Future of winegrape growing regions in Europe**. Aust J Grape Wine Res 22, 64-72
15. VAN LEEUWEN, C.; VAN SCHULTZ, H.R.; CORTAZAR-ATAURI, I.G.; DE DUCHÊNE, E.; OLLAT, N.; PIERI, P.; BOIS, B.; GOUTOULY, J.-P.; QUÉNOL, H.; TOUZARD, J.-M.; MALHEIRO, A.C.; BAVARESCO, L.; DELROT, S. 2013 **Why climate change will not dramatically decrease viticultural suitability in main wine-producing areas by 2050**. Proc Natl Acad Sci U S A 110, E3051–E3052.
16. VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G.D. 1981. **Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves**. Planta 153, 376–387.

6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado gracias al proyecto RTA2013-00068-C03-01 que cuenta con financiación INIA y un 80% de financiación FEDER “programa operativo de economía basada en el conocimiento”. La contratación de G. Moreno Ortega se financia con las ayudas para la Promoción de Empleo Joven e Implantación de la Garantía Juvenil en I+D+i del MINECO, convocatoria 2014.

Respuesta agronómica y cualitativa bienal de la variedad Verdejo a la fase de aplicación de riego en la D.O. Rueda

Jesús Yuste, Alejandro Vicente, Daniel Martínez

*Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos km 119, 47071 Valladolid
Tfno.: +34 983317460, Email: yusbomje@itacyl.es*

Resumen

La aplicación de riego en condiciones de clima árido o semiárido permite eliminar las evidentes situaciones de estrés hídrico existentes en muchas zonas de España y generalmente tiende a aumentar el rendimiento en uva. Sin embargo, las consecuencias del riego pueden variar en función de las condiciones medioambientales y de la propia variedad cultivada. En este sentido, la gestión del riego en variedades blancas ha sido mucho menos estudiada que en variedades tintas, por lo que existe una evidente necesidad de llevar a cabo trabajos que faciliten el objetivo de regularizar la producción y mejorar la calidad de la uva blanca a través de distintas estrategias de régimen hídrico en cada zona vitivinícola, que incluyan la alternativa de aplicación de riego en distintas fases del período estival.

Durante el periodo 2015-2016 se ha estudiado la aplicación moderada de riego, en distintas fases del período estival, a través de los siguientes tratamientos experimentales: secano (R0), riego de 30% ETo (R1) desde inicio de enero y riego de 30% ETo (R2) desde parada de crecimiento vegetativo de pámpanos principales, en ambos casos hasta vendimia. El ensayo se ha llevado a cabo con cepas de cv. Verdejo sobre portainjerto 110R, plantadas en 2006 y conducidas en espaldera en cordón Royat bilateral, con un marco de plantación de 2,60 m x 1,25 m (3077 plantas/ha). El estudio se ha llevado a cabo en un viñedo situado en la D.O. Rueda, en la provincia de Valladolid, tratando de evaluar la respuesta agronómica y cualitativa bienal a la aplicación de riego en distintas fases del verano.

Los resultados mostraron una respuesta productiva y vegetativa clara y creciente con la cantidad de agua aplicada, con un aumento medio bienal entre tratamientos en torno al 25% en rendimiento y en torno al 20% en peso de madera de poda y peso de sarmiento, estando dichos parámetros vegetativos dentro de umbrales bastante moderados. El incremento de producción de uva fue debido fundamentalmente al peso del racimo, el cual aumentó debido mayormente al peso de baya. En cuanto a la calidad de la uva, el régimen hídrico de secano provocó un aumento en los niveles de azúcares, pH, ácido tartárico y potasio, con intensidad variable en cada año, mientras que el incremento de la cantidad de agua aplicada apenas propició el aumento de ácido málico y una ligera reducción de la concentración de azúcares. Por otro lado, la acidez total no mostró una tendencia definida entre tratamientos.

1. Introducción

Las condiciones de clima árido o semiárido, con pluviometría anual inferior a 400 mm, escasa sobre todo en la época estival, presenta la necesidad de aplicación de riego para moderar el estrés hídrico que sufre el viñedo (Jones *et al.* 2005, Yuste *et al.* 2009). Es ampliamente conocido que el crecimiento del viñedo es muy sensible al déficit hídrico (Gómez del Campo *et al.* 2002, Keller *et al.* 2008) y que dicho déficit hídrico también puede reducir la acumulación de azúcar en la baya durante la maduración (Santesteban *et al.* 2011).

El aumento de la dosis de agua aplicada mediante riego incrementa generalmente el rendimiento, pero puede tener un efecto negativo sobre la calidad de la uva, principalmente debido a las pérdidas de color, al bajo contenido en azúcar y a desequilibrios en la acidez (Cifre *et al.* 2005). Aunque en general el riego permite aumentar el rendimiento del viñedo (Yuste 1995), el riego deficitario en determinadas épocas se ha sugerido como estrategia para mejorar la calidad de la uva (McCarthy *et al.* 2000). En este sentido, el riego deficitario controlado ofrece la posibilidad de reducción del vigor, tratando de estabilizar la producción y promoviendo la calidad de la uva, a través del incremento de la eficiencia en el uso del agua (Baeza *et al.* 2007).

El riego deficitario controlado persigue el mantenimiento de las plantas bajo cierto grado de estrés hídrico en algún periodo del ciclo productivo, con el objetivo de controlar el crecimiento vegetativo y de la baya (Kriedemann y Goodwin 2004). Generalmente este periodo se plantea a partir del cuajado, época en la cual el agua disponible en el suelo empieza a escasear en muchas zonas semiáridas. Esta situación permite considerar la restricción del riego hasta dicha época como una posible estrategia de riego deficitario, para iniciar dicho riego una vez que el crecimiento del pámpano principal haya parado, con el objetivo de que el riego ayude a mantener una actividad fisiológica adecuada que facilite la síntesis de azúcar y su translocación a las bayas (Intrigliolo y Castel 2010, McCarthy *et al.* 2000).

El efecto del estrés hídrico durante el periodo herbáceo en el desarrollo de la baya, que ha sido descrito para diversas variedades y condiciones (Girona *et al.* 2009, Intrigliolo y Castel 2010, Salon *et al.* 2005), ha mostrado como resultado una menor síntesis de los ácidos málico y tartárico y una menor tasa de asimilación (Blouin y Guimberteau 2000, De Souza *et al.* 2005, Salon *et al.* 2005), así como un mayor consumo de ácido málico (De Souza *et al.* 2005, Spayd *et al.* 2002). Asimismo, se ha detectado un efecto de reducción del rendimiento en ciertas situaciones (Alburquerque *et al.* 2014), debido en muchos casos a su acción inhibitoria en la diferenciación del racimo según las condiciones (Santesteban *et al.* 2011).

Teniendo en cuenta que la variedad blanca Verdejo ha sido poco estudiada, hasta el momento, en cuanto a los efectos de diversas estrategias de riego, particularmente en lo que se refiere a la fase de aplicación del mismo durante el verano, resulta muy conveniente el estudio de regímenes hídricos con riego moderado aplicado tanto desde la fase de crecimiento herbáceo de la baya como retrasando el comienzo de dicho riego hasta el inicio del envero, con respecto al cultivo en secano. Por este motivo se ha planteado un ensayo con la variedad Verdejo en la zona más propia de cultivo de la misma, la D.O. Rueda.

2. Material y Métodos

Se ha establecido un ensayo experimental en la finca La Capitana, propiedad de Grupo Yllera, en Medina del Campo (Valladolid), dentro de la D.O. Rueda, para estudiar la fase de aplicación moderada de riego en la variedad Verdejo injertada sobre portainjerto 110R, durante el período 2015-2016. El viñedo, plantado en 2006, ha sido conducido en espaldera, con orientación de las filas NNO (N-25°), con marco de plantación de 2,60 m × 1,25 m (3.077 plantas.ha⁻¹) y poda en cordón Royat bilateral con 8 pulgares, de 2 yemas, por cepa.

El ensayo experimental abarca la aplicación moderada de riego a través de los siguientes tratamientos experimentales de régimen hídrico: secano (R0), riego de 30% ETo(R1) desde inicio de envero hasta vendimia y riego de 30% ETo (R2) desde parada de crecimiento vegetativo de pámpanos principales hasta vendimia, en ambos casos aplicado por goteo semanalmente. El diseño experimental consiste en 4 bloques al azar, con una parcela elemental de 20 cepas de

control dispuestas en 2 filas adyacentes, rodeadas a su vez por una fila de cepas a cada lado para efecto borde.

El riego se inició, respectivamente en 2015 y 2016, en el tratamiento R1 el 10 de agosto y el 16 de agosto, suministrando una cantidad total de agua por goteo de 66 mm y 73 mm respectivamente, mientras que en el tratamiento R2 comenzó el 7 de julio y el 12 de julio y se aplicaron cantidades totales de agua de 139 mm y 136 mm respectivamente. En el año 2015 la pluviometría anual recogida fue de 240 mm y la pluviometría entre el 1 de abril y el 30 de septiembre fue de 122 mm, mientras que en 2016 fue de 318 mm y 93 mm respectivamente.

Tabla 1. Temperatura media, Tm (°C); Temperatura máxima (media de máximas), Tmax (°C); Temperatura mínima (media de mínimas), Tmin (°C) y Precipitación, P (mm), del período 2015-2016 (octubre-2014 – septiembre-2016), registrados en estación meteorológica de Rueda (VA).

	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Año
Tm 2015	15,7	9,6	3,7	1,7	4,2	8,4	11,9	16,4	20,9	24,7	21,8	16,8	13,0
Tm 2016	13,1	8,0	5,8	6,3	5,8	6,3	9,4	13,7	19,7	23,5	20,8	19,1	12,6
Tmax 2015	23,2	13,8	8,2	7,2	9,3	15,9	18,6	24,3	28,7	33,2	29,8	24,8	19,7
Tmax 2016	19,0	13,1	10,9	10,0	10,6	12,4	15,1	19,9	27,3	32,1	28,6	27,2	18,8
Tmin 2015	9,7	5,7	0,1	-2,4	-0,3	1,0	5,4	8,0	12,9	15,7	13,8	9,3	6,6
Tmin 2016	7,8	3,9	1,8	3,0	1,7	1,0	4,2	7,8	11,6	14,9	12,8	11,2	6,8
P 2015	14,1	47,4	15,9	25,7	10,3	4,6	43,5	10,1	46,9	3,9	6,8	11,1	240,3
P 2016	50,9	48,0	20,3	33,9	36,3	34,9	44,5	48,7	0,1	0,1	0,0	0,0	317,7

Tabla 2. Precipitación, ETo y riego aplicado, en mm, y fechas de riego en el período 2015-2016.

	Precipitación anual (1-oct/30-sep)	Precipitación 1-abr / 30-sep	ETo 1-abr / 30-sep	Riego R1 / R2	Inicio de riego R1 / R2	Fin de riego
2015	240	122	947	66 / 139	10-ago / 7-jul	15-sep
2016	318	93	830	73 / 136	16-ago / 12-jul	4-oct
Media	279	110	889	70 / 138	13-ago / 9-jul	24-sep

Se han medido, como parámetros de producción, la producción de uva (kg/cepa), el número de racimos por cepa y el peso de baya (g). Asimismo, como parámetros de desarrollo vegetativo, se han determinado el peso de madera de poda (kg/cepa) y el número de sarmientos por cepa, obteniendo posteriormente el Índice de Ravaz. Por último, como parámetros básicos de calidad de la uva, se han determinado la concentración de sólidos solubles totales (°brix), el pH, la acidez total (g.L⁻¹ de ácido tartárico), el ácido tartárico (g.L⁻¹), el ácido málico (g.L⁻¹) y el potasio (mg.L⁻¹) del mosto de cada tratamiento experimental en vendimia.

3. Resultados

Producción de uva. El rendimiento ha sido acorde con la cantidad de agua recibida por cada tratamiento, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos, con incrementos medios bienales del 26% del R1 con respecto al secano (R0) y del 24% del R2 con respecto del R1. Las diferencias en producción alcanzadas fueron fundamentalmente debidas al peso de racimo, que mostró igualmente diferencias estadísticamente significativas entre los diversos tratamientos en correlación positiva con la cantidad de agua aplicada, con incrementos medios bienales del 19% tanto entre el R1 y el secano como entre el R2 y el R1. El número de racimos por cepa contribuyó parcialmente a las diferencias de rendimiento entre los tratamientos regados y el secano, sobre todo en 2015, aunque las diferencias no resultaron estadísticamente significativas. Las diferencias en el peso del racimo se debieron fundamentalmente al peso de baya, con incrementos medios bienales del 15% del R1 con respecto al secano (R0) y del 14% del R2 con respecto del R1, que lógicamente resultaron estadísticamente significativos entre los

distintos tratamientos. El número de bayas del racimo contribuyó parcialmente a las diferencias en el peso de racimo en 2016, estadísticamente significativas entre el tratamiento R2 y el secano, con un incremento del 15%, mientras que no presentó diferencias entre tratamientos en 2015.

Tabla 3. Parámetros de Producción: rendimiento (Rdto.) (t.ha⁻¹), número de racimos por cepa (Nº Rac.), peso del racimo (P. Rac.) (g), número de bayas por racimo (Nº Bay.) y peso de baya (P. Baya) (g), de los tratamientos experimentales (Trat.) R0, R1 y R2, en los años 2015 y 2016. Niveles de significación estadística (Sig.): ns, no significativo; *, p<0,05; **, p<0,01.

Trat.	Prod.		Rdto.		Nº Rac.		P. Rac.		Nº Bay.		P. Baya	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
R0	2,90 c	3,48 c	8,93 c	10,69 c	23,1	26,3	126 c	132 c	109	127 b	1,16 c	1,04 c
R1	3,63 b	4,41 b	11,16 b	13,58 b	25,1	26,9	144 b	163 b	110	133 ab	1,31 b	1,22 b
R2	4,56 a	5,45 a	14,02 a	16,76 a	24,6	28,0	170 a	194 a	110	146 a	1,55 a	1,32 a
Sig.	**		**	**	ns	ns	**	**	ns	*	*	*

Desarrollo vegetativo. En el aspecto vegetativo, se observó una tendencia creciente del peso de madera de poda correspondiente a la cantidad de agua recibida por cada tratamiento, con diferencias estadísticamente significativas que reflejaron incrementos medios bienales del 20% tanto entre el R1 y el secano (R0) como entre el R2 y el R1, aunque las diferencias fueron de mayor cuantía en 2015, al verse más restringido el secano. El peso del sarmiento fue responsable de las citadas diferencias, con incrementos medios bienales del 18% del R1 con respecto al secano y del 21% del R2 con respecto del R1, puesto que el número de sarmientos por cepa no mostró prácticamente diferencias entre tratamientos, con valores en torno a 16. Tanto los valores del peso de madera de poda como del peso de sarmiento fueron bastante moderados, entre 480 y 800 g/cepa y entre 30 y 50 g respectivamente en el conjunto de los tratamientos. La superficie foliar también respondió al aporte de agua, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento R2 y el secano, mientras que el tratamiento R1 se situó en una posición intermedia.

Tabla 4. Parámetros de Desarrollo vegetativo: peso de madera de poda (PMP) (kg.cep⁻¹), número de sarmientos por cepa (Nº Sar.), peso de sarmiento (P. Sar.) (g), Índice de área foliar (LAI) e Índice de Ravaz (I. Ravaz), de los tratamientos experimentales (Trat.) R0, R1 y R2, en 2015 y 2016. Niveles de significación estadística (Sig.): ns, no significativo; *, p<0,05; **, p<0,01.

Trat.	PMP		Nº Sar.		P. Sar.		LAI		I. Ravaz	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
R0	0,482 c	0,606 c	16,1	15,3	29,8 c	39,5 c	1,38 b	1,49 b	6,1	5,8
R1	0,601 b	0,705 b	16,4	15,6	36,6 b	45,3 b	-	1,65 ab	6,1	6,3
R2	0,800 a	0,775 a	16,4	15,4	48,6 a	50,5 a	2,24 a	1,76 a	5,8	7,1
Sig.	**	*	ns	ns	**	*	**	*	ns	ns

El Índice de Ravaz se vio ligeramente incrementado con la aportación hídrica en 2016, pasando de un valor inferior a 6 en secano a uno superior a 7 en el tratamiento más regado (R2), mientras que en 2015 no hubo diferencias entre tratamientos, tratándose de valores dentro de umbrales considerados adecuados para obtener uva de calidad (Martínez de Toda 2007).

Composición básica de la uva. La influencia del régimen hídrico en la composición de la uva ha sido variable en ambos años de estudio. Así, la concentración de sólidos solubles mostró una tendencia a la disminución con la cantidad de agua recibida, con diferencias que resultaron estadísticamente significativas en 2016, cuando la diferencia entre tratamientos fue de 1 °brix, o sea de 2 °brix entre el secano y el R2. El pH mostró cierta tendencia a presentar un nivel

ligeramente más alto en seco que en los tratamientos regados, aunque las diferencias sólo resultaron estadísticamente significativas en 2016. La acidez titulable no mostró una tendencia definida, con variaciones dependientes del año, mientras que el ácido tartárico mostró valores ligeramente inferiores al aumentar la cantidad de agua aportada, sin que las diferencias entre tratamientos fueran estadísticamente significativas. Por el contrario, el ácido málico presentó en 2015 un valor significativamente más alto en R2 que en los otros tratamientos, aunque en 2016 no se observó dicha tendencia. La concentración de potasio en el mosto fue significativamente mayor en seco que en los otros tratamientos en 2015, pero no mostró la misma tendencia entre los tres tratamientos en 2016.

Tabla 5. Parámetros de Madurez: concentración de sólidos solubles totales (SST) (°brix), pH, acidez total (AT) (g.L⁻¹ de ácido tartárico), ácido tartárico (A. Tart.) (g.L⁻¹), ácido málico (A. Mal.) (g.L⁻¹) y potasio (mg.L⁻¹), de los tratamientos experimentales (Trat.) R0, R1 y R2, en los años 2015 y 2016. Niveles de significación estadística (Sig.): ns, no significativo; *, p<0,05; **, p<0,01.

Trat.	SST		pH		AT		A. Tart.		A. Mal.		Potasio	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
R0	23,1	22,7 a	3,39	3,45 a	5,20	5,79	8,82	9,83	0,82 b	1,08	1998 a	1940
R1	22,7	21,7 b	3,36	3,30 b	5,08	5,87	8,28	10,12	0,85 b	0,97	1820 b	1956
R2	22,5	20,7 c	3,35	3,30 b	5,46	5,63	7,96	9,47	1,42 a	1,05	1845 b	1923
Sig.	ns	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	**	ns	*	ns

4. Conclusiones

El rendimiento respondió positivamente a la cantidad de agua recibida por cada tratamiento, con un aumento progresivo en torno al 25%, debido fundamentalmente al aumento también progresivo del peso del racimo, en torno al 20%. Dicho aumento del peso de racimo se debió principalmente al del peso de baya, en torno a un 15%, con la aportación, menos cuantiosa y más variable, del número de bayas del racimo.

El desarrollo vegetativo de las cepas fue creciente en función de la cantidad de riego aplicada, con un aumento progresivo del peso de madera de poda entre tratamientos en torno al 20%, debido al aumento también progresivo del peso del sarmiento, en un porcentaje similar, cercano al 20%, dentro de un nivel de valores de ambos parámetros bastante moderados.

El régimen hídrico de seco provocó un aumento en los niveles de azúcares, pH, ácido tartárico y potasio, con intensidad variable en cada año, mientras que el incremento de la cantidad de agua aplicada apenas propició el aumento de ácido málico y una ligera reducción de la concentración de azúcares. La acidez total no mostró una tendencia definida, mientras que el ácido málico y el potasio presentaron una respuesta al régimen hídrico con alta variabilidad interanual.

5. Bibliografía

1. ALBURQUERQUE, M.V.; YUSTE, R.; CASTAÑO, F.J.; YUSTE, J. 2010. **Efectos del periodo de riego en el estado hídrico, la fisiología, el comportamiento agronómico y la calidad de la uva de la variedad Tempranillo en el valle del río Duero.** Alimentaria 418 (Noviembre), 66-70.
2. BAEZA, P.; SÁNCHEZ DE MIGUEL, P.; CENTENO, A.; JUNQUERA, P.; LINARES, R.; LISSARRAGUE, J. 2007. **Water relations between leaf water potential, photosynthesis and**

- agronomic vine response as a tool for establishing thresholds in irrigation scheduling. *Sci. Hort.* 114 (3), 151-158.
3. BLOUIN, J.; GUIMBERTEAU, G. 2000. *Maturation et Maturité des Raisins*. 151 p. Éditions Féret. Bordeaux, France.
 4. CIFRE, J.; BOTA, J.; ESCALONA, J.M.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. 2005. Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.): An open gate to improve water-use efficiency? *Agric. Ecos. Environ.* 106, 159-170.
 5. DE SOUZA, C.R.; MAROCO, J.P.; DOS SANTOS, T.P.; RODRIGUES, M.L.; LOPES, C.; PEREIRA, J.P.; CHAVES, M.M. 2005. Control of stomatal conductance and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars. *Agric. Ecos. Environ.* 106, 261-264.
 6. GIRONA, J.; MARSAL, J.; MATA, M.; DEL CAMPO, J.; BASILE, B. 2009. Phenological sensitivity of berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress. *Aust. J. Grape Wine Res.* 15, 268-277.
 7. GÓMEZ DEL CAMPO, M.; RUIZ, C.; LISSARRAGUE, J.R. 2002. Effect of water stress on leaf area development, photosynthesis and productivity in Chardonnay and Airén grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 53, 138-143.
 8. INTRIGLIOLO, D.S.; CASTEL, J.R. 2010. Response of grapevine cv. 'Tempranillo' to timing and amount of irrigation: water relations, vine growth, yield and berry and wine composition. *Irrig. Sci.* 28, 113-125.
 9. JONES, G.V.; WHITE, M.A.; COOPER, O.R.; STORCHMANN, K. 2005. Climate change and global wine quality. *Climate change* 73 (3), 319-343.
 10. KELLER, M.; SMITHYMAN, R.P.; MILLS, L.J. 2008. Interactive effects of deficit irrigation and crop load on Cabernet Sauvignon in an arid climate. *Am. J. Enol. Vitic.* 59, 221-234.
 11. KRIEDEMANN, P.E.; GOODWIN, I. 2004. Regulated deficit irrigation and partial root drying. 102 p. Land and Water Australia. Canberra, Australia.
 12. MARTÍNEZ DE TODA, F. 2007. *Claves de la viticultura de calidad. Nuevas técnicas de estimación y control de la calidad de la uva en el viñedo*. 214 p. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.
 13. McCARTHY, M.G.; LOVEYS, B.R.; DRY, P.R.; STOLL, M. 2000. Regulated deficit irrigation and partial rootzone drying as irrigation management techniques for grapevines. Deficit irrigation practices. *FAO Water Reports No. 22*. p. 79-87.
 14. SALON, J.L.; CHIRIVELLA, C.; CASTEL, J.R. 2005. Response of cv. Bobal to timing of deficit irrigation in Requena, Spain: water relations, yield, and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 56, 1-8.
 15. SANTESTEBAN, L.G.; MIRANDA, C.; ROYO, J.B. 2011. Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. *Agric. Water Manag.* 98 (7), 1171-1179.
 16. 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, 171-181.
 17. YUSTE, J. 1995. *Comportamiento fisiológico y agronómico de la uva (Vitis vinifera L.) en diferentes sistemas de conducción en secano y regadío*. 280 pp. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, España.
 18. YUSTE, J.; RUBIO, J.A.; ALBURQUERQUE, M.V. 2009. Relationship between soil water content and vine water status: use of water indicators to irrigate. 16th International GIESCO Symposium. Davis, California (USA). p. 233-238.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del proyecto INIA RTA2014-00049-C05-01, el soporte de la Junta de Castilla y León y la colaboración de técnicos del Grupo Yllera y de compañeros del Grupo de Viticultura y de la Estación Enológica del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.

Alternativas al uso del azufre en la lucha contra oídio. Reducción de azufre en espolvoreo

Ana Sagüés Sarasa, Francisco Javier Abad Zamora, José Félix Cibriáin Sabalza, Julián Suberviola Ripa

*Sección de Viticultura y Enología. Gobierno de Navarra-INTIA. C/ Valle de Orba, 34 - 31390 Olite (Navarra).
Tlf.: 948 74 17 07. E-mail: evena@cfnavarra.es*

1. Introducción

El empleo de azufre por parte de viticultores para combatir muchas plagas de sus vides era normal incluso antes de la llegada del oídio. Herrera, en 1808 al hablar de las enfermedades de la vid, dice que “si se ahumara la viña con cera y piedra de azufre perecerá toda plaga”. El azufre ha sido el método de lucha contra oídio en viticultura desde el momento en que se descubre sus propiedades fúngicas (1862 Juan Ruiz “El oidium, sus estragos y manera de prevenirlos por medio del azufrado metódico de la vid”) hasta la aparición de los IBS Triazoles en los años 70-80 del pasado siglo. En el caso de la viticultura ecológica, el azufre ha sido la única alternativa de lucha contra el oídio durante muchos años.

A pesar de que hoy en día no existan restricciones al uso de azufre, sí que existen certificadoras y/o comercializadoras que limitan su uso a dosis comprendidas entre 30 y 80 kg/ha/año, y pudiera ser que en un futuro se limitara su uso. Por otra parte, la utilización del azufre tiene una serie de puntos críticos: afecciones para el aplicador (irritante para los ojos, las vías respiratorias y la piel), derivas en su aplicación si existen mínimas condiciones de viento, fitotoxicidad cuando la temperatura y humedad son elevadas, posibles efectos adversos para la fauna auxiliar y/o posibilidad de influir en el proceso de elaboración del vino y en sus características organolépticas.

En lo que respecta al Real Decreto 1311/2012, establece la obligatoriedad de implementar programas de Gestión Integrada de Plagas (GIP), a partir de enero de 2014, en todos los estados miembros de la Unión Europea (UE), lo que conlleva la reducción del uso de fitosanitarios y la búsqueda de alternativas a los mismos. Así, en los últimos años se ha asistido a una auténtica revolución de sustancias de diversas categorías para el control de oídio dentro de la GIP, que han irrumpido en el mercado y que por sus características algunas presentan certificado para su utilización en viticultura ecológica, pudiendo ser una alternativa al uso de azufre.

Para dar cumplimiento al mandato del Real Decreto, en las distintas regiones de la UE, se han desarrollado actividades experimentales con la finalidad de favorecer la implementación de programas GIP. En Navarra, se ha llevado a cabo el proyecto LIFE AGROIntegra con el claro objetivo de dar a conocer al sector productor agrícola nuevas herramientas que faciliten el desarrollo de una agricultura más sostenible y compatible con su entorno natural y, al mismo tiempo, más segura para los consumidores.

En este ensayo se analizaron, durante dos años (2015 y 2016), diferentes estrategias para el control del oídio con el objetivo de validar alternativas al uso de azufre que permitan disminuir las aplicaciones del mismo. Se eligieron tres tipos de sustancias: una fitovacuna vegetal elicitora de defensas de la planta, un biofungicida y un combinado de abonos inorgánicos. Estas tres estrategias se enfrentaron a una estrategia típica en viticultura ecológica basada en el uso de azufre mojable y espolvoreo. Además, en esta última estrategia se estudió la influencia en los mostos y vinos de la vendimia manual o mecánica, ya que existe una creencia de que la vendimia mecánica puede provocar un lavado de las sustancias aplicadas en la vegetación.

2. Material y métodos

2.1. Evaluación de distintas estrategias

2.1.1. Productos utilizados

Los productos utilizados en el ensayo fueron: Nutriser + K-Vitrum + Adimel Star (abonos inorgánicos), Fitosave (fitovacuna vegetal), Armicarb (biofungicida) y Azufres.

Nutriser + K-Vitrum + Adimel Star (SERVALESA) son abonos inorgánicos. Nutriser es un abono de uso foliar o radicular a base de nitrógeno amoniacal y se trata de un complejo molecular de azufre sistémico. K-Vitrum es una disolución concentrada de potasio en forma de sal inorgánica. Este silicato potásico ejerce un efecto secante dificultando la acción e implantación del hongo. Adimel Star es una disolución estable de zinc y manganeso, que actúa como un surfactante natural con efecto secante y potenciador de productos contra hongos.

Fitosave (LIDA Plant research) es una fitovacuna vegetal con acción sanitaria y bioestimulante que aplicada al cultivo de forma preventiva y sistemática durante su ciclo es capaz de activar las defensas de la planta frente a enfermedades como el oídio. No va dirigido al patógeno. La sustancia activa es un complejo de oligosacáridos de origen natural procedentes del quitosano y de la pectina.

Armicarb (CERTIS) es un biofungicida de contacto con acción preventiva y curativa para control de oídio y botrytis. Su ingrediente activo, de origen mineral, es el carbonato de hidrógeno de potasio.

Azufre es una sustancia química que actúa por contacto directo. También actúa por sublimación. Tiene capacidad preventiva y curativa sobre el oídio.

Tabla 1. Descripción de las variantes

ESTRATEGIA	PRODUCTO	DOSIS	DESCRIPCIÓN
SERVALESA	Nutriser, K-Vitrum Adimel Star	1,5-2,5 l/ha 3-5 l/ha 3-4 l/ha	N total 6%, N amoniacal 6% y Azufre 25% Oxido de potasio 10,5 % Zinc 1% + Manganeso 1%
LIDA	Fytosave	2-2,5 l/ha	12 g/l COS-OGA
CERTIS	Armicarb	3-5 kg/ha	Carbonato de hidrógeno de potasio 85%
AGRICULTOR	Azufre mojable Kumulus DF, BASF	0,2-0,5 %	Azufre mojable 80%
	Azufre Micronizado P300-100, Afepasa	20kg/ha	Azufre en polvo 98,5%

2.1.2. Diseño de la parcela y aplicaciones

El ensayo se realiza en una viña de la variedad Tempranillo con alta presión de oídio. Se trata de una viña conducida en espaldera. La dimensión del ensayo es de 9600 m², ya que las aplicaciones se realizan con tractor y nebulizador buscando acercarnos a las condiciones reales del cultivo y del viticultor. Cada variante consta de 4 filas enteras de 150-200 metros. Los controles y repeticiones se establecen a lo largo de las dos filas centrales.

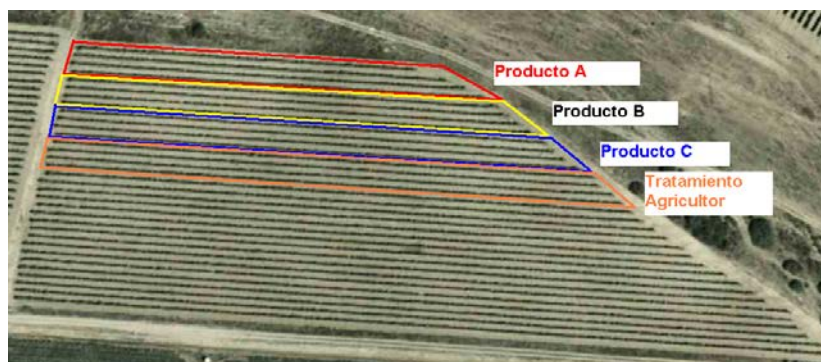


Fig. 1: Diseño del ensayo

Se realiza un tratamiento cada diez días desde mitad de mayo (estado G, racimos separados) hasta finales de julio (estado L-M, cierre de racimo-inicio de envero). En total son 8 tratamientos.

2.1.3. Estrategia 2015

Las estrategias se establecieron siguiendo los criterios de las casas comerciales ante su experiencia en otros cultivos y años.

Tabla 2. Estrategias de tratamientos y dosis en 2015

FECHA	A (LIDA)		B (CERTIS)		C (SERVALESA)		D (AGRICULTOR)	
	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS
18 mayo	Fytosave	2 l/ha	Azufre mojable	2 Kg/ha	Nutriser	1.5 l/ha	Azufre mojable	2 Kg/ha
29 mayo	Fytosave	2 l/ha	Armicarb	3 Kg/ha	K-Vitrum	3 l/ha	Azufre mojable	3 Kg/ha
9 junio	Azufre mojable	4 Kg/ha	Armicarb	3 Kg/ha	Nutriser	1.5 l/ha	Azufre mojable	4 Kg/ha
18 junio	Fytosave	2 l/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	K-Vitrum	3 l/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha
30 junio	Azufre mojable	5 Kg/ha	Armicarb	3 Kg/ha	Nutriser	2 l/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha
9 julio	Fytosave	2 l/ha	Armicarb	3 Kg/ha	K-Vitrum + Adimel Star	4 l/ha + 3 l/ha	Azufre en polvo	20 Kg/ha
17 julio	Fytosave	2 l/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	K-Vitrum + Adimel Star	4 l/ha + 3 l/ha	Azufre en polvo	20 Kg/ha
CONTROL DEL ENSAYO Y DESHOJADO 27 JULIO								
28 julio	Azufre mojable	5 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha

2.1.4. Estrategia 2016

Con los resultados de la campaña anterior, las estrategias se han modificado buscando aumentar las eficacias. En este sentido, algunas estrategias han introducido más tratamientos de azufre mojable; en otros casos se han complementado con mojantes o se han incrementado las dosis de producto de algunas materias buscando conseguir eficacias más altas en estas condiciones de presión elevada de oídio. El número de tratamientos y su cadencia ha sido la misma que en la campaña anterior.

Tabla 3. Estrategias de tratamientos y dosis en 2016

	A (LIDA)		B (CERTIS)		C (SERVALESA)		D (AGRICULTOR)	
FECHA	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS
18 mayo	Nutriser Adimel Star	1,5 l/ha + 3 l/ha	Azufre mojable	2 Kg/ha	Azufre mojable	2 Kg/ha	Azufre mojable	2 Kg/ha
31 mayo	Nutriser Adimel Star	1,5 l/ha + 3 l/ha	Fytosave	2,5 l/ha	Azufre mojable	2 Kg/ha	Azufre mojable	2 Kg/ha
9 junio	Nutriser Adimel Star	1,5 l/ha + 3 l/ha	Fytosave	2,5 l/ha	Azufre mojable	4 Kg/ha	Azufre mojable	4 Kg/ha
20 junio	Nutriser Adimel Star	1,5 l/ha + 3 l/ha	Fytosave + Azufre mojable	2,5 L/ha + 3 Kg/ha	Armicarb	3 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha
1 julio	Nutriser K-Vitrum Adimel Star	3 l/ha + 0,5 l/ha + 3 l/ha	Fytosave + Azufre mojable	2,5 L/ha + 3 Kg/ha	Armicarb	4 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha
11 julio	Nutriser Adimel Star	1,5 l/ha + 4 l/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	Armicarb	5 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha
26 julio	Nutriser Adimel Star	1,5 l/ha + 4 l/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	Armicarb	5 Kg/ha	Azufre polvo	20 Kg/ha
CONTROL DEL ENSAYO 3 DE AGOSTO								
4 Agosto	Azufre mojable	5 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	Azufre mojable	5 Kg/ha	Azufre polvo	20 Kg/ha

2.2. Influencia del tipo de vendimia en la calidad de mostos y vinos

2.2.1. Diseño del ensayo

Dentro de la variante llamada "Agricultor" (tratamiento de azufre en espolvoreo y mojable), se vendimian 200 kg de manera manual y 200 kg de manera mecánica con vendimiadora. Se vinifican las dos variantes según el protocolo establecido en la Bodega Experimental de EVENA para la elaboración de vinos tintos.



Fig. 3. Croquis del ensayo

3. Resultados

3.1. Evaluación de distintas estrategias

A partir del Índice del grado de ataque (Fig. 4), se ha calculado la eficacia (Fig. 5) utilizando la fórmula de Abbot. Al no existir testigo en la parcela y dada la alta presión de la enfermedad, suponemos un testigo con índice de grado de ataque del 100% para calcular las eficacias.

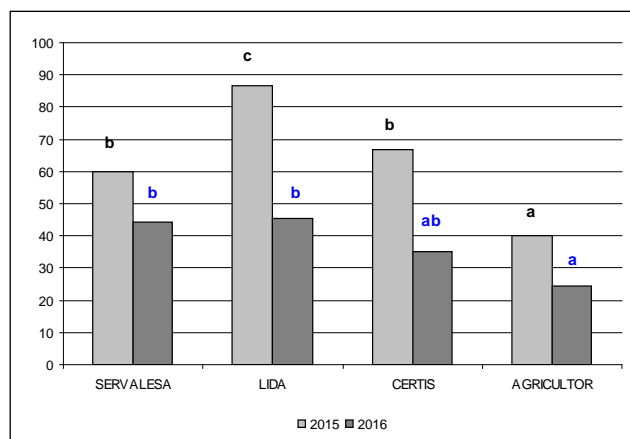


Fig. 4. Índice del grado de ataque (%) según fórmula de Townsend-Heuberger.

El grado de ataque de 2015 en las variantes se situó entre un 40% y un 85%, situación bastante comprometida que llevó, al finalizar el ensayo, a tener que realizar un deshojado para posicionar mejor la aplicación final de un azufre mojable.

En 2016, con las estrategias modificadas, el grado de ataque se sitúa entre un 30% y un 45 %, situación mucho más favorable que la de la campaña anterior.

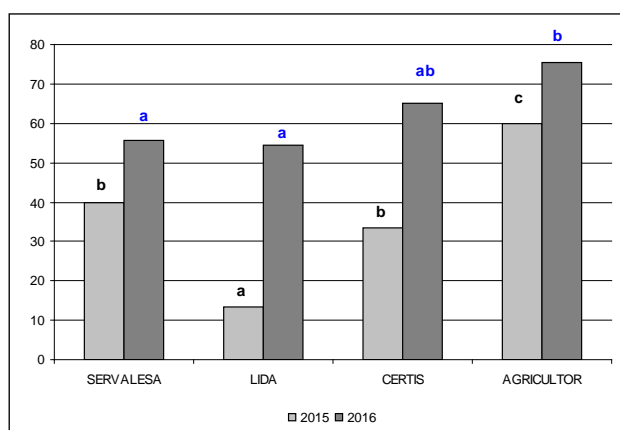


Fig. 5. Eficacia supuesta (%) de las distintas estrategias.

Las eficacias de 2015 se sitúan entre un 12% y un 60%, situación poco deseable, con un intervalo muy amplio para las distintas variantes. En 2016 al modificar las estrategias se ha conseguido mejorar a un 53%-75% las eficacias.

Todas las alternativas han conseguido disminuir considerablemente las dosis de azufre aplicado en el cultivo respecto de la variante del agricultor.

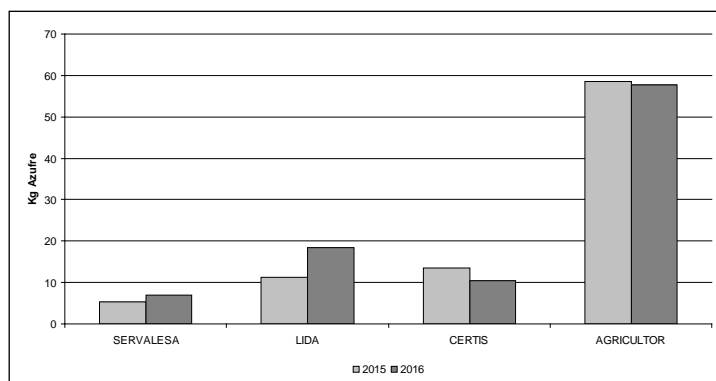


Fig. 6. Cuantificación de azufre aplicado en las distintas estrategias (2015 y 2016).

El coste de las estrategias (fig. 7) ha cambiado entre campañas al cambiar las dosificaciones y el número de aplicaciones de los productos. En la campaña 2016 se han introducido en alguna variante más tratamientos de azufre mojable, se ha aumentado dosis, etc. De cualquier manera, la variante del agricultor a base de azufres es la más económica.

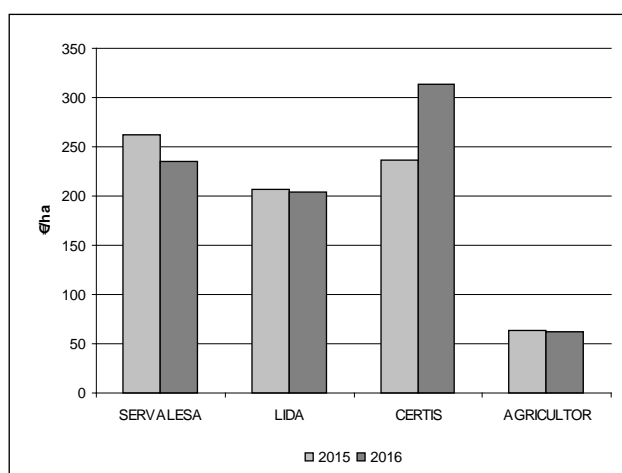


Fig. 7. Coste de las estrategias según precios de mercado. Coste únicamente de los productos (2015 y 2016)

3.2. Influencia del tipo de vendimia en la calidad de mostos y vinos

Sobre la pasta resultante del despalillado se recoge muestra tanto de la vendimia manual como de la mecánica para cuantificar el azufre previo a la entrada del depósito de bodega y por tanto, previo al inicio de la fermentación y su sulfitado. Respecto a la cuantificación del azufre de las muestras, no se han detectado diferencias significativas ($\text{Sig} < 0,05$). En la tabla se muestran los valores, en ambos muy similares.

Tabla 4. Contenido de azufre (%) en la pasta de vendimia según campaña referido a la pasta fresca.

Muestra	2015	2016
Vendimia Manual	2,2	2,4
Vendimia Mecánica	2,0	2,4

La dinámica de fermentación es similar en ambas variantes.

Tabla 5. Valores de densidad del vino durante la fermentación alcohólica

2015			2016		
Fecha	Manual	Mecánica	Fecha	Manual	Mecánica
11-sep	1091	1093	28-sep	1088	1088
14-sep	1012	1020	29-sep	1085	1071
15-sep	1000	1007	30-sep	1033	1033
16-sep	995	996	03-oct	995	993
17-sep	994	995	04-oct	995	995

Se realizan controles analíticos fisicoquímicos de vinos una vez terminados. Los resultados fisicoquímicos de los vinos se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros del vino

PARAMETROS BASICOS VINO	MECÁNICA		MANUAL	
	2015	2016	2015	2016
GRADO ALC VOL ADQUIRIDO 20/20 %Vol	13,24	12,50	13,11	12,84
ACIDEZ TOTAL g/l ac. Tartárico	4,2	4,7	4,3	4,9
ACIDEZ VOLATIL g/l ac. acético	0,61	0,50	0,55	0,45
ANH SULF LIBRE mg/l	25	23	29	29
ANH SULF TOTAL mg/l	54	76	51	70
AZUCARES REDUCTORES g/l glucosa	< LC 1,0	< LC 1,0	< LC 1,0	< LC 1,0
ACIDO L-MALICO g/L	< LC 0,2	< LC 0,2	< LC 0,2	< LC 0,2
CALCIO mg/l	53	62	50	61
HIERRO mg/l	3,8		1	
POTASIO mg/l	994	834	973	613
MAGNESIO mg/l	110	104	103	97
pH	3,77	3,50	3,69	3,42
PARAMETROS DE COLOR DEL VINO	2015		2016	
DENSIDAD OPTICA 420 nm Un Abs/cm	2,552	1,800	2015	2016
DENSIDAD OPTICA 520 nm Un Abs/cm	4,031	3,130	2,726	2,180
DENSIDAD OPTICA 620 nm Un Abs/cm	0,902	0,530	4,718	4,330
INTENSIDAD COLORANTE Un Abs/cm	7,485	5,460	0,985	0,640
ÍNDICE POLIFENOLES TOTALES Un Abs/cm	46	37	8,429	7,150
TONALIDAD	0,63	0,57	51	40

Se observa una ligera tendencia en varios parámetros: el pH es más alto en la vendimia mecánica por la extracción de materia vegetal y dilución en el mosto. En cuanto a la intensidad colorante y densidad óptica 520 (indicador de tonos rojos en vino) se observa una tendencia clara

a un menor valor en el mosto de vendimia mecánica presumiblemente debido a una oxidación del mosto.

Los vinos resultantes se someten a un análisis organoléptico, utilizando la ficha de cata UIE, s/100. En la cata realizada no se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre los dos vinos. Ambos vinos han sido bien valorados.

4. Conclusiones

1. El variante manejada únicamente con azufre ha sido la mejor estrategia en estas condiciones de alta presión de oídio.
2. En el segundo año del ensayo han mejorado los niveles del grado de ataque y la eficacia de las estrategias.
3. Se ha reducido las dosis de azufre aplicado en las variantes entre un 89 y un 75%.
4. Las diferencias económicas entre la estrategia del agricultor basada en azufres y el resto de estrategias es significativa.
5. No se aprecia un mayor nivel de lavado del azufre en función de si la vendimia se realiza manualmente o mediante vendimiadora.
6. La vinificación ha sido similar en los dos casos, no existiendo valores en los parámetros fisicoquímicos destacables para ninguna de las variantes. Los parámetros de color y pH manifiestan diferencias a favor de la vendimia manual.
7. Ambos vinos han sido bien valorados organolépticamente sin detectarse diferencias significativas entre ellos.

Estudio sobre la resistencia al lavado de diferentes formulaciones de cobre en aplicaciones en vid (2012-2013)

Lluís Giralt¹; Joan Reyes²; Xavier Subirós²; Esther Calaf¹; Carme Domingo¹; Joan Garcia¹; Anna Puig³; Santiago Minguez¹; Núria Pons⁴; Josep Maria Nolla⁴

¹ INCAVI; ² Servei de Sanitat Vegetal. DAAM; ³ IRTA; ⁴ IQV

Resumen

Durante los años 2012 y 2013 se ha analizado la resistencia al lavado por lluvia de diferentes sales y formulaciones de cobre en vid, así como la eficacia preventiva del cobre restante en la vegetación, frente a inoculaciones artificiales de mildiu (*Plasmopara viticola*). La lluvia se aplica de manera artificial mediante sistema de riego. Los resultados obtenidos muestran que las deposiciones iniciales de cobre varían en función del tipo de cobre utilizado, pero que después de 30 mm de precipitación, las cantidades de cobre restantes en la vegetación tienden a igualarse, independientemente del tipo de cobre y dosis aplicadas inicialmente. La cantidad restante de cobre es de unos 30 mg/m² de hoja, correspondiente, aproximadamente, a un 70% del cobre aplicado inicialmente. Los primeros 10 mm de precipitación son los que producen un mayor lavado. El cobre restante después de 30 mm de precipitación es capaz de prevenir parcialmente un ataque de mildiu, aunque no se observan diferencias significativas entre los diferentes niveles de lavado ni, entre los diferentes tipos de cobre, ni entre las diferentes dosis iniciales.

1. Introducción

La viña es el principal cultivo ecológico de Catalunya, con el 31% de la superficie total. El crecimiento de la viticultura ecológica en los últimos años, ha propiciado que incremente el interés de los viticultores en adquirir nuevos conocimientos en el campo de la gestión ecológica de la vid. El punto clave de esta gestión es el control de enfermedades, y más concretamente la lucha contra el mildiu de la vid (*Plasmopara viticola*). En este aspecto las sales de cobre tienen una importancia capital, sobre todo en agricultura ecológica al no existir alternativas viables. Es por ello que toda experimentación que aporte nuevos conocimientos sobre las características de los productos cúpricos en la lucha contra el mildiu de la vid, resulta de gran utilidad.

Este estudio es fruto de un convenio de colaboración entre la empresa Industrias Químicas del Vallés (IQV), Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI), Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) y el Servei de Sanitat Vegetal del Departamento de Agricultura de la Generalitat (DAAM). Realizado durante los años 2012 y 2013, tiene por objeto determinar la resistencia al lavado a causa de la lluvia de diferentes sales y formulaciones de cobre, aplicadas a diferentes dosis. También se pretende comprobar la capacidad preventiva del cobre restante en la vegetación después del lavado, frente a inoculaciones artificiales de mildiu.

2. Material y métodos

- Productos ensayados

Todos los productos ensayados son de la empresa IQV.

Tabla 1. Relación de productos y dosis utilizadas en el ensayo durante los dos años de estudio. Las dosis vienen expresadas en cantidad de cobre metal aplicada por hectárea.

Producto	Composición	Dosis Cu metal (Kg/ha)	
		2012	2013
CURENOX 50 WP	Oxicloruro de Cobre 50% Cu, WP	1,50	1,00
VITRA 40 WG	Hidróxido de Cobre 40% Cu, WG	1,50	1,00
BORDO 20 MICRO	Caldo Bordeles 20% Cu, WG	1,50	1,00
BORDO 20 MICRO	Caldo Bordeles 20% Cu, WG	1,00	-
CALDO BORDELES VALLÉS	Caldo Bordeles 20% Cu, WP	-	1,00
CALDO BORDELES VALLÉS	Caldo Bordeles 20% Cu, WP	-	0,75

- Tesis ensayadas

En la primera parte del ensayo no se aplica lluvia artificial y se estudia la disminución de la cantidad de cobre en la vegetación a lo largo del tiempo, recogiendo muestras después del tratamiento, 7, 14 y 21 días después (T+0, T+7, T+14 y T+21). Ésta parte sólo se realiza en 2012.

En la segunda parte del ensayo se estudia el lavado de los diferentes formulados de cobre después de la aplicación creciente de lluvia artificial, efectuándose 3 aplicaciones de 10 mm hasta acumular un total de 30 mm. Se recogen muestras después del tratamiento y después de cada aplicación de 10 mm de lluvia artificial (T+0, T+10 mm, T+20 mm y T+30 mm). Ésta acción se realiza durante los años 2012 y 2013.

- Características de la parcela experimental

El ensayo se realiza en una viña situada en el Municipio de St. Sadurní d'Anoia, en la finca experimental de la Escuela de Viticultura y Enología Mercè Rossell i Domènech de Espiells (INCAVI).

Varietad: Macabeu. Portainjerto: 110 Richter. Marco de plantación: 3 x 1.4 m. Año de plantación: 1992. Sistema de conducción: espaldera.

Cada parcela elemental consta de 8 cepas, se realizan 4 repeticiones de cada tesis (Bloques al azar con 4 repeticiones)

- Realización de los tratamientos

Los tratamientos se realizan con pulverizador hidroneumático de mochila STIHL de 10 litros de capacidad, a partir del momento en que la vegetación de la vid empieza a alcanzar su desarrollo máximo. El 11 de julio en 2012 y el 9 de julio en 2013.

- Aplicación de lluvia artificial

Para reproducir la lluvia artificial se instala un sistema de microaspersión, utilizando aspersores anti-helada modelo Flipper, distribuidos homogéneamente por las hileras del ensayo. Éste sistema permite una distribución del agua en franjas estrechas, mojando solamente la vegetación y no la zona entre hileras. El tipo de gota es heterogénea y resulta muy similar al de la lluvia natural. En cada punto de distribución se colocan 2 aspersores, que trabajan paralelamente. Con las características del sistema instalado, para aplicar 10 mm de precipitación, el sistema de riego funciona durante 31 minutos, lo que da una intensidad de precipitación aproximada de 19,35 mm / hora. En cada parcela elemental se sitúa un pluviómetro para comprobar la homogeneidad de la distribución de la lluvia artificial.

- Recogida de muestras

Las muestras se recogen siempre cuando la vegetación está completamente seca. En cada muestreo se recogen un total de 12 hojas por parcela elemental, de la parte central del sarmiento. Las hojas se ponen en el interior de una bolsa de papel y se llevan al laboratorio. Una vez en el laboratorio se hacen discos de hoja utilizando un troquel de 10 mm de radio. De cada hoja se hacen 5 discos, uno en cada lóbulo, que se introducen en un tubo de laboratorio. En total se obtienen 60 discos de hoja de 20 mm de diámetro, que suponen una superficie de 0.01885 m² de hoja por parcela elemental. Con éste método nos aseguramos que la superficie de hoja recogida es siempre idéntica.



Fig. 1. Obtención de los discos de hoja mediante troquel

- Inoculación de mildiu

En el ensayo de 2013, además de comprobar la disminución de cobre, se pretende ver la eficacia preventiva del cobre restante después del lavado, por lo que se inocula mildiu de manera artificial. En cada parcela elemental del ensayo se seleccionan 2 brotes para cada una de las tesis, que son inoculados con una suspensión de esporangios de *Plasmopara viticola*. El inóculo se obtiene a partir de hojas de vid infectadas de mildiu ya esporulado que se lavan con agua mineral, utilizando un pulverizador manual para recoger los esporangios. Posteriormente se realiza un recuento de esporangios de la suspensión, mediante cámara de Thoma y observación al microscopio óptico. La riqueza de la suspensión obtenida es de 3×10^5 (=300.000 esporangios/ml). La inoculación se realiza el 12 de julio, y consiste en pulverizar los brotes seleccionados con la suspensión de esporangios obtenida. Se inicia a partir de las 6 de la tarde, para evitar las horas de máxima intensidad lumínica y térmica. Una vez inoculados los brotes, se cubren con una bolsa

de plástico, que se dejan toda la noche para forzar la infección. Para evitar que los brotes seleccionados para la inoculación reciban más lluvia de la prevista, se van cubriendo con bolsas de plástico antes de cada lluvia artificial y se descubren una vez la vegetación está seca.

- Valoración de daños por mildiu

El recuento de daños se realiza el día 24 de julio, una vez se observan claramente los síntomas de la enfermedad. La valoración se realiza observando las 6 primeras hojas, completamente desarrolladas, situadas inmediatamente después de la parte terminal del brote. No se tiene en cuenta la zona apical, ya que se considera vegetación aún no formada en el momento de la inoculación. Se anota el número de hojas con presencia de manchas de mildiu y la severidad del ataque, en función de la siguiente escala:

Tabla 2. Escala de valoración de la severidad del ataque de mildiu sobre la vegetación.

Valor	% superficie afectada
0	0
1	0-5
2	6-10
3	10-25
4	25-50
5	>50

- Análisis de las muestras

El cobre depositado sobre los discos de hoja se extrae mediante lavado con una solución de ácido nítrico al 1%, combinado con ultrasonidos y centrifugación, para asegurar la máxima extracción. La determinación del cobre recogido hace por Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama.

3. Resultados y discusión

- Disminución del cobre a lo largo del tiempo

Todos los resultados se expresan en mg Cu/m² de hoja.

Tabla 3. Cantidades de cobre obtenidas analíticamente (mg Cu/ m² hoja) y porcentaje de cobre restante respecto de la deposición inicial.

	T+0		T+7		T+14		T+21	
	Valor	%	Valor	%	Valor	%	Valor	%
CURENOX 50 WP	50,1 ab	100	48,4 a	96,6	31,2 b	62,4	44,5 a	88,9
VITRA 40 WG	65,6 a	100	46,4 a	70,7	43,4 ab	66,1	48,9 a	74,6
BORDO 20 MICRO 1,5 Kg	60,3 ab	100	50,9 a	84,5	45,9 a	76,1	51,3 a	85,0
BORDO 20 MICRO 1 Kg	44,7 b	100	41,5 a	92,9	39,4 ab	88,2	39,8 a	89,0

Durante los días en que duró el ensayo, no se produce ninguna precipitación significativa, por lo que la disminución de cobre durante el período de 21 días no se debe al lavado por lluvia. La deposición inicial de los tres productos que se aplican a igual dosis es distinta, siendo la mayor en el caso de VITRA 40 WG y la menor CURENOX 50 WP. Los porcentajes de disminución tres semanas después de la aplicación, oscilan entre el 10% (CURENOX 50 WP) i el 26% (VITRA 40 WG), siendo el producto que obtiene una mayor deposición inicial (VITRA 40 WG) el que también presenta un mayor porcentaje de reducción. Las cantidades finales tienden a igualarse, independientemente de los formulados y dosis aplicadas inicialmente.

- Disminución del cobre por lluvia artificial

Tabla 4. Cantidades de cobre obtenidas analíticamente (mg Cu/ m² hoja) después de las sucesivas lluvias artificiales.

	Dosis*	Año	0 mm	10 mm	20 mm	30 mm
CURENOX 50	1.5	2012	54,9	41,5	35,6	33,7
CURENOX 50	1	2013	42,8	34,4	36,2	32,3
VITRA 40 WG	1.5	2012	74,5	39,0	34,5	27,8
VITRA 40 WG	1	2013	41,7	42,1	32,8	31,2
BORDO MICRO	1.5	2012	61,0	49,0	37,4	33,3
BORDO MICRO	1	2012	46,2	36,7	36,9	29,8
BORDO MICRO	1	2013	43,1	42,4	33,3	31,2
CALDO BORDELES VALLÉS	1	2013	42,4	40,0	37,0	27,5
CALDO BORDELES VALLÉS	0.75	2013	35,0	32,1	29,2	27,0

*: Kg/ha de cobre metal

La disminución de cobre no es directamente proporcional a la precipitación acumulada. Con la primera precipitación (10 mm) es cuando se produce una mayor disminución de cobre por lavado, siendo muy reducida la reducción en las dos lluvias siguientes. La cantidad de media de cobre que queda en la vegetación después de 30 mm de precipitación es de 30 mg por m² de hoja. Si se observa la evolución de las cantidades de cobre en función del tipo de sal, a igual dosis de cobre metal, las deposiciones iniciales son diferentes en función de la sal utilizada, y las sucesivas lluvias provocan que las cantidades de cobre restantes vayan igualándose hasta los niveles ya mencionados.

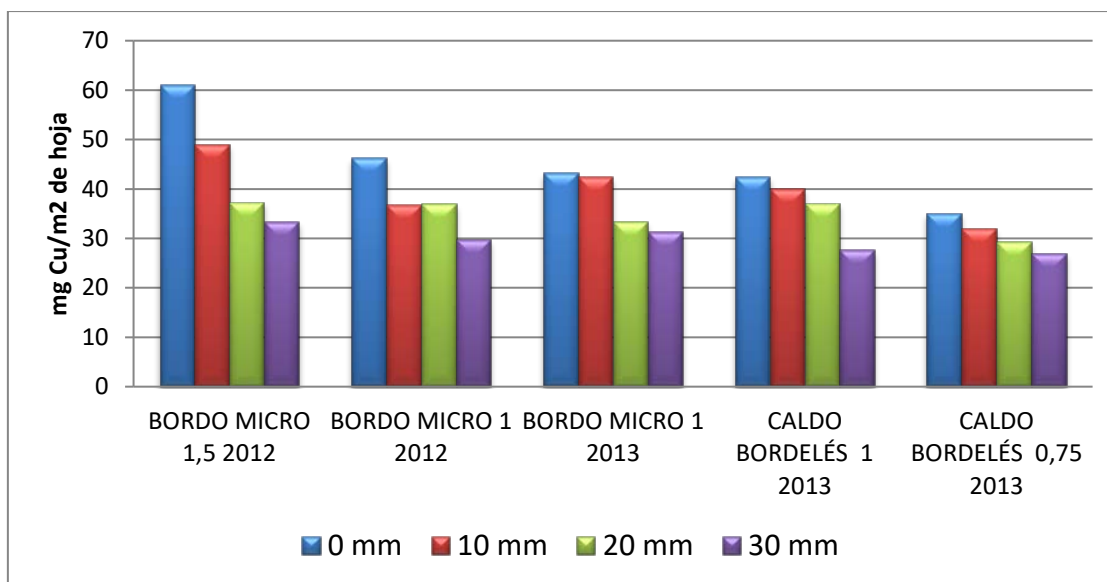


Figura 2. Dinámica de reducción de la cantidad de cobre en vegetación de dos productos a base Caldo bordelés: BORDO MICRO y CALDO BORDELÉS VALLÈS aplicados a diferentes dosis.

Como ejemplo de lo comentado, en la figura 2 se observa que ocurre con el sulfato de cobre a diferentes dosis (1.5, 1 y 0.75 kg/ha) y tipos de formulación (WP y WG). La dinámica se repite: dosis iniciales más altas presentan unas mayores deposiciones de cobre pero que tienden a igualarse después de 30 mm de precipitación, obteniéndose un valor alrededor de los 30 mg de cobre por m² de hoja. En este caso, no en todas las tesis se produce el mayor nivel de lavado en los primeros 10 mm de precipitación.

- Control de daños por mildiu

Los resultados se expresan en número de hojas con presencia de manchas de mildiu y en intensidad. Se realiza el análisis de la varianza entre las medias de los diferentes tratamientos en cada momento de control. Las letras determinan las relaciones estadísticas entre los diferentes grupos.

Tabla 5. Número medio de hojas con presencia de mildiu, teniendo en cuenta que se observan 6 hojas por brote inoculado. Media de las 4 repeticiones.

	0 mm		10 mm		20 mm		30 mm		Media
CURENOX 50 WP	3,25	A	2,06	A	3,19	A	2,13	A	2,66
VITRA 40 WG	2,69	A	2,25	A	3,67	A	2,625	A	2,81
BORDO 20 MICRO	3,81	A	3,25	A	2,63	A	2,38	A	3,02
CALDO BORDELES 1	2,71	A	3,88	A	3,50	A	3,50	A	3,40
CALDO BORDELES 0.75	3,00	A	3,94	A	3,63	A	3,88	A	3,61
TESTIGO	5,19	B	5,19	B	5,19	B	5,19	B	5,19

Tabla 6. Severidad del ataque de mildiu. Media de las 4 repeticiones.

	0 mm		10 mm		20 mm		30 mm		Media
CURENOX	1,42	A	0,94	A	1,38	A	1,13	A	1,21
VITRA	1,56	A	1,19	A	1,54	A	1,38	A	1,42
BORDO 20 MICRO	1,94	A	1,44	A	1,25	A	1,13	A	1,44
CALDO BORDELES 1	1,54	A	1,46	A	1,75	A	1,50	A	1,56
CALDO BORDELES 0.75	1,56	A	1,44	A	1,75	A	1,50	A	1,56
TESTIGO	2,94	B	2,94	B	2,94	B	2,94	B	2,94

Los datos obtenidos nos indican que la incidencia del mildiu es superior en el testigo que en las diferentes tesis ensayadas, pero no se observan diferencias ni entre productos, ni entre nivel de lavado. Las infecciones artificiales observadas son más agresivas que las naturales, posiblemente debido a dos motivos: la alta concentración de esporangios utilizada en la inoculación artificial y a las condiciones óptimas de incubación que se dan al embolsar la vegetación. Éste factor puede haber condicionado la no diferenciación entre tesis. De todas formas, vemos que la presencia de una cantidad de cobre de alrededor de 30 mg/m² de hoja, puede prevenir parcialmente una infección de mildiu.

4. Conclusiones

En las condiciones de este ensayo, podemos extraer las siguientes conclusiones:

Sin presencia de lluvia, la reducción general de cobre en la vegetación, 21 días después de su aplicación, oscila entre un 10 y un 30 %, en función del tipo de sal utilizada.

La lluvia provoca una reducción de la cantidad de cobre aplicado, siendo los primeros 10 mm de precipitación los que provocan un mayor nivel de lavado.

Existen distintas deposiciones iniciales de cobre en función de la formulación y dosis aplicadas, pero después de 30 mm de precipitación, la cantidad de cobre que queda en la vegetación tiende a igualarse en todas las tesis, siendo de alrededor de 30 mg/m² de hoja, lo que supone aproximadamente un 70% del cobre aplicado.

Dosis iniciales más altas de cobre, no nos aseguran una mayor cantidad después de 30 mm de precipitación.

Cada producto tiene un comportamiento diferenciado, VITRA 40 WG (Hidróxido de cobre) obtiene una deposición inicial más alta de cobre, pero también es el que se lava más rápidamente. Por el contrario CURENOX 50 WP (oxicloruro de cobre) registra una deposición inicial más baja, pero el nivel de lavado resulta también inferior. Las formulaciones a base de Caldo bordelés se mantienen en una posición intermedia entre las dos anteriores.

La presencia de unos 30 mg/m² de cobre sobre la vegetación permite reducir la incidencia del mildiu inoculado artificialmente.

Situación de las enfermedades de madera en el viñedo de Castilla y León

E. Barajas, J.A. Rubio, J.C. González, C. Caminero

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
Ctra. Burgos, Km 119. 47071 Valladolid. Tel: 983 317 457. E-mail: bartolen@itacyl.es

Resumen

Durante los años 2014 y 2015, se ha realizado un seguimiento de la incidencia de las enfermedades fúngicas de la madera en el viñedo castellano-leonés a través de la evaluación de síntomas visuales de 200 cepas por parcela realizadas durante los meses de agosto y septiembre en un total de 728 parcelas en 2014 y 566 parcelas en 2015. La elección de las parcelas se basó en criterios de jerarquización en los que se tuvieron en cuenta aspectos como la distribución geográfica del viñedo, las Denominaciones de Origen, la edad del viñedo, etc.

Los resultados obtenidos muestran un ligero descenso de la afección de enfermedades de madera de 2014 a 2015 en el conjunto de Castilla y León y en casi todos los intervalos de edad del viñedo estudiados. En el intervalo de edad del viñedo plantado entre 1979 y 1993 se ha observado un aumento significativo de la afección de 2014 a 2015. De igual forma, se ha observado un ligero aumento en la provincia de Zamora y en las figuras de calidad de dicha provincia: DO Toro, DO Tierra del Vino de Zamora y DOP Vino de Calidad de Valles de Benavente.

1. Introducción

Las enfermedades de la madera de la vid están provocadas por una infección fúngica que se traduce en una pérdida progresiva del vigor de la planta, reduciendo el rendimiento e influyendo en la calidad, pudiendo llegar a producir la muerte de parte o de la totalidad de la planta en un periodo de tiempo indeterminado, que en ocasiones puede llegar a ser muy rápido (apoplejía) (Armengol, 2013). A esto se le debe añadir el carácter errático típico de estas enfermedades en cuanto a la expresión de sintomatología externa, hasta el punto de que una planta enferma puede mostrar síntomas durante unas campañas y permanecer aparentemente sana o asintomática en otras (Sosnowski *et al.*, 2007).

Así, estas enfermedades están asociadas a un complejo fúngico compuesto potencialmente por un elevado número de especies, que pueden concurrir simultáneamente, convivir e interactuar en una misma planta, y en el que aparecen desde verdaderos patógenos a hongos saprofitos u otros con función aparentemente precursora de la enfermedad, siendo el espectro del complejo en cada caso variable (Lecomte *et al.* 2012).

Las enfermedades fúngicas de la madera están presentes en prácticamente todas las zonas vitícolas del mundo. Esto, unido a la problemática que conllevan (pérdidas de rendimiento de las parcelas afectadas, influencia en la calidad de los productos,...) ha motivado numerosos e importantes esfuerzos en el mundo científico y técnico orientados a conocer mejor estas enfermedades y como paliar sus riesgos (Murua Mendiaraz y Legorburu, 2015). Sin embargo, esos esfuerzos no parecen haberse traducido en una aplicabilidad práctica de interés real para el sector, puesto que en las dos últimas décadas ha aumentado la incidencia de los decaimientos de la vid, comprobándose su presencia cada vez en plantas más jóvenes, y siendo esta situación generalizada en todas las zonas vitícolas. Y esta generalización incluye Castilla y León, donde la preocupación por parte de los viticultores y el sector involucrado es creciente y comienzan a demandarse soluciones.

En la actualidad, hasta que el avance en el conocimiento permita abordar nuevas consideraciones, las medidas profilácticas y las buenas prácticas culturales se perfilan como la mejor estrategia para minimizar la incidencia de los decaimientos de la vid.

Ante este escenario, se hace necesario conocer la incidencia real de estas enfermedades y su evolución en el viñedo de Castilla y León. De esta forma, se podrá determinar el riesgo real y los posibles niveles de alerta y priorización de esfuerzos generales o zonales. A continuación se presentan los resultados obtenidos tras dos años de trabajo, 2014 y 2015, orientados a conocer, a partir de síntomas visuales, la afectación y evolución de las enfermedades fúngicas de la madera del viñedo castellano y leonés.

2. Material y Métodos

Se ha establecido una red de referencia representativa de parcelas de viñedo en Castilla y León, en las que evaluar la presencia e incidencia de enfermedades fúngicas de madera de la vid, conocer su evolución e inferir la posible necesidad de establecimiento de medidas preventivas y de control.

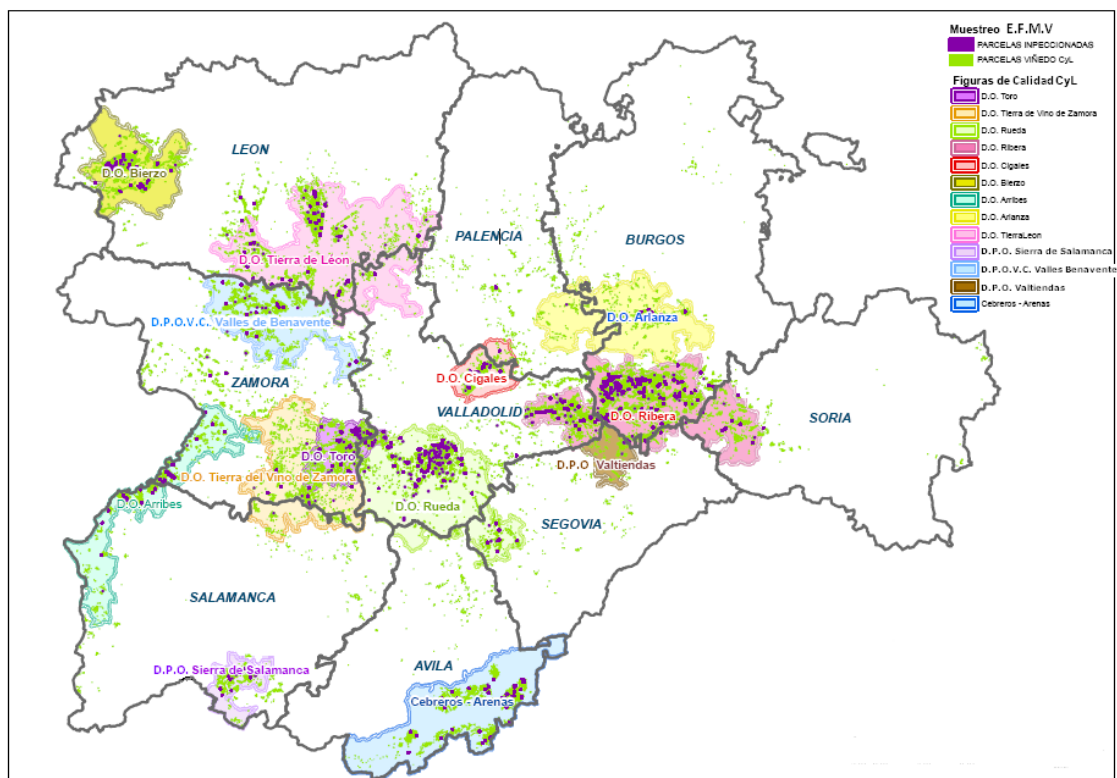


Figura 1. Distribución del viñedo en Castilla y León y puntos de muestreo de enfermedades fúngicas de la madera de la vid en función de la provincia y figura de calidad.

A partir de los datos disponibles en el Registro Vitícola de Castilla y León (febrero de 2014), se planteó un muestreo que implicaba una intensidad de trabajo de evaluación de aproximadamente el 1% de la superficie del viñedo total de la región (estimada en torno a las 74.000 hectáreas), con un total de 728 plantaciones visitadas en 2014 y 566 en 2015 en las que se evaluaron unidades muestrales teóricas compuestas por 200 posiciones de cultivo en cada una de las plantaciones (Figura 1). Las evaluaciones se realizaron durante los meses de agosto y

septiembre. De esta forma, se evaluaron 145.594 posiciones de cultivo en 2014 y 106.860 en 2015. Existe diferencia entre el número de plantaciones previstas a visitar y las finalmente consideradas como útiles debido a la detección *in situ* de estados de abandono y no explotación, que no aconsejaban su evaluación al no representar la población de viñedo objetivo.

La elección de las plantaciones se basó en criterios de jerarquización en los que se tuvieron en cuenta aspectos como:

- Zonificación en cuanto a distribución geográfica del viñedo, tanto a nivel provincial como de representatividad a nivel de municipio.
- Inclusión en las distintas Figuras de Calidad (Denominaciones de Origen Protegidas). En este aspecto también se ha contemplado el viñedo no acogido a ninguna de estas figuras, considerándose un nicho de estudio genérico de Vinos de la Tierra de Castilla y León.
- Edad de los viñedos, considerando como extremos: los últimos 10 años, representando plantaciones jóvenes en las que aún se está formando la estructura y entrando en producción y estabilización; mayores de 35 años, anteriores a 1979, representando plantaciones “viejas”, con menor producción y rendimiento, pero interesante aporte en calidad. En el rango intermedio, se representaría el viñedo adulto en plena producción, habiéndose considerado una separación a partir del año 1994, por ser la década posterior caracterizada por un gran auge en las plantaciones, lo que pudiera influir en un diferencial de control sanitario en los materiales vegetales de inicio.
- Variedades representativas.
- Marco y densidad de plantación, contemplando en este caso genéricos de densidades bajas, entre 700 y 2.000 plantas por hectárea, medias, entre 2.000 y 3.300, y altas, superiores a las 3.300 plantas por hectárea (hasta las 10.000).
- Sistema de conducción, formas libres o en “vaso” o formas dirigidas o en “espaldera”.

Los criterios de evaluación de la afectación en cada plantación, se basaron en la estima visual de la incidencia de la enfermedad, es decir porcentaje de las cepas evaluadas presentando sintomatología compatible con enfermedades de madera.

Tabla 1. Número de parcelas evaluadas en 2014 y 2015 en función de las figuras de calidad de Castilla y León.

ZONAS (DOP)	<1979		1979-1993		1994-2003		2004-2013		TOTAL	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
Arlanza	5	3	1	1	2	2	1	1	9	7
Arribes	30	20	1	1	1	1	1	1	33	23
Bierzo	43	31	4	3	3	3	2	0	52	37
Cigales	10	6	6	5	8	8	2	2	26	21
Ribera del Duero	60	48	32	15	81	67	34	23	207	153
Rueda	13	10	24	23	31	29	68	67	136	129
Sierra de Salamanca	8	2	1	1	1	1	1	0	11	4
Tierra de León	41	33	2	1	8	8	6	6	57	48
Tierra del vino de Zamora	11	6	1	1	4	3	1	0	17	10
Toro	26	23	7	6	30	27	5	5	68	61
Valtiendas	2	2	1	0	1	1	1	0	5	3
V. C. Valles de Benavente	21	14	2	2	2	1	1	1	26	18
V.T. de Castilla y León	70	41	4	4	4	4	3	3	81	52
TOTAL	340	239	86	63	176	155	126	109	728	566

3. Resultados

El grado de afección global de Castilla y León de enfermedades de madera, en cuanto a porcentaje de cepas con expresión de sintomatología compatible, ha sido de 2,58% en 2014 y de 2,06% en 2015 (Tabla 2). Sin embargo, se han observado diferencias aparentes en la afección en cuanto a su distribución geográfica tanto a nivel provincial (tabla 2) como por figuras de calidad (tabla 3).

Se han detectado plantas con sintomatología compatible en todas las provincias, si bien en las que se ha observado un mayor porcentaje de incidencia han sido en Ávila, mostrando valores de 5,79% en 2014 y 5,64% en 2015, y Zamora con valores de 3,69% en 2014 y 4,65% en 2015 (Tabla 2). En cambio, las provincias de León, Palencia, Salamanca y Segovia han mostrado los porcentajes de incidencia más bajos, mostrando valores por debajo de 1% en ambos años de estudio. Cabe reseñar el descenso de incidencia en Burgos que bajó de 3,64% de incidencia en 2014 a 1,35% en 2015. El resto de provincias, Valladolid y Soria, muestran porcentajes de incidencia entre 1% y 2,3 %

Las zonas o figuras de calidad de la DO Toro, el Vino de la Tierra de CyL y la DO Ribera del Duero han resultado ser las más afectadas en 2014 mostrando un porcentaje del 5,76%, 3,65% y 3,20%, respectivamente; y la DO Toro, la DO Tierra del Vino de Zamora y el Vino de la Tierra de CyL en 2015 con porcentajes de 6,27%, 6,88% y 3,16 % respectivamente (Tabla 3). El resto de las zonas se sitúan en torno a la media global para el año de estudio o por debajo de ella. Destacan las zonas de la DO Tierra de León y la DOP Sierra de Salamanca por escasa incidencia de las enfermedades de madera con porcentajes por debajo del 1% (Tabla 3).

Tabla 2. Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 en Castilla y León y a nivel provincial.

ZONA DE ESTUDIO	Nº Par. 2014	% Inc. 2014	Nº Par. 2015	% Inc. 2015
CASTILLA Y LEÓN	728	2,58	566	2,06
Ávila	47	5,79	24	5,64
Burgos	167	3,64	112	1,35
León	115	1,00	86	0,61
Palencia	3	0,37	2	0,62
Salamanca	26	0,93	13	0,75
Segovia	15	0,29	13	0,90
Soria	14	2,13	14	2,23
Valladolid	217	1,69	205	1,56
Zamora	124	3,69	97	4,65

Tabla 3. Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 en cada zona o figura de calidad.

ZONA DE ESTUDIO	Nº Par. 2014	% Inc. 2014	Nº Par. 2015	% Inc. 2015
Arlanza	9	1,53	7	0,32
Arribes	33	1,05	23	1,17
Bierzo	52	1,19	37	0,85
Cigales	26	2,08	21	2,16
Ribera del Duero	207	3,20	153	1,52
Rueda	136	1,52	129	1,14
Sierra de Salamanca	11	0,68	4	0,48
Tierra de León	57	0,95	48	0,44
Tierra del vino de Zamora	17	2,50	10	6,88
Toro	68	5,76	61	6,27
Valtiendas	5	0,54	3	1,24
V. C. Valles de Benavente	26	1,90	18	2,05
V.T. de Castilla y León	81	3,65	52	3,16

En general, el intervalo de edad del viñedo menor de 10 años ha presentado las menores incidencias promedio, 1,31% en 2014 y 0,54% en 2015, mientras que los viñedos más viejos, plantados antes de 1979 han presentado una incidencia media de 2,55% en 2014 y 1,93% en 2015 (Tabla 4). En cuanto a los viñedo adultos plantados entre 1979 y 2003, en 2014 se observa una posible diferencia entre el viñedo plantado hasta 1993, con incidencia del 2,35% respecto al de la década 1994-2003 (auge de plantaciones en Castilla y León) en las que el valor obtenido de incidencia es el mayor, con un 3,65%. En 2015, esta diferenciación de incidencia es menos patente, presentado los dos intervalos de edad estudiados porcentajes de incidencia similares en torno al 3% (Tabla 4).

Tabla 4. Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 en cada intervalo de edad del viñedo.

INTERVALO DE EDAD	Nº Par. 2014	% Inc. 2014	Nº Par. 2015	% Inc. 2015
Anterior a 1979	340	2,55	239	1,93
1979-1993	86	2,35	63	3,18
1994-2003	176	3,65	155	2,87
2004-2013	126	1,31	109	0,54

Tabla 5. Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 en función de la variedad del viñedo.

VARIEDAD	Nº Par. 2014	% Inc. 2014	Nº Par 2015	% Inc. 2015
Tintas	548	2,95	402	2,42
Blancas	157	1,41	146	1,05
Garnacha Tintorera	11	9,35	6	3,51
Godello	2	3,83	2	1,28
Juan García	20	1,03	12	1,33
Malvasía Riojana	6	1,29	3	0,51
Mencía	43	1,23	28	1,30
Palomino	15	0,33	13	0,82
Prieto Picudo	50	0,82	43	0,52
Rufete	9	1,56	4	1,42
Sauvignon Blanc	4	0,00	4	0,26
Tempranillo	358	3,32	276	2,67
Verdejo	121	1,57	115	1,07
Viura	6	1,33	6	0,97
Albillo Real	3	1,17	3	2,75
Cabernet Sauvignon	1	0,00	1	0,00
Garnacha	55	3,55	31	4,30
Merlot	1	0,00	1	0,51
Mezcla	23	1,73	18	2,23

En cuanto a la incidencia de las enfermedades de madera por variedades, las que han mostrado mayor incidencia han sido la Garnacha Tintorera con porcentajes de 9,35% en 2014 y 3,51% en 2015, y la Garnacha con valores de 3,55% en 2014 y 4,30% en 2015. Estos resultados están relacionados con la alta incidencia de enfermedades de madera encontrada en la provincia de Ávila y en la figura de calidad de Vinos de la Tierra de Castilla y León, ya que la presencia de estas variedades se concentra en la zona vitivinícola de Cebreros, al sur de dicha provincia y acogida a dicha figura de calidad. De igual forma, la variedad Godello ha presentado alta incidencia, 3,83 % en 2014, aunque únicamente se muestrearon 2 parcelas de dicha variedad. Las variedades Tempranillo y Verdejo, más abundantes en Castilla y León, han mostrado un descenso de 3,32% a 2,67% y de 1,57% a 1,07% respectivamente de 2014 a 2015. Otras variedades representativas de Castilla y León, con más de 10 parcelas muestreadas, como la Juan García,

Mencia, Palomino y Prieto Picudo han mostrado porcentajes de incidencia por debajo de 1,5% en ambos años de estudio. Cabe reseñar el porcentaje mostrado por las parcelas muestreadas con mezcla de variedades, que ha sido de 1,73% en 2014 (23 parcelas) y de 2,23% en 2015 (18 parcelas). Por último, las variedades tintas han mostrado mayor incidencia que las variedades blancas en ambos años de estudio, observándose un descenso en ambos grupos de 2014 a 2015.

Cuando se considera el sistema de conducción, formas libres (vaso) o dirigidas (espaldera), la tendencia general parece indicar una mayor incidencia en el sistema en vaso, 2,87% en 2014 y 2,73% en 2015, frente a lo mostrado por el sistema de conducción en espaldera de 1,90% en 2014 y 1,14% en 2015 (Tabla 6).

Tabla 6. Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 en función del sistema de conducción del viñedo.

SISTEMA DE CONDUCCIÓN	Nº Par 2014	% Inc. 2014	Nº Par 2015	% Inc. 2015
Espaldera	222	1,90	186	1,14
Vaso	453	2,87	332	2,73

De igual forma, se han obtenido porcentajes de incidencia atendiendo a la densidad de plantación, de tal manera que se han agrupado las parcelas en función del número de plantas por hectárea, clasificando como densidad alta a los viñedos de 10.000 a 3.333 plantas/ha, como densidad media a los viñedos de 3.267 a 2.000 plantas/ha, y como densidad baja a los viñedos de 1.984 a 730 plantas/ha. Se ha observado la tendencia de presentar una mayor incidencia cuanto menor es la densidad de plantación en ambos años de estudio, mostrando unos valores de 1,50% (2014) y 1,19% (2015) las densidades altas, de 2,38% (2014) y 1,37% (2015) las densidades medias, y de 3,55% (2014) y 3,96% (2015) las densidades bajas (Tabla 7).

Tabla 7. Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 en función de la densidad de plantación.

DENSIDAD DE PLANTACIÓN	Nº Par. 2014	% Inc. 2014	Nº Par. 2015	% Inc. 2015
ALTA	120	1,50	92	1,19
MEDIA	397	2,38	317	1,37
BAJA	211	3,55	157	3,96

4. Conclusiones

En conjunto, el grado de afección de enfermedades de madera de la vid no ha sido muy elevado (2-3%), si bien es relativamente alarmante el hecho de que se ha detectado presencia de la enfermedad en más del 50% de las parcelas muestreadas en ambos años de estudio. En general, se ha observado un ligero descenso de la incidencia de 2014 a 2015 en los diferentes factores estudiados (provincias, figuras de calidad, edad del viñedo, etc.).

Las provincias más afectadas han sido Ávila y Zamora en ambos años de estudio, observándose una ligera tendencia al aumento de la incidencia en Zamora de 2014 a 2015. Igualmente, se ha observado esta tendencia en las figuras de calidad de la DO Toro y la DO Tierra del Vino de Zamora, resultando ser las más afectadas en 2015.

El rango de edad del viñedo de menos de 10 años es el de menor incidencia promedio, menos de 1,5%, presentado el resto de intervalos de edad incidencias mayores de 1,9% en ambos años de estudio.

Las variedades tintas han mostrado más afectación que las blancas en ambos años de estudio. Las variedades con mayor afectación han sido Garnacha Tintorera, Garnacha y Tempranillo. El sistema de conducción en vaso, con densidades de plantación más bajas, ha presentado mayor incidencia que la espaldera, quizás debido al aumento de la sección de las heridas de poda y por tanto mayor vía de entrada de los hongos en la planta.

La incidencia de estas enfermedades aumenta a medida que disminuye la densidad de plantación. Las densidades de plantación "bajas" han mostrado porcentajes de incidencia mayores que las densidades "medias" y "altas". Estos resultados pueden ser debidos a que al aumentar la densidad de plantación se reduce la capacidad individual de las cepas, disminuyendo la sección de las heridas, y por tanto, disminuyendo la vía de entrada de los hongos en la planta.

Si bien con diferencias aparentes en cuanto a la distribución geográfica de la incidencia de las enfermedades de madera, la detección de presencia de sintomatología compatible con estas enfermedades prácticamente de forma generalizada, supone un foco de expansión en los próximos años, lo cual aconseja una profundización urgente en el incremento de conocimiento e investigación aplicada orientada a la definición de estrategias y medidas que puedan paliar sus efectos.

5. Bibliografía

1. ARMENGOL, J. 2013. **Enfermedades fúngicas de la madera de la vid: estrategias de manejo**. Phytoma España 252: 68.
2. LECOMTE, P.; DARRIEUTORT, G.; LIMINANA, J.M.; COMONT G. 2012. **New insights into esca of grapevine: the development of foliar symptoms and their association with xylem discoloration**. Plant Disease 96(7): 924-934.
3. MURUAMENDIARAZ, A.; LEGORBURU, J. 2015 **Presencia y Situación de la eutiposis en Rioja Alavesa**. Tierras 228, 86-93.
4. SOSNOWSKI, M.; SHTIENBERG, D.; CREASER, M.L.; WICKS, T.J.; LARDNER, R.; SCOTT, E. 2007. **The influence of climate on foliar symptoms of Eutypa Dieback in grapevines**. Phytopathology 97, 1284-1289.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias al soporte económico de la Junta de Castilla y León y de fondos FEDER, y la colaboración de los compañeros del Área de Plagas y de la Unidad de Estudios y Aplicaciones Técnicas del ITACyL, y de las Secciones de Sanidad Vegetal de los Servicios Territoriales de la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León.

Estudio preliminar: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinifera* L. a hongos asociados a las enfermedades de la madera de la vid

M.P. Martínez-Diz¹, C. Berlanas², D. Gramaje², E. Díaz-Losada¹

¹Estación de Viticultura e Enología de Galicia - INGACAL. Ponte San Clodio s/n, 32427, Leiro, Ourense. E-mail: pilar.martinez.diz@xunta.gal

²Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad de la Rioja, Gobierno de La Rioja, Ctra. LO-20 Salida 13, 26071 Logroño.

Resumen

Las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (EMV) son actualmente una de las patologías más dañinas que afectan a este cultivo a nivel mundial. El objetivo de este estudio fue evaluar la susceptibilidad de 44 cultivares de la colección de germoplasma de la "Estación de Viticultura e Enología de Galicia" (EVEGA-INGACAL) frente a los hongos: *Eutypa lata*, *Neofusicoccum parvum*, *Phaeoacremonium minimum* y *Phaeomoniella chlamydospora*. Para la inoculación, se utilizaron estaquillas de un año plantadas en maceta, realizándoles una herida entre los dos nudos superiores con un sacabocados de 6 mm. A continuación, se colocaron discos de agar y micelio del mismo diámetro, utilizando como controles discos de agar estéril. Se utilizaron 12 estaquillas por cultivar y tratamiento. Las estaquillas inoculadas se colocaron en un invernadero a 25°C en una distribución totalmente al azar. A los 5, 6 y 7 meses tras la inoculación (dependiendo del hongo), las estaquillas se evaluaron midiendo el desarrollo de las lesiones internas producidas por el hongo. Todos los cultivares fueron susceptibles a la infección, pero la severidad de las necrosis en la madera varió significativamente, lo cual indica que existen genotipos más tolerantes a las infecciones causadas por hongos asociados a las EMV.

1. Introducción

Las enfermedades de la madera de la vid (EMV) se encuentran entre las patologías más dañinas que afectan a este cultivo en la actualidad. En España, se estima una media del 3% de plantas afectadas por EMV, aunque existen plantaciones recién establecidas en las que su incidencia podría superar el 20%, lo que conlleva unas pérdidas económicas anuales muy elevadas (Fontaine y Armengol, 2014). Según valoraciones recientes, el coste anual de replantación de vid en el mundo debido a las EMV asciende a 1132 billones de euros (Hofstetter et al., 2012). Estas afectan a todos los sistemas de producción relacionados con el viñedo (vivero, uva para pasificación, uva de mesa y uva para vinificación) en las principales regiones vitícolas del mundo (Travadon et al., 2013).

Actualmente, las enfermedades que presentan una mayor incidencia en planta joven en España son la enfermedad de Petri, el Pie negro de la vid y el decaimiento por *Botryosphaeria* (antiguamente denominado "Brazo negro muerto") (García-Jiménez et al., 2010). En el caso de planta adulta, estas son la eutipiosis, la yesca y el decaimiento por *Botryosphaeria* (Legorburu et al., 2014). La yesca, la cual está causada principalmente por *Phaeomoniella chlamydospora* y *Phaeoacremonium minimum* (Mugnai et al., 1999), está asociada con síntomas foliares que comienzan con ligeras clorosis internerviales, oscureciendo con el paso del tiempo a zonas internerviales marrones (Mostert et al., 2006). De forma similar, la eutipiosis, causada por *Eutypa lata*, muestra frecuentemente síntomas foliares a principios de primavera, como hojas raquíticas, deformadas y cloróticas presentes en brotes mal desarrollados (Carter, 1991). Por el contrario, las cepas con decaimiento por *Botryosphaeria*, siendo *Diplodia seriata* y *Neofusicoccum parvum* las especies prevalentes asociadas a esta enfermedad en España (Martín y Cobos, 2007; García-

Jiménez et al., 2010), no desarrollan síntomas foliares, mostrando necrosis sectoriales en la madera de brazos y/o del tronco principal (Úrbez-Torres, 2011). Los síntomas externos causados por la enfermedad de Petri causada por *Cadophora luteo-olivacea*, *Phaeoacremonium* spp. y *Pa. chlamydospora*, incluyen una brotación tardía, crecimiento raquítico de brotes, desarrollo vegetativo débil y ocasionalmente síntomas en hojas (clorosis internerviales, necrosis y marchitamiento) (Gramaje y Armengol, 2011). Por último, la enfermedad del Pie negro de la vid está causada por especies pertenecientes a los géneros *Campylocarpon*, "*Cylindrocarpon*", *Cylindrocladiella*, *Dactylonectria*, *Ilyonectria* y *Neonectria*, siendo la especie *I. liriodendri* y el complejo *D. macrodidyma* (Lombard et al., 2014) los hongos más frecuentes en España (Agustí-Brisach y Armengol, 2014). Esta se caracteriza por afectar al sistema radicular y a la base del patrón, provocando lesiones necróticas que resultan en una reducción de la masa radicular.

La susceptibilidad de cultivares a eutiposis y a yesca, se ha basado principalmente en observaciones de campo, ya sea estudiando síntomas foliares (Feliciano et al., 2004) o síntomas foliares y en la madera (Sparapano et al., 2001). Realizando secciones en brazos y troncos de cepas afectadas con EMV, observamos una gran diversidad de necrosis y de síntomas internos en los vasos xilemáticos, que incluyen zonas de color canela a marrón en la madera, con estrias necróticas de color marrón a negro en la zona vascular, dependiendo del hongo causante de la infección. La infección de una cepa con hongos patógenos de la madera resulta siempre en la formación de chancros y decoloraciones en la madera, pero no hay una relación entre el hongo asociado a la EMV y la aparición de síntomas específicos que nos ayuden a identificar la enfermedad. El principal problema de las evaluaciones de cultivares en campo es que suelen confluir en una cepa infecciones simultáneas de varios hongos asociados a las EMV (Úrbez-Torres et al., 2006), lo que complica las diagnósticos de las mismas. En muchas ocasiones, también aparecen dos o más hongos asociados a un mismo síntoma (interno y/o externo), siendo por lo tanto insuficiente el diagnóstico visual.

Hasta el momento, no existen estrategias de control curativas que consigan erradicar la infección provocada por los hongos asociados a las EMV. El objetivo fundamental es intentar mantener unos niveles bajos de estos patógenos, mejorando la calidad sanitaria del material de propagación, ya que desde la prohibición del uso del arsenito de sodio no han aparecido fungicidas con cierta eficacia contra las EMV (Luque et al., 2014). Una vez que la cepa está infectada, la única opción es eliminar la madera enferma y volver a formar la planta a partir de nuevos brotes de la parte sana del tronco. Las únicas medidas que podemos emplear actualmente son de prevención y control: utilizando estrategias de control integrado en vivero que incluyan control biológico y físico (termoterapia con agua caliente) (Gramaje y Armengol, 2011; Gramaje, 2015), reduciendo el riesgo de infección en los cortes de poda, desinfección de herramientas y aperos agrícolas y eliminación de restos vegetales infectados (Luque, 2015).

En este sentido, la utilización de cultivares tolerantes a estas patologías se postula como una de las principales estrategias para el manejo de las EMV, que podría ser económicamente eficiente y a su vez ambientalmente respetuosa para su control. La sostenibilidad ambiental de la producción vitícola es una exigencia del consumidor y la legislación cada vez restringe más el uso de fungicidas que se han utilizado tradicionalmente, lo que está aumentando el interés por el uso de cultivares, clones y portainjertos más tolerantes a las enfermedades. Un elemento clave para la gestión integrada de las EMV es la utilización de cultivares y portainjertos tolerantes, a las cuales son muy susceptibles los cultivares y portainjertos de mejor adaptación edafoclimática e interés comercial (ej. cultivar Tempranillo y portainjertos 110 Richter, 140 Ruggeri, 41 Berlandieri, 1103 Paulsen) (Alaniz et al. 2010; Gramaje et al. 2010).

Hasta la fecha, la información disponible acerca de la susceptibilidad de cultivares de *Vitis vinifera* L. a la infección por los hongos de la madera es escasa. Se han llevado a cabo diversos trabajos para determinar diferencias en la susceptibilidad de cultivares y portainjertos de vid a distintos hongos asociados a las EMV. Travadon et al. (2013) encontraron diferentes grados de tolerancia, en lo que a síntomas de madera se refiere, en diversos cultivares de *Vitis vinifera* L. ('Cabernet Franc', 'Cabernet Sauvignon', 'Chardonnay', 'Merlot', 'Riesling', 'Petit Syrah' y 'Thompson Seedless') inoculados en invernadero bajo condiciones controladas con los hongos *Phomopsis viticola*, *E. lata* y *Eutypa* sp. Eskalen et al. (2001) también encontraron distintos grados de susceptibilidad en portainjertos frente a *Pa. chlamydospora* y *Phaeoacremonium* spp. Alaniz et al. (2010) y Gramaje et al. (2010) demostraron la existencia de diferencias significativas en el desarrollo vegetativo de portainjertos. Los estudios realizados por Gramaje et al. (2010) mostraron que 161-49 Couderc era el menos susceptible entre cinco portainjertos de vid previamente inoculados con patógenos causantes de la enfermedad de Petri. Alaniz et al. (2010) observaron que ninguno de los portainjertos estudiados fue completamente tolerante a los patógenos asociados al Pie negro.

Todo esto podría indicar que existen genotipos más tolerantes a las infecciones causadas por los hongos asociados a las EMV. Por todo ello, el principal objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de cuatro de los principales hongos asociados a las EMV en diversos cultivares de *Vitis vinifera* L. presentes en la colección de germoplasma de la "Estación de Viticultura e Enología de Galicia" (EVEGA-INGACAL) bajo condiciones controladas.

2. Material y métodos

Material vegetal

En el presente ensayo se utilizaron estaquillas enraizadas de un año de edad de longitud uniforme (50 cm) con 4 yemas, de 44 cultivares (Tabla 1) presentes en la colección de germoplasma de EVEGA-INGACAL. Durante el reposo invernal (febrero de 2016) se recogió madera de los mismos, se enraizaron y se mantuvieron en condiciones de invernadero.

Inóculo

Los hongos asociados a las EMV utilizados en las inoculaciones fueron *Eutypa lata*, *Neofusicoccum parvum*, *Phaeoacremonium minimum* y *Phaeomoniella chlamydospora*. Los aislados fúngicos se obtuvieron de la colección del grupo de investigación BIOVITIS del Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino de Logroño (La Rioja).

Inoculación de los cultivares y diseño experimental

Las estaquillas fueron inoculadas durante el mes de julio de 2016. En el caso de algunos cultivares ('Albarín Blanco', 'Albariño', 'Pan y Carne', 'Ratiño', 'Silveiriña', 'Tinta Oubiña' y 'Verdello 1'), no fue posible realizar la inoculación de todos los hongos a estudiar, debido a la baja disponibilidad de material vegetal. Para realizar la inoculación, se les realizó una herida entre los dos nudos superiores con un sacabocados de 6 mm de diámetro e inmediatamente se colocó el inóculo, consistente en discos de agar y micelio del mismo diámetro, se cubrió con algodón humedecido con agua destilada, se selló con Parafilm® y se cubrió con papel de aluminio. Las estaquillas control se inocularon con discos de agar estéril. A continuación se dispusieron siguiendo una distribución totalmente al azar en un invernadero con condiciones controladas de

temperatura (25°C) y humedad relativa (50%). Se utilizaron 12 estaquillas por cultivar y tratamiento, resultando en un total de 2640 estaquillas (12 estaquillas x 44 cultivares x 5 tratamientos).

Tabla 1. Cultivares estudiados.

Cultivares tintos		Cultivares blancos	
'Albarín Tinto'	'Merenzao'	'Agudelo'	'Treixadura Francesa'
'Brancellao'	'Moscatel Bago Miúdo Tinto' ('MBM Tinto')	'Albarín Blanco'	'Ratiño'
'Caiño Bravo'	'Mouratón'	'Albariño'	'Verdello 1'
'Caiño Longo 1'	'Pan y Carne'	'Albilla'	
'Caiño Longo 2'	'Sousón'	'Blanca de Monterrei'	
'Caiño Tinto'	'Tempranillo'	'Caiño Branco'	
'Castañal'	'Tinta Oubiña'	'Dona Branca'	
'Corbillón'	'Torrontés'	'Godello'	
'Espadeiro'	'Touriga Nacional'	'Lado'	
'Ferrón'	'Zamarrica'	'Loureira'	
'Garnacha Peluda'	'Garnacha Tintorera'	'Moscatel Grano Menudo' ('MGM')	
'Jarrosuelto'	'Pedral'	'Palomino'	
'Mandón'	'Brujidera'	'Silveiriña'	
'Mencia'		'Treixadura'	

Evaluación de las lesiones y reaislamientos

Pasados 5 (*N. parvum*), 6 (*E. lata*) y 7 (*Pm. minimum* y *Pa. chlamydospora*) meses tras la inoculación, se procedió a la evaluación de las estaquillas. Se extrajeron las plantas de las macetas y se eliminó la parte radicular para facilitar su posterior evaluación. En laboratorio, se midió el desarrollo de las lesiones internas o chancros producidos por el hongo (Fig. 1). Se retiró la corteza de la zona de la inoculación longitudinalmente con la ayuda de una navaja, hasta llegar a la zona vascular de la planta para poder ver y medir la longitud de las lesiones. A la par, se tomó muestra de pequeños fragmentos de madera del borde de la lesión (frente de avance), para llevar a cabo posteriormente reaislamientos de los hongos (actualmente en proceso de realización).

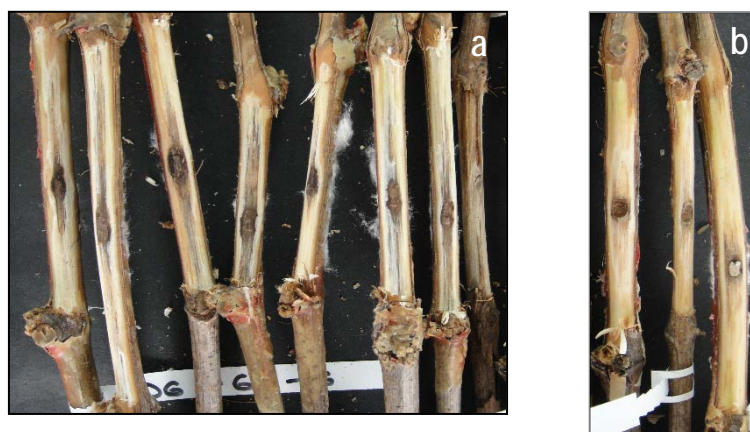


Fig. 1. Estaquillas del cultivar 'Treixadura', tras 7 meses de inoculación con el hongo *Phaeomoniella chlamydospora*. a) estaquillas inoculadas con el hongo; b) estaquillas control.

3. Resultados

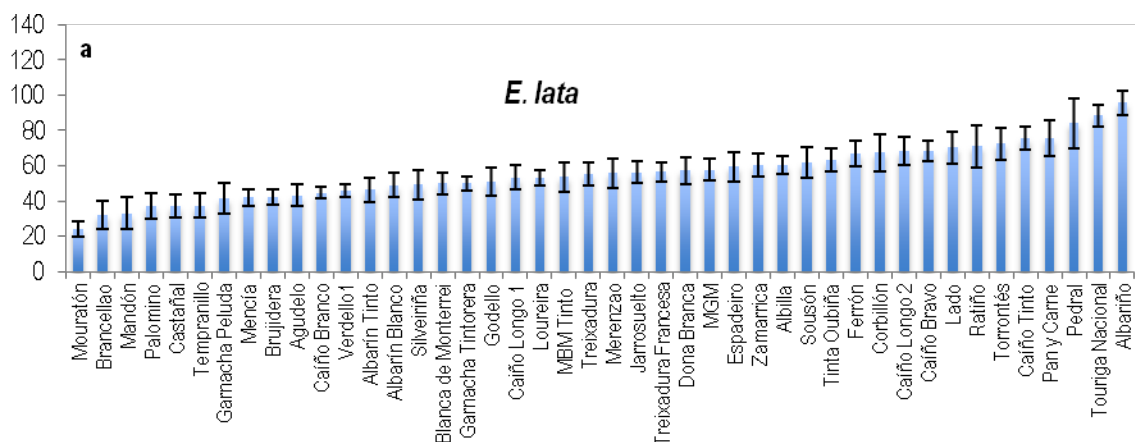
Se observó que todos los cultivares evaluados fueron susceptibles a la infección por todos los hongos estudiados (*E. lata*, *N. parvum*, *Pm. minimum* y *Pa. chlamydospora*) pero que la tolerancia a los mismos parece ser distinta dependiendo de la combinación hongo-cultivar (Fig. 2).

En el caso de las inoculaciones realizadas con el hongo *E. lata*, observamos que la mayoría de los cultivares estudiados (79,6%) mostraron una tolerancia media ante la infección, siendo un 13,6% de los mismos los más tolerantes y un 6,8% los menos. Se obtuvieron resultados similares con el hongo *N. parvum*: el 58,5% de los cultivares presentaron una tolerancia media, un 24,4% una tolerancia alta y un 17% una tolerancia baja a la infección.

El 15,4% de los cultivares inoculados con *Pa. chlamydospora* fueron los más tolerantes a la infección producida por el hongo. El 59% mostraron una tolerancia media-alta, el 23,1% una tolerancia media-baja y tan sólo el cultivar 'Caíño Bravo', sobresalió de la media, mostrando una tolerancia muy baja. La longitud de la lesión en 'Caíño Bravo' (121,75 mm) ha sido un 22,1% mayor (121,75 mm) que el siguiente cultivar de menor tolerancia ('Tinta Oubiña', 94,91 mm).

Los cultivares 'Sousón' y 'Torrontés' fueron los más tolerantes frente a la inoculación con *N. parvum* (Fig. 2-b) y con *Pa. chlamydospora* (Fig. 2-d). 'Sousón' tuvo una tolerancia media-baja en el caso de los hongos *E. lata* (Fig. 2-a) y *Pm. minimum* (Fig. 2-c), mientras que 'Torrontés' fue de los menos tolerantes a la infección producida por *E. lata* y de tolerancia media en el caso del hongo *Pm. minimum*.

El cultivar 'Palomino' también fue de los más tolerantes frente a la infección provocada por dos de los hongos estudiados, *E. lata* y *Pm. minimum*, mientras que con *N. parvum* y *Pa. chlamydospora*, su tolerancia fue media.



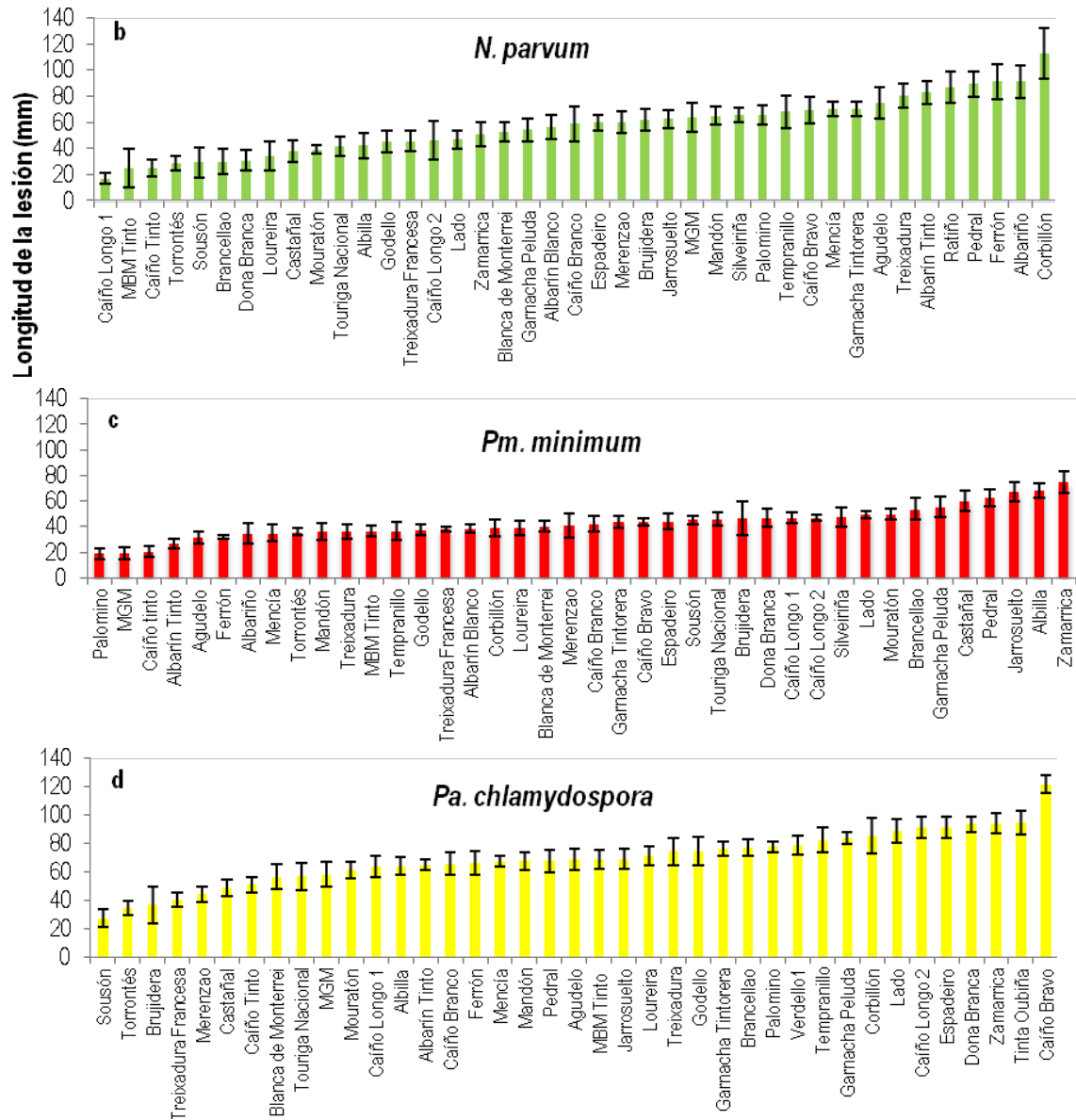


Fig. 2. Longitud media de las lesiones (mm) de los distintos cultivares estudiados. a) *E. lata*; b) *N. parvum*; c) *Pm. minimum* y d) *Pa. chlamydospora*

Uno de los cultivares menos tolerantes a la infección provocada por *E. lata* y *N. parvum* fue 'Albariño', siendo de los más tolerantes a la infección por *Pm. minimum*. 'Zamarrica' presentó también una tolerancia muy baja ante la infección de *Pm. minimum* y *Pa. chlamydospora*, mientras que frente a *E. lata* y *N. parvum* mostró una tolerancia media.

El cultivar que presentó en general una tolerancia más baja ante la infección de hongos asociados a EMV fue 'Pedral', ya que resultó ser uno de los cultivares de tolerancia más baja frente a tres de los hongos estudiados (*E. lata*, *N. parvum* y *Pm. minimum*) y de tolerancia media frente a *Pa. chlamydospora*.

4. Conclusiones

Los resultados mostraron que todos los cultivares estudiados fueron susceptibles a la infección por hongos patógenos asociados a EMV, *E. lata*, *N. parvum*, *Pm. minimum* y *Pa.*

chlamydospora. La severidad de las necrosis en la madera varió considerable entre ellos, lo cual parece indicar, a la espera de confirmar estos resultados en años sucesivos y mediante la evaluación de los reaslamientos, que existen genotipos más tolerantes a las infecciones causadas por los hongos asociados a las EMV.

5. Bibliografía

1. AGUSTÍ-BRISACH, C.; ARMENGOL, J. 2014. El pie negro de la vid: agentes causales, epidemiología y estrategias de control. *Phytoma España* 260 32-35
2. ALANIZ, S.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ABAD-CAMPOS, P.; ARMENGOL, J. 2010. Susceptibility of grapevine rootstocks to *Cylindrocarpon liriodendri* and *C. macrodidymum*. *Scientia Horticulturae* 125 305-308
3. CARTER, M.V. 1991. The status of *Eutypa lata* as a pathogen. CAB International.
4. ESKALEN, A.; GUBLER, W.D.; KHAN, A. 2001. Rootstock susceptibility to *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp. *Phytopathol. Mediterr.* 40 (suppl.) 433-438
5. FELICIANO, A.J.; ESKALEN, A.; GUBLER, W. D. 2004. Differential susceptibility of three grapevine cultivars to *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora* in California. *Phytopathol. Mediterr.* 43 66-69
6. FONTAINE, F. y ARMENGOL, J. 2014. Sustainable control of grapevine trunk diseases (COST Action FA1303). *Phytopathol. Mediterr.* 53 584-585
7. GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; RAPOSO, R.; ARMENGOL, J. 2010. Enfermedades fúngicas de la madera de la vid, In: *Enfermedades de las plantas causadas por hongos y oomicetos – Naturaleza y control integrado*. Phytoma España S.L. ISBN: 978-84-935247-5-3
8. GRAMAJE, D.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. 2010. Field evaluation of grapevine rootstocks inoculated with fungi associated with Petri disease and esca. *Am. J. Enol. Vitic.* 61 512-520
9. GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J. 2011. Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification and management strategies. *Plant Disease* 95 1040-1055
10. GRAMAJE, D. 2015. Manejo de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid en viveros y nuevas plantaciones. *Phytoma España* 274 83-85
11. HOFSTETTER, V.; BUYCK, B.; CROLL, D.; VIRET, O.; COULUOX, A.; GINDRO, A. 2012. What if esca disease of grapevine were not a fungal disease? *Fungal Divers.* 54 51-67
12. LEGORBURU, F.J.; MURUAMENDIARAZ, A.; LUQUE, J. 2014. Las enfermedades de la madera de la vid en planta adulta: aclarando nuestras ideas. *Tierras* 223 69-73
13. LOMBARD, L.; VAN DER MERWE, N.A.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. 2014. Lineages in Nectriaceae: re-evaluating the generic status of *Ilyonectria* and allied genera. *Phytopathol. Mediterr.* 53 515-532
14. LUQUE, J.; ELENA, G.; GARCÍA-FIGUERES, F.; REYES, J.; BARRIOS, G.; LEGORBURU, F.J. 2014. Natural infections of pruning wounds by fungal trunk pathogens in mature grapevines in Catalonia (Northeast Spain). *Aust J Grape Wine Res* 20 134-143
15. LUQUE, J. 2015. Control de las enfermedades de la madera de la vid (EMV) en planta adulta. *Phytoma España* 274 86-88
16. MARTÍN, M.T.; COBOS, R. 2007. Identification of fungal species associated with grapevine decline in Castilla y León (Spain). *Phytopathol. Mediterr.* 46 18-25
17. MOSTERT, L.; GROENEWALD, J.Z.; SUMMERBELL, R.C.; GAMS, W.; CROUS P.W. 2006. Taxonomy and pathology of *Togninia* (*Diaporthales*) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Stud. Mycol.* 54 1-113
18. MUGNAI, L.; GRANITI, A.; SURICO, G. 1999. Esca (black measles) and brown wood-streaking: Two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Dis.* 83 404-416
19. SPARAPANO, L.; GIOVANNI, B.; GRANITI, A. 2001. Three-year observation of grapevine cross-inoculated with esca-associated fungi. *Phytopathol. Mediterr.* 40 S376-S386

20. TRAVADON, R.; ROLSHAUSEN, P.E.; GUBLER, W. D.; CANDLE-DAVIDSON, L.; BAUMGARTNER, K. 2013. **Susceptibility of Cultivated and Wild *Vitis* spp. to Wood Infection by Fungal Trunk Pathogens.** Plant Dis 97 1529-1536
21. ÚRBEZ-TORRES, J.R.; LEAVITT, G.M.; VOEGEL, T.M. y GUBLER, W. D. 2006. **Identification and distribution of *Botryosphaeria* spp. associated with grape-vine cankers in California.** Plant Dis. 90 1490-1503
22. ÚRBEZ-TORRES, J.R. 2011. **The status of Botryosphaeriaceae species affecting grapevines.** Phytopathol. Mediterr. 50 S5-S45

6. Agradecimientos

Esta investigación está financiada por el proyecto INIA, de referencia: RTA2015-00015-C02-01, con un 80% de fondos FEADER.

María del Pilar Martínez Diz agradece al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), la concesión del contrato predoctoral FPI-INIA del que actualmente es beneficiaria.

ENOLOGÍA

Selección de cruces de Monastrell por métodos rápidos. Cosecha 2016

José Ignacio Fernández Fernández, Juan Corredor Cano, Ana Cebrián Pérez, José Cayetano Gómez Martínez, David Martínez Balsas, José Antonio Martínez Jiménez, M^a Gertrudis García Pérez, M^a Severa Palencia Sigüenza, Juan Carlos Carcelén Cutillas, Juan García Martínez, Juan Antonio Bleda Sánchez, M^o Rocío Gil Muñoz, Adrián Martínez Cutillas, Ana M^a Fuentes Denia, Isidro Hita Gambín, Eliseo Salmerón Gómez, Carlos Ventura Padilla, Leonor Ruiz García, Celia Martínez Mora

*Departamento de Viticultura y Enología. Laboratorio Enológico y Bodega Experimental. www.imida.es
Avenida de la Asunción n° 24 30520 JUMILLA (Murcia)
Teléfono: 968 75 75 80; Fax: 968 71 60 26
Correo: josei.fernandez@carm.es*

Resumen

Se ha procedido a la selección de cruces de Monastrell mediante análisis rápidos, consistentes en triturar la uva y analizar antocianos e índice de Folin por métodos automáticos en el centrifugado del triturado.

De un total de 2.678 individuos en campo, se numeran para su control 2.169. Los 509 restantes presentan un desarrollo vegetativo deficiente. De los 2.169 se llegaron a analizar 861. Los otros 1.308 presentaban deficiencias claras en producción (1.231) y coloración roja de la uva (77).

Se realiza una primera selección de 32 cruces para su estudio detallado en campo: producción, composición fenólica de la piel y pepita y equilibrio de acidez. Estos cruces presentan valores elevados de antocianos y polifenoles, con un valor medio de 649 m/L de antocianos y 4564 mg/L de catequinas, frente a los 324 mg/L de antocianos y los 2435 mg/L de catequinas obtenidos como valor medio de todos los cruces analizados.

1. Introducción

El trabajo se enmarca dentro del proyecto FEDER 14-20-04, Mejora de la vid y obtención de nuevas variedades de calidad resistentes a estreses bióticos y abióticos, dentro de su objetivo 2, mejora de la variedad Monastrell mediante la obtención de híbridos intraespecíficos resistentes a estreses bióticos y abióticos.

El objetivo global del proyecto consiste en la selección de cruces obtenidos a partir de la variedad Monastrell, que presenten una mayor calidad agronómica, que se adapten mejor a las condiciones de sequía y altas temperaturas de la zona (estreses abióticos), y que presenten mayor resistencia a enfermedades como el oídio y mildiu (estrés biótico). Como novedad, la calidad agronómica en este proyecto incluirá la generación y selección de variedades apirenas (ausencia de semillas) para vinificación, intentando paliar los inconvenientes que presenta la maduración de la pepita en zonas cálidas.

2. Material y Métodos

Dentro del programa de mejora de uva para vinificación, iniciado hace años, se han seleccionado en una primera fase (preselección 1) 44 cruces derivados de Monastrell, de los que se han injertado en campo entre 20-22 plantas de cada uno de ellos con el fin de poder realizar un estudio más exhaustivo basado en la calidad de la uva y vino resultante.

Este año 2016, se han analizado las uvas de los 44 cruces tintos ya seleccionados en años anteriores y se han elaborado 26 cruces. La metodología rápida del estudio en la calidad de la uva es la seguida por Fernández Fernández y col. 2014 y se completa con la composición fenólica total, medida por el método de Osvaldo Failla (2012). Los criterios de selección obedecen al potencial de concentración de los vinos, medido como índice de polifenoles totales e intensidad de color.

Entre estos 44 cruces obtenidos de Monastrell preseleccionados en la primera fase (preselección 1), se ha realizado una segunda selección (preselección 2) de 7 cruces tintos atendiendo a sus parámetros de calidad de la uva y los vinos elaborados durante los últimos tres años: MxS10, MxS11, MxC59, MxC80, MxC85, MxC94, MxC98. Estos híbridos proceden de cruzamientos entre Monastrell (M) con Syrah (S) y con Cabernet Sauvignon (C). De confirmarse los parámetros de calidad obtenidos durante varias campañas, estos 7 híbridos son candidatos a su registro varietal como nuevas obtenciones. Aquí se pueden añadir otros nuevos ya que hay preselecciones en las que sólo llevamos dos elaboraciones.

Además, tenemos un total de 2.678 vides plantadas en el año 2013, Figura 1, procedentes de cruzamientos entre cruces, ya seleccionados previamente de Monastrell con Cabernet Sauvignon y Monastrell con Syrah. En total este año 2016 se han controlado 2.169 individuos, los otros 509 cruces, presentaban problemas evidentes de desarrollo. De los 2.169, se han analizado 861 cruces. El resto, 1.247 tenía problemas de muy baja producción, menos de los 200 gramos para hacer posible una analítica, y los otros 61 presentaban problemas evidentes de coloración. Los 861 cruces dobles se analizaron con métodos rápidos.

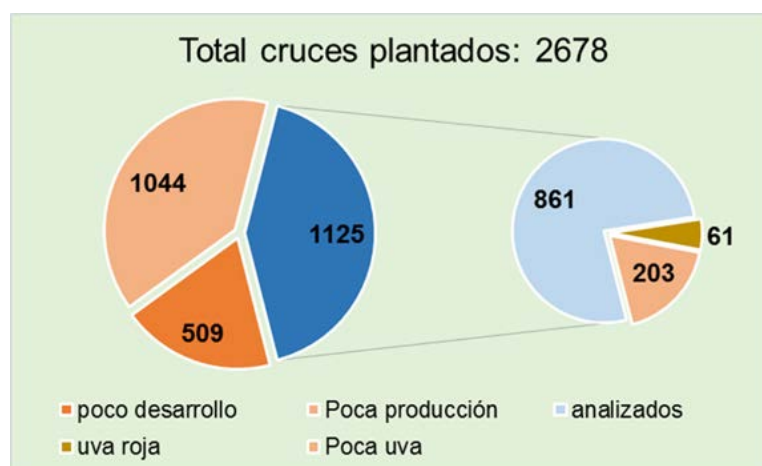


Fig. 1. Cruces dobles estudiados en 2016.

3. Resultados

Inicialmente los criterios de selección empleados corresponden a los establecidos en estudios anteriores (Fernández Fernández y col. 2014), figuran en la Tabla 1, y se basan en el análisis del contenido fenólico de la uva medido en el triturado y centrifugado de la misma.

Tabla 1. Criterios de selección

Criterio 1	Criterio 2	Criterio 3	
L*Triturado < 13,3	Antocianos (mg/L) Directo > 350	IPT Directo > 43	Catequinas (mg/L) > 2.400

La medida del IPT se ha cambiado por la determinación automática del Índice de Folin, expresado en catequinas (mg/L), que debe ser superior a 2.400. De todos los híbridos estudiados, Figura 2, hay un total de 165 cruces, el 19,2 %, cumplen los tres criterios. El valor del parámetro CIELab L*, se introdujo como un filtro inicial. De los 861 cruces analizados 205, el 23,8%, tienen un valor de L* mayor a 13,3, 485 (56,3%) tienen un valor de antocianos menor a 350 mg/L y 460, el 53,4%, tienen un valor inferior a 2.400 mg/L de catequinas.

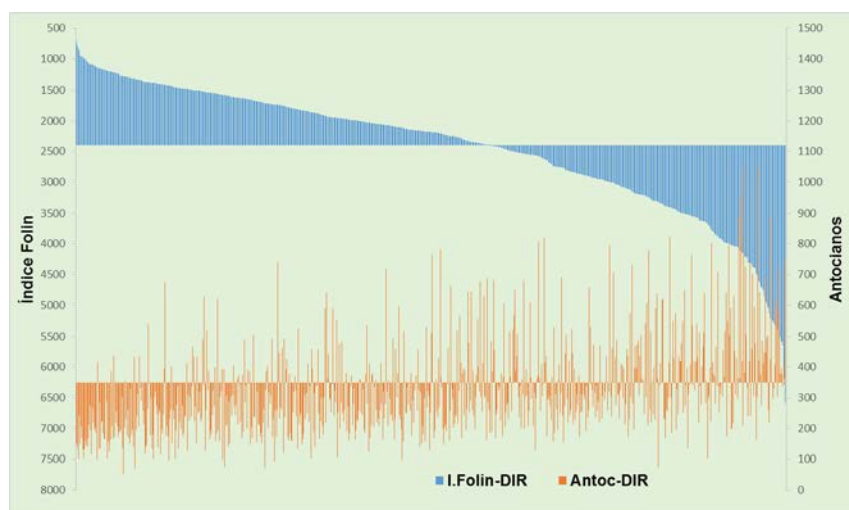


Fig. 2. Resultados obtenidos en las uvas de los cruces dobles estudiados en 2016.

En total se han seleccionado para un estudio detallado en la próxima campaña 32 cruces, teniendo en cuenta, además de su composición fenólica, la fecha de vendimia. Estos cruces Tabla 2, presentaban valores superiores a 500 mg/L de antocianos y de 4.000 mg/L de catequinas.

Tabla 2. Composición de la uva de los cruces dobles seleccionados en 2016.

Tipo Cruce	L* Trit.	Antoc DIR	I.Folin DIR	Be	Planta	Época Vendimia
MCS80-MSY49	7,6	693	4897	14,7	P13-F1-1	1
MCS59-MSY49	6,2	496	4966	13,0	P13-F1-27	2
MCS59-MSY49	7,2	623	5377	13,7	P13-F1-41	2
MCS59-MSY49	7,7	548	3993	13,2	P13-F1-60	4
MCS59-MSY49		593	5361	12,0	P13-F1-62	2

Tipo Cruce	L* Trit.	Antoc DIR	I.Folin DIR	Be	Planta	Época Vendimia
MCS19-MSY49	7,2	955	4137	14,3	P13-F1-86	2
MSY104-MCS56	3,9	704	4380	12,5	P13-F1-116	4
MSY104-MCS56	4,6	476	4403	13,0	P13-F2-6	2
MCS59-MSY49	6,3	805	3780	13,6	P13-F2-15	3
MCS59-MSY49	3,9	724	5470	15,3	P13-F2-119	2
MSY104-MCS56	8,3	884	4077	19,2	P13-F2-122	2
MSY104-MCS56	7,8	796	3993	16,8	P13-F2-146	2
MCS59-MSY49	8,3	577	5410	17,5	P13-F2-151	3
MCS59-MSY49	8,6	734	4315	14,2	P13-F3-31	2
MCS80-MSY49	6,4	1056	4534	14,4	P13-F3-61	2
MCS80-MSY49	9,9	724	4213	13,1	P13-F4-42	1
MCS80-MSY49	10,2	642	4635	14,7	P13-F5-58	1
MCS80-MSY49	10,1	516	3980	13,2	P13-F6-12	2
MCS80-MSY49	9,5	590	4015	12,7	P13-F6-13	3
MCS80-MSY49	8,7	507	4224	11,6	P13-F6-17	3
MCS59-MSY49	10,4	505	4008	12,7	P13-F6-58	3
MCS19-MSY49	10,2	595	4392	13,2	P14-F2-26	2
MCS59-MSY49	10,8	631	4035	12,5	P14-F2-85	5
MCS80-MSY49	9,5	1051	4147	14,0	P14-F3-142	4
MCS80-MSY49	10,1	487	4719	13,1	P14-F4-95	4
MCS59-MSY49		503	5039	12,9	P14-F4-156	2
MCS59-MSY49	3,9	642	3982	14,5	P14-F7-115	2
MCS80-MSY49	8,9	451	4040	12,7	P14-F8-47	2
MCS80-MSY49	5,5	748	6592	12,6	P14-F8-81	2
MCS59-MSY49	9,7	708	3873	11,8	P14-F8-86	4
MCS80-MSY49	8,3	356	6744	9,6	P14-F8-100	2
MCS80-MSY49	11,3	461	4330	10,9	P14-F9-94	3

El año 2015, Gráfico 3, se procedió a una primera selección de aquellos cruces con más de tres años elaborados (Fernández, J.I. y col. 2016). Además de los criterios de concentración, se tuvo en cuenta la fecha de vendimia, tal que se seleccionan para cada una de ellas. A estos cruces se les está haciendo un estudio ampelográfico, con el fin de realizar los trámites necesarios para su inscripción como nuevas variedades. Además de los valores de IPT e intensidad de color, se pueden ver los datos de producción en kilos por cepa, en el eje inferior y el peso de 100 granos en el eje superior.

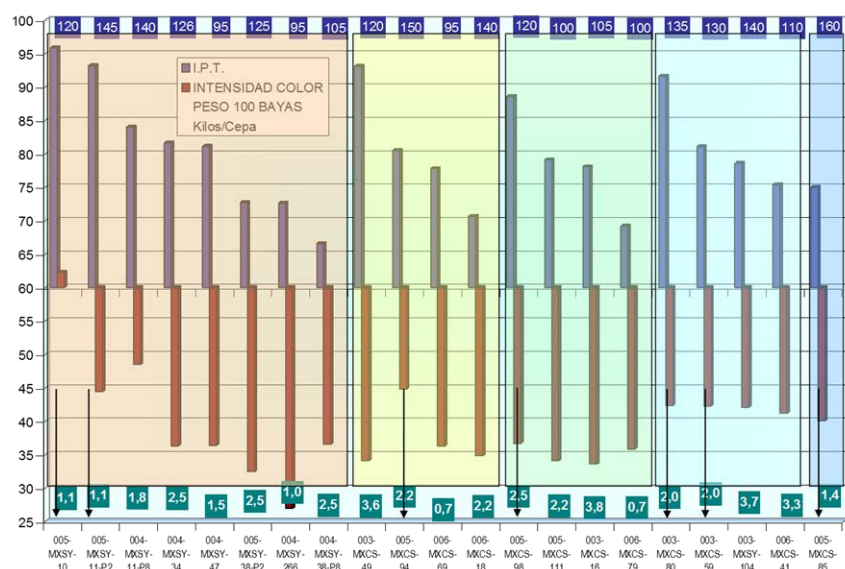


Fig. 3. Valores medios de las elaboraciones 2013, 2014 y 2015.

Este año 2016, se han elaborado 26 cruces, Tabla 3. Llama la atención los valores del Índice de Folin en uvas que por el método directo son sensiblemente inferiores a los obtenidos para los cruces dobles seleccionados, 1.609 mg/L frente a 4.500 mg/L, respectivamente. Los valores obtenidos por el método de extracción más completo de Osvaldo-Failla (2012), son superiores a 2.500 mg/Kg de uva de compuestos fenólicos totales y 1500 mg/Kg de uva de antocianos totales, con valores medios de 3.471 y 2.604, respectivamente.

Tabla 3. Composición de la uva y vino de los cruces elaborados en 2016.

CRUCE	Kilos Cepa	Peso 100 Granos	Antocianos mg/L vino	IPT vino	IColor vino	Antocianos mg/Kg Uva	CFT mg/Kg Uva	Antocianos uva	Índice Folin uva
MXCS-4	1,96	103,0	494	47,6	15,5	1537	2037	91	783
MXSY-160	1,68	121,3	716	51,3	14,5	1165	2155	172	1132
MXSY-11P12	0,71	86,8	1413	69,8	35,5	3432	3947	606	1703
MXB-77	2,33	89,1	1242	73,3	32,3	2451	3369	500	1489
MXCS-94	3,15	114,6	1635	74,5	44,8	2707	4079	407	1375
MXSY-124	2,21	92,0	1118	74,6	27,2	2008	3209	341	2276
MXSY-266	1,04	89,4	1045	76,4	27,9	2372	3430	460	1831
MXSY-47	2,20	94,0	1235	77,9	33,5	2484	3121	401	2060
MXCS-16	3,54	88,3	1549	78,1	42,8	3239	4021	428	1625
MXSY-104	3,19	116,2	1973	78,5	53,5	3164	4368	451	1313
MXCS-18	2,32	87,9	1529	78,9	44,1	2233	3912	353	1644
MXSY-38P12	3,18	99,1	1636	79,0	44,3	3186	3728	425	1208
MXCS-41	2,13	100,0	1378	80,0	35,6	2701	3933	379	1902
MXCS-49	3,52	96,3	1340	82,2	34,6	2623	4280	534	1451
MXSY-11P52	0,87	132,0	1589	83,9	43,0	2809	2970	458	1298
MXSY-38P52	2,10	87,0	1656	83,9	42,5	2983	3175	481	1329
MXCS-69	2,48	82,4	1226	84,1	33,7	2354	4104	255	2385

CRUCE	Kilos Cepa	Peso 100 Granos	Antocianos mg/L vino	IPT vino	IColor vino	Antocianos mg/Kg Uva	CFT mg/Kg Uva	Antocianos uva	Índice Folin uva
MXSY-34	1,83	114,1	1448	85,8	37,4	2936	3541	318	1520
MXCS-85	1,81	108,3	1774	86,2	54,1	1913	2226	289	1056
TXCS-84	1,76	111,7	1606	86,5	46,5	2149	2419	348	1289
MXSY-10	2,33	109,8	2017	93,5	60,9	3279	4041	299	2225
MXCS-79	1,47	80,8	1798	96,4	55,6	2422	3120	284	1145
MXCS-111	2,80	64,6	1878	99,2	55,4	3390	3283	457	1732
MXCS-98	3,14	121,7	1738	101,5	45,5	2596	3000	326	1759
MXCS-59	0,61	93,5	1616	102,0	52,6	2975	4915	509	2034
MXCS-80	1,36	104,6	1683	105,3	53,4	2588	3863	307	2274
<i>medias</i>	2,14	99,6	1474	81,9	41,0	2604	3471	380	1609

La figura 4 muestra los valores obtenidos en los vinos. La intensidad de color en el eje izquierdo, en orden inverso y el eje cruza en el valor 40. El eje, para el índice de polifenoles totales, cruza en 80. Hay cruces que tienen valore muy importantes, tantos de polifenoloes como de intensidad de color, que lo tendrán que confirmar en una tercera elaboración a realizar el próximo año. Los valores medios obtenidos son, para el IPT 81,9, la intensidad de color 41,0 y los antocianos 1.474. Estos valores corresponden al final de la fermentación alcohólica y aunque cabe esperar una disminución de los mismos, los resultados seguirán siendo altos.

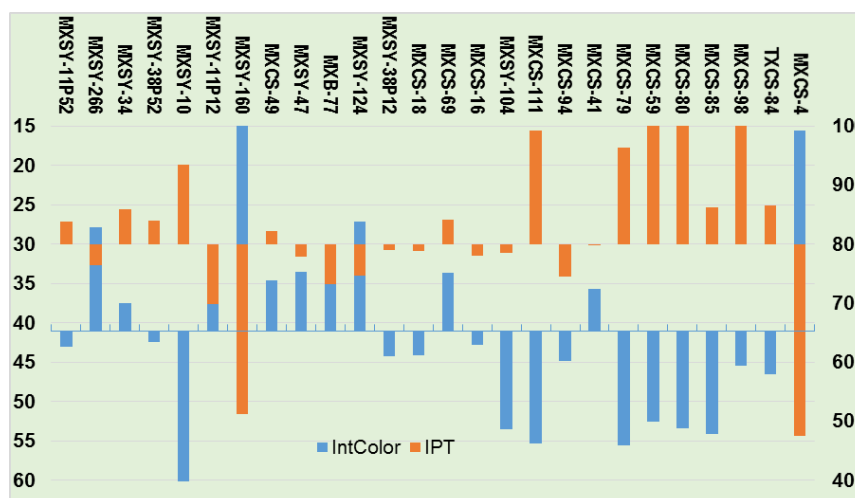


Figura 4. IPT e intensidad de color de los vinos al final de fermentación alcohólica.

4. Conclusiones

Es necesario una última elaboración de aquellos cruces que sólo tienen dos años para acabar de confirmar su potencial, que nos permita comparar todos los cruces que se van a seleccionar en igualdad de condiciones, y en función de la época de vendimia, elegir uno para su registro como variedad.

Se han seleccionado 32 cruces dobles para un estudio más en profundidad el año próximo, en donde incluiremos los datos de composición fenólica total y datos agronómicos de producción y tamaño de racimo, así como parámetros de acidez del mosto.

5. Bibliografía

OSVALDO FAILLA. 2012. **Phenotyping trial 2012. Protocols for phenotyping berry enological traits**. <http://www.diprove.unimi.it/GRAPENET/protocols.php>.

FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, JOSÉ IGNACIO Y COL. 2014. **Criterio de selección de cruces de Monastrell basados en análisis rápidos**. 29ª Reunión anual del grupo del grupo de trabajo de experimentación en viticultura y enología. Mayo de 2014. Logroño.

FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, JOSÉ IGNACIO Y COL. 2016. **Cruces tintos de Monastrell. Elaboraciones 2013, 2014 y 2015**. XXXII Jornada de transferencia de resultados de investigación. Departamento de viticultura IMIDA-UMU. 2 de junio 2016, jumilla

Perfil aromático de variedades tintas cultivadas en Galicia

M.Pilar Martínez-Díz¹, Emilia Díaz-Losada¹, Angela Díaz-Fernández¹, Sandra Cortés Diéguez²

¹Estación de Viticultura e Enoloxía de Galicia-INGACAL. Ponte San Clodio s/n 32428 Leiro-Ourense. 988788086
E-mail: emilia.diaz.losada@xunta.es

²Laboratorio de Biotecnología Agroalimentaria, CITI-Tecnópole, Parque Tecnológico de Galicia, Universidad de Vigo, San Cibrao das Viñas, Ourense, España.

Resumen

Galicia posee un extenso potencial varietal para la elaboración de vinos tintos mono y plurivarietales de calidad diferenciada. Sin embargo, el vino tinto gallego se elabora con dos variedades mayoritariamente, 'Mencia' y 'Garnacha Tintorera' ('Alicante' Henri Bouschet). Las demás se consideran minoritarias, con superficies de cultivo inferior al 2% y participan como tales en elaboraciones plurivarietales por lo que no llegan a mostrar su singularidad enológica ni aromática. Estas variedades enriquecen la mezcla con una determinada composición química, fenólica y aromática que incide en el perfil final del vino y le aportan una personalidad única, frente a vinos monovarietales similares. En este sentido y, con la finalidad de potenciar el uso de estas variedades minoritarias se están llevando a cabo estudios de cara a remarcar tanto su valor agronómico como enológico. Bajo esta premisa, en este estudio se ha determinado mediante CG-MS la composición aromática de las uvas de dos variedades tintas de cultivo minoritario en Galicia, 'Castañal' y 'Merenzao', recogidas en la fecha óptima de vendimia tecnológica en las campañas 2015 y 2016. Los resultados obtenidos muestran, frente a otras variedades tintas cultivadas en Galicia, una menor aromaticidad de la variedad tinta 'Merenzao'. Los compuestos identificados pertenecen a 94 familias químicas, siendo los englobados dentro de los grupos C₆ y C₉ los más abundantes. Terpenos y C₁₃ norisoprenoides predominan en las uvas de la variedad 'Castañal', lo que, a priori, implica una mayor aromaticidad de dicha variedad tinta. En la cosecha 2016 se ha constatado una pérdida de compuestos varietales libres en ambas variedades, directamente correlacionado con una excesiva maduración de la uva.

1. Introducción

Galicia cuenta con una treintena de variedades para vinificación sin embargo la producción vitivinícola está centrada en un escaso número de estos cultivares. Los vinos blancos se elaboran fundamentalmente con 'Albariño', 'Treixadura' y 'Godello', y los tintos a partir de uva de la variedad 'Mencia', y 'Garnacha Tintorera' (Alicante Henri Bouschet) bien como vinos monovarietales o bien en plurivarietales. Las demás se consideran minoritarias, con superficies de cultivo inferior al 2%.

En los últimos años hay una búsqueda de un producto diferenciado mediante la utilización de otras variedades, que le aporten al vino matices particulares. Algunas bodegas están apostando por elaboraciones con variedades minoritarias como 'Brancellao', 'Merenzao', incluyéndolas en mezclas o en vinificaciones monovarietales.

La calidad del vino está íntimamente relacionada con la composición volátil responsable del aroma y esta proviene en gran medida de las características inherentes a la composición de la uva. La caracterización analítica de la misma, es fundamental a fin de determinar las mejores condiciones de vinificación y, así mismo de poder emplear dichos datos como herramienta para su diferenciación.

La evaluación de la composición aromática, tanto en vinos como en uvas tintas, no es tan habitual como en variedades blancas. No obstante, con respecto a las variedades de cultivo tradicional en Galicia, se puede citar diversos trabajos, entre ellos la evaluación de la composición volátil de vinos monovarietales de 'Brancellao', 'Mencia', 'Merenzao', 'Mouratón' y 'Sousón' (Vilanova et al. 2012); el estudio, en dos posiciones del racimo: extremo y hombros, de los compuestos volátiles varietales en uvas de 'Brancellao', 'Mouratón' y 'Gran Negro' (Noguerol- Pato, et al., 2011, 2012); y el análisis cuantitativo de compuestos volátiles mayoritarios, responsables del aroma primario de vinos elaborados con 'Caiño Tinto', 'Caiño Longo', 'Caiño Bravo' y 'Caiño da Terra' (Cortés-Diequez et. al. 2015).

En el año 2013, en el marco del Programa de Desarrollo Rural, se inició un proyecto de puesta en valor de las variedades de cultivo tradicional de Galicia. Las campañas 2015 y 2016 se centraron en el estudio de la composición aromática de las uvas, de cara a proporcionar al enólogo información que puede ser de utilidad a la hora de orientar la elaboración.

En este trabajo se muestran los resultados para dos de las variedades estudiadas: Merenzao y Castaña.

'Merenzao' es una variedad de maduración temprana y de producción media baja si la comparamos con la variedad 'Mencia'. Se cultiva fundamentalmente en la región oriental gallega, y está considerada como preferente para la elaboración de vino en las DDOO Monterrei y Ribeira Sacra. Estudios genéticos corroboran su sinonimia con la variedad francesa 'Trousseau', y su agrupamiento con las variedades 'Mencia', 'Mouratón' y 'Albarín Tinto' (sinonimia 'Tinto Serodo') entre otras (Díaz et al., 2012).

La variedad 'Castaña' se cultiva exclusivamente en la zona del Rosal (Rías Baixas), y aunque conocida por tradición en Galicia, ha sido recientemente incorporada al potencial vitivinícola de la región. Está autorizada para la elaboración de vino en la Denominación de Origen Rías Baixas. Es una variedad de maduración tardía y de producción media en relación a 'Mencia'. Estudios genéticos demuestran su relación con otras variedades cuyo origen genético es 'Caiño Bravo' (Díaz et al. 2012).

2. Material y Métodos

Material vegetal

Las uvas tintas de las variedades 'Castaña' y 'Merenzao' utilizadas en este estudio se encuentran conservadas en el Banco de Germoplasma de la Vid de la finca experimental de la Estación de Viticultura y Enología de Galicia (EVEGA) situada en Leiro-Ourense-Galicia. Ambas variedades se encuentran cultivadas sobre el mismo portainjerto 196-17C (Vinifera x Rupestris x Verlandieri), conducidas en espaldera, con una densidad de plantación de 1,2 x 1,8 m con formación en cordón Royat, y poda a pulgares de una o dos yemas vista (media de 12 yemas por planta). Las uvas de ambos cultivares fueron sometidas a los mismos tratamientos fitosanitarios. La orientación de las filas en la parcela es de Este-Oeste.

La recogida de las muestras de uva, en las cosechas 2015 y 2016, se llevó a cabo manualmente, fijándose la fecha de vendimia en función del contenido en azúcar, de la acidez, del estado sanitario de la uva y de la maduración fenólica, tras un seguimiento del proceso de maduración, llevado a cabo durante varios muestreos semanales efectuados desde el envero.

Las muestras de uva se recogieron siguiendo un protocolo de muestreo que permitiese la obtención de una muestra representativa teniendo en cuenta la heterogeneidad de maduración en la viña.

100 bayas de cada variedad y, por duplicado, se congelaron inmediatamente para la posterior determinación de los compuestos aromáticos varietales. Con el resto de uva recogida se elaboró un mosto para la determinación de los parámetros analíticos básicos: pH, grado probable, ácido málico y acidez total.

Metodología analítica

Parámetros Clásicos

El grado alcohólico probable en el mosto se determinó por refractometría digital (refractómetro manual de HANNA), el pH mediante potenciometría utilizando un electrodo combinado de pH, el ácido málico mediante un método enzimático-espectrofotométrico y la acidez total se determinó por valoración ácido-base con detección potenciométrica (valorador automático Crison modelo Titromatic 1S, con electrodo combinado de pH).

Determinación de compuestos aromáticos varietales mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-MS)

La fracción libre del aroma en uvas de Castañal y Merenzao se llevó a cabo mediante extracción en fase sólida siguiendo el método propuesto por Diéguez et al. (2003).

El extracto que contiene los compuestos aromáticos varietales se inyecta, en modo splitless, en un cromatógrafo de gases Agilent 7820A acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5975 Series. La separación de los distintos compuestos volátiles se llevó a cabo en una columna capilar de Zebron ZB-WAX (60 m x 0.25 mm x 0.25 μ m). La temperatura del horno se programó a 40°C durante 5 minutos seguido de incremento de temperatura hasta 250 °C a razón de 3°C min⁻¹. El gas portador fue H₂, trabajando a flujo constante de 1.2 mL min⁻¹. T^a inyector=250 °C, T^a detector=260 °C.

La identificación de los compuestos volátiles se llevó a cabo por comparación de su espectro de masas y su tiempo de retención con el del compuesto puro o con el correspondiente espectro de la librería NIST. Todos los compuestos fueron cuantificados respecto al 3-octanol, utilizado como patrón interno.

Tratamiento Estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo aplicando el programa XLstat-Pro (Addinsoft). Se efectuó un estudio de correlación entre los parámetros clásicos y los compuestos volátiles y un análisis de componentes principales para intentar caracterizar y diferenciar ambos cultivares en función de la contribución de cada una de las familias de compuestos volátiles varietales identificados.

3. Resultados

Parámetros clásicos

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para los parámetros físico-químicos determinados en mosto en fecha de vendimia de ambas cosechas, 2015 y 2016 y para ambos cultivares.

Tabla 1. Valor medio para los parámetros clásicos en los cultivares Merenzao y Castañal

	Fecha vendimia	°Brix	Azúcar (g/L)	Alcohol (% vol)	Acidez	málico	pH	
2015	Mencia	7-sep	21.6	210.3	12.49	3.9	2.4	3.7
	Merenzao	1-sep.	21.4	207.9	12.35	6.3	2.6	3.20
	Castañal	22-sep.	18.3	172.6	10.25	5.7	2.2	3.68
2016	Mencia	15-sep	20.7	200.0	11.88	3.6	1.8	3.76
	Merenzao	8-sep.	24.9	248.7	14.78	4.1	1.2	3.60
	Castañal	29-sep.	21.3	206.8	12.29	4.4	1.9	3.62

Los resultados obtenidos para los parámetros clásicos en mosto de los cultivares Merenzao y Castañal muestran, para ambas cosechas, como el cultivar Merenzao es de maduración más temprana, unos 20 días, antes que Castañal.

Entre cosechas se observa que las condiciones climáticas en 2016 han propiciado una mayor maduración de ambos cultivares, con valores considerablemente superiores en el contenido probable de alcohol. Este dato, junto con una acentuada reducción en el valor de acidez total, aconsejaría adelantar la fecha de vendimia para mantener un mayor equilibrio entre ambos parámetros analíticos, principalmente en el caso de la variedad Merenzao. Por otro lado, dicho exceso de maduración va asociado con un incremento notable del pH, lo que repercutirá en las condiciones de elaboración y en calidad final del vino.

En la misma tabla se incluyen, a modo comparativo, los resultados obtenidos para el cultivar Mencia, por ser de cultivo mayoritario en Galicia y el que se utiliza de modo tradicional en la elaboración de la casi totalidad de los tintos monovarietales gallegos. Los resultados muestran como, la uva del cultivar Mencia es de maduración intermedia alcanzando, en fecha de vendimia, valores de acidez total más baja, pero manteniendo un importante contenido en ácido málico, respecto a las otras dos variedades. Desde el punto de vista enológico, los resultados obtenidos indican la buena aptitud de los cultivares Merenzao y Castañal, para la elaboración de vinos tintos, bien monovarietales o bien integrados en una mezcla aportando complejidad y equilibrio analítico.

Aroma varietal

En la Figura 1 se muestran, agrupados en familias químicas, los resultados obtenidos para los compuestos varietales libres determinados en las uvas de Castañal y Merenzao. Se observan diferencias en la contribución aromática entre ambas variedades, tanto en lo que se refiere a la presencia de compuestos volátiles como a su contenido.

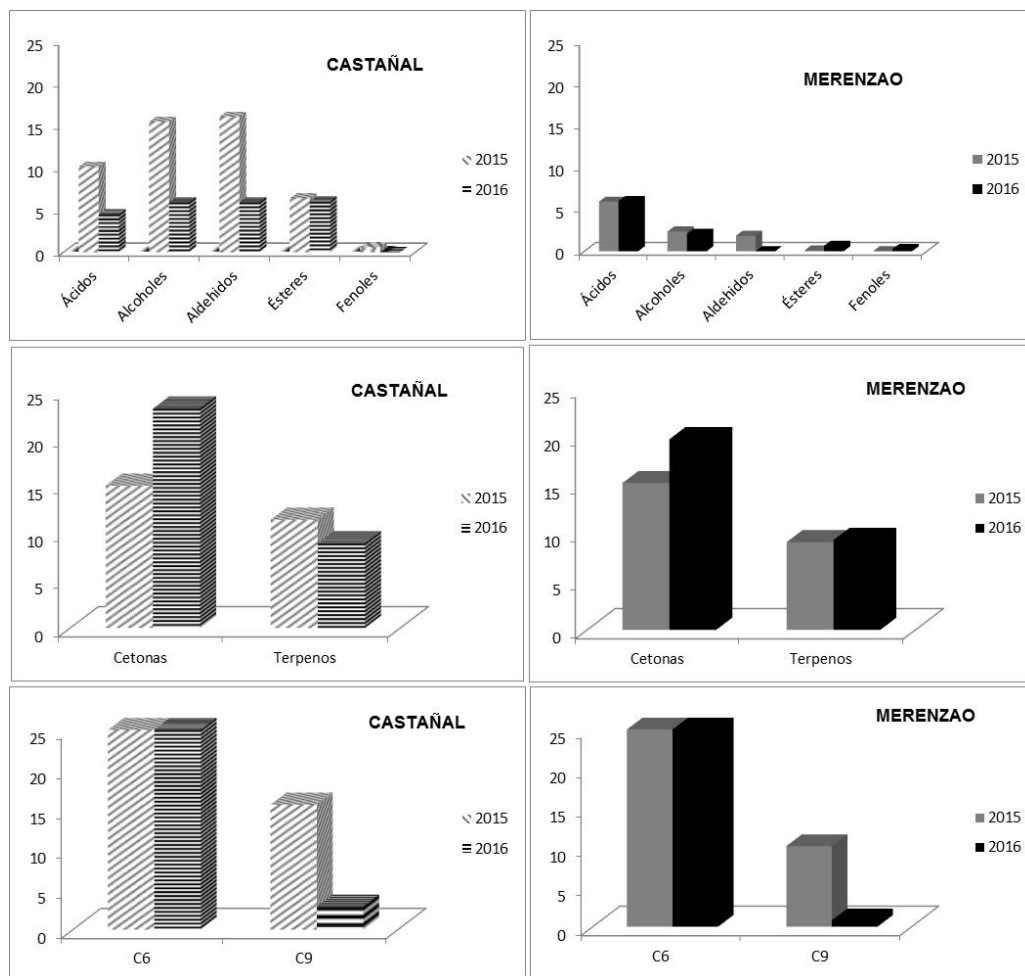


Fig. 1. Composición volátil (µg/L) de las variedades 'Castañal' y 'Merenzao'

Los resultados indican que los compuestos varietales de ambos cultivares se pueden agrupar en 9 familias químicas: ácidos, alcoholes, ésteres, fenoles, aldehídos, terpenos, cetonas, compuestos C₆ y compuestos C₉, siendo los compuestos en C₆ y C₉ los más abundantes. Entre cosechas se observa una considerable pérdida de aromaticidad en 2016, principalmente para la variedad Castañal, donde se pasó de un total de 51 compuestos identificados en 2015 a sólo 30 en 2016. Esta reducción se refleja principalmente en el contenido en terpenos, lo que redundará en una considerable disminución de aroma en el vino resultante. Esta situación afectará tanto a la intensidad como a la complejidad, al verse disminuida la concentración y la presencia de varios de los compuestos de la mayoría de la familias químicas evaluadas.

En el caso de la variedad Merenzao, se observa como en el año 2016 el total de compuestos varietales incrementan su presencia y concentración respecto al año anterior, pasando de 39 compuestos identificados a 44. Este incremento se produce en compuestos de tipo ácido, alcoholes y cetonas, pero, sin embargo, se pierde presencia en compuestos de tipo terpeno, lo que se traduce en una pérdida de calidad aromática.

Frente a los 23 compuestos comunes para ambas variedades en 2015, en la cosecha 2016 sólo 10 de ellos están presentes en Merenzao y Castañal y pertenecen, principalmente, a las familias de compuestos C₆ y C₉. Compuestos C₆ son los que más contribuyen al aroma de

variedades neutras, aportando notas vegetales y herbáceas. Algunos autores han utilizado este grupo de compuestos, especialmente la relación C6/C9 para establecer clasificaciones varietales (Oliveira et al., 2004) ya que estos compuestos se forman a partir de los ácidos linoleico y linolénico presentes en la uva. E-2-hexenal es el compuesto mayoritario de este grupo dentro de las uvas de la variedad Merenzao y coincide con los datos aportados por otros autores para variedades como Brancellao (Noguerol-Pato et al., 2012). Dentro de los alcoholes es importante la contribución de 2-feniletanol, presente en ambas variedades, pero que disminuye considerablemente su presencia en 2016.

De los norisoprenoídeos, β -damascenona tiene un papel importante en el aroma dado que aporta notas de tipo floral y a frutas exóticas y potencia las notas afrutadas de otros compuestos. El contenido de este compuesto en 2015, es superior para la variedad 'Castañal' (0.91 $\mu\text{g/L}$) frente a 'Merenzao' (0.65 $\mu\text{g/L}$). En ambos casos supera el umbral de percepción (0.05 $\mu\text{g/L}$ en agua), por lo que tendrá una contribución directa al aroma, con notas a frambuesa y cereza. Sin embargo, no se detecta β -damascenona en ninguno de los dos cultivares en la cosecha 2016, con la consiguiente pérdida aromática.

Los compuestos terpénicos aportan aromas frutales y afrutados incluso a concentraciones bajas, debidos a su bajo umbral de percepción. Los resultados para 2015, indican un mayor número de compuestos terpénicos libres en uvas de la variedad 'Castañal' (9.3% del global), donde destaca la presencia de ψ -cumene (9.36 $\mu\text{g/L}$), m-cymene (0.31 $\mu\text{g/L}$), levomentol (0.28 $\mu\text{g/L}$), estragol (0.25 $\mu\text{g/L}$), dihidrocarveol (0.11 $\mu\text{g/L}$), camphor (0.08 $\mu\text{g/L}$), que aportarán notas especiadas y mentoladas, así como de β -linalol (0.08 $\mu\text{g/L}$), con aroma a rosa. La variedad 'Merenzao', menos terpénica (7.4%), contiene en su composición β -cymene (0.534 $\mu\text{g/L}$), α -terpineol (0.321 $\mu\text{g/L}$) y anethol (0.351 $\mu\text{g/L}$). En 2016, el contenido en compuestos terpénicos disminuye para la variedad Castañal, principalmente por la desaparición de algunos monoterpenos, mientras que otros importantes para el aroma como el β -linalol (0.107 $\mu\text{g/L}$) y el trans-2,7-Dimethyl-3,6-octadien-2-ol (0.217 $\mu\text{g/L}$) llegan a duplicar su presencia respecto a 2015. En el caso del Merenzao, compuestos como el α -terpineol en 2016 desaparecen en favor del β -linalol (0.146 $\mu\text{g/L}$), que al tener un umbral de percepción menor, supone una mejora en el aroma. El resto de familias de compuestos identificados contribuyen también al aroma varietal de ambas variedades pero en menor medida.

A la vista de los resultados obtenidos es interesante evaluar el contenido en precursores aromáticos de las uvas para determinar la influencia de la cosecha en su composición, evaluar el verdadero potencial aromático de las mismas y adaptar las condiciones de elaboración que permitan su liberación en el vino.

Con vistas a justificar este cambio en el perfil aromático de ambos cultivares se llevó a cabo un tratamiento estadístico para correlacionar los parámetros analíticos y los compuestos varietales. Los resultados de la Tabla 2 muestran como el incremento de maduración de la uva, reflejado en un incremento en el valor del grado Brix se correlaciona negativamente con el contenido en la mayoría de las familias de aromas varietales, aspecto especialmente negativo en el caso de los ésteres ($r=-0.700$) y de los terpenos ($r=-0.697$), mientras que dicha correlación es positiva con los compuestos en C6 ($r=0.939$). Esto lleva a aconsejar adelantar la fecha de vendimia para ambas variedades a fin de mantener su aromaticidad varietal.

Tabla 2. Matriz de correlación

	Ácidos	Alcoholes	Aldehidos	Ésteres	Cetonas	Terpenos	C6	C9	Fenoles
Grado Brix	-0,654	-0,852	-0,898	-0,700	0,471	-0,697	0,939	-0,871	-0,431
Acidez Malico	0,422	0,245	0,296	-0,132	-0,851	0,318	-0,459	0,832	0,060
pH	0,231	0,261	0,340	0,090	-0,602	0,176	-0,682	0,749	-0,141
	0,328	0,571	0,519	0,712	0,412	0,468	-0,143	-0,126	0,603

Se llevó a cabo, asimismo, un análisis de componentes principales para intentar caracterizar y diferenciar ambos cultivares. Los resultados se muestran en la Figura 2. De acuerdo con los resultados obtenidos del ACP, las dos primeras componentes, F1 y F2, permiten explicar el 89.71 % del total de la varianza (69.84 % F1 y 19.87% F2). La variedad Castañal es la que más acusa la diferencia de cosecha, con una pérdida notable de aromaticidad en 2016, principalmente con una correlación negativa con los compuesto terpénicos que la caracterizaban en 2015. Por el contrario, la variedad Merenzao, a priori, menos aromática que la Castañal, mantiene una correlación similar con las familias de compuestos estudiadas, dada la influencia que en su composición tienen los compuestos C₆ y las cetonas en 2016. La pérdida de compuestos varietales en la uva de Castañal 2016 aproxima su composición a la de la uva Merenzao, inicialmente más neutra.

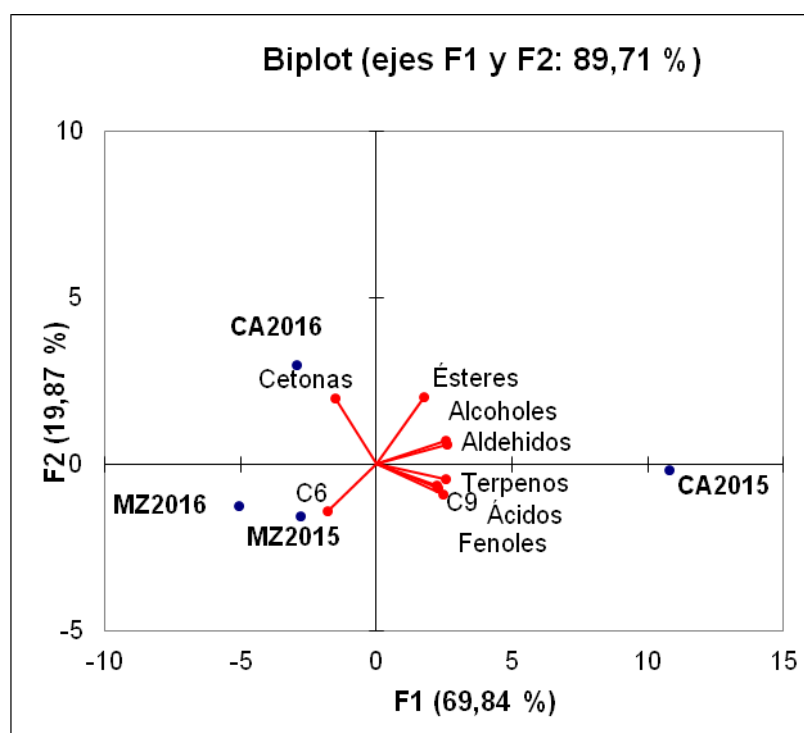


Fig. 2. Análisis de componentes principales (ACP) entre cultivares (MZ= Merenzao, CA= Castañal) y aromas varietales

4. Conclusiones

El estudio analítico del mosto de las variedades Merenzao y Castañal indica la buena aptitud que presentan estas variedades para la elaboración de vinos tintos, tanto como monovarietales o bien integrados en una mezcla aportando complejidad y equilibrio analítico. Merenzao destaca por su potencial alcohólico y una maduración temprana mientras que Castañal destaca por su potencial aromático. En condiciones adecuadas de maduración Castañal presenta un mayor número de compuestos terpénicos relacionados con aromas florales y afrutados, principalmente de tipo cítrico.

5. Bibliografía

1. CORTÉS-DIEGUEZ, S.; RODRÍGUEZ-SOLANA, R.; DOMINGUEZ, J.M.; DÍAZ, E. 2015. **Impact odorants and sensory profile of Young red wines from four Galician (NW of Spain) traditional cultivars.** J.Inst. Brew. 121 628-635
2. DÍAZ, E.; TATO, A.; RAMOS, A.M.; DÍAZ, B.; PEREIRA, S. 2012. **Genetic and geographical structure in grapevines from northwestern Spain.** Ann. Appl. Biol. 161 24-35
3. DIÉGUEZ, S. C.; LOIS, L. C.; GÓMEZ, E. F.; DE LA PEÑA, M. L. 2003. **Aromatic composition of the Vitis vinifera grape Albariño.** LWT-Food Sci. Technol. 36 585-590
4. GÓMEZ, E.; MARTÍNEZ, A.; LAENCINA, J. 1995. **Changes in volatile compounds during maturation of some grape varieties.** J. Sci. Food Agric. 67 229-233
5. NOGUEROL-PATO, R.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; CANCHO-GRANDE, B.; SANTIAGO JL.; MARTÍNEZ, MC.; SIMAL-GÁNDARA, J. 2011. **Floral, Spicy and Herbaceous Active Odorants in Gran Negro Grapes From Shoulders and Tips Into the Cluster, and Comparison With Brancellao and Mouratón Varieties.** Food Chem 135 (4) 2771-2782
6. NOGUEROL-PATO, R.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; CANCHO-GRANDE, B.; SANTIAGO JL.; MARTÍNEZ, MC.; SIMAL-GÁNDARA, J. 2012. **Aroma Potential of Brancellao grapes from different cluster positions.** Food Chem, 132 (1) 112-124
7. OLIVEIRA, J. M.; ARAÚJO, I. M.; PEREIRA, O. M.; MAIA, J. M.; AMARAL, A. J.; MAIA, M. O. 2004. **Characterization and differentiation of five "Vinhos Verdes" grape varieties on the basis of monoterpenic compounds.** Anal. Chem. Acta. 513 269-275
8. VILANOVA, M.; CAMPO, E.; ESCUDERO, A.; GRAÑA, M.; MASA, A.; CACHO, J. 2012. **Volatile composition and sensory properties of Vitis vinifera red cultivars from North West Spain: Correlation between sensory and instrumental analysis.** Analytica Chimica Acta 720 104-111

6. Agradecimientos

Este trabajo es financiado por el Programa de Desarrollo Rural en la sub-medida M10.2.2. de apoyo a la conservación de recursos genéticos en la agricultura. M. Pilar Martínez Diz agradece al INIA la concesión del contrato predoctoral FPI-INIA del que actualmente es beneficiaria.

Potencial de variedades de uva blanca y tinta de Castilla y León para la elaboración de vinos espumosos naturales

Silvia Pérez-Magariño ¹, Marta Bueno-Herrera ¹, Carlos González-Huerta ¹, Leticia Martínez-Lapuente ², Zenaida Guadalupe ², Belén Ayestarán ²

¹ Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Consejería de Agricultura y Ganadería. Ctra Burgos Km 119, Finca Zamadueñas. 47071 Valladolid. Teléfono: 983415245; E-mail: permagsi@itacyl.es

² Instituto de las Ciencias de la Vid y del Vino (Universidad de la Rioja, CSIC y Gobierno de la Rioja). C/ Madre de Dios 51, 26006 Logroño.

Resumen

Se ha estudiado el potencial de diferentes variedades de uva blanca y tinta procedentes de Castilla y León para la elaboración de vinos espumosos blancos, rosados y tintos naturales, siguiendo el método tradicional o "champenoise". Este trabajo forma parte de un proyecto más amplio, y se centra en el estudio de la composición volátil, las propiedades de la espuma y el análisis sensorial de los vinos espumosos elaborados. Las variedades de uva Albarín, Verdejo, Godello, Prieto picudo y Tempranillo resultaron las más interesantes para elaborar vinos espumosos naturales, tanto por su composición aromática como por las características espumantes, que fueron similares a las obtenidas con variedades de uva utilizadas en la elaboración de cavas o "champagnes".

1. Introducción

Castilla y León es una Comunidad Autónoma con una gran tradición vitivinícola, que cuenta con diversas zonas, y con un gran número de variedades autóctonas perfectamente adaptadas a cada zona de cultivo. Algunas de estas variedades pueden ser interesantes para la elaboración de vinos espumosos naturales de calidad, ya que dan lugar a vinos con una acidez relativamente elevada, alcanzan una graduación alcohólica moderada y son frescos en boca y con aromas finos y afrutados en nariz. La elaboración de vinos espumosos a partir de variedades autóctonas puede resultar de interés para la región y para el sector vitivinícola, ya que permite ampliar la oferta de productos y con ello la posibilidad de abrir nuevos mercados.

El vino espumoso natural elaborado siguiendo el método tradicional o "champenoise" sufre una segunda fermentación en botella y posterior crianza sobre lías durante al menos nueve meses desde el tiraje hasta el degüello, que es el tiempo mínimo legal establecido para vinos espumosos de calidad (Reglamento CE Nº 606/2009). Durante este tiempo, se produce la autólisis de las levaduras que es un proceso natural, pero lento, que dura varios meses. La autólisis produce la liberación de diversos compuestos, que traen consigo cambios importantes en las características de la espuma y en la calidad de los vinos espumosos (Alexandre y Guilloux-Benatier, 2006).

El aroma y la espuma son de los atributos más importantes que influyen en la calidad de un vino espumoso, y que se modifican durante el tiempo de crianza sobre lías en la botella (Riu-Aumatell et al., 2006; Torrens et al., 2010; Francioli et al., 2003; Pozo-Bayón et al., 2003 y 2010).

Por todo ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de variedades de uva blanca y tinta de Castilla y León para la elaboración de vinos espumosos naturales. Se estudió la composición volátil, las características espumantes y se realizó el análisis sensorial de los vinos espumosos blancos, rosados y tintos elaborados.

2. Material y Métodos

2.1. Elaboración de los vinos espumosos naturales

Se elaboraron diferentes vinos base siguiendo los procesos de elaboración tradicionales en blanco, rosado y tinto a partir de cinco variedades de uva blanca y tres de uva tinta procedentes de Castilla y León. Las variedades de uva estudiadas fueron: Verdejo y Viura de la Denominación de Origen (D.O.) Rueda, Malvasía de la D.O. Toro; Albarín de la D.O. Tierras de León y Godello de la D.O. Bierzo para la elaboración de vinos espumosos blancos; Prieto picudo de la D.O. Tierras de León, y Garnacha y Tempranillo de la D.O. Cigales para la elaboración de vinos espumosos rosados; y Tempranillo de la D.O. Cigales para la elaboración de vinos espumosos tintos.

Los diferentes vinos espumosos naturales se elaboraron siguiendo el método tradicional o "champenoise". Para ello, se añadió el licor de tiraje a los diferentes vinos base, se embotellaron y se mantuvieron en cava subterránea a temperatura y humedad relativa controlada hasta el momento del degüello. En todos los casos se han elaborado vinos espumosos Brut Nature, y tuvieron una crianza sobre lías de 9 meses. Todo el proceso de elaboración se llevó a cabo en la Estación Enológica de Castilla y León situada en Rueda (Valladolid).

2.2. Métodos analíticos y tratamiento estadístico

El análisis de la composición volátil se llevó a cabo previa extracción líquido-líquido con diclorometano. Los extractos obtenidos se analizaron en un cromatógrafo de gases-masas (Rodríguez-Bencomo et al., 2010) y se cuantificaron mediante el método de patrón interno, utilizando los iones de cuantificación y los patrones internos elegidos para cada compuesto (Pérez-Magariño et al., 2013).

Las propiedades de la espuma de los vinos espumosos se determinaron mediante el equipo Mosalux (Maujean et al., 1990). Las condiciones utilizadas y los parámetros determinados se detallan en Pérez-Magariño et al. (2015).

El análisis sensorial se llevó a cabo en una sala de catas diseñada de acuerdo con la norma ISO 8589 (2007), y se realizó con 10 catadores expertos de los Consejos Reguladores de las diferentes D.O. de Castilla y León y de distintas bodegas.

El análisis estadístico de los datos se realizó a través del ANOVA y del test LSD (mínima diferencia significativa), para determinar las diferencias estadísticas al 95% ($p < 0,05$).

3. Resultados

La Fig. 1 muestra los valores de concentración de diferentes grupos de compuestos volátiles de los vinos espumosos blancos tras la crianza sobre lías.

Se puede observar que los vinos espumosos blancos elaborados con las variedades de uva Albarín, Verdejo y Godello presentaron, en general, un mayor contenido en compuestos volátiles que el resto de los vinos, especialmente de ésteres etílicos lineales y de acetatos de alcoholes superiores, compuestos que contribuyen a los aromas frutales de los vinos (Ferreira et al., 1996; Hidalgo et al., 2004). Los vinos espumosos elaborados con la variedad Malvasía fueron

en general los más pobres en compuestos volátiles, a excepción del contenido en terpenos, que presentaron una concentración similar a la de los vinos espumosos de la variedad Albarín.

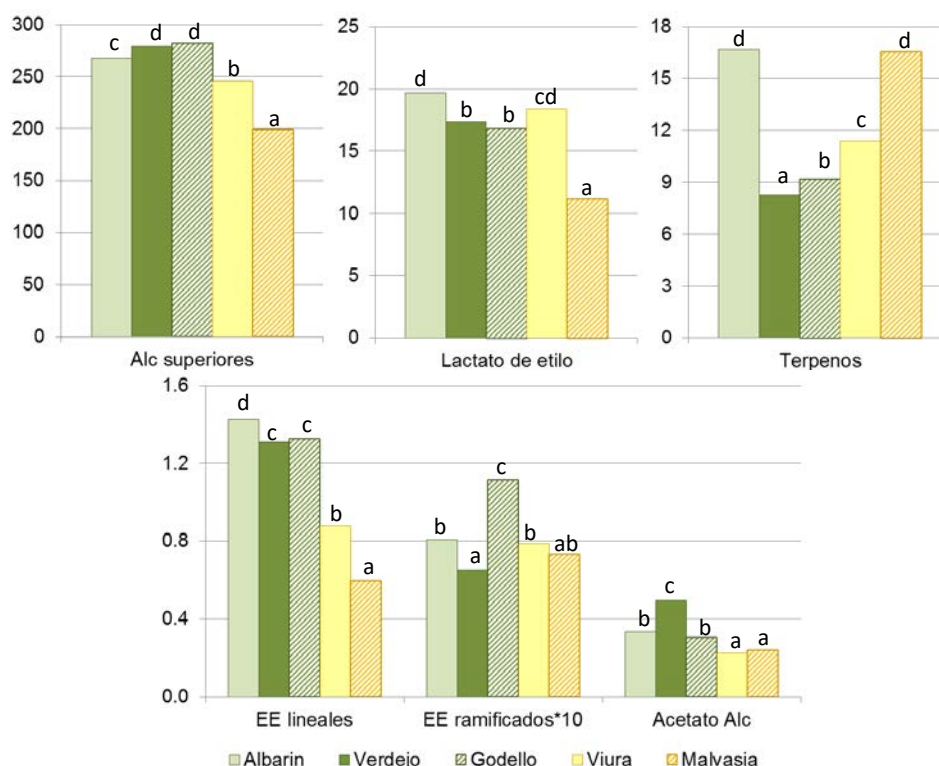


Fig. 1. Contenido de alcoholes superiores, lactato de etilo, ésteres etílicos y acetatos de alcoholes en mg/L, y de terpenos en µg/L de los vinos espumosos blancos. Los valores con diferentes letras en cada compuesto indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

En el caso de los vinos espumosos rosados, se observó que aquellos elaborados con la variedad Prieto picudo destacaron por las mayores concentraciones de alcoholes superiores, lactato de etilo, y terpenos, mientras que los elaborados con la variedad Tempranillo presentaron mayores contenidos de ésteres etílicos lineales y acetatos de alcoholes (Fig. 2). Álvarez-Pérez et al. (2012) encontraron que vinos tranquilos elaborados con la variedad Prieto picudo tenían un complejo perfil aromático, con altas concentraciones de ésteres etílicos y terpenos.

El vino espumoso tinto elaborado a partir de la variedad Tempranillo presentó mayores concentraciones de alcoholes superiores y lactato de etilo que los rosados, probablemente debido al proceso de fermentación diferente en cada caso (con y sin hollejos), y a la fermentación maloláctica.

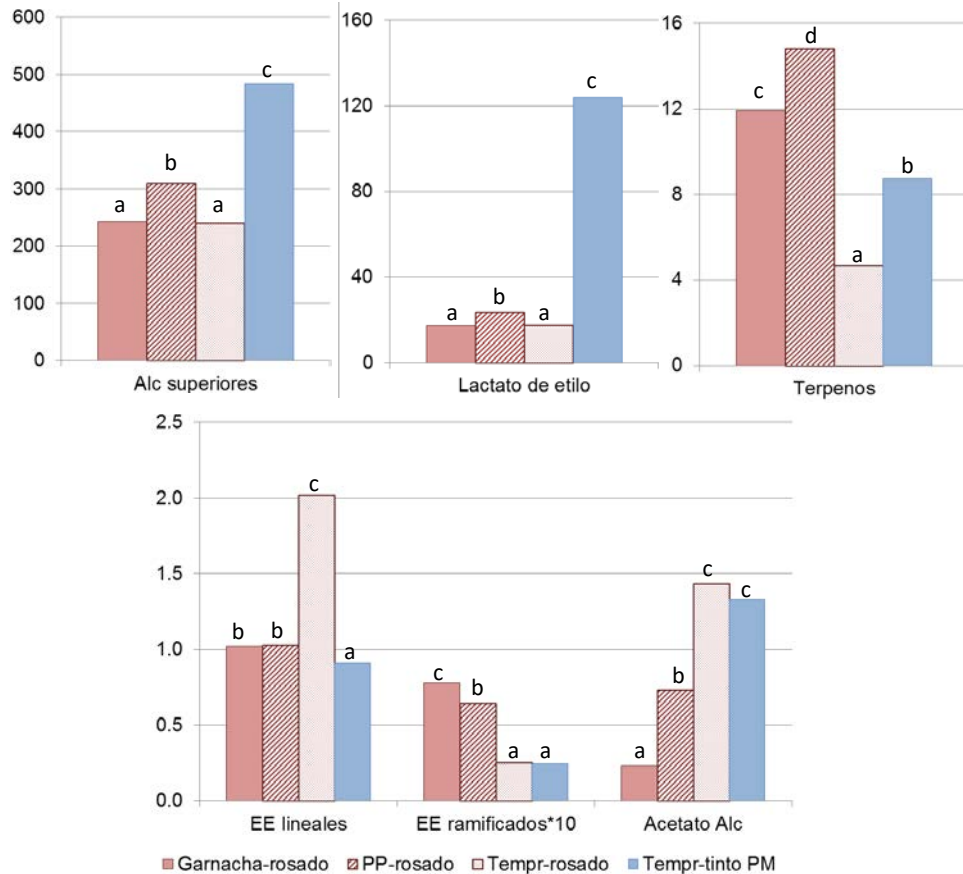


Fig. 2. Contenido de alcoholes superiores, lactato de etilo, ésteres etílicos y acetatos de alcoholes en mg/L, y de terpenos en µg/L de los vinos espumosos rosados y tintos. Los valores con diferentes letras en cada compuesto indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Los valores medios de los parámetros instrumentales de la espuma de los vinos espumosos blancos se muestran en la Fig. 3. Los vinos de la variedad Verdejo presentaron los valores más altos de espumabilidad (HM), de estabilidad de la espuma (HS) y de tiempo de estabilidad de la espuma (TS), seguido de los vinos espumosos de Albarín.

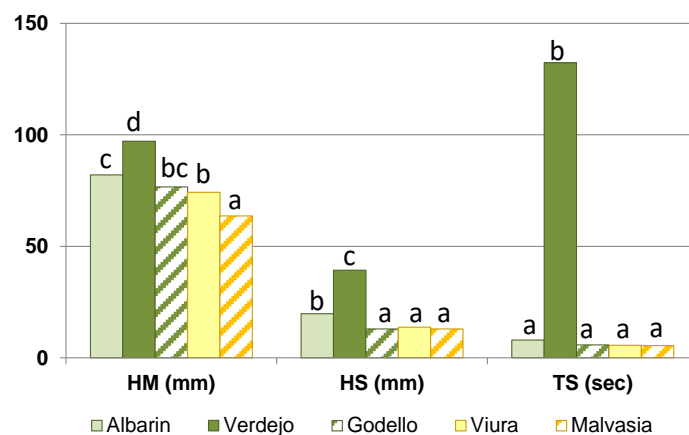


Fig. 3. Parámetros de la espuma determinados por el equipo Mosalux de los vinos espumosos blancos. Los valores con diferentes letras en cada parámetro indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Los vinos espumosos rosados elaborados con la variedad Tempranillo presentaron los valores más altos de espumabilidad (HM) y de estabilidad de la espuma (HS), mientras que los elaborados con Prieto picudo tenían los mayores valores de tiempo de estabilidad de la espuma (TS). En el caso del vino espumoso tinto, destacaron los valores más elevados de TS, lo que indica un mayor tiempo de permanencia de la espuma en la copa.

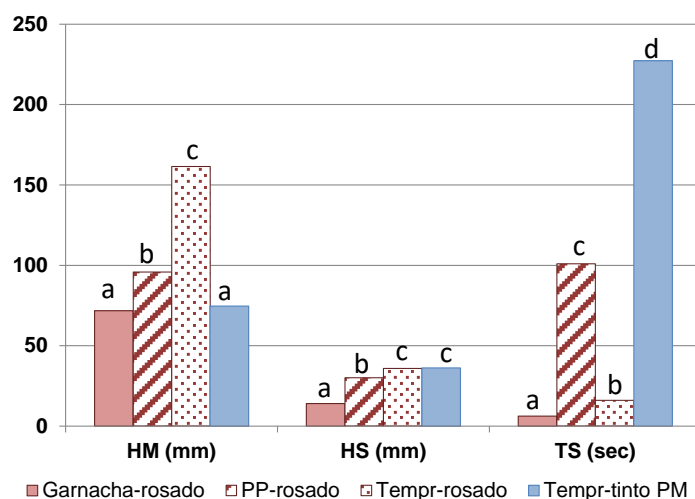


Fig. 4. Parámetros de la espuma determinados por el equipo Mosalux de los vinos espumosos rosados y tintos. Los valores con diferentes letras en cada parámetro indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

No se han encontrado estudios sobre la evaluación de la espuma en vinos espumosos elaborados con estas variedades. Los vinos espumosos de este estudio elaborados con variedades blancas mostraron valores medios de HM similares a los cavas de Chardonnay, con la excepción de los vinos espumosos elaborados con Malvasía; y los vinos espumosos elaborados con Verdejo mostraron valores de HS y TS similares a los cavas elaborados con Chardonnay (Andrés-Lacueva et al., 1996; Vanrell et al., 2007). Por otro lado, Andrés-Lacueva et al. (1996) y Vanrell et al. (2007) encontraron que los cavas elaborados con la variedad Chardonnay tenían mayores valores de HM y menores de TS que los elaborados con las variedades Macabeo, Xarel.lo y Parellada.

En el caso de las variedades tintas, los vinos espumosos rosados elaborados con Prieto picudo y Tempranillo mostraron características espumantes similares (HM y HS) que los elaborados con Pinot noir (Vanrell et al., 2007) y Trepát (Girbau-Solà et al., 2002), variedades tradicionalmente usadas en vinos espumosos.

La Fig. 5 muestra los valores medios de los descriptores sensoriales evaluados en los vinos espumosos blancos. En la fase visual, los vinos elaborados con las variedades Verdejo y Albarín fueron los que presentaron mayores valores de intensidad de color asociados a los tonos verdes. Estos vinos también presentaron una mayor intensidad olfativa asociada a las notas frutales y fermentativas, seguidos de los vinos de la variedad Godello con mayores notas a fruta y de hierba.

En la fase gustativa, los vinos espumosos de Albarín presentaron las mayores puntuaciones de la mayoría de atributos, volumen en boca, persistencia, frescura y equilibrio, seguidos de los vinos de Godello y Verdejo. Los vinos espumosos elaborados con la variedad Viura fueron los que recibieron menor valoración.

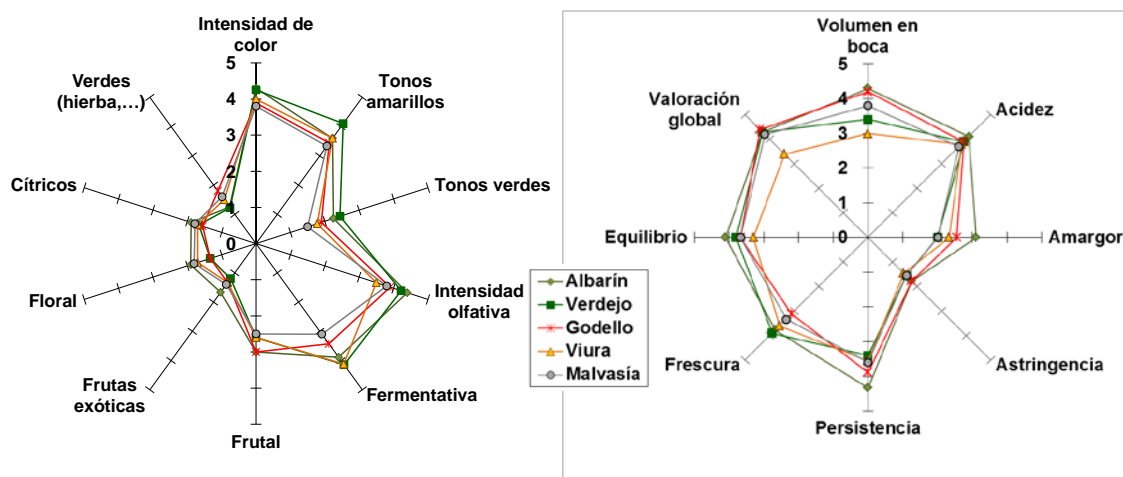


Fig. 5. Descriptores sensoriales de los vinos espumosos blancos

Los vinos espumosos rosados elaborados con las variedades Tempranillo y Prieto picudo presentaron una mayor intensidad de color, asociada a los tonos rojos, así como una mayor intensidad olfativa debido a las notas de fruta, que los vinos espumosos elaborados con Garnacha (Fig. 6). En cuanto a la fase gustativa, se encontraron menores diferencias entre los vinos, aunque el vino rosado de Tempranillo recibió mayor valoración global.

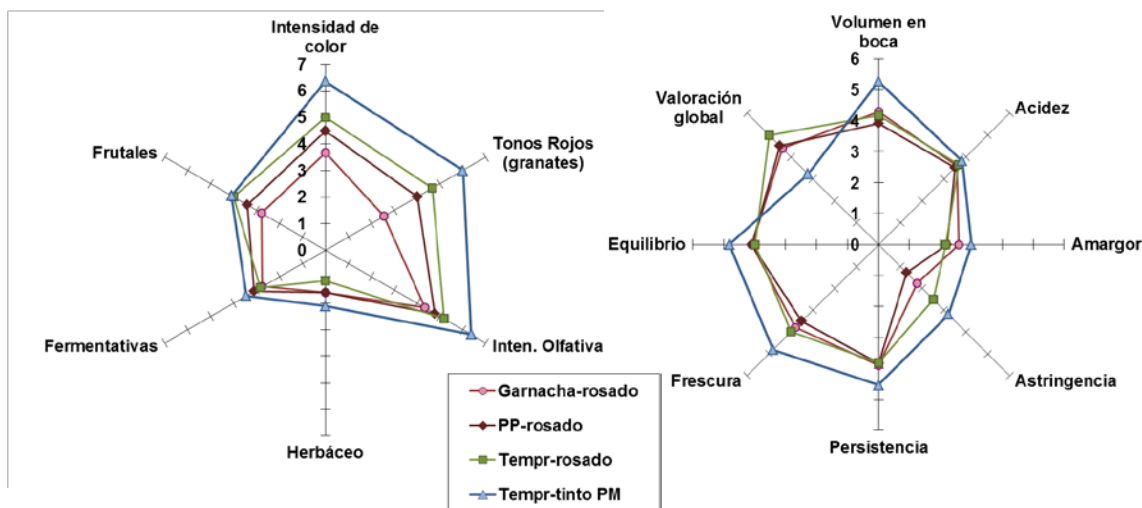


Fig. 6. Descriptores sensoriales de los vinos espumosos rosados y tintos

La Fig. 7 muestra los valores medios de los descriptores sensoriales relacionados con la espuma en los vinos espumosos blancos, rosados y tintos. El vino espumoso elaborado con la variedad Verdejo presentó mayores valores de espuma inicial y mayor formación de burbujas tanto en la superficie como en la corona que el resto de vinos espumosos, que además no mostraron diferencias significativas entre sí en ninguno de los atributos evaluados. En los vinos espumosos rosados y tintos, no se observaron diferencias significativas en el tamaño de burbuja y la

efervescencia. Los vinos espumosos rosados elaborados con Prieto picudo y Tempranillo y el vino espumoso tinto presentaron mayores valores de espuma inicial, y de burbujas en la superficie y la corona que los vinos de Garnacha.

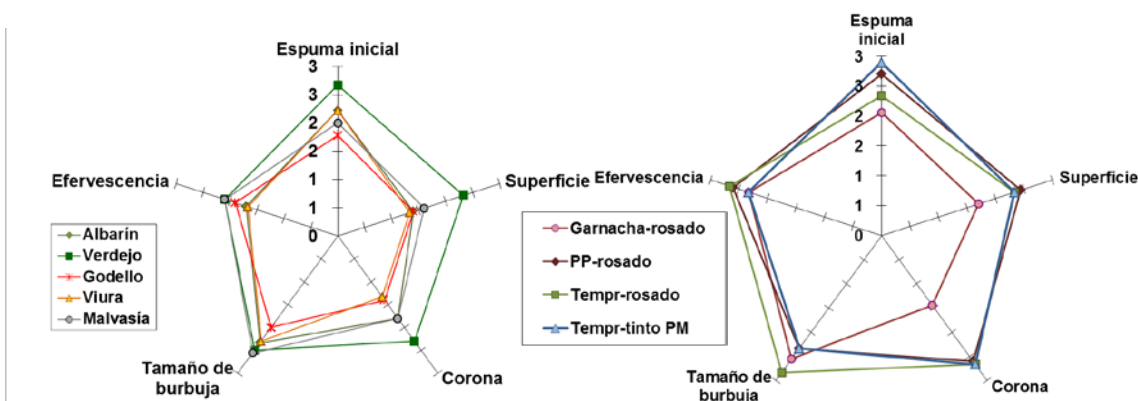


Fig. 7. Descriptores sensoriales de la espuma de los vinos espumosos blancos, rosados y tintos

4. Conclusiones

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, las variedades de Albarín, Verdejo, Godello, Prieto picudo y Tempranillo son las más interesantes para elaborar vinos espumosos naturales, y que puede permitir diversificar la producción vinícola de esta comunidad. Estos vinos espumosos fueron los más ricos en la mayoría de los compuestos volátiles analizados, especialmente de ésteres etílicos y acetatos de alcoholes superiores, compuestos que contribuyen a los aromas frutales de los vinos. En cuanto a las características de la espuma, los vinos espumosos elaborados con estas variedades de uva tienen propiedades de la espuma similares a los vinos espumosos de calidad como los Cavas y Champagnes, por lo que se considera que estas variedades de uva son las más interesantes para elaborar vinos espumosos naturales de calidad.

5. Bibliografía

- ALEXANDRE, H.; GUILLOUX-BENATIER, M. 2006. Yeast autolysis in sparkling wine. A review. *Austr. J. Grape Wine Res.* 12: 119-127.
- ÁLVAREZ-PÉREZ, J.M.; CAMPO, E.; SAN-JUAN, F.; COQUE, J.J.; FERREIRA, V.; HERNÁNDEZ-ORTE, P. 2012. Sensory and chemical characterisation of the aroma of Prieto Picudo rosé wines: The differential role of autochthonous yeast strains on aroma profiles. *Food Chem.* 133: 284-292.
- ANDRÉS-LACUEVA, C.; GALLART, M.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. 1996. Influence of variety and aging on foaming properties of sparkling wine (Cava). 1. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3826-3829.
- FERREIRA, V.; FERNÁNDEZ, P.; CACHO, J.F. 1996. A study of factors affecting wine volatile composition and its application in discriminant analysis. *LWT-Food Sci. Technol.* 29: 251-259.
- FRANCIOLI, S.; TORRENS, J.; RIU-AUMATELL, M.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. 2003. Volatile compounds by SPME-GC as age markers of sparkling wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 54: 158-162.
- GIRBAU-SOLÀ, T.; LÓPEZ-BARAJAS, M.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. 2002. Foam aptitude of Trepat and Monastrell red varieties in Cava elaboration. 2. Second fermentation and aging. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5600-5604.

7. HIDALGO, P.; PUEYO, E.; POZO-BAYÓN, M.A.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J.; POLO, M.C. 2004. **Sensory and analytical study of rosé sparkling wines manufactured by second fermentation in the bottle.** J. Agric. Food Chem. 52: 6640-6645.
8. MAUJEAN, A.; POINSAUT, P.; DANTAN, H.; BRISSONET, F.; COSSIEZ, E. 1990. **Étude de la tenue et de la qualité de mousse des vins effervescents – II. Mise au point d’une technique de mesure de la moussabilité, de la tenue et de la stabilité de la mousse des vins effervescents.** Bulletin de l’O.I.V. 63: 405-427.
9. PÉREZ-MAGARIÑO, S.; ORTEGA-HERAS, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B. 2013. **Multivariate analysis for the differentiation of sparkling wines elaborated from autochthonous Spanish grape varieties: volatile compounds, amino acids and biogenic amines.** Eur. Food Res. Technol. 236: 827-841.
10. PÉREZ-MAGARIÑO, S.; ORTEGA-HERAS, M.; BUENO-HERRERA, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B. 2015. **Grape variety, aging on lees and aging in bottle after disgorging influence on volatile composition and foamability of sparkling wines.** LWT-Food Sci. Technol. 61: 47-55.
11. POZO-BAYÓN, M.A.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J.; MORENO-ARRIBAS, M.V.; ANDUJAR-ORTIZ, I.; PUEYO, E. 2010. **Impact of using Trepát and Monastrell red grape varieties on the volatile and nitrogen composition during the manufacture of rosé Cava sparkling wines.** LWT-Food Sci. Technol. 43: 1526-1532.
12. POZO-BAYÓN, M.A.; PUEYO, E.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J.; POLO, M.C. 2003. **Influence of yeast strain, bentonite addition, and aging time on volatile compounds of sparkling wines.** Am. J. Enol. Vitic. 54: 273-278.
13. RIU-AUMATELL, M.; BOSCH-FUSTÉ, J.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. 2006. **Development of volatile compounds of cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees.** Food Chem. 95: 237-242.
14. RODRÍGUEZ-BENCOMO, J.J.; ORTEGA-HERAS, M.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. 2010. **Effect of alternative techniques to ageing on lees and use of non-toasted oak chips in alcoholic fermentation on the aromatic composition of a red wine.** Eur. Food Res. Technol. 230: 485-496.
15. TORRENS, J.; RIU-AUMATELL, M.; VICHI, S.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. 2010. **Assessment of volatile and sensory profiles between base and sparkling wines.** J. Agric. Food Chem. 58: 2455-2461.
16. VANRELL, G.; CANALS, R.; ESTERUELAS, M.; FORT, F.; CANALS, J.M.; ZAMORA, F. 2007. **Influence of the use of bentonite as a riddling agent on foam quality and protein fraction of sparkling wines (Cava).** Food Chem. 104: 148-155.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen al INIA y al Ministerio de Economía y Competitividad la financiación recibida para el desarrollo de este trabajo, a través de los proyectos RTA2009-029-C02-01 y RTA2012-092-C02-01 (con fondos Feder).

Diferenciación de vinos monovarietales de Mencía y Alicante Bouschet de la D.O. Valdeorras basada en su composición fenólica y su color

Encina Gutiérrez¹, Manuel M. Losada², Eugenio Revilla³

¹Departamento de Química Agrícola y Bromatología, Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid.

encina.gutierrez@estudiante.uam.es

²Departamento de Química y Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid,

manuelmaximino.losada@upm.es

³Departamento de Química Agrícola y Bromatología, Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid,

eugenio.revilla@uam.es

Resumen

Se ha estudiado la composición fenólica y el color en 30 vinos monovarietales de Mencía y Alicante Bouschet elaborados en la D.O. Valdeorras, elaborados en 2014. Los resultados indican que, generalmente, los vinos de Alicante Bouschet presentan mayor contenido de polifenoles y un color más intenso que los de Mencía. La determinación de antocianinas por HPLC puso de manifiesto que cada tipo de vino presenta un perfil antociánico característico, siendo los vinos de Alicante Bouschet más ricos en antocianinas derivadas de la cianidina (CyGI y PnGI, y sus derivados acilados) que los vinos de Mencía. Los análisis estadísticos realizados muestran la existencia de relaciones entre diversas variables, siendo posible agrupar las muestras en dos clases diferentes utilizando el análisis de componentes principales.

1. Introducción

El color, la astringencia, el amargor y el cuerpo de los vinos tintos, así como su potencial para el envejecimiento, dependen de su composición fenólica, y en especial del contenido de antocianinas, flavan-3-oles y sus derivados [1]. En los vinos tintos jóvenes, las antocianinas extraídas de los hollejos son las principales moléculas que generan color [2], pese a que tan pronto como comienza su extracción se van transformando en compuestos derivados de ellas, como las piranoantocianinas, y en los polímeros pigmentados por reacción con flavan-3-oles [3]. Se ha estimado que el 25% de las antocianinas pueden haberse polimerizado al final de la fermentación alcohólica y el 40% al cabo de un año de envejecimiento, pero estas proporciones pueden cambiar en función de la composición de la uva, de las prácticas fermentativas y de los procedimientos utilizados en la maduración y envejecimiento del vino [4]. Por eso, las características sensoriales de los vinos tintos y su capacidad de envejecimiento relacionadas con los compuestos fenólicos se ven afectadas por múltiples factores, incluyendo la expresión genética de la variedad de vid en la zona de cultivo (influida por diversos factores ambientales, como las condiciones edáficas y climáticas), y por diversas tecnologías vitícolas y enológicas, lo que explica la diversidad de vinos que pueden obtenerse a partir de una variedad, incluso en pequeñas zonas de producción.

En la zona de producción de la D.O. Valdeorras se utilizan diversas variedades de vid, si bien las características distintivas de los vinos de esta comarca se deben a la variedad Mencía, bien adaptada a las condiciones imperantes y que se considera la variedad principal para elaborar vinos tintos, igual que en otras D.O.'s gallegas. Entre las otras variedades autorizadas en Valdeorras, Alicante Bouschet es la más comúnmente utilizada, pues su carácter de variedad tintorera da lugar a vinos de color intenso, y por ello, como en otras zonas de producción, los vinos

de Alicante Bouschet se utilizan para elevar el color de vinos poco coloreados de otras variedades. De todas formas, es posible utilizar esta variedad para obtener vinos monovarietales.

Los estudios sobre la composición fenólica de las uvas y vinos de Mencía y de Alicante Bouschet son escasos. Recientemente, se ha estudiado la composición fenólica de las uvas Mencía y de sus vinos de distintas zonas del noroeste de España [5-8], pero no se incluyen las uvas y vinos producidos en la D.O. Valdeorras. La composición fenólica de las uvas y los vinos de Alicante Bouschet del centro de España ha sido descrita recientemente [9], pero no existen datos bibliográficos sobre su composición fenólica en Galicia, excepto un estudio reciente sobre vinos dulces de esta variedad elaborados con uvas pasificadas [10-11]. Por ello, se ha considerado de interés examinar la composición fenólica de los vinos tintos jóvenes elaborados con uvas Mencía y Alicante Bouschet en la zona de D.O. Valdeorras, teniendo en cuenta que las condiciones climáticas en Valdeorras (un clima mediterráneo-continental, con influencia oceánica) pueden causar precipitaciones abundantes en septiembre y octubre, lo que puede afectar al pH del mosto, al grado alcohólico probable y a la incidencia de enfermedades fúngicas, incluidas las infecciones por *Botrytis cinérea*, pueden incidir en la acumulación de antocianinas en los hollejos. Por ello, la mezcla de vinos de Mencía con otros vinos elaborados con uvas Alicante Bouschet puede ser una herramienta adecuada para obtener vinos tintos con mejores características cromáticas.

2. Material y Métodos

Se estudiaron 30 vinos tintos monovarietales elaborados en 2014 en diferentes bodegas de la D.O. Valdeorras. Estos vinos, elaborados con procedimientos enológicos similares (las diferencias más notables se deben a la duración de la maceración y al manejo del sombrero, variables dependiendo de la variedad, de la calidad de las uvas y de las necesidades de la bodega) se analizaron en abril de 2015, una vez realizada la fermentación maloláctica. De ellos, 20 se elaboraron con uva Mencía, y los otros diez, con uva Alicante Bouschet. Algunos datos analíticos de estos vinos, determinados según los métodos de la OIV [12], fueron los siguientes: grado alcohólico, 11,50-13,50; acidez total (equivalentes de ácido tartárico), 4,0-8,0 g/L; acidez volátil (equivalentes de ácido acético), 0,20-0,45 g/L; dióxido de azufre total, 40-100 mg/L. Las diferencias en la composición general de ambos grupos de vinos fueron irrelevantes.

Se determinaron varios parámetros relacionados con el color y con la composición fenólica general de los vinos utilizando los procedimientos descritos por Zoecklein *et al.* [13], basados en la propuesta de Somers y Evans [14], así como otros utilizados para evaluar la intensidad del color (420 + 520 + 620) [15] y los antocianos totales [16]. El perfil de antocianinas de los vinos se determinó por HPLC-DAD, teniendo en cuenta el contenido relativo de 14 antocianinas, siguiendo un procedimiento ya descrito [17-18]. Las muestras (20 µL) se inyectaron por triplicado. Las muestras, las soluciones estándar y las fases móviles se filtraron antes del análisis a través de una membrana de 0,45 µm. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI v. 16.1.18 (Statistical Graphics Corp., Warrenton, Va., EE.UU.).

3. Resultados

La Tabla 1 muestra los valores medios de los resultados obtenidos en el análisis espectrofotométrico de los vinos Mencía y Alicante Bouschet, con su desviación estándar y el rango de cada parámetro. Como puede observarse, la variedad de uva utilizada para la

elaboración de los vinos afecta de forma importante varios de los parámetros estudiados. Los valores medios para la mayoría de los parámetros fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$), teniendo en cuenta los resultados de la prueba LSD de Fisher, después de someter los datos a ANOVA unifactorial. Así, el índice de polifenoles totales, los dos parámetros de intensidad colorante, el contenido de antocianos totales (que incluye antocianinas y pigmentos poliméricos rojos), y el de antocianinas totales (antocianinas libres) suelen ser mayores en los vinos de Alicante Bouschet que en los de Mencía, aunque hay algunas excepciones. El contenido de taninos totales fue mayor en casi todos los vinos de Alicante Bouschet que en los vinos de Mencía. Los valores de tonalidad (entre 0,429 y 0,688) son los esperados para los vinos tintos jóvenes, siendo los valores más similares para ambos tipos de los vinos. El índice de edad química, relacionado con el predominio creciente de los pigmentos rojos oligoméricos y poliméricos en el color del vino, fue bastante variable, oscilando normalmente entre 0,070 y 0,120, como cabe esperar en vinos tintos jóvenes [14], siendo los valores medios iguales ($p < 0,05$) para ambos grupos de vinos. Las variaciones observadas en los valores de tonalidad y del índice de edad química se deben probablemente a diferencias en el grado de polimerización, que depende de la composición fenólica de los vinos y de otros factores, como el grado de oxigenación de los vinos una vez acabada la fermentación alcohólica.

Tabla 1. Valores medios, desviaciones estándar y rango de valores para parámetros analíticos relacionados con la composición fenólica general y el color de los vinos Mencía y Alicante Bouschet. Los valores medios de una misma fila seguidos de una letra distinta son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Parámetro	Valor medio y desviación estándar		Rango de valores	
	Mencía	Alicante Bouschet	Mencía	Alicante Bouschet
Índice de polifenoles totales (IPT)	36,2±5,3a	65,6±11,7b	27,6-49,2	43,2-80,2
Intensidad colorante (420 + 520)	8,47±1,79a	19,06±4,00b	5,72-12,98	12,16-24,43
Intensidad colorante (420+520+620)	10,59±2,68a	21,44±4,55b	6,43-17,21	13,73-28,08
Tonalidad	0,570±0,063a	0,521±0,032b	0,429-0,688	0,490-0,595
Índice de edad química	0,093±0,022a	0,098±0,027a	0,049-0,130	0,066-0,143
Antocianos totales	438±156a	1165±436b	301-892	438-1641
Antocianinas totales	373±150a	991±404b	261-820	334-1433
Antocianinas coloreadas	81±25a	161±68b	30-122	71-287
Taninos totales	803±327a	1691±690b	453-1622	529-2689

Los resultados obtenidos mediante espectrofotometría UV-visible (nueve variables) fueron sometidos al análisis de componentes principales (PCA). Dos componentes principales, con valores propios superiores a la unidad, explicaron el 89,64% de la varianza total, y cada componente principal se vio afectada sobre todo por algunas variables. Así, la componente 1, que explicó el 66,34% de la varianza, se vio afectada principalmente por siete variables, las excepciones fueron la tonalidad y el índice de edad química. Por otro lado, la componente 2, que explicó el 23,30% de la varianza total, se vio afectada principalmente por cinco variables y el peso de tres variables (intensidad colorante (420+520), intensidad colorante (420+520+620) e índice de polifenoles totales) fue muy pequeño.

La gráfica de las componentes principales 1 y 2 obtenidas por PCA se muestra en la Figura 1. Como se puede observar, los vinos de Mencía se colocan en el lado izquierdo, y la mayoría de los vinos Alicante Bouschet en el lado derecho. La mayoría de los vinos de Mencía

se localizan formando un cluster bastante compacto, reflejando que los vinos presentaron valores similares para las variables consideradas, excepto dos vinos de Mencía, situados en la esquina superior izquierda. Estos vinos contenían mayor cantidad de antocianos totales y antocianinas totales, pero una baja cantidad de taninos totales. Los vinos de Alicante Bouschet están más dispersos; uno de ellos presenta una composición fenólica bastante similar a la mayoría de los vinos de Mencía, y se encuentra entre ellos, mientras que los otros nueve, generalmente ricos en color y taninos totales, están claramente separados de los vinos de Mencía.

Adicionalmente, se realizó un análisis discriminante lineal (LDA) para los datos de composición fenólica general y del color de los vinos. Este análisis mostró claramente que todos los vinos se clasifican correctamente en dos clases diferentes (Mencía y Alicante Bouschet); los coeficientes estandarizados de la función discriminante tuvieron un valor absoluto mayor que uno para todas las variables consideradas, excepto los taninos totales y la tonalidad. Las diferencias observadas para el color y la composición fenólica general entre los vinos Alicante Bouschet estudiados pueden explicarse por dos factores independientes: el grado de maduración de las uvas y el grado de maceración de los hollejos y pepitas durante la elaboración del vino. Varios autores consideran que el contenido de taninos en uvas enteras disminuye durante la maduración [19-20]; por lo tanto, el grado de maduración de las uvas utilizadas para la vinificación puede afectar el contenido de taninos en los vinos. Por otra parte, la extracción de taninos durante la elaboración de los vinos sigue una cinética diferente a la extracción de las antocianinas: estas moléculas coloreadas se extraen en los primeros pasos de la vinificación y se alcanza un máximo en la primera semana de maceración de los orujos [5]. La extracción de taninos se produce con más lentitud, y puede ser potenciada por varios procedimientos tecnológicos, como una maceración prolongada [21]. Por estas razones, y dado que los vinos de Alicante Bouschet elaborados en la D.O. Valdeorras se utilizan muchas veces para mezclas con vinos de Mencía para aumentar su color, un manejo adecuado de la vinificación puede conducir a vinos de Alicante Bouschet con diversos perfiles fenólicos, dependiendo del tipo de vino que precise la bodega.

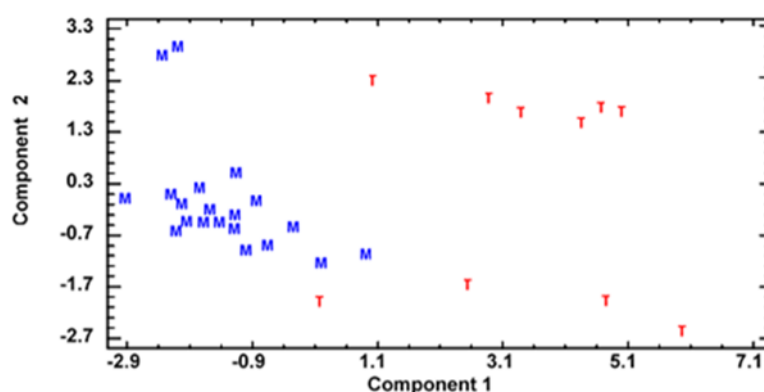


Figura 1. Gráfico de dispersión de las componentes principales 1 and 2 para los datos espectrofotométricos obtenidos para vinos de Mencía (M) y de Alicante Bouschet (T).

El perfil antociánico de un vino se ha definido como las proporciones de las diferentes antocianinas presentes en el vino tras el análisis por HPLC, y se ha propuesto como herramienta para evaluar el origen varietal de vinos tintos jóvenes monovarietales [22-23]. Para evaluar ese perfil se ha considerado el contenido relativo de 14 antocianinas:

- Los 3-O-glucósidos de delphinidina (DpGI), cianidina (CyGI), petunidina (PtGI), peonidina (PnGI) y malvidina (MvGI)
- Los derivados acetilados de DpGI, PtGI, PnGI y MvGI (DpGIAC, PtGIAC, PnGIAC y MvGIAC)
- Los derivados *p*-cumarilados de DpGI, PtGI, PnGI y MvGI (DpGICm, PtGICm, PnGICm y MvGICm)
- El derivado cafeoilado de MvGI (MvGICf)

La Tabla 2 muestra, para los dos grupos de vinos considerados, los valores medios del contenido porcentual de cada antocianina con su desviación estándar, y el rango de valores para cada antocianina; los valores medios fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$) en la mayoría de los casos, teniendo en cuenta los resultados de la prueba LSD de Fisher, después de someter los datos a ANOVA unifactorial. En ambos tipos de vino, MvGI fue la antocianina predominante, pero su cantidad relativa fue siempre mayor en los vinos de Mencía (55-66%) que en los de Alicante Bouschet (43-54%), ya que estos últimos contenían una importante cantidad de PnGI (18-31%), como se ha indicado por otros autores [9, 24]. Este hecho es debido a la abundancia de PnGI en las uvas Alicante Bouschet, tanto en el hollejo como, sobre todo, en la pulpa, al igual que en otras variedades tintoreras [24]. Además, los vinos de Alicante Bouschet contenían una mayor cantidad de CyGI que los vinos de Mencía (0,6-1,6% y 0,1-0,5%, respectivamente), lo que se explica porque este pigmento es el precursor biosintético de PnGI [25]. Por último, la mayoría de los vinos de Mencía contenían una mayor proporción de PtGI que los de Alicante Bouschet, ya que PtGI es el precursor biosintético de MvGI, que se forma después de su *O*-metilación [25].

La acilación de las antocianinas sigue diferentes pautas en ambos tipos de vino. Los derivados acilados de MvGI fueron las principales antocianinas aciladas en ambos tipos de vinos, pero la acilación fue más intensa en los vinos de Mencía (18-24%) que en los de Alicante Bouschet (14-18%). En los vinos de Mencía, las antocianinas acetiladas fueron más abundantes que las antocianinas *p*-cumariladas (10-16% y 5-11%, respectivamente). Sin embargo, la cantidad relativa de antocianinas *p*-cumariladas fue superior a la cantidad relativa de antocianinas acetiladas en los vinos de Alicante Bouschet (9-11% y 5-7%, respectivamente). Resultados similares se han publicado previamente para los vinos monovarietales de Mencía y de Alicante Bouschet [24], y están estrechamente relacionados con los perfiles antociánicos de esas variedades de vid.

Los resultados obtenidos en el análisis de antocianinas por HPLC-DAD para obtener el perfil antociánico de los vinos (14 variables) se sometieron a PCA. Tres componentes principales, con valores propios superiores a la unidad, explicaron el 84,66% de la varianza total, y cada una de ellas se vio afectada sobre todo por distintas variables. Así, la componente 1 (que explicó el 55,20% de la varianza total) se vio afectada principalmente por siete variables con peso mayor que 0,3 o menor que -0,3; la componente 2 (que explicó el 17,05% de la varianza total), por cinco variables con peso mayor que 0,3 o menor que -0,3, y la componente 3 (que explicó el 12,41% de la varianza total) por tres variables con peso mayor que 0,3. Se pueden observar algunas relaciones entre las variables, probablemente relacionadas con la vía biosintética de las antocianinas. Así, CyGI y PnGI, que son los monoglucósidos derivados de la cianidina [29], presentaron un peso positivo para las componentes principales 1 y 2. Por otro lado, los monoglucósidos derivados de delphinidina (DpGI, PtGI y MvGI) tuvieron un peso negativo para la componente principal 1. Además, las antocianinas acetiladas tuvieron un peso negativo para la componente principal 1, mientras que los derivados *p*-cumarilados (excepto MvGICm) y MvGICf

presentaron un peso positivo para la componente principal 1. Además, los derivados acilados de PnGI y MvGI tuvieron un peso negativo para la componente 2.

Tabla 2. Valores medios, desviaciones estándar y rango de valores para el contenido relativo de 14 antocianinas en vinos tintos jóvenes de Mencía y Alicante Bouschet. Los valores medios de una misma fila seguidos de una letra distinta son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Antocianina	Valor medio y desviación estándar		Rango de valores	
	Mencía	Alicante Bouschet	Mencía	Alicante Bouschet
DpGI	4,50±1,30a	4,44±0,53a	2,65-8,24	3,54-5,37
CyGI	0,26±0,12a	1,17±0,31b	0,07-0,51	0,60-1,51
PtGI	6,11±1,05a	4,25±0,59b	4,40-8,48	3,58-5,59
PnGI	8,10±2,93a	26,28±4,28b	4,44-14,48	18,99-30,48
MvGI	59,17±2,48a	47,08±4,04b	55,96-65,75	43,14-53,59
DpGIAc	0,74±0,14a	0,33±0,13b	0,37-0,97	0,16-0,47
PtGIAc	0,94±0,13a	0,47±0,11b	0,69-1,22	0,36-0,64
PnGIAc	2,24±0,58a	1,17±0,49b	1,01-3,31	1,02-2,85
MvGIAc	8,74±1,64a	3,36±0,59b	6,42-11,16	2,57-4,47
DpGICm	0,62±0,28a	1,17±0,27b	0,35-2,63	0,59-1,45
PtGICm	0,19±0,07a	0,22±0,11a	0,10-0,41	0,09-0,41
PnGICm	2,10±0,68a	3,67±0,36b	1,06-3,72	3,02-4,12
MvGICm	5,80±0,65a	5,31±0,18b	4,09-6,80	4,82-6,03
MvGICf	0,49±0,06a	0,52±0,12a	0,42-0,62	0,33-0,65

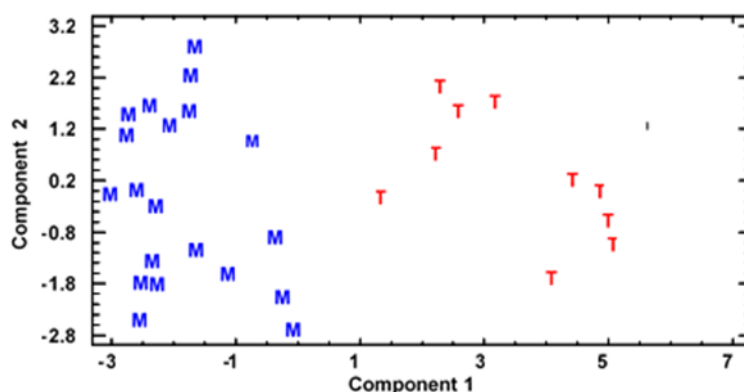


Figura 2. Gráfica de dispersión de los componentes principales 1 and 2 para los datos del perfil antocianico de vinos de Mencía (M) y Alicante Bouschet (T).

La gráfica de las componentes principales 1 y 2 obtenidas por PCA se muestra en la figura 2. Teniendo en cuenta los pesos de las variables de las componentes principales 1 y 2, los vinos de Alicante Bouschet, que contenían mayores cantidades de las antocianinas CyGI, PnGI y *p*-cumariladas que los vinos de Mencía, se encuentran en el lado derecho. Por otro lado, los vinos de Mencía, más ricos en monoglucósidos derivados de delphinidina y en derivados acetilados, se colocan en el lado izquierdo. Además, se realizó un análisis discriminante lineal (LDA) para los datos del perfil antocianico de los vinos. Este análisis mostró claramente que todos los vinos se

clasificaron correctamente en dos clases diferentes (Mencía y Alicante Bouschet). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos previamente para los vinos monovarietales de diferentes variedades cultivadas en España, incluyendo Mencía y Alicante Bouschet [28], y sugieren que el perfil antociánico de los vinos tintos jóvenes elaborados en la zona de la D.O. Valdeorras puede ser una herramienta analítica adecuada para evaluar la variedad de uva utilizada en la vinificación.

4. Conclusiones

Los vinos tintos jóvenes de Mencía y Alicante Bouschet elaborados en la D.O. Valdeorras muestran importantes diferencias en su color y en su composición fenólica general. Los vinos de Alicante Bouschet presentaron un color más intenso que los vinos de Mencía, lo que está generalmente asociado con mayores contenidos de antocianos totales, antocianinas totales y taninos totales. Sin embargo, la composición fenólica general de los vinos Mencía fue más homogénea que la mostrada por los vinos de Alicante Bouschet. Este hecho refleja probablemente que la elaboración de los vinos de Alicante Bouschet se gestiona para obtener vinos con diversos perfiles fenólicos, dependiendo del estilo requerido por las bodegas. Los datos obtenidos por HPLC revelan que los vinos de Alicante Bouschet y de Mencía presentaron diferentes perfiles antocianicos y sugieren que el perfil antociánico de los vinos tintos monovarietales elaborados en la zona de la D.O. Valdeorras podría ser una herramienta analítica adecuada para evaluar la variedad utilizada en la vinificación con fines regulatorios.

5. Bibliografía

- 1 SINGLETON, V.L.; ESAU, P., 1969, **Phenolic Substances in Grapes and Wines, and Their Significance**, Academic Press, Nueva York.
- 2 HE, F.; NIANG, N.; MU, L.; PAN, Q.; WANG, J.; REEVES, M.J.; DUAN, C., 2012, **Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression**. *Molecules*, 17, 1571-1601.
- 3 HE, F.; NIANG, N.; MU, L.; PAN, Q.; WANG, J.; REEVES, M.J.; DUAN, C., 2012, **Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution**. *Molecules*, 17, 1483-1519.
- 4 JACKSON, R.S., 2014, **Wine Science: Principles and Applications**, 4ª edición, Elsevier-Academic Press, Londres, pp. 368-379.
- 5 GARCIA-FALCON, M.S.; PEREZ-LAMELA, C.; MARTINEZ-CARBALLO, E.; SIMAL-GANDARA, J., 2007, **Determination of phenolic compounds in wines: Influence of bottle storage of young red wines on their evolution**, *Food Chem.*, 105, 248-259.
- 6 LETAIEF, H.; ROLLE, L.; ZEPPA, G.; ORRIOLS, I.; GERBI, V., 2007, **Phenolic characterization of grapevine cultivars from Galicia (Spain): Brancellao, Merenzao and Mencía (Vitis vinifera L.)**, *Ital. J. Food Sci.*, 19, 101-109.
- 7 SOTO-VAZQUEZ, E.; RIO-SEGADE, S.; ORRIOLS-FERNANDEZ, I., 2010, **Effect of the winemaking technique on phenolic composition and chromatic characteristics of young red wines**, *Eur. Food Res. Technol.*, 231, 789-802.
- 8 VILANOVA, M.; RODRIGUEZ, I.; CANOSA, P.; OTERO, I.; GAMERO, E.; MORENO, D.; TALAVERANO, I.; VALDES, E., 2015, **Variability in chemical composition of Vitis vinifera cv Mencía from different geographic areas and vintages in Ribeira Sacra (NW Spain)**, *Food Chem.*, 2015, 169, 187-196.

- 9 CASTILLO-MUÑOZ, N.; FERNANDEZ-GONZALEZ, M.; GOMEZ-ALONSO, S.; GARCIA-ROMERO, E.; HERMOSIN-GUTIERREZ, I., 2009, **Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines**. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 7883-7891.
- 10 FIGUEIRIDO-GONZALEZ, M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GANDARA, J., 2013, **Garnacha Tintorera-based sweet wines: Chromatic properties and global phenolic composition by means of UV-Vis spectrophotometry**. *Food Chem.*, 140, 217-224.
- 11 FIGUEIRIDO-GONZALEZ, M.; REGUEIRO, J.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GANDARA, J., 2014, **Garnacha Tintorera-based sweet wines: Detailed phenolic composition by HPLC/DAD-ESI/MS analysis**, *Food Chem.*, 143, 282-292.
- 12 ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO, 2008, **Compendio de los métodos internacionales de los métodos de análisis de los vinos y de los mostos**, OIV, Paris.
- 13 ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B.H.; NURY, F.S., 1995, **Wine analysis and production**; Chapman and Hall, Nueva York, pp- 146-151.
- 14 SOMERS, T.C.; EVANS, M.E., 1977, **Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, "chemical age"**, *J. Sci. Food Agric.*, 28, 279-287.
- 15 GLORIES, Y., 1984, **La couleur des vins rouges. 2. Mesure, origine et interpretation**, *Conn. Vigne Vin*, 18, 253-271.
- 16 NIKETIC-ALEKSIC, G.K.; HRAZDINA, G., 1972, **Quantitative analysis of the anthocyanin content in grape juices and wines**, *Lebensm. Wiss. Technol.*, 5, 163-165.
- 17 GARCÍA-BENEYTEZ, F.; CABELLO, F.; REVILLA, E., 2003, **Analysis of grape and wine anthocyanins by HPLC-MS**, *J. Agric. Food Chem.*, 5622-5629.
- 18 REVILLA, E.; CARRASCO, D.; BENITO, A.; ARROYO-GARCIA, R., 2010, **Anthocyanin composition of several wild grape accessions**, *Am. J. Enol. Vitic.*, 61, 636-642.
- 19 BLOUIN, J.; GUIMBERTEAU, G., 2002, **Maduración y madurez de la uva**, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp. 72-77.
- 20 DOWNEY, M.O.; HARVEY, J.D.; ROBINSON, S.P., 2003, **Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development**, *Aust. J. Grape Wine Res.*, 9, 15-27.
- 21 SMITH, P.A.; MCRAE, J.M.; BINDON, K.A., 2015, **Impact of winemaking practices on the concentration and composition of tannins in red wine**, *Aust. J. Grape Wine Res.*, 21, 601-614.
- 22 BERENTE, B.; DE LA CALLE GARCIA, D.; REICHENBÄCHER, M.; DANZER, K., 2000, **Method development for the determination of anthocyanins in red wines by high performance liquid chromatography and classification of German red wines by means of multivariate statistical methods**, *J. Chromat. A*, 871, 95-103.
- 23 OTTENEDER, H.; MARX, R.; ZIMMER, M., 2004, **Analysis of the anthocyanin composition of Cabernet Sauvignon and Portugieser wines provide an objective assessment of the grape varieties**, *Aust. J. Grape Wine Res.*, 10, 3-7.
- 24 REVILLA, E.; GARCIA-BENEYTEZ, E.; LOPEZ, J.F.; CABELLO, F., 2013, **Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and single-cultivar young wines**, *Acta Alimentaria*, 42, 23-35.
- 25 HE, F.; MU, L.; YAN, G.L.; LIANG, N.N.; PAN, Q.H.; WANG, J.; REEVES, M.J.; DUAN, C.Q., 2010, **Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes**, *Molecules*, 15, 9057-9091.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen a Adegas Cooperativas Virxen das Viñas (A Rua, Ourense, Spain) y a Adegas Cooperativas Jesus Nazareno (O Barco de Valdeorras, Ourense, Spain) la aportación de muestras de vinos tintos jóvenes. El trabajo ha sido financiado por la Universidad Autónoma de Madrid (Fondos para la preparación de Trabajos Fin de Grado).

Caracterización del perfil de aminoácidos en variedades blancas de vid. Implicaciones enológicas

Juana Martínez, Ana Gonzalo, Enrique García-Escudero

*Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (Gobierno de La Rioja. CSIC. Universidad de La Rioja).
Servicio de Investigación Vitivinícola. Finca La Grajera Ctra Burgos Km. 6. 26071 Logroño (La Rioja).
Tfno: 941894980. e-mail: jmartinezg@larioja.org*

1. Introducción

Los aminoácidos son componentes esenciales de la uva, cuyo contenido está estrechamente relacionado con la variedad, y además se ve influenciado por gran número de factores entre los que destacan: clima, suelo, prácticas culturales, fertilización, campaña, estado sanitario, nivel de madurez... (Bell y Henschke, 2005). Asimismo, algunos procesos prefermentativos, como el desfangado de los mostos blancos, influyen significativamente en su contenido (Burin et al., 2015; Valdes et al., 2011).

Los aminoácidos constituyen una de las principales fuentes de nitrógeno de los mostos (30-40% del total), por lo que juegan un papel importante en la multiplicación de las levaduras e influyen en la cinética de la fermentación alcohólica (Bell y Henschke, 2005). No todos los aminoácidos son igualmente asimilados por las levaduras, la prolina únicamente es metabolizada en presencia de oxígeno y en el caso de que no existan otras fuentes de nitrógeno en el medio. El nitrógeno fácilmente asimilable (NFA), que incluye la concentración de ion amonio y de aminoácidos libres excepto prolina, tiene que superar un umbral mínimo de 140 mg N/l para asegurar el correcto desarrollo del proceso fermentativo.

Además, también influyen de forma decisiva en el aroma del vino, ya que son los precursores de la formación de metabolitos secundarios, entre los que se encuentran los principales compuestos volátiles fermentativos (alcoholes superiores, aldehídos, ésteres y ácidos) (Bell y Henschke, 2005; Garde-Cerdán et al., 2008; Hernández-Orte et al., 2002). Por ello, hay autores (Chen et al., 2014) que sugieren que la adición selectiva de algunos aminoácidos al mosto durante la fermentación podría usarse para modular el perfil volátil de los vinos y diversificar el tipo de aromas.

Son numerosos los estudios que muestran las diferencias existentes en el perfil aminoacídico de distintas variedades de uva (Asensio et al., 2002; Bell y Henschke, 2005; Bouzas et al., 2015; Hernández-Orte et al., 2002; Huang y Ough, 1989; Soufleros et al., 2003; Spayd y Andersen-Bagge, 1996), e indican que puede ser una herramienta de clasificación varietal. Por otra parte, la recuperación de las variedades minoritarias en las diferentes zonas vitícolas puede aportar un valor añadido de diferenciación y tipicidad a los vinos de cada región. Sin embargo, muchas de estas variedades no están completamente caracterizadas, por lo que es necesario llevar a cabo estudios para profundizar en su composición, con el objetivo de potenciar la calidad y diferenciación de sus vinos.

En la D.O.Ca. Rioja las variedades blancas autorizadas hasta el año 2008 fueron: Viura, Garnacha blanca y Malvasía, pero únicamente la Viura ocupaba una superficie de cultivo importante, representando más del 90% del viñedo de uva blanca. Esta variedad está presente en la mayor parte de las D.O. con numerosas sinonimias (Macabeo, Forcallat, Alcañón...), pero no siempre aporta características varietales muy acusadas a los vinos. Por ello, con el objetivo de

mejorar la competitividad de los vinos blancos y adaptarlos a las demandas del mercado, en el año 2008 se incorporaron seis nuevas variedades blancas, entre las que se encuentran tres minoritarias: Tempranillo blanco, Maturana blanca y Turruntés, y otras tres foráneas de calidad reconocida: Chardonnay, Sauvignon blanc y Verdejo.

Teniendo en cuenta la gran influencia que ejerce el contenido de aminoácidos sobre el desarrollo del proceso fermentativo, así como sobre la formación de compuestos aromáticos con importante incidencia sobre la calidad sensorial de los vinos, en este trabajo se planteó como objetivo la caracterización del perfil aminoacídico de las nueve variedades blancas autorizadas en la D.O.Ca. Rioja.

2. Material y Métodos

El estudio se llevó a cabo durante cinco campañas (2012-2016) en mostos obtenidos a partir de diferentes variedades blancas procedentes de la Finca La Grajera (Logroño, La Rioja), propiedad del Gobierno de La Rioja. Se estudiaron las nueve variedades blancas autorizadas en la D.O.Ca. Rioja, entre las que se incluyen variedades minoritarias (Tempranillo blanco, Maturana blanca y Turruntés), variedades foráneas e internacionales (Chardonnay, Sauvignon blanc y Verdejo) y las tradicionales en la zona (Garnacha blanca, Malvasía riojana y Viura). Las características de la parcela experimental en la que se desarrolló el ensayo son las siguientes:

- Año de plantación: 2007
- Patrón: R-100
- Marco de plantación: 2.9 x 1.1
- Sistema de conducción: espaldera, doble cordón Royat
- Diseño estadístico: bloques al azar, 4 repeticiones de 30 cepas por variedad

La maduración de la uva se controló periódicamente a partir del envero con el objetivo de determinar la fecha de vendimia. La uva se vendimió de forma manual en el momento óptimo de madurez y en perfecto estado sanitario. El mosto se extrajo mediante estrujado sin despallado y prensado suave de la uva. El desfogado se realizó con enzimas pectolíticas (1 g/hl) a baja temperatura (10°C) durante 20 horas. Las muestras de mostos desfogados, con una turbidez aproximada de 80 NTU, se congelaron y posteriormente se analizaron.

En los mostos desfogados se analizaron 23 aminoácidos: ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), asparragina (Aspn), serina (Ser), glutamina (Glu), histidina (His), glicina (Gli), treonina (Tre), citrulina (Ctr), arginina (Arg), alanina (Ala), γ -aminobutírico (GABA), tirosina (Tir), cistina (Cis), valina (Val), metionina (Met), triptófano (Trip), fenilalanina (Fen), isoleucina (Iso), ornitina (Orn), leucina (Leu), lisina (Lis) y prolina (Pro).

La determinación analítica se realizó por HPLC, en fase reversa, según la metodología puesta a punto por López (2009) y modificada por Garde-Cerdán et al. (2014). Se utilizó un equipo de H.P.L.C. Agilent 1100, que disponía de un detector de fluorescencia (FLD) y otro detector de fotodiodos (DAD), en el que se efectuó una derivatización automática en precolumna con OPA (o-ftaldehído) y FMOC (fluorenmetilcloroformo). La separación se realizó en una columna Hypersil ODS (250 x 4.0 mm 5 μ m). Los eluyentes empleados fueron A: tampón acetato de sodio 75 mM, 0.018% trietilamina (pH 6.9) +0.3%tetrahidrofurano y B: metanol/acetónitrilo/agua (45/45/10). La detección se efectuó mediante fluorescencia (para los aminoácidos primarios a λ excitación =340 nm y λ emisión= 450 nm, y para los secundarios a λ excitación =266 nm y λ emisión= 305 nm) y mediante detector DAD (λ =338 nm para aminoácidos primarios y λ =262 nm para los secundarios).

Asimismo, en los mostos desfangados también se analizó el contenido en nitrógeno fácilmente asimilable (NFA), constituido por el amonio y la suma de los aminoácidos libres excepto la prolina. Se empleó el método propuesto por Aerny (1996), basado en la combinación de la función amínica de los aminoácidos con el formaldehído y posterior dosificación del carboxilo libre por acidimetría.

Para el estudio estadístico de los resultados se aplicó el análisis de varianza ANOVA, mediante el programa estadístico SPSS versión 20.2. En caso de existir diferencias significativas, $p < 0.05$, se utilizó el test de Tukey para la separación de medias. Asimismo, se realizó un análisis multivariante de los resultados obtenidos.

3. Resultados

Los parámetros básicos medios de los mostos varietales se muestran en la **Tabla 1**. Como podemos observar el grado probable fue similar en todas las variedades, excepto en Verdejo y Malvasía que mostraron diferencias en el estado de madurez de la uva. En cuanto a los parámetros relacionados con la acidez, el pH fue más bajo en Sauvignon y más alto en Verdejo y Malvasía, por el contrario el contenido de acidez total fue más elevado en Sauvignon y más bajo en Malvasía y Viura. No se encontraron diferencias significativas en la turbidez de los mostos, por lo que se puede considerar que el nivel de desfogado fue similar en todas las variedades.

Tabla 1. Composición media de los mostos varietales (2012-2016)

	Tempranillo	Maturana	Turruntés	Chardonnay	Sauvignon	Verdejo	Garnacha	Malvasía	Viura	G.S
Grado prob (% vol)	12.7 ab	12.7 ab	12.1 ab	12.7 ab	12.8 ab	13.2 a	12.7 ab	11.4 b	12.1 ab	**
pH	3.21 ab	3.26 ab	3.22 ab	3.22 ab	3.12 b	3.33 a	3.17 ab	3.34 a	3.29 ab	*
Ac Total (g/l)	8.39 abc	6.44 bcd	6.43 bcd	9.02 ab	9.59 a	5.79 cd	5.95 cd	4.42 d	5.30 d	***
Turbidez (NTU)	82	77	76	75	81	83	75	78	89	NS

G.S.: (*) $p < 0.05$, (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ y NS no significativo.

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias según el test de Tukey

La concentración media de aminoácidos en los mostos (**Tabla 2**) presentó diferencias muy significativas entre las variedades estudiadas en todos los compuestos analizados excepto en dos: Arginina y Ornitina. Estos resultados parecen reflejar que el factor genético es predominante en el perfil aminoacídico de los mostos, y tiene más influencia que la de la añada, a pesar de la elevada variabilidad que puede originar (Ortega-Heras et al., 2005). En este sentido, la ausencia de diferencias en el contenido de arginina entre las variedades estudiadas podría relacionarse con la variabilidad interanual observada para este compuesto, especialmente en la campaña 2016, que en algunas variedades presentó valores mucho más bajos que en otras añadas. Spayd y Andersen-Bagge (1996) también señalaron diferencias significativas en la concentración de arginina en diferentes variedades en función de la añada, mientras que la prolina se mantuvo más estable. Asimismo, Vilanova et al. (2015) indicaron que el contenido de aminoácidos en la variedad Mencía está influenciado por la añada y el riego, pero el perfil de la variedad se mantiene, por lo que pueden ser un buen marcador varietal.

Tabla 2. Contenido medio de aminoácidos (mg/l) en mostos varietales (2012-2016)

	Tempranillo	Maturana	Turruntés	Chardonnay	Sauvignon	Verdejo	Garnacha	Malvasía	Viura	G.S.
Asp	25,85 ab	33,43 a	16,49 b	23,66 ab	18,93 b	21,54 ab	18,41 b	13,36 b	20,69 ab	***
Glu	76,62 ab	51,82 bc	35,14 c	74,03 ab	89,28 a	75,37 ab	48,01 bc	28,37 c	40,9 c2	***
Asn	5,44 ab	6,44 ab	2,62 b	8,50 ab	4,66 ab	3,96 ab	4,77 ab	10,70 a	6,92 ab	***
Ser	30,78 ab	58,69 ab	17,89 b	82,00 a	47,16 ab	52,93 ab	18,26 b	20,75 b	24,8 b4	***
Glum	117,2 bc	201,0 ab	49,87 c	261,6 a	196,9 ab	135,97 bc	89,72 bc	51,90 c	111,0bc	***
His	16,53 abc	23,53 a	9,18 bc	19,83 ab	15,50abc	15,96 abc	12,47abc	8,48 bc	8, c26	***
Gli	3,90 abc	5,84 ab	1,80 b	8,60 a	5,70 ab	3,18 ab	1,43 b	1,53 b	1,7 b8	***
Tre	39,56 bc	77,46 a	26,91 c	50,29 abc	50,99abc	58,57 ab	21,36 c	35,63 bc	25,2 c9	***
Cit	7,92 abc	5,82 bc	3,27 c	5,91 bc	12,61 a	7,14 abc	5,36 bc	5,59 bc	9,73 ab	***
Arg	264,1	401,3	225,8	229,3	369,2	415,7	318,5	268,3	212,4	NS
Ala	59,92 cd	110,8 bc	27,11 d	175,3 a	123,2 ab	70,23 bcd	30,40 d	27,73 d	37,70 d	***
GABA	33,23 ab	28,65 ab	33,88 ab	50,06 ab	66,93 a	50,75 ab	26,65 ab	24,31 b	36,46 ab	***
Tir	11,53 ab	12,14 a	4,32 ab	11,42 ab	6,79 ab	7,69 ab	7,01 ab	9,50 ab	3,65 b	*
Cis	6,81 ab	11,33 ab	5,22 ab	12,52 a	10,18 ab	9,11 ab	5,26 ab	4,31 ab	3,94 b	***
Val	11,33 ab	16,52 a	6,47 b	15,48 a	14,07 ab	13,06 ab	7,48 b	6,99 b	7,64 b	***
Met	3,02 b	6,76 a	1,44 b	4,41 ab	3,14 b	3,38 b	2,66 b	1,91 b	1,59 b	***
Tript	19,72 a	19,55 a	14,27 ab	12,67 abc	4,44 c	8,99 bc	9,39 bc	13,65abc	5,08 bc	***
Fen	7,31 b	7,47 b	7,38 b	9,28 ab	9,23 ab	9,54 ab	10,12 ab	15,27 a	8,07 ab	***
Iso	3,19 ab	4,37 ab	3,14 ab	5,64 a	4,27 ab	4,62 ab	2,5 ab9	4,16 ab	2,57 b	*
Orn	1,50	2,10	0,99	0,83	1,60	1,88	1,76	1,43	1,69	NS
Leu	6,06 ab	9,91 ab	5,03 b	9,70 ab	8,28 ab	9,89 ab	6,45 ab	10,99 a	4,90 b	***
Lis	1,67 b	2,43 ab	2,70 ab	1,6 b7	1,90 ab	2,97 a	1,97 ab	2,48 ab	2,03 ab	*
Pro	228 ab	208 ab	163 ab	348 a	228 ab	262 ab	113 b	98 b	182 ab	***
Total	992 ab	1309 ab	670 b	1427 a	1306 ab	1251 ab	766 ab	668 b	766 ab	***
Total-Pro	764 ab	1101 a	508 b	1079 a	1078 a	990 ab	653 ab	570 ab	584 ab	***
Pro/Arg	0,89 b	0,58 b	0,75 b	1,57 a	0,64 ab	0,64 b	0,36 b	0,37 b	0,88 b	***

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias según el test de Tukey

G.S.: (*) p<0.05, (**) p<0.01, (***) p<0.001 y NS no significativo

El contenido de aminoácidos libres en todas las variedades se encuentra dentro del rango descrito en la bibliografía (Bell y Henschke, 2005). El total de aminoácidos fue más elevado en los mostos de Chardonnay, significativamente superior al obtenido en Turruntés, que fue un 47% más bajo. Si consideramos los aminoácidos más fácilmente asimilables por las levaduras (contenido total excepto prolina) se alcanzaron valores significativamente superiores

en Chardonnay, Sauvignon y Maturana respecto a Turruntés. El resto de variedades presentaron concentraciones intermedias.

Los aminoácidos mayoritarios en todas las variedades fueron arginina, prolina y glutamina, excepto en Chardonnay, en la que fueron más abundantes prolina, seguida de glutamina y arginina. En la Fig.1 se puede observar la distribución de los 8 aminoácidos mayoritarios en los mostos de las variedades estudiadas, que suponen entre el 83-90% del contenido total. La arginina representó entre el 16,1- 41,6 % del total, con valores más bajos en Chardonnay y más altos en Garnacha. La prolina osciló entre el 14,6% en Malvasía y el 24,4% en Chardonnay. Mientras que la glutamina alcanzó el 7,4% en Turruntés y Malvasía y el 18,3% en Chardonnay. Otros aminoácidos con concentraciones menos elevadas en orden por su abundancia relativa fueron: alanina, ácido glutámico, treonina, GABA y serina.

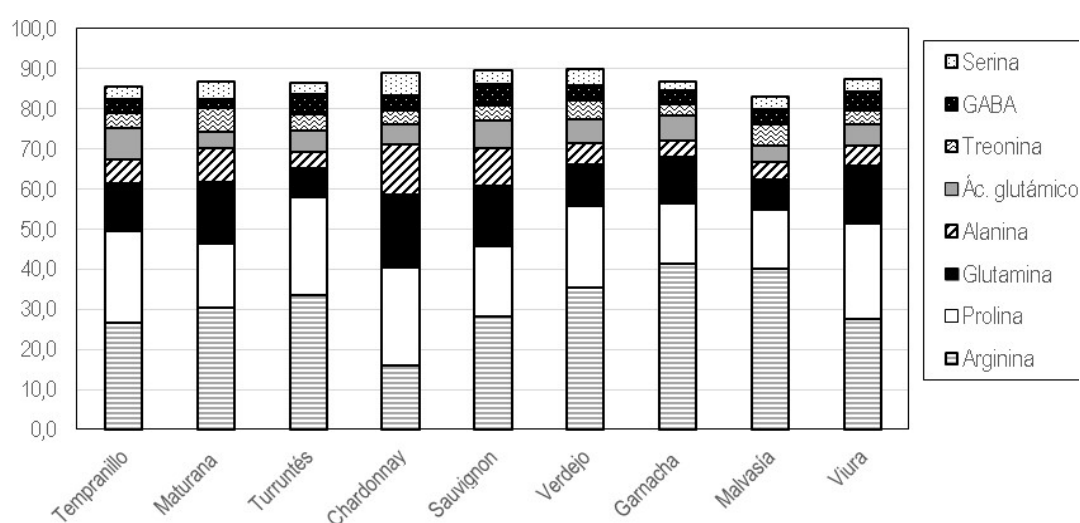


Fig. 1. Aminoácidos mayoritarios medios (%) en mostos varietales

La relación prolina/arginina fue más elevada en Chardonnay que en el resto de variedades. Esta ratio se considera una característica de la variedad de uva (Bell y Henschke, 2005; Huang y Ough, 1991), aunque también depende de otros factores, y es un indicador de la proporción de nitrógeno no asimilable (prolina) frente al asimilable (arginina). En este trabajo los mostos de Chardonnay presentaron un valor medio de 1,57, lo que indica que se trata de una variedad acumuladora de prolina, mientras que en el resto de viníferas esta ratio mostró valores inferiores a 1, es decir, que tienen mayor proporción de arginina. Estos resultados coinciden con los indicados en otros trabajos sobre las variedades Chardonnay (Bell and Henschke, 2005; Soufleros et al., 2003), Verdejo (Ortega-Heras et al., 2014) y las variedades Tempranillo blanco, Maturana blanca, Turruntés, Garnacha blanca, Malvasía y Viura (Martínez et al., 2015).

Los mostos de Chardonnay mostraron el contenido más alto en numerosos aminoácidos, entre los que se encontraron valina e isoleucina, precursores de los alcoholes isobutírico y amílico, y alanina. Sauvignon destacó por una elevada concentración de ácido glutámico, precursor de la γ -butirolactona, y de γ -aminobutírico (GABA). En Verdejo fue más elevado el contenido en lisina. El Triptófano, precursor del tirosol, alcanzó los valores más elevados en Tempranillo y Maturana, variedad en la que igualmente destacaron ácido aspártico, treonina,

tirosina, valina y metionina. En Malvasía se obtuvo la mayor concentración de fenilalanina y leucina, precursores de los alcoholes 2-fenil etanol e isoamílico. En los mostos de las variedades Turruntés, Garnacha blanca y Viura no se obtuvieron concentraciones destacables de ninguno de los aminoácidos estudiados.

El contenido de nitrógeno fácilmente asimilable en los mostos fue significativamente diferente entre las variedades estudiadas (Fig. 2), con valores más altos en Chardonnay y Sauvignon y más bajos en Malvasía. En los mostos de Malvasía y Turruntés no se alcanzó el umbral mínimo de 140 mg N/l recomendado para un desarrollo correcto de la fermentación, mientras que los de Garnacha y Viura estuvieron justo en el límite. A pesar de estas limitaciones en la composición nitrogenada de algunas variedades, la fermentación alcohólica se desarrolló sin problemas y concluyó correctamente en todas las campañas estudiadas. Únicamente se observaron diferencias en cuanto a su duración entre Garnacha blanca (17 días de media) y Chardonnay (10 días).

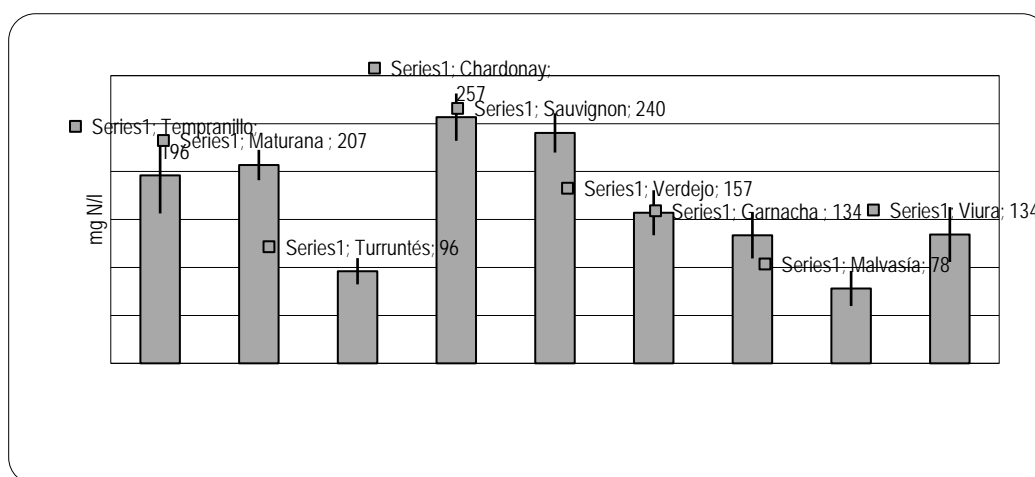


Fig. 2. Contenido en NFA (mg N/l) en mostos varietales (2012-16)

En el análisis de componentes principales (Fig. 3) las dos primeras funciones explicaron el 65,9% de la varianza y permitieron la clasificación de las variedades estudiadas según su perfil de aminoácidos. La función 1 explicó el 50,6% de la varianza, en la parte positiva se posicionaron todas las variedades incorporadas en 2008 a la D.O.Ca. Rioja, excepto Turruntés, que se agrupó en la parte negativa junto a las variedades tradicionales (Garnacha, Malvasía y Viura). Los aminoácidos con mayor influencia en dicha función fueron: valina, cistina, serina, glicina, alanina, glutamina e histidina. La función 2 explicó un 15,3% de la varianza y se correlacionó negativamente con el triptófano y positivamente con la citrulina. Los mostos de Chardonnay se relacionaron con todos los aminoácidos que definen la función 1, los de Sauvignon con citrulina, GABA y glutamina, los de Maturana con triptófano, metionina, treonina e histidina y los de Malvasía con fenilalanina.

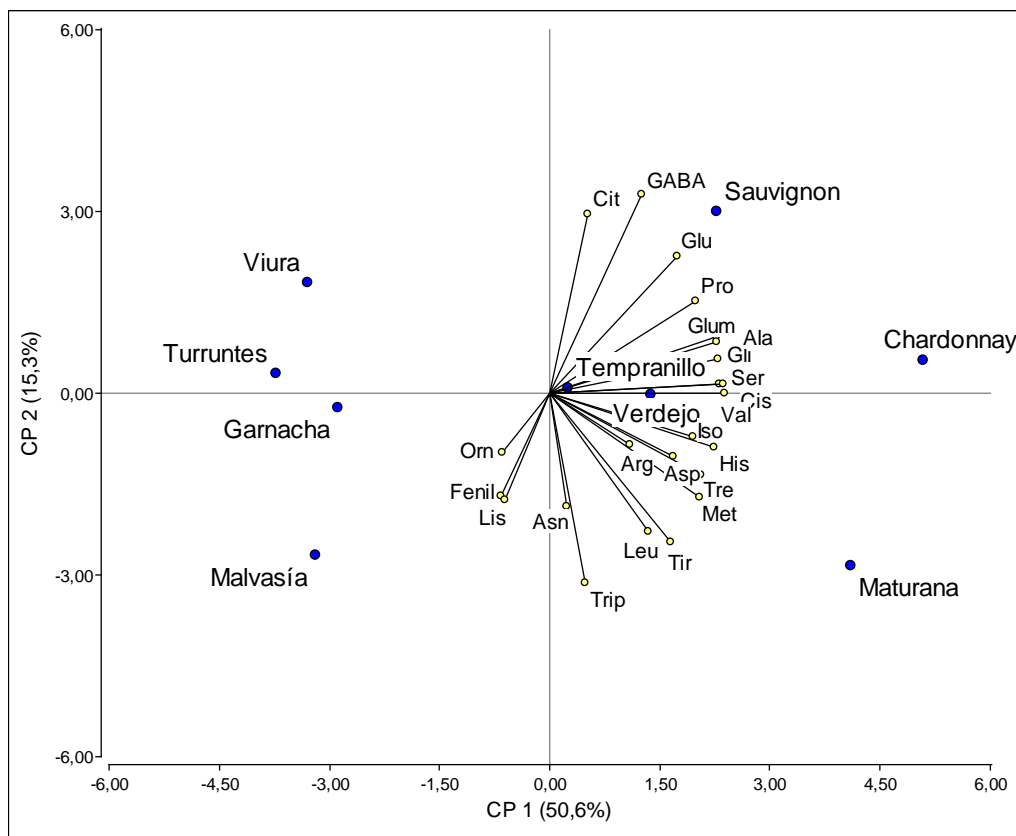


Fig. 3. Componentes Principales del contenido de aminoácidos en mostos varietales (2012-16)

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo han puesto de manifiesto la existencia de importantes diferencias en el contenido de aminoácidos de las nueve variedades blancas autorizadas en la D.O.Ca. Rioja. Cada variedad presenta un perfil característico, que se mantiene estable a pesar de la influencia de otros factores como la añada. Las diferencias observadas en la concentración de estos compuestos condicionan la disponibilidad de nitrógeno fácilmente asimilable en los mostos varietales, y pueden incidir de forma importante en el correcto desarrollo del proceso fermentativo y contribuir a la consecución de un perfil aromático característico en los vinos elaborados.

5. Bibliografía

1. AERNY, J. 1996. **Composés azotés des moûts et des vins**. Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture, 28: 161-165.
2. ASENSIO, M.L.; VALDES, E.; CABELLO, F. 2002. **Characterization of some Spanish white grapevine cultivars by morphology and amino acids analysis**. Sci. Hort., 93: 289-299.
3. BELL, S.J.; HENESCHKE, P.A. 2005. **Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine**. Australian J. Grape Wine Research, 11: 242-295.
4. BOUZAS-CID, Y.; FALQUE, E.; ORRIOLS, I.; TRIGO-CORDOBA, E.; DIAZ-LOSADA, E.; FORNOS-RIVAS, D.; MIRAS-AVALOS, J.M. 2015. **Amino acids profile of two Galician white grapevine cultivars (Godello and Treixadura)**. Ciencia Téc. Vitiv., 30 (2): 84-93.
5. BURIN, V.M.; GOMES, T.M.; CALIARI, V.; ROSIER, J.P.; BORDIGNON, M.T. 2015. **Establishment of influence the nitrogen content in musts and volatile profile of white wines associated to chemometric tools**. Microchemical Journal, 122: 20-28.

6. CHEN, D.; CHIA, J.Y.; LIU, S.Q. 2014. Impact of addition of aromatic amino acids on non-volatile and volatile compounds in lychee wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* MERIT.ferm. *International Journal of Food Microbiology* 170: 12–20.
7. GARDE-CERDÁN, T.; ANCÍN-AZPILICUETA, C. 2008. Effect of the addition of different quantities of amino acids to nitrogen-deficient must on the formation of esters, alcohols and acids during wine alcoholic fermentation. *LWT-Food Sci. Technol.*, 41: 501-510.
8. GARDE-CERDÁN, T.; LÓPEZ, R.; PORTU, J.; GONZÁLEZ-ARENZANA, L.; LÓPEZ-ALFARO, I.; SANTAMARÍA, P. 2014. Study of the effects of proline, phenylalanine, and urea foliar application to Tempranillo vineyards on grape amino acid content. Comparison with commercial nitrogen fertilisers. *Food Chemistry*, 163: 136-141.
9. HERNÁNDEZ-ORTE, P.; CACHO, J.; FERREIRA, V. 2002. Relationship between varietal amino acid profile of grapes and wine aromatic composition. Experiments with model solutions and chemometric study. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 2891-2899.
10. HUANG, Z.; OUGH, C.S. 1989. Effect of vineyard locations, varieties and rootstocks on the juice amino acid composition of several cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.*, 40: 135-139.
11. LOPEZ, R. 2009. Control de la fermentación maloláctica en vinos tintos de Rioja. Influencia en su calidad higiénica, físico-química y sensorial. Tesis doctoral. Universidad de La Rioja.
12. MARTINEZ, J.; GONZALO, A.; LOPEZ, E.; GARCIA-ESCUADERO, E. 2015. Perfil aminoacídico de mostos blancos de variedades minoritarias de la D.O.Ca. Rioja. XIII Congreso Nacional de Investigación Enológica (GIENOL). *Enología 2.015 Libro de Actas: Enología 2015, Innovación vitivinícola*. ISBN: 978-84-8424-378-6. Tarragona, Cataluña.
13. SOUFLEROS, E.H.; BOULOUMPASI, E.; TSARCHOPOULOS, C.; BILIADERIS, C.G. 2003. Primary amino acids profiles of Greek White wines and their use in classification according to variety, origin and vintage. *Food Chemistry*, 80: 261-273.
14. SPAYD, S.E.; ANDERSEN-BAGGE, J. 1996. Free amino acid composition of grape juice from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington. *Am. J. Enol. Vitic.*, 47 (4): 389-402.
15. VALDÉS, E.; VILANOVA, M.; SABIO, E.; BENALTE, M.J. 2011. Clarifying agents effect on the nitrogen composition in must and wine during fermentation. *Food Chemistry*, 125: 430-437.
16. VILANOVA, M.; RODRIGUEZ, I.; CANOSA, P.; OTERO, I.; GAMERO, E.; MORENO, D.; TALAVERANO, I.; VALDES, E. 2015. Variability in chemical composition of *Vitis vinifera* cv Mencía from different geographic areas and vintages in Ribera sacra (NW Spain). *Food chemistry*, 169. 187-196.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado mediante un proyecto de investigación financiado por el Gobierno de La Rioja durante los años 2012-2016.

Resultados preliminares del potencial enológico de variedades blancas minoritarias andaluzas

Belén Puertas, M^a Jesús Jiménez, Emma Cantos-Villar

Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) Centro Rancho de la Merced. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. Carretera Cañada de la Loba PK 3.1. 11471 Jerez de la Frontera. Tfno: 671 560 352. Fax: 956 03 46 10. e-mail: mariab.puertas@juntadeandalucia.es

Resumen

Se considera de gran importancia la conservación y puesta en valor de variedades que aunque minoritarias en la actualidad, pueden suponer en un futuro un valor añadido, dotando a los vinos de calidad y tipicidad propia.

En este trabajo se ha estudiado, en la cosecha de 2016, la potencialidad de las variedades blancas: Beba, Doradilla, Garrido fino, Jaén blanco, Mantuo, Moscatel de grano pequeño y Vijiriega, para obtener vinos blancos singulares. Todas ellas se cultivaban en Andalucía antes de la invasión filoxérica y, aunque de manera minoritaria, se siguen cultivando actualmente.

Con todas ellas se han obtenido vinos peculiaridades. En cuanto a fechas de maduración destacó Moscatel morisco por ser muy temprana y Beba por ser la más tardía, siendo ésta la de menor grado sacarimétrico. Moscatel morisco y Vijiriega alcanzaron valores óptimos de pH, no siendo necesario corregir la acidez de los mostos, algo poco habitual en nuestra zona. Jaén blanco presentó el valor más elevado de ácido málico. En cuanto al color, hubo pocas diferencias destacando ligeramente los tonos verdosos del vino de Vijiriega. Desde el punto de vista sensorial han destacado Moscatel morisco y Vijiriega tanto en nariz como en boca.

1. Introducción

Se considera de gran importancia la conservación y puesta en valor de variedades que, aunque minoritarias en la actualidad, pueden suponer en un futuro un valor añadido, dotando a los vinos de calidad y tipicidad propia. Así, existe gran interés por parte de muchas bodegas andaluzas en conocer el potencial enológico de estas variedades minoritarias, tanto para la elaboración de vinos generosos, como para la elaboración de vinos blancos jóvenes.

España es uno de los países con mayor diversidad genética de vid. A pesar de esta diversidad, actualmente solo 9 variedades representan el 80% de la superficie del viñedo español. En concreto, en Andalucía el número de variedades cultivadas actualmente en Andalucía [1], es muy inferior al de la época de Simón de Roxas Clemente [2], que cita 119 variedades o nombres distintos, e incluso al de las que se cultivaban antes de la filoxera (1878). En la actualidad las variedades de vid, oficialmente aprobadas en Andalucía son 48 [3]. De estas variedades, las cultivadas mayoritariamente que ocupan el 95 % del viñedo andaluz, son Palomino fino, Moscatel de Alejandría, Pedro Ximénez y Zalema. Las demás se cultivan de forma minoritaria y algunas incluso de forma aislada introducidas como vidueños en las parcelas cultivadas.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar, en la cosecha de 2016, la potencialidad de las variedades blancas: Beba, Doradilla, Garrido fino, Jaén blanco, Mantuo, Moscatel morisco y

Vijiriega, para obtener vinos blancos jóvenes singulares. Todas ellas se cultivaban en Andalucía antes de la invasión filoxérica y, aunque de manera minoritaria, se siguen cultivando actualmente.

2. Material y métodos

Material vegetal

El viñedo del cual se han obtenido los datos de este trabajo se encuentra situado en Jerez de la Frontera. La precipitación de la campaña 2015-2016 fue de 492 L/m² y la temperatura media de 18,6 °C.

La parcela se caracteriza por ser terreno de albariza, clásico de la zona y poda en cordón doble sobre espaldera vertical de tres alambres.

Las variedades autóctonas andaluzas utilizadas han sido: Beba (BE), Doradilla (DO), Garrido fino (GF), Jaén blanco (JB), Mantuo (MAN) y Vijiriega (VI). Asimismo, se ha incluido en este trabajo la variedad Moscatel morisco (MM), que aunque no es autóctona andaluza es una variedad cultivada minoritariamente en Andalucía desde hace muchos años.

Control de maduración

A partir del envero, se siguió semanalmente la evolución de una serie de parámetros. Las cepas para el muestreo se señalaron previamente, tomando unos 2 Kg de muestra escogiendo trozos de racimos de unas 10 bayas, situados en todas las orientaciones de la cepa (soleados y sombríos), y de las distintas partes del racimo.

En las muestras se determinaron los siguientes parámetros: peso de la baya, grado Baumé, acidez total, pH, ácido tartárico, residuo seco e índice de maduración (calculado como la relación entre los azúcares totales en g/L y la acidez total expresada en g/L de ácido tartárico). Estos parámetros unidos al estado sanitario de la uva permitieron establecer la fecha óptima de vendimia para cada variedad.

Vinificación

La vendimia se realizó manualmente en cajas de plástico de 18 kg. La uva se despalilló y se prensó en prensa neumática (SK 5) durante una hora a baja presión. A los mostos obtenidos se les adicionaron 80 mg/L de anhídrido sulfuroso (SO₂) (Sulfosol, Sepsa Enartis) y 2,5 ml/hl de enzimas pectolíticas (Blanco L, Sepsa-Enartis) y se desfangaron durante 18 horas a 4 °C.

Tras el prensado y el desfangado se determinaron los siguientes parámetros: grado Baumé, acidez total, pH, potasio, ácidos tartárico y málico e índice de Folin-Ciocalteu (IFC).

Los mostos desfangados se encubaron en depósito de 100 L de capacidad de acero inoxidable, con sistema de refrigeración por ducha, manteniendo la temperatura de fermentación a 18°C. Se corrigió la acidez con ácido tartárico, cuando fue necesario, hasta ajustar el pH a 3,3. Se adicionaron levaduras comerciales previamente hidratadas (20 g/Hl de White Arome, Sepsa-Enartis). Diariamente se controló el grado Baumé y la temperatura de los mostos en fermentación. A las dos semanas de finalizar la fermentación se realizó el deslío y se añadió la cantidad necesaria de SO₂ para que los vinos quedasen con 80 ppm de SO₂ total.

Los vinos se clarificaron con 15 ml/hl de gelatina líquida al 30% (Sepsa-Enartis) y 60 g/hl de Bentonita (Sepsa-Enartis), se estabilizaron por frío en cámara frigorífica a 4°C durante dos meses, se filtraron primero por placas para abrillantarlos (CKPV 16, Cordenons, Italia) y luego por cartuchos de 1,2 y 0,45 µm (Millipore), seguidamente fueron embotellados.

A los vinos embotellados se les determinaron los siguientes parámetros: grado alcohólico, densidad, acidez total, pH, acidez volátil, ácidos orgánicos (cítrico, tartárico, málico, láctico, succínico y acético), glicerina, azúcares reductores, anhídrido sulfuroso libre y total, extracto seco, acetaldehído, acetato de etilo, metanol, n-propanol, isobutanol e isoamilicos, metales (hierro, cobre, zinc, calcio, sodio y potasio), IFC, D.O. 420 nm, D.O. 520 nm y coordenadas CIELab. Los análisis de los mostos y vinos han sido realizados siguiendo los métodos internacionales de análisis [4, 5].

Análisis sensorial de los vinos

El análisis sensorial de los vinos se realizó mediante un panel de ocho catadores entrenados en nuestro Centro, siendo los propios jueces los que reflejaron en las correspondientes fichas de cata la percepción de los parámetros encontrados en los vinos en cuanto a la sensación visual, olfativa y gustativa. Se realizó una cata descriptiva, con valoración de cada carácter organoléptico mediante una escala puntuada del 0 al 10.

3. Resultados

Control de maduración

En las Figs. 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se muestran las evoluciones de: grado Baumé, acidez total, pH, peso medio de la baya, residuo seco e índice de maduración a lo largo de la maduración. En la Moscatel morisco, que fue la más temprana, se realizaron controles de maduración durante cuatro semanas, en la Beba, la más tardía durante 6 semanas, en el resto de las variedades se realizaron durante cinco semanas.

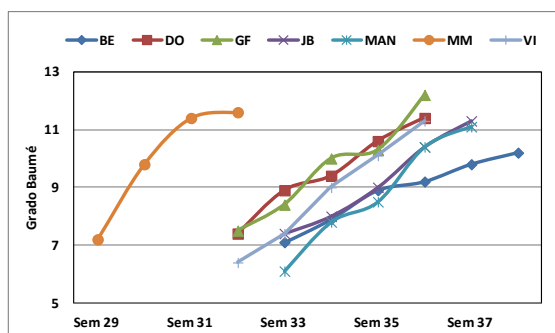


Figura 1. Evolución del grado Baumé

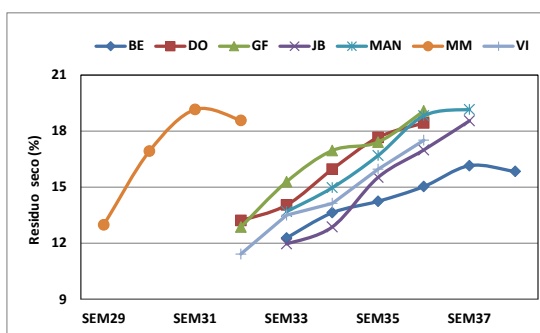


Figura 2. Evolución del residuo seco

Como era de esperar el grado Baumé fue aumentando durante la maduración. En el último muestreo todas las variedades presentaron valores comprendidos entre 11 y 12 salvo la Beba que solo alcanzó los 10 °Bé.

El residuo seco tiene el mismo comportamiento que el grado Baumé, ya que los azúcares son mayoritarios en la composición de la baya. La variedad Beba fue la que presentó valores más bajos durante todo el periodo de maduración.

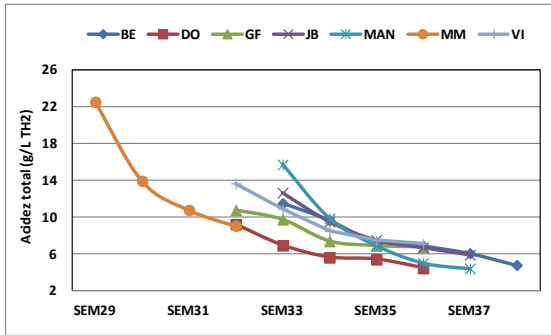


Figura 3. Evolución de la acidez total

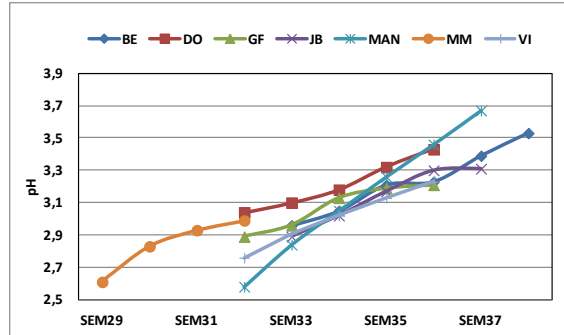


Figura 4. Evolución del pH

Destacó la Moscatel morisco por presentar los valores más altos de acidez total durante toda la maduración. En sentido contrario, la Doradilla y la Mantuo fueron las que presentaron valores más bajos en el último muestreo.

Respecto al pH, la Moscatel morisco presentó valores muy bajos durante todo el periodo de maduración, mientras que Mantuo y Beba fueron las que alcanzaron los valores más altos al final de la maduración.

La Moscatel morisco fue la de menor peso de la baya durante toda la maduración (menos de 1,5 g), la Garrido fino la de mayor (más de 3,0 g). El resto de las variedades se encontraron dentro de ese intervalo.

El índice de maduración calculado como la relación entre los azúcares totales y la acidez total expresada en ácido tartárico. Como era de esperar la de menor índice de maduración fue la Moscatel morisco ya que fue la de mayor acidez, con contenidos en azúcares similares. Doradilla y Mantuo, las que presentaron valores más altos, al tener los valores más bajos de acidez total.

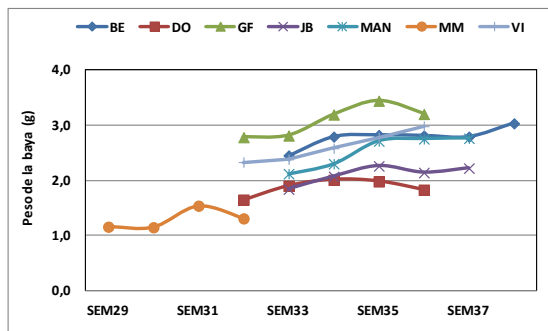


Figura 5. Evolución del peso de la baya

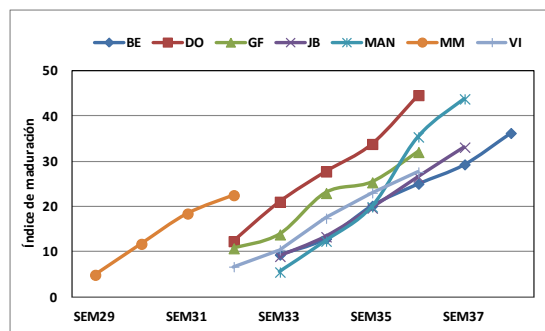


Figura 6. Evolución del índice de maduración

Mostos

A la vista de los resultados de los controles de maduración se estableció la fecha de vendimia para cada variedad. En las Figs. 7 y 8 se muestran las fechas de vendimia y la producción de uva. La variedad más temprana, vendimiada el 2 de Agosto, fue la Moscatel morisco

y la más tardía la Beba que se vendimió el 12 de Septiembre. Las variedades más productivas fueron Garrido fino y Moscatel morisco con algo más de 2.5 Kg /cepa. El resto de las variedades dieron menos de 2 Kg/cepa. Hay que señalar que esta campaña hubo un fuerte ataque de mildiu que afectó de forma muy severa a la producción de uva.

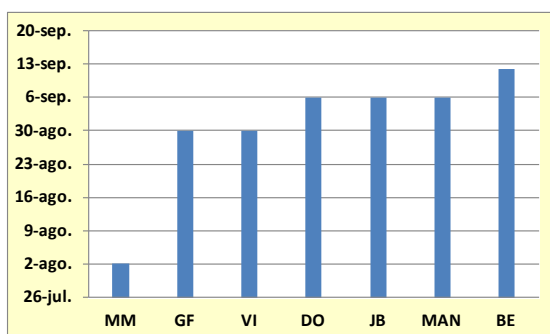


Figura 7. Fecha de vendimia

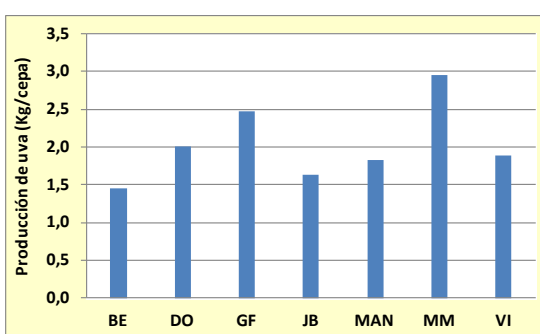


Figura 8. Producción de uva

Los parámetros analizados a los mostos desfangados se muestran en la Tabla 1. En general, los grados Baumé de los mostos, coincidieron con los del último muestro de maduración. Los pH fueron algo superiores, ya que tras el prensado y desfangado de la totalidad de la uva este parámetro suele aumentar. Moscatel morisco y Vijiriega alcanzaron valores de pH óptimos para no tener que corregir la acidez. El resto de las variedades presentaron valores de pH bastante elevados, por lo que hubo que corregir la acidez. Destacó la Mantuo por el elevado valor de pH (4,08) y la baja acidez total (2,61 g/L).

La variedad de mayor contenido en ácido málico fue la Jaén blanco. La de menor contenido en potasio fue la Vijiriega y la de mayor Índice de Folin-Ciocalteu la Moscatel morisco.

Tabla 1. Parámetros enológicos de los mostos desfangados

	BE	DO	GF	JB	MAN	MM	VI
Grado Baumé	9,9	11,4	11,9	11,2	11,2	11,7	10,9
pH	3,82	3,81	3,62	3,73	4,08	3,19	3,35
Acidez total (g/L de TH ₂)	3,28	3,17	3,55	4,00	2,61	7,04	4,36
Ácido tartárico (g/L)	3,18	4,01	4,94	3,72	4,50	7,10	5,12
Ácido málico (g/L)	1,94	1,61	1,04	2,30	1,62	1,64	1,60
Potasio (mg/L)	2.145	1.787	1.692	1.893	2.395	1.823	1.517
Índice Folin-Ciocalteu	5,24	6,65	5,49	7,20	5,52	9,83	4,57

Determinaciones de los vinos

Los resultados de las determinaciones analíticas de los vinos se muestran en la Tabla 2.

Los grados alcohólicos de los vinos estaban en consonancia con los grados Baumé de los mostos de partida. Estuvieron todos comprendidos entre 12 y 13 % v/v salvo la Beba que tan solo llegó a 10 % v/v.

Al igual que en los mostos, en cuanto a acidez total y pH destacaron los vinos de Moscatel morisco y Vijiriega, que fueron las únicas variedades que no precisaron de corrección de acidez, lo que las hace muy apropiadas para su cultivo en zonas de clima cálido.

Tabla 2. Parámetros enológicos de los vinos

	BE	DO	GF	JB	MAN	MM	VI
Grado alcohólico (% v/v)	10,0	12,4	13,0	12,2	12,1	12,7	11,9
Acidez total (g/L de TH ₂)	4,74	4,90	4,65	4,75	4,62	6,11	5,22
pH	3,41	3,22	3,26	3,41	3,43	3,12	3,21
Acidez volátil (g/L de Ach)	0,23	0,35	0,38	0,30	0,32	0,39	0,28
Glicerina (g/L)	5,40	5,89	5,72	5,77	5,39	6,92	5,99
Extracto seco (g/L)	14,80	14,47	14,89	15,42	14,96	17,75	15,48
Azúcares reductores (g/L)	0,50	0,50	1,70	1,57	0,80	1,40	1,00
<i>Ácidos orgánicos (g/L)</i>							
Cítrico	0,32	0,25	0,29	0,33	0,24	0,33	0,20
Málico	1,98	1,56	0,97	2,20	1,52	1,68	1,44
Tartárico	1,64	2,20	2,37	1,50	1,75	2,58	2,41
Láctico	0,06	0,04	0,08	0,10	0,08	0,08	0,09
Succínico	0,49	0,48	0,35	0,41	0,38	0,55	0,43
Acético	0,07	0,23	0,24	0,18	0,21	0,40	0,16
<i>Metales (ppm)</i>							
Hierro	0,39	0,58	0,28	0,37	0,43	0,51	0,46
Cobre	0,04	0,07	0,08	0,10	0,10	0,33	0,09
Zinc	0,40	0,43	0,40	0,30	0,36	0,28	0,37
Calcio	91	88	66	86	71	91	92
Sodio	20	19	17	20	15	21	20
Potasio	889	615	590	815	859	656	622
<i>Compuestos volátiles mayoritarios (ppm)</i>							
Acetaldehído	66,5	45,6	55,9	60,6	47,4	39,7	63,9
Acetato de etilo	27,4	33,6	47,5	38,9	31,7	31,5	37,1
Metanol (ppm)	54,6	27,2	31,8	41,7	51,2	47,2	48,7
N-propanol	13,7	12,6	14,5	16,1	12,9	10,0	15,5
Isobutanol	17,7	18,3	16,2	15,9	18,5	36,6	15,5
Isoamílicos	188,1	216,0	159,7	154,9	207,8	313,6	177,4
Σ Alcoholes superiores	216,6	247,1	190,4	186,9	239,2	350,2	209,4
<i>Parámetros relacionados con el color</i>							
D.O. 420 nm	0,071	0,051	0,051	0,056	0,084	0,065	0,061
D.O. 520 nm	0,015	0,005	0,009	0,014	0,025	0,012	0,009
Índice Folin-Ciocalteu	3,85	3,49	4,13	4,35	4,80	4,72	3,47
L*	96,84	98,70	98,32	98,15	97,63	98,35	98,60
a*	-0,20	-1,34	-0,87	-0,61	-1,19	-1,49	-1,70
b*	9,01	7,13	7,00	6,81	9,43	8,39	8,07

El vino más glicérico (cerca de 7 g/L) y de mayor extracto seco (17.75 g/L) fue el de Moscatel morisco, lo que en principio debiera conferirle más viscosidad y complejidad en boca.

La fermentación alcohólica de todos los mostos se desarrolló normalmente, quedando con contenidos en azúcares reductores inferiores a 2 g/L.

Los bajos contenidos de ácido láctico denotan que los vinos no hicieron la fermentación maloláctica, siendo las concentraciones de ácido málico similares a las de los mostos de partida.

Los valores de los metales se encuentran dentro de los rangos habituales de vinos blancos. Destacan los bajos contenidos en hierro de todos los vinos. Aunque algunos de los valores de potasio fueron algo elevados, todos los vinos estaban estabilizados por frío, comprobándose mediante el test de Boulton.

Los valores de acetaldehído, acetato de etilo, metanol y N-propanol se encontraron dentro de los rangos habituales en vinos blancos.

Destacó el de Moscatel morisco por tener los contenidos más altos de isobutanol y de isoamilicos y por tanto, del sumatorio de alcoholes superiores. El vino de mayor valor de Densidad óptica (D.O.) a 420 nm, que indica los tonos amarillos fue la Mantuo, esto se corresponde con un valor mayor de la coordenada b^* del espacio CIElab. Por otra parte el vino con un valor más bajo de la coordenada a^* fue el de Vijiriega, que indica tonos verdosos, siendo el de Beba el que tuvo un valor más alto.

Todos los vinos presentaron valores altos de L^* , es decir estaban limpios y brillantes, como era de esperar tras el proceso filtrado.

Respecto al índice de Folin-Ciocalteu, así como en los mostos destacó el Moscatel morisco por presentar un valor muy elevado, en los vinos no destacó ninguno significativamente.

Análisis sensorial de los vinos

A los vinos, una vez embotellados, se les realizó un análisis sensorial descriptivo. Se describieron los colores y todos presentaron tonalidades propias de vinos blancos que variaron entre el amarillo pálido con tonos verdosos al amarillo paja. Ninguno de ellos presentó defectos en la fase visual. En las Figs. 9 y 10 se muestran los resultados relativos a las fases olfativa y gustativa.

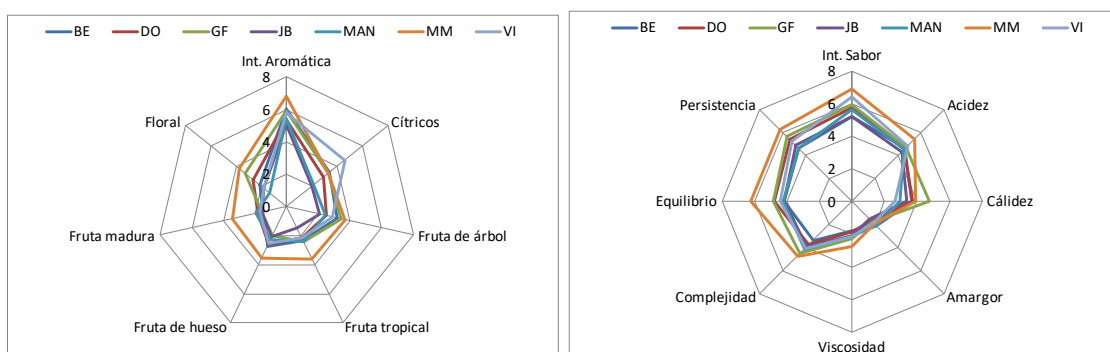


Figura 9. Análisis sensorial: Fase olfativa Figura 10. Análisis sensorial: Fase gustativa

En la fase olfativa se evaluó la intensidad aromática y seis atributos (Cítricos, Fruta de árbol, Fruta tropical, Fruta de hueso, Fruta madura y Floral). En aromas cítricos destacó el vino de Vijiriega, mientras que en el resto de los atributos sobresalió el vino de Moscatel morisco.

En la fase gustativa se evaluó la intensidad del sabor y siete atributos (Acidez, Calidez, Amargor, Viscosidad, Complejidad, Equilibrio y Persistencia). Salvo en calidez, que destacó el vino de Garrido fino (el más alcohólico), en el resto de los parámetros destacó nuevamente el vino de Moscatel morisco. Todos los vinos resultaron ligeramente amargos en el final de boca, sin haber apenas diferencias entre ellos.

4. Conclusiones

Aunque son resultados preliminares, ya que solo tenemos un año de experimentación, todas las variedades estudiadas pueden resultar válidas para la obtención de vinos monovarietales singulares.

Organolépticamente, en la campaña estudiada, ha destacado el vino de la variedad Moscatel morisco, seguido por el de la variedad Vijiriega. Por otra parte señalar que para estas dos variedades no ha sido necesaria la corrección de acidez de los mostos, lo que en climas cálidos es un factor importante.

Es necesario continuar estudiando las características de los mostos y vinos de estas variedades en más campañas con características climáticas diferentes.

5. Agradecimientos

Los resultados presentados han sido obtenidos en el marco del proyecto TRA.TRA201600.4 "Transferencia de Tecnología e Innovación en Vid y Vino" del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) cofinanciado al 80% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, dentro del Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020.

6. Bibliografía

1. PUERTAS, B.; SERRANO, M.J.; GUTIÉRREZ, R. **Andalucía**. In **Guía de variedades minoritarias**. Ministerio de Agricultura Alimentación y medio ambiente. ISBN: 978-84-491-1450-2.
2. CLEMENTE Y RUBIO, S. (Fascímul, 2002). **Ensayo sobre las variedades de la vid común que vegetan en Andalucía**. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. ISBN: 84-8474-065-X.
3. BOE-A-2016-7339. Real Decreto 313/2016, de 29 de julio, por el que se modifican el Real Decreto 739/2015, de 31 de julio, sobre declaraciones obligatorias en el sector vitivinícola, y el Real Decreto 740/2015, de 31 de julio, por el que se regula el potencial de producción vitícola, y se modifica el Real Decreto 1079/2014, de 19 de diciembre, para la aplicación de las medidas del programa de apoyo 2014-2018 al sector vitivinícola.
4. O.I.V. 2015. **Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts**. Paris. Office International de la Vigne et du Vin.
5. C.I.E. 1986. **Colorimetry**. 2nd Edition. CIE Publication num.15.2. Viena.

Perfil aromático de vinos de Moscatel de Grano Menudo en la Comunidad de Madrid

Borja Jarque, Félix Cabello, Teresa Arroyo, Gregorio Muñoz Organero

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA). Finca El Encín. Ctra. A-2, Km 38. 28800 Alcalá de Henares. Tel. 918879483. E-mail: gregorio.munoz@madrid.org

Resumen

La variedad Moscatel de Grano Menudo se cultiva en la región de Madrid desde el siglo XV. A pesar de su afamada calidad para elaboración de vinos dulces, licorosos y de alto potencial aromático, ha estado a punto de desaparecer por diversas razones. Para su recuperación se ha llevado a cabo un proceso de selección de 22 clones existentes en parcelas de cultivo. Con el objetivo de conocer los aromas que contribuyen a las características distintivas de sus vinos, se ha realizado una determinación mediante Microextracción en Fase Sólida seguida de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (MEFS-CG-EM) de los compuestos responsables del aroma varietal y los compuestos volátiles procedentes de la fermentación alcohólica en 22 vinos de 3 cosechas consecutivas. La cuantificación de compuestos volátiles ha permitido explicar el potencial aromático de esta variedad, resultando destacables algunos terpenos como β -mirceno, limoneno, α -ocimeno, linalol y α -terpineol, en concentraciones superiores a su umbral olfativo. Se ha evaluado también la evolución y degradación de algunos compuestos durante el envejecimiento del vino en botella, lo que nos permite esclarecer la persistencia del aroma en vinos de esta variedad cuando no se consumen durante el año.

1. Introducción

La calidad del vino está íntimamente relacionada con su aroma. Cada variedad de uva aporta al vino una personalidad aromática particular por los compuestos volátiles de sus uvas, y sobre todo por las diferentes combinaciones y concentraciones de los mismos. Aunque los aromas primarios dependen básicamente de la variedad de uva, también están influenciados por el clima de la zona y las características del suelo donde se hayan cultivado, además de las prácticas culturales (González Álvarez et al., 2011).

Los compuestos volátiles juegan un papel importante en las características organolépticas del vino y en la calidad del mismo, en particular aquéllos elaborados con variedades tipo moscatel. De hecho, la percepción a frutado de estos vinos está estrictamente relacionada con sus niveles de frescura y juventud. Varios cientos de compuestos de distintas familias químicas contribuyen al aroma del vino (Schneider et al., 2001). El aroma característico del vino de Moscatel se atribuye a la presencia de diferentes derivados terpénicos: linalol, nerol, geraniol, α -terpineol, citronelol y derivados del linalol (Ribereau-Gayon et al., 1975). Algunos de estos compuestos (linalol, nerol, geraniol) disminuyen con el tiempo de almacenamiento del vino, pero por el contrario otros como el α -terpineol aumentan demostrando una evolución oxidativa (Bordiga et al., 2013). De este modo, la pérdida de compuestos aromáticos con el tiempo, afecta a las características cualitativas de estos vinos.

La variedad de uva Moscatel de Grano Menudo se citaba ya en 1513 por Alonso de Herrera y es probablemente una de las variedades más antiguas cultivadas en España. Se trata

de una variedad de la que pueden surgir vinos de alta calidad, ganándose el distintivo de “vinos santos” o “vinos preciosos” (Julien, 1832). Sin embargo, la superficie de cultivo en la Comunidad de Madrid ha disminuido considerablemente desde 34 ha cultivadas en 1990 hasta las 2 ha actuales. Las razones pueden ser diversas, pero se debe fundamentalmente a la puesta en cultivo de variedades más productivas, a veces foráneas.

Conscientes de la importancia que puede tener recuperar esta variedad para mejorar la calidad de los vinos de Madrid, la D.O. Vinos de Madrid autorizó el Moscatel de Grano Menudo en 2002 con el objetivo de disponer de material sano, autóctono y con ciertos niveles de producción, y en el año 2009 el Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) comenzó a realizar una selección de clones procedentes de distintas parcelas de la D.O. Vinos de Madrid, fundamentalmente de las localidades de San Martín de Valdeiglesias y Colmenar de Oreja.

El objetivo de este trabajo es valorar la composición aromática de los vinos procedentes de cepas de Moscatel de Grano Menudo de la Comunidad de Madrid, cultivadas en un clima y suelo propio de la Denominación de Origen. Además, se pretende evaluar la evolución del aroma con el almacenamiento en botella de los vinos.

2. Material y Métodos

Se han analizado un total de 66 vinos elaborados en 3 campañas sucesivas (2013, 2014 y 2015), 22 en cada una de ellas. La uva utilizada para cada elaboración procedía de clones diferentes de la variedad de Moscatel de Grano Menudo recuperados de distintas parcelas de la Comunidad de Madrid y cultivados todos ellos en la finca El Socorro (Colmenar de Oreja) bajo las mismas condiciones ambientales y culturales. La parcela se encuentra en la subzona de Arganda, la más extensa de la D.O. Vinos de Madrid. El clima es continental con temperaturas extremas y una precipitación de 460 mm anuales. El suelo es franco-arcilloso con alto contenido de carbonatos. Las plantas están conducidas en espaldera, podadas a doble cordón Royat, en regadío, con cubierta vegetal en el suelo y tratadas únicamente con dos aplicaciones de azufre en polvo contra el oídio.

Las microvinificaciones se efectuaron en la bodega experimental de El Encín (Alcalá de Henares) en recipientes de 16 L. Después del estrujado, se realizó una maceración en frío durante 24 horas utilizando enzima pectolítica (2 g/100 Kg uva) y la fermentación se detuvo cuando la concentración de azúcares residuales estaba en torno a 20 g/L, para obtener un vino semidulce. Se utilizó la misma levadura comercial durante los 3 años.

Los compuestos volátiles de los vinos elaborados en los años 2013, 2014 y 2015 se analizaron en el año 2016, para ver su evolución a uno, dos y tres años de almacenamiento en botella. Para ello, se utilizó la técnica de microextracción en fase sólida seguida por cromatografía de gases y espectrometría de masas (MEFS-CG-EM) aconsejada de gran utilidad por varios autores (Bordiga et al., 2013; Xiao et al., 2015).

3. Resultados

Los compuestos volátiles encontrados en los vinos y sus concentraciones medias se detallan en la Tabla 1 y se muestran en el cromatograma de la Figura 1. En la Figura 2 se recogen los compuestos terpénicos identificados según su orden de elución: β -mirceno, limoneno, α -ocimeno, óxido de linalol, linalol, ho-trienol, cis-2,6-dimetil-2,6-octadieno, α -terpineol y geraniol. Las concentraciones de cada uno de ellos evolucionaron de diferente forma con el paso de los años. Así por ejemplo, el linalol disminuyó mientras que el α -terpineol presentó unos valores más altos en el vino embotellado en el año 2013. Ello es debido a la degradación de algunos compuestos monoterpenoles y a la síntesis de terpenoles cíclicos (Bordiga et al., 2013). El contenido de linalol, el terpeno más abundante, disminuye con el tiempo de embotellado. Su concentración en el vino del año 2015 fue de 23 mg/L frente a los 6 mg/L del año 2013 (Fig.2) lo cual tiene un efecto en las características sensoriales de los vinos, aunque en ambos casos los niveles están por encima de su umbral olfativo (Tabla 1).

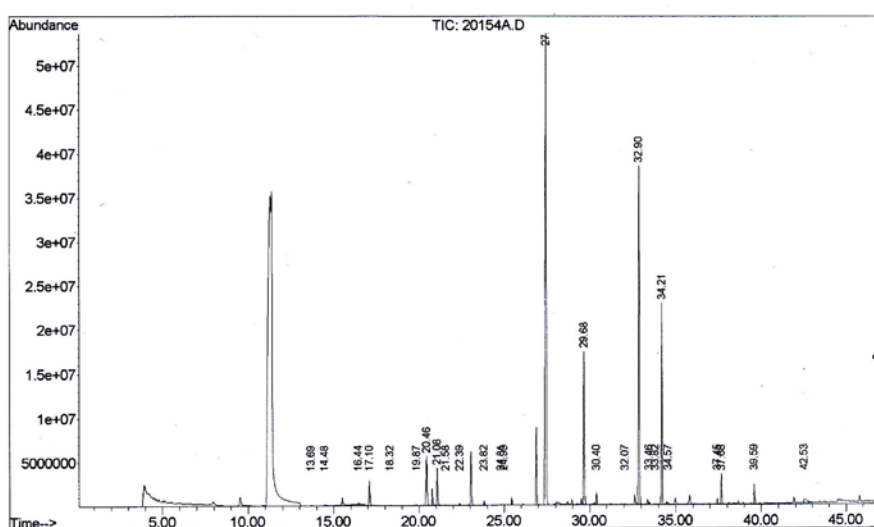


Figura 1. Perfil cromatográfico de un vino de moscatel (clon 4, cosecha 2015)

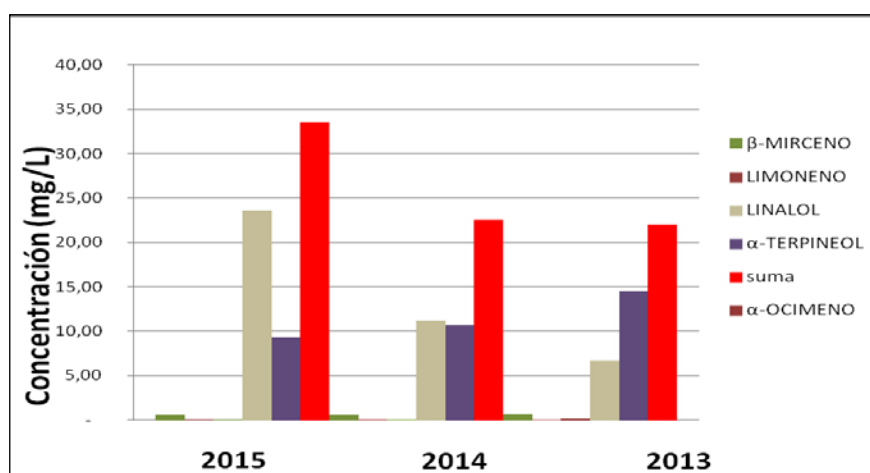


Figura 2. Evolución del contenido terpénico de los vinos de moscatel elaborados en los años 2013, 2014 y 2015 y analizados en el año 2016

Tabla 1. Compuestos identificados en los vinos, tiempos de retención y concentraciones medias de los 3 años. Descripción sensorial y umbral olfativo.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Concentración (µg/L)	Umbral olfativo (µg/L)	Descripción sensorial
Acetato de isobutilo	13,67	1119	1600	Plátano, fresa sintética
Butirato de etilo	14,48	6970	20	Naranja, piña, kiwi
Isobutanol	16,43	720136	40000	Alcohol, amargo, herbáceo
Acetato de isoamilo	17,18	43008	30	Plátano, manzana
β-mirceno	18,45	565	14	Melocotón
Limoneno	19,97	23	200	Naranja
Alcohol isoamílico	20,40	6154739	30000	Alcohol
Hexanoato de etilo	21,12	15306	14	Manzana, anís
α-Ocimeno	21,66	84	13	Menta
Acetato de hexilo	22,43	33	1000	Pera
Oxido de linanol	23,88	nc		
Lactato de etilo	24,79	271942	154636	Frutal, jabón
1-Hexanol	24,98	2340161	8000	Alcohol, almendra, herbáceo
Octanoato de etilo	27,51	45197	5	Manzana, dulzón
Sorbato de etilo	29,68	nc		
Linalol	30,40	13993	25	Floral, lavanda, dulzón
Hotrienol	32,08	nc		
Decanoato de etilo	32,91	8145	200	Frutal, caprífico, disolvente
Cis-2,6-dimetil-2,6-octadieno	33,47	nc		
Succinato de dietilo	33,83	109747	100000	Manzana cocida, frutal
Etil 9-decenoato	34,22	nc		
α-Terpineol	34,57	11474	250	Floral, herbáceo
Geraniol	36,77	nc		
Acetato de 2-feniletilo	37,45	8326	250	Floral, rosa
Laurato de etilo	37,68	nc		
β-Feniletanol	39,59	1109926	14000	Floral, rosa, jazmín

n.c.= no cuantificado

Cabe señalar el comportamiento del 1-hexanol, alcohol de 6 átomos de carbono, relacionado con aromas vegetales y herbáceos, cuyos valores se mantienen con los años.

Además de los terpenos se han estudiado los alcoholes superiores y los ésteres provenientes de la fermentación alcohólica. Los alcoholes superiores con mayor importancia desde el punto de vista cuantitativo y aromático: isobutanol, alcohol isoamílico y β-feniletanol, aportan el carácter alcohólico al aroma del vino, si bien el β-feniletanol tiene un aspecto más positivo en el aroma por sus notas florales (rosa, jazmín). La concentración de todos ellos se muestra variable con el tiempo, no siguiendo una pauta de evolución sino más bien una dependencia del año (Fig.3).

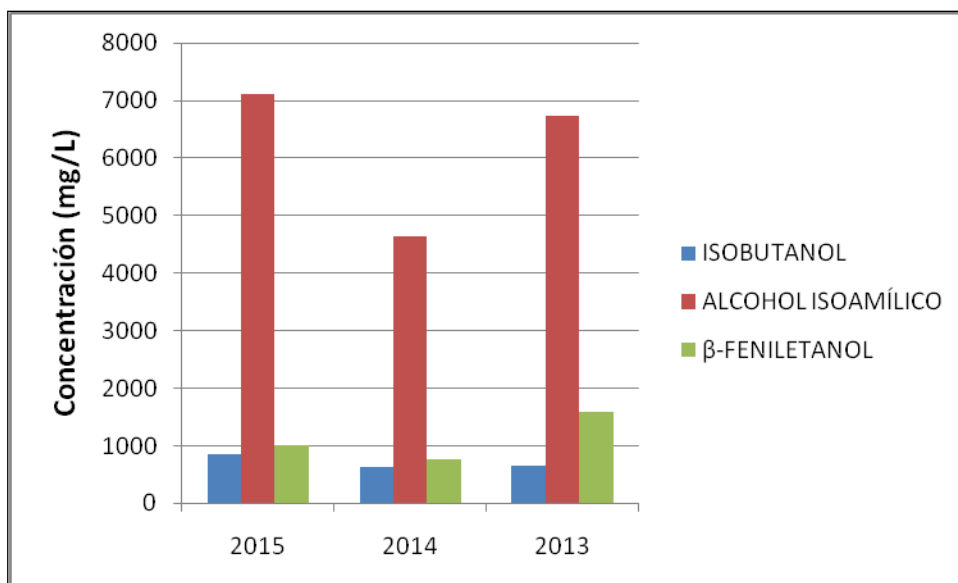


Figura 3. Evolución del contenido en alcoholes superiores de los vinos de moscatel elaborados en los años 2013, 2014 y 2015 y analizados en el año 2016.

Los ésteres cobran gran importancia en la calidad aromática de los vinos jóvenes, muy interesantes en la matriz aromática final. Los compuestos identificados, por orden de aparición en las condiciones del estudio han sido: acetato de isobutilo, butirato de etilo, acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, acetato de hexilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo. Todos ellos son responsables del carácter frutal del aroma. En el conjunto del estudio se observa que sus concentraciones disminuyen con el tiempo en botella, si bien después de tres años se mantienen por encima del umbral olfativo. Es interesante señalar que la mayor caída de estos compuestos se produce durante el primer año, siendo menos importante su descenso en el segundo y el tercer año de almacenamiento (Fig.4).

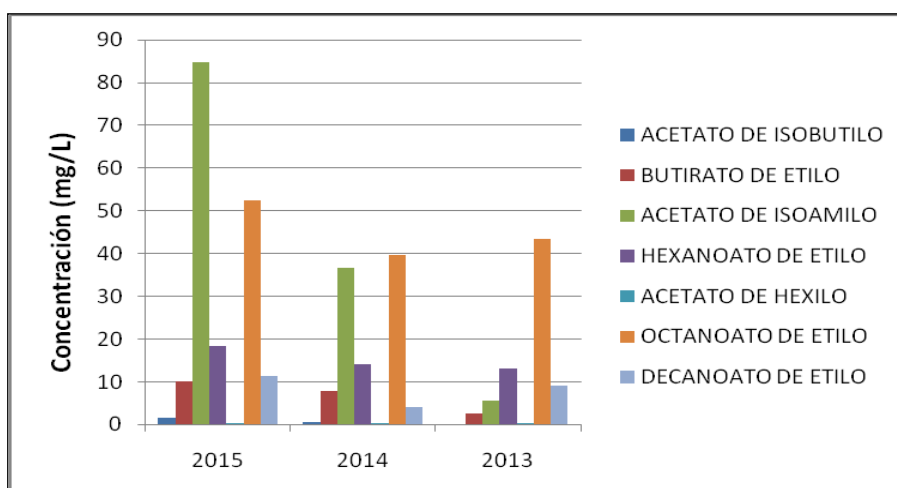


Figura 4. Evolución del contenido en ésteres de los vinos de moscatel elaborados en los años 2013, 2014 y 2015 y analizados en el año 2016.

Finalmente, se han identificado algunos compuestos terciarios, formados a lo largo de la evolución del vino en botella. Estos compuestos se forman por hidrólisis o esterificación química

como es el caso del succinato de dietilo, que ha sido más abundante en los vinos con mayor tiempo de permanencia en botella.

4. Conclusiones

La cuantificación de compuestos volátiles de vinos elaborados con la variedad Moscatel de Grano Menudo ha permitido explicar el alto potencial aromático de la misma en la Comunidad de Madrid. Los compuestos más destacables han sido los terpénicos, constituyentes del aroma varietal, y los ésteres, procedentes de la fermentación en vinos jóvenes.

Resulta destacable la evolución de algunos compuestos durante el envejecimiento del vino en botella, especialmente la degradación del linalol y la formación de α -terpineol.

La intensidad aromática de los vinos de Moscatel de Grano Menudo es debida a las concentraciones de ciertos compuestos que superan notablemente el umbral olfativo, proporcionando notas aromáticas afrutadas, florales y suaves matices dulces y anisados.

5. Bibliografía

- ALONSO DE HERRERA, G. 1513. **Agricultura general**. Facsimil Universidad Politécnica de Madrid. 1994.
- BORDIGA, M.; RINALDI, M.; LOCATELLI, M.; PIANA, G.; TRAVAGLIA, F.; COISSON, J.D.; ARLORIO, M. 2013. **Characterization of Muscat wine aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plots comparison**. Food Chem 140:57-67
- GONZÁLEZ ÁLVAREZ, M.; GONZÁLEZ BARREIRO, C.; CANCHO GRANDE, B.; SIMAL GÁNDARA, J. 2011. **Relationships between Godello white wine sensory properties and its aromatic fingerprinting obtained by GC-MS**. Food Chem 129:890-898
- JULIEN, A. 1832. **Topographie de tous les vignobles connus**. Paris.
- RIBERAU-GAYON, P.; BOIDRON, J.N.; TERRIER, A. 1975. **Aroma of Muscat grape varieties**. Journal of Agricultural and Food Chem 23:1042-1047
- SCHNEIDER, R.; RAZUNGLES, A.; AUGIER, C.; BAUMES, R. 2001. **Monoterpenic and norisoprenoidic glycoconjugates of Vitis vinifera L. cv. Melon B. as precursors of odorants in Muscadet wines**. J Chromatogr A 936:145-152
- XIAO, Z.; ZHOU, X.; NIU, Y.; YU, D.; ZHU, J.; ZHU, D. 2015. **Optimization and application of headspace-solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of volatile compounds in cherry wines**. J Chromatogr B 978:122-130

6. Agradecimientos

Agradecemos al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y a los fondos FEDER la financiación de este trabajo a través del proyecto RTA2010-00101.

Primeras experiencias con la variedad Morate en la DO "Vinos de Madrid"

Juan Mariano Cabellos, Valeria Romero, Julia Crespo, Margarita García, Teresa Arroyo

IMIDRA. Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural Agrario y Alimentario. Dpto. de Investigación Agroalimentaria. Finca "El Encín". Autovía A-2, km 38,2. Alcalá de Henares. 28800. Madrid.
Tfno: 91 887 94 98; 636 25 65 25. juan.cabellos@madrid.org

Resumen

En los últimos años ha crecido el interés por conocer a fondo las denominadas variedades minoritarias, dada la necesidad que muestran las bodegas por distinguir sus productos en un mercado global más competitivo, donde cobra mayor importancia la calidad diferenciada. Se estudian durante dos años, 2015 y 2016, la fenología, maduración, se elaboran microvinificaciones y se hacen análisis físico químicos y sensoriales de la variedad Morate, y se comparan con la tradicional Tempranillo, implantadas en la finca El Socorro del IMIDRA, dentro de la subzona de Arganda en la DO "Vinos de Madrid".

Los primeros resultados indican que es una variedad más tardía en brotación y maduración que Tempranillo. También mantiene mayores niveles de acidez y menores de pH al final de la maduración. Los vinos elaborados resultan con intensidad de color media y ligeros de cuerpo comparados con Tempranillo, si bien, mantienen una adecuada intensidad aromática y suficientes notas de frutalidad. Por todo ello, presenta ciertos caracteres de interés para la zona que se habrán de confirmar en sucesivas campañas.

1. Introducción

La incorporación generalizada de la tecnología en las bodegas a partir de los años 90 ha mejorado indudablemente la calidad media de los vinos españoles. Simultáneamente, ha conducido a una cierta uniformidad de los productos elaborados al disponer muchas bodegas de los elementos necesarios para elaborar con las mismas modernas técnicas de vinificación. Al mismo tiempo, se ha producido una concentración en el número de variedades cultivadas y se han incorporado variedades extranjeras tanto por su calidad como por su valor comercial, por su capacidad de atracción al consumidor y también por seguir modas de consumo. Sin embargo, esta presencia de variedades comunes en muchas áreas vitivinícolas ha sido otro factor más para hacer que los vinos puedan resultar similares entre zonas tradicionales.

Por otro lado, la necesidad de competir en un mercado globalizado hace pensar que, comercialmente, puede ser un valor añadido, dotar al producto de un elemento diferenciador que lo haga reconocible frente a la competencia. Así, la idea de un conjunto ecológico con tres elementos dominantes constituidos por variedad, suelo y clima se potencian en la elaboración del producto y en su marketing, realizando su singularidad. Es sabido que la técnica de elaboración es generalizable y aplicable a las bodegas, independientemente de su ubicación. La variedad también lo es aunque con mayor número de limitaciones por problemas de adaptación, idoneidad, rendimiento y calidad. Un clima y suelo concretos es mucho más difícil de imitar. Aún más, la unión de un suelo y clima concreto a los resultados que una variedad determinada ofrece sobre ellos. Esta singularidad que ofrece un producto de calidad diferenciada, además encuentra en estos momentos un sector de público más receptivo que nunca y que, poco a poco, es creciente. Un consumidor cada vez más entendido, abierto a nuevas propuestas, con menores prejuicios sobre

las zonas vitivinícolas y con ganas de ampliar sus conocimientos y su gama de vinos consumidos. Por otro lado, no hay que olvidar que como toda industria, está sometida no sólo a las modas sino también a la necesidad de presentar novedades que puedan atraer a un mayor número de consumidores y mantener fieles a los ya habituales.

Por todo ello, en los últimos años ha crecido el interés por conocer en profundidad las características de variedades que son minoritarias en superficie cultivada, en clara regresión y abandono y que incluso, en algún caso, están en peligro de extinción. Así han surgido proyectos de investigación y trabajos (Martin, J.P. et al., 2003) que abordan su estudio desde el punto de vista de la diferenciación e identificación genética, del conocimiento de características agronómicas y enológicas. El Consejo Regulador de la DO "Vinos de Madrid", ha impulsado y realizado la prospección de dichas variedades en las tres subzonas actuales de la DO con la ayuda de bodegas y viticultores. La variedad Morate se encuentra de forma dispersa en las subzonas de San Martín y Navalcarnero y de la información recabada, podemos decir que los viticultores la perciben como variedad productiva y bien adaptada a la zona frente a sequías y enfermedades criptogámicas (Bravo, M, 2017). En los últimos años, el material recogido se ha implantado en la finca experimental El Socorro, perteneciente al IMIDRA, en Colmenar de Oreja, en la subzona de Arganda.

En este trabajo se estudian durante dos años, 2015 y 2016, la fenología, maduración, se elaboran microvinificaciones y se hacen análisis físico químicos y sensoriales de la variedad Morate, y se comparan con la tradicional Tempranillo. Los primeros resultados indican que es una variedad más tardía en brotación y maduración que Tempranillo. También mantiene mayores niveles de acidez y menores de pH al final de la maduración. Los vinos elaborados resultan con intensidad de color media y ligeros de cuerpo comparados con Tempranillo, si bien, mantienen una adecuada intensidad aromática y suficientes notas de frutalidad. Por todo ello, presenta ciertos caracteres de interés para la zona que se habrán de confirmar en sucesivas campañas.

2. Materiales y Métodos

Las plantas tanto de Morate como de Tempranillo se encuentran formadas en espaldera en cordón simple a una distancia de 0,9 metros y una anchura de calle de 2 m sobre portainjerto 110 R. Morate tiene dos procedencias diferentes, Aliseda (MTE 1) y Peña Caballera (MTE 2), parajes vitícolas de San Martín de Valdeiglesias (Bravo, 2017). Se implantaron, 28 plantas de cada tipo, los años 2012 y 2013 y con un régimen de riego variable en función de las temperaturas, con un máximo de 8 horas semanales en goteros de 2 L/hr a 0,75 m.

Se ha seguido el estudio de estados fenológicos según Baggiolini (Baggiolini, 1952; Baillod y Baggiolini, 1993). Los muestreos semanales de uva se han realizado según Ribereau- Gayon et al. (2003). El grado Brix se ha medido por refractometría con un equipo Atago PR 100. La acidez total, pH, potasio, ácido tartárico y málico según los métodos descritos de la OIV (OIV, 1990; 2008, 2012) con ayuda de un valorador automático Crison Eno TT y un espectrofotómetro UV-Vis de la firma Thermo, modelo Helios α .

El análisis sensorial se hizo en sala de catas con cabinas siguiendo la Norma UNE-004-79 y con una ficha de elaboración propia del grupo de Enología del Imidra.

3. Resultados

Los estudios de fenología son importantes en brotación, dado que la zona es susceptible de sufrir heladas tardías de primavera. La Fig. 1 muestra la fenología. En ambos casos se aprecia que Morate brota más tarde que Tempranillo, lo que en principio, favorece que pueda sufrir menos daños por heladas. En esos momentos, una diferencia de días en brotación, puede hacer que se aminoren los efectos negativos de una helada, lo que es un factor favorable a tener en cuenta en la implantación de la variedad.

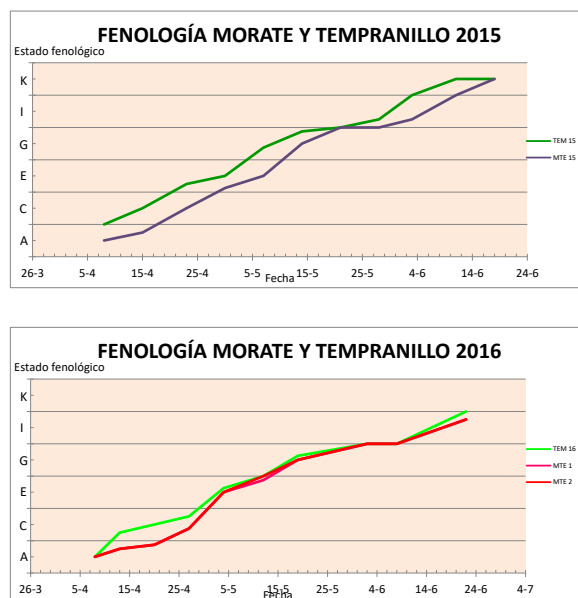


Fig. 1.- Estados fenológicos de las variedades Morate y Tempranillo durante 2015 y 2016 en la finca "El Socorro" de Colmenar de Oreja.

La Fig. 2 muestra la adquisición de grado probable a lo largo de la maduración para ambas variedades en las dos campañas en estudio. Hay que destacar que en ambos años Morate se ha mostrado en maduración como una variedad tardía en nuestra zona, más que Tempranillo, en contraste a lo citado por Cabello y col. (2011). Especialmente, el año 2016, la variedad prolongó su maduración hasta muy avanzado el mes de octubre. En ambas campañas, su grado probable de alcohol (GAP) fue inferior al obtenido por Tempranillo y no llegó a 13,5 GAP en las condiciones de este estudio. La posibilidad de mezclarla con Garnacha, además de su uso monovarietal, rebajando el grado probable de ésta es uno de sus atractivos que, probablemente, ha despertado el interés de algunos enólogos de la zona (Bravo, 2017).

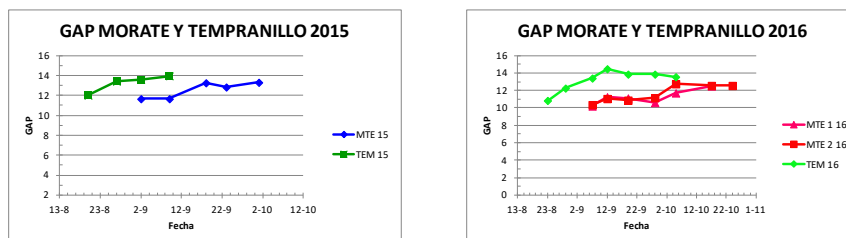


Fig. 2.- Evolución del grado alcohólico probable (GAP) a lo largo de la maduración de Morate y Tempranillo en ambas campañas en la Finca "El Socorro" de Colmenar de Oreja.

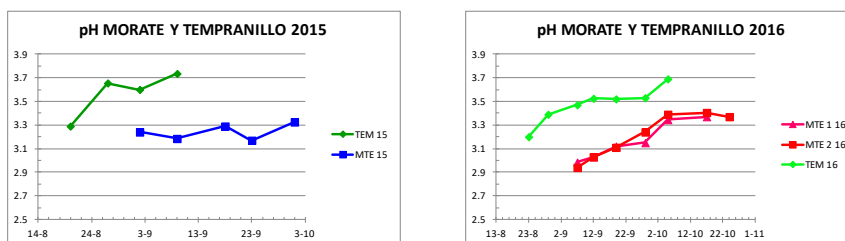


Fig. 3.- Evolución del pH a lo largo de la maduración de Morate y Tempranillo en ambas campañas en la Finca "El Socorro" de Colmenar de Oreja.

Las Figuras 3 y 4 muestran la evolución, a lo largo de la maduración, del pH y de la acidez total para las dos variedades en los años del estudio. Los valores alcanzados por Morate, son siempre inferiores a los de Tempranillo, en todo el periodo de maduración, lo que hace de éstos un punto a favor de la variedad ya que podría mejorar las condiciones de pH y conservación de los vinos en los que formara parte mezclada con Tempranillo.

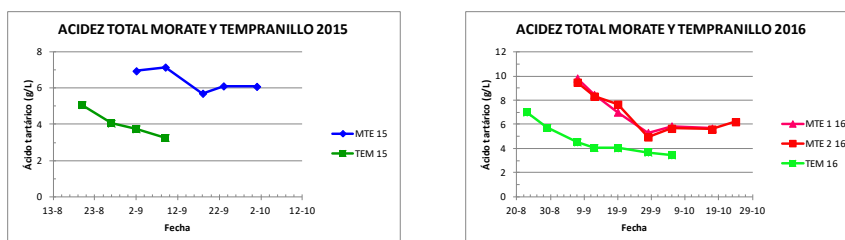


Fig. 4.- Evolución de la acidez total (g/L de ácido tartárico) a lo largo de la maduración de Morate y Tempranillo en ambas campañas en la Finca "El Socorro" de Colmenar de Oreja.

Los valores de acidez total a lo largo de la maduración son superiores ambas campañas para la variedad Morate. Al comparar para similares niveles de azúcar, hay un carácter varietal más ácido en Morate frente a Tempranillo. Los valores encontrados al final de maduración, a pesar de su menor contenido en azúcar, son más adecuados que los ofrecidos por Tempranillo, lo que puede incidir en mayores sensaciones de frescura en boca, mejor conservación, estabilidad del vino y colores más vivos y atractivos.

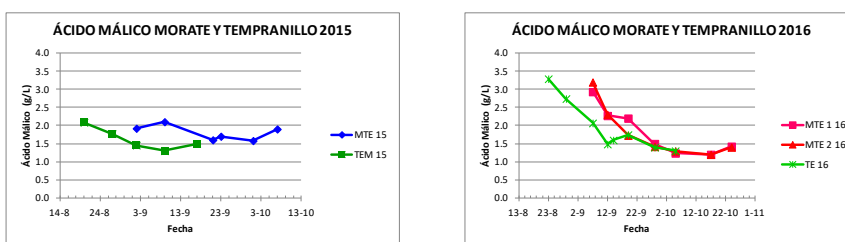


Fig. 5.- Evolución del ácido málico (g/L) a lo largo de la maduración de Morate y Tempranillo en ambas campañas en la Finca "El Socorro" de Colmenar de Oreja.

El ácido málico sigue un descenso continuado a lo largo de la maduración. En ambas campañas, en general, Morate tiene valores más altos que Tempranillo pero al final de la maduración, alcanzan valores similares. En todo caso sus niveles, moderados, favorecerán la realización de la fermentación maloláctica, siendo más bajos que los encontrados por Frejido y col. (2012) en mostos de variedades gallegas.

El ácido tartárico muestra un descenso paulatino, irregular, a lo largo de la maduración. Los niveles de Morate son superiores a los de Tempranillo a lo largo de todo el periodo, incluso al final de la maduración, a diferencia de lo que ocurre con el ácido málico. Es por tanto, el ácido tartárico el que manifiesta claramente una mayor diferencia entre ambas variedades en favor de Morate, lo que incidirá en valores mayores de acidez y menores de pH. Los valores al final de maduración también son inferiores, en general, a los encontrados por Freijido y col. (2012) en mostos de Galicia.

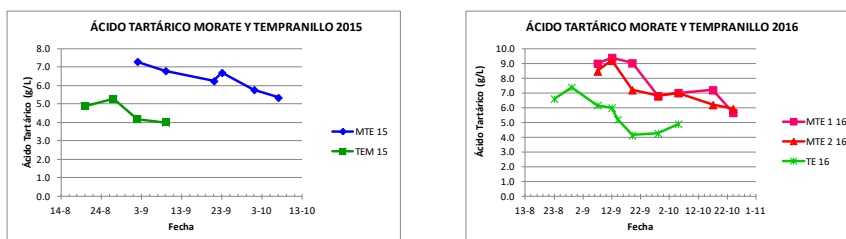


Fig. 6.- Evolución del ácido tartárico (g/L) a lo largo de la maduración de Morate y Tempranillo en ambas campañas en la Finca "El Socorro" de Colmenar de Oreja.

Podemos resumir estas características en el parámetro Índice de Madurez Tecnológica (IMT) expresado como el cociente entre los gramos de azúcar por litro de mosto y la acidez total expresada en gramos por litro de ácido tartárico. La Fig. 7 recoge la evolución de este parámetro en maduración.

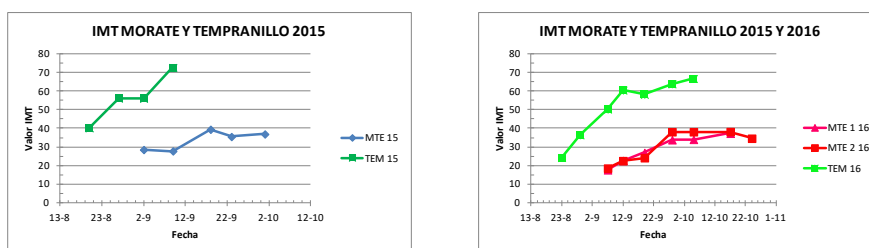


Fig. 7.- Evolución del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) a lo largo de la maduración de Morate y Tempranillo en ambas campañas en la Finca "El Socorro" de Colmenar de Oreja.

Se aprecia en ambos años que Tempranillo presenta valores más altos que los de Morate. Los valores de IMT ofrecidos por Morate son, en principio, favorables en nuestra zona, donde la acidez de mostos de Tempranillo es escasa. No obstante, se ha de observar durante más campañas la tendencia de Morate por la cual, pudiera haber años en los que no consiguiera una madurez adecuada desde el punto de vista comercial. Las 28 plantas de cada procedencia rindieron 55 kgs en Morate 1 (1,9 kgs/cepa; Aliseda) y 69 kgs en Morate 2 (2,4 kgs/cepa; Peña Caballera). Estos datos se han de confirmar otros años y hay que considerar la existencia de plantas con distinto grado de desarrollo y producción que inciden en la cosecha obtenida.

La temperatura de fermentación fue inusual para tintos (19-20°C) en 2015, motivado por las fechas tardías de vendimia y las condiciones de bodega. En 2016 rondaron los 22 °C. Todo ello, puede condicionar la extracción en el proceso fermentativo y perfilar las características posteriores de los vinos.

La Tabla 1 recoge algunos parámetros de los mostos y vinos elaborados. Hay que destacar la influencia anual en el grado alcohólico, donde se aprecia un menor valor para 2016. Los valores de pH son inferiores a los obtenidos con Tempranillo en la zona y mayores para la acidez total, lo que contribuirá a mejorar el color y la conservación de los vinos en caso de utilizarse como vinos de corte. La razón fundamental parece ser la mayor concentración de ácido tartárico, cuyos valores son superiores a los que ofrece Tempranillo en la zona. Los mostos mostraron valores habituales en la zona en ácido málico, similares a Tempranillo.

Tabla 1.- Datos de algunos parámetros generales de mostos y de los vinos elaborados.

AT: acidez total en g/L de ácido tartárico; AV: acidez volátil en g/L de ácido acético; AZ: azúcares reductores en g/L; MH2: ácido málico en g/L; TH2: ácido tartárico en g/L; K: potasio en mg/L; ETAL: etanal en mg/L; GLI: glicerina en g/L; NFA: nitrógeno fácilmente asimilable en mg/L.

	% vol/GAP	pH	AT	AV	AZ	TH2	MH2	LH2	K	ETAL	GLI	NFA
2015												
Mosto	14,0	3.31	5.7	-	-	5.7	1.4	-	-	-	-	95
Vino	13.7	3.49	5.1	0.4	2.9	4.8	0.06	1.2	771	55	8.1	-
2016												
Mosto												
MORATE 1	12.5	3.29	6.8	-	-	6.2	1.2	-	-	-	-	91
MORATE 2	12.55	3.37	6.2	-	-	6.8	1.1	-	-	-	-	92
Vino												
MORATE 1	12.42	3.34	5.3	0.3	2.3	5.1	0.05	1.1	692	58	6.4	-
MORATE 2	12.62	3.37	5.4	0.3	2.1	5.3	0.03	1.2	715	81	7.1	-

Los valores de potasio no son problemáticos e inferiores a los de vinos de Tempranillo en la zona. Las diferencias en etanal son derivadas de los problemas de conservación de las microvinificaciones y del periodo de latencia en la implantación de las bacterias lácticas, pero no debido a problemas en fermentación. La glicerina presenta valores habituales siendo algo superiores el año 2015 en el que el grado alcohólico fue mayor. El valor medido de nitrógeno fácilmente asimilable (NFA, mg/L) es insuficiente para un correcto desempeño en fermentación, por lo que será necesario corregir los mostos.

El análisis sensorial se realizó por un panel de ocho jueces compuesto por personal del Departamento de Agroalimentación con experiencia en Enología y vinificación, y otros miembros del Imidra, aficionados y habituales consumidores de vino. El objetivo es que pueda representar a un colectivo más amplio a quien va destinado el vino. Los análisis del vino 2015 se llevaron a cabo en la primavera de 2016 y se han repetido a la salida del invierno, ya en 2017. Ambas catas son muy coincidentes y ponen de manifiesto que estamos ante un vino rojo cereza con ligero tono violáceo de intensidad media.

La Fig. 8 recoge las puntuaciones medias de la intensidad de la fase olfativa en distintos aspectos y en la evaluación de la calidad olfativa. Ambos años se repite el mismo tipo de perfil a pesar de la diferencia en los jueces. Cabe destacar que el vino se ha caracterizado por notas frutales y de aroma alcohólico fundamentalmente. Los comentarios recogidos de los jueces hablan de recuerdos de fresa, notas dulzonas, fruta sobremadura y cereza, envueltos con notas destacadas de alcohol. Parece que el paso del tiempo ha acentuado estas dos notas frutal y alcohólica llegando a manifestar diferencia estadística significativa en este parámetro. La nota vegetal está presente siendo moderada. En conjunto, el vino tiene una intensidad y calidad aromática global apreciable con predominio de fruta y alcohol que parecen acentuarse con el paso del tiempo. Se calificaba como agradable, poco complejo, pero lejos de ser neutro y de intensidad notoria.

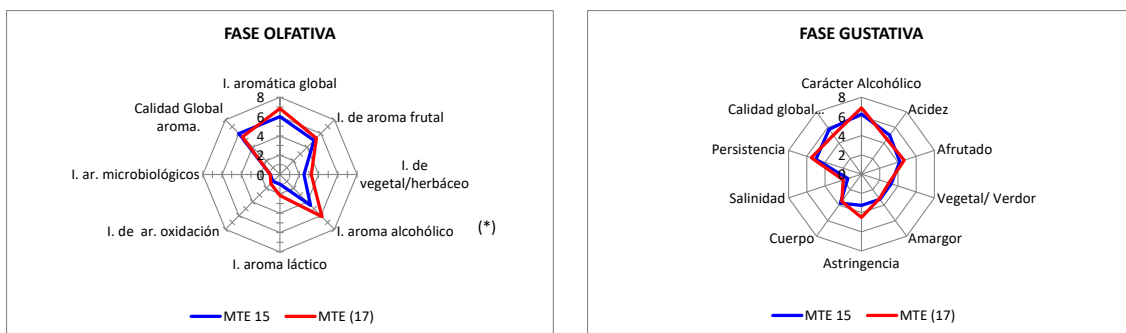


Fig. 8.- Puntuaciones medias de la intensidad de la fase olfativa y gustativa del vino Morate 2015 (MTE), catado en la primavera de 2016 y posteriormente a la salida del invierno de 2017 (MTE (17)).

La fase gustativa se representa en la Fig. 9. Se reproduce en esencia el perfil del vino descrito por el panel unos meses antes. Se ha acentuado la sensación de afrutado y carácter alcohólico si bien sin diferencias significativas. Se han mantenido muy similares la persistencia, salinidad, carácter vegetal, amargor y cuerpo y han disminuido la calidad global y la acidez. Hay que reseñar que los jueces han considerado el vino más astringente que el año anterior y han destacado un cierto carácter tánico. Los comentarios recogidos de los jueces coinciden en señalar como dominante el carácter alcohólico del vino, presencia de fruta y acidez reseñada en alguna ocasión como punzante y se manifiesta como presente cierta sensación de verdor, vegetal, aunque moderada, siendo considerado, en general, como un vino ligero, con poco cuerpo, comparado con Tempranillo, y de calidad global media.

Desde el punto de vista hedónico, los gustos se repartieron, de modo que la mayoría de jueces lo consideraban mejor en nariz que en boca donde quedaba algo corto, pero también hubo opiniones contrarias. Será necesario realizar más experiencias para ir componiendo sus características en años sucesivos. Se ha de procurar uva de suelos silíceos y arenosos, como en San Martín y con características edáficas muy diferentes a las de la Finca El Socorro, sobre suelo calizo. La experiencia con otras variedades, como es Garnacha, indica que los resultados pueden diferir ofreciendo vinos que no son representativos de los que la variedad produce en la subzona de origen donde vegeta.

4. Conclusiones

- 1.- La variedad Morate se ha mostrado más tardía que Tempranillo en brotación, lo que puede hacer que sufra menos daños por heladas tardías de primavera, presentes en la DO.
- 2.- Morate se ha mostrado más tardía que Tempranillo en maduración. Es posible que algunos años alcance con dificultad valores de interés industrial.
- 3.- Ha presentado valores de pH y acidez de mostos y vinos más adecuados para la elaboración y conservación de los vinos, pudiendo mejorar los valores finales de los vinos si se emplea como variedad de corte con Tempranillo.
- 4.- Las primeras elaboraciones hablan de vinos de intensidad aromática apreciable con notas dominantes afrutadas y alcohólica, también mayoritarias en fase gustativa donde igualmente están presentes notas vegetales y cierta tancidad, resultando un vino ligero con calidad global media.

5. Bibliografía

- BAGGIOLINI, M. 1952. **Les stades repères dans le developpement annuel de la vigne et leur utilisation pratique.** *Revue Romande d'Agriculture, de Viticulture, et d'Arboriculture* *Revue Romande d'Agriculture, de Viticulture, et d'Arboriculture*, 8, pp.4–6.
- BAILLOD, M. & BAGGIOLINI, M., 1993. **Les stades repères de la vigne.** *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic*, 25(1), pp.10–12.
- BRAVO, M. 2017. CRDO "VINOS DE MADRID". **Comunicación personal.**
- CABELLO, F.; ORTIZ, J.M.; MUÑOZ O, G.; TORRES, I.; BENITO, A.; RUBIO, C.; GARCÍA, S.; SÁIZ, R. 2011. **Variedades de Vid en España.** Ed. Agrícola Española. Madrid. ISBN: 978-84-92928-13-2. P.276.
- FREIJIDO, R.; GARCÍA-QUEIJEIRO J.M.; SANTALLA, M.; VILANOVA, M. 2012. **Composición química y contenido en minerales del mosto en cinco variedades de la D.O. Ribeiro: 'Mencia', 'Godello', 'Treixadura', 'Loureira' y 'Torrontés'.** *Actas de Horticultura*, 60, p 666-670.
- MARTÍN, J.P.; BORREGO, J.; CABELLO, F.; ORTIZ, J.M. 2003. - [Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers](#). Genome.- NRC Research Press.
- OIV.1990. *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts.* Office Internetonal de la Vigne et du Vin. Paris. - Google Académico, París.
- OIV. 2008. **Compendium of international methods of wine and must analysis.** Vol.1 y 2.
- OIV. 2012. **Official methods for the analysis of musts and wines of the International Organisation of vine and Wine (OIV).** Methods of analysis of wines and musts.(OIV-MA-INT-00-2012). Available at: <http://www.oiv.int/oiv/infoenmethodesinternationalesvinenmethodesinternationalesvin>.
- RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONÈCHE, D., LONVAUD, A. 2003. **Tratado de Enología. 1. Microbiología del vino. Vinificaciones** 1st ed., Hemisferio Sur-Mundi Prensa.
- RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBORDIEU, D. 2003.(b) **Tratado de Enología. 2. Química del vino. Estabilización y tratamientos** 1st ed., Hemisferio Sur- Mundi Prensa.

Utilización de la microbiología y de biosustancias para la reducción del contenido en SO₂ de vinos blancos

Julián Suberviola, Karmele Jimeno, Amaia Altuna, Cristina Górriz, Untzizu Luquin, Félix Cibriain.

*Sección de Viticultura y Enología, Gobierno de Navarra, C/ Valle de Orba, 34 - 31390 Olite (Navarra). 948741707.
jsubervr@cfnavarra.es*

Resumen

Durante los últimos años se ha venido utilizando el sulfuroso en diferentes formatos como método de protección frente a la oxidación y como antiséptico, durante la vinificación. Sin embargo, en la actualidad, la tendencia tanto en la elaboración como en el mercado ha evolucionado a una producción más natural y ecológica en la que el sulfuroso tiene menos espacio.

Una de las nuevas técnicas que está imperando consiste en la utilización combinada de levaduras no saccaromyces y de biosustancias. Las primeras colonizan el medio rápidamente e impiden que el vino sea colonizado por microorganismos indeseables, que precisarían más SO₂ para su contención, y las segundas protegen al vino frente a la oxidación y evitan el pardeamiento, sobre todo en vinos blancos.

En este ensayo se ha vinificado la variedad Chardonnay y se ha utilizado un mix complejo de microflora de levaduras no-saccharomyces, y tanino orgánico de una casa comercial.

Los resultados indican que el producto tratado con el mix de levaduras no saccaromyces y el testigo con SO₂ son los más valorados organolépticamente.

1. Introducción

Durante los últimos años se ha venido utilizando el sulfuroso en diferentes formatos como método de protección frente a la oxidación durante la vinificación. Sin embargo, en la actualidad la tendencia tanto en la elaboración como en el mercado ha evolucionado a una producción más natural y ecológica en la que el sulfuroso tiene menos espacio.

De esta manera, han aparecido en escena nuevos productos que sustituyen el uso del sulfuroso como por ejemplo (los utilizados en este ensayo) Primaflora y Fermotan. El primero, es un mix complejo de microflora de levaduras no-saccharomyces presentes naturalmente en la uva que se implantan en el mosto, ocupando el medio y evitando que sea colonizado por poblaciones de microorganismos indeseables. Mientras el tanino orgánico Fermotan es una biosustancia que protege frente a la oxidación y evita el pardeamiento de los vinos.

2. Material y Métodos

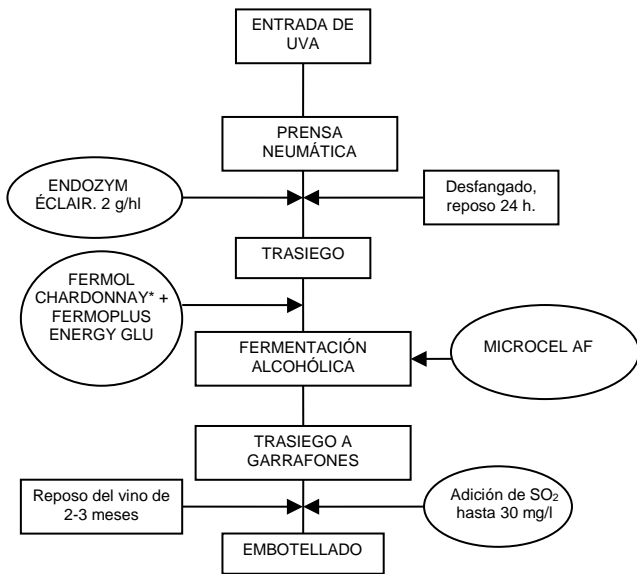
El ensayo se llevó a cabo con uva de la variedad Chardonnay. Constó de 4 variantes (Fig. 1) y 2 repeticiones de cada una de ellas.

Durante la vinificación también se utilizaron en todas las variantes, otros productos enológicos como Microcel AF que es un clarificante formado por PVPP, bentonita y celulosa activada de alto poder adsorbente. También, se añadieron levaduras Fermol Chardonnay junto

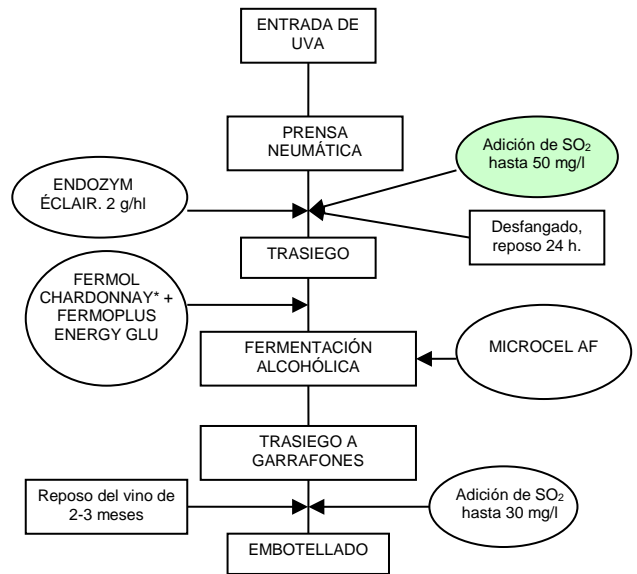
con el nutriente Fermoplus Energy Glu, un producto orgánico rico en aminoácidos y vitaminas naturales.

- ➔ Variante 1: Elaboración tradicional SIN SO₂ hasta después de FA.
- ➔ Variante 2: SO₂ después de la prensa y después de FA.
- ➔ Variante 3: Primaflora y adición de SO₂ después de FA.
- ➔ Variante 4: Primaflora y Fermotan (tanino antioxidante) y adición de SO₂ después de FA.
- ➔

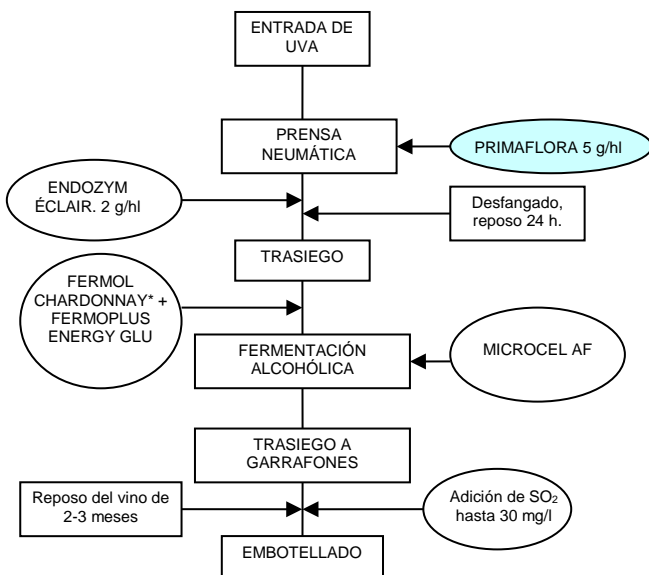
Variante 1:



Variante 2



Variante 3:



Variante 4:

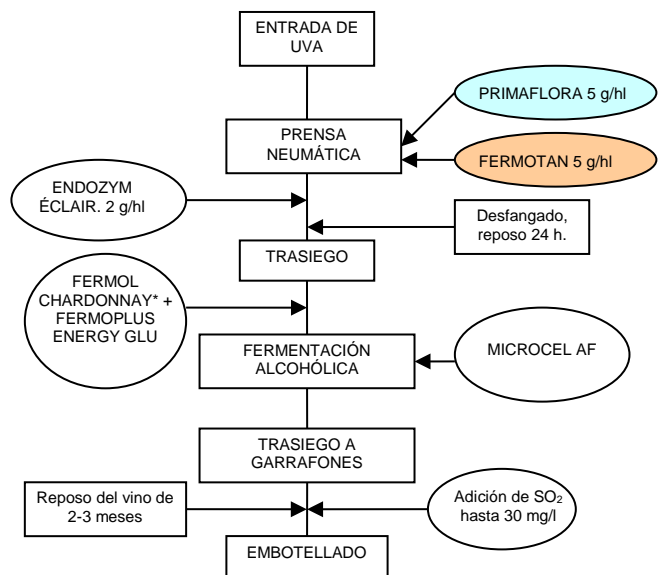


Fig. 1. Diagrama de proceso de las 4 variantes, remarcando los productos utilizados.

3. Resultados

En la Tabla 1 se muestran los parámetros iniciales del mosto.

Tabla 1. Resultados de los análisis realizados en uva en el momento de vendimia.

PARÁMETROS INICIALES DEL MOSTO	
NFA (mg/L)	397
GAP (% vol)	13,24
pH	3,19
ATT (g/l ac. Tartárico)	9,6
Ácido L-málico (g/L)	4,6

En la imagen que aparece a continuación se compara el pardeamiento de las muestras de los mostos de las diferentes variantes tras el prensado y la adición de los diferentes productos y antes del desfangado.



Fig. 2. Mosto inicial de cada variante tras el pensado.

En la variante 1 que no se ha añadido sulfuroso ni ningún otro producto que proteja el mosto de la oxidación, y en las variantes 3 y 4 que se ha añadido primaflora, el color del mosto es bastante parduzco. Sin embargo, la variante 2 a la que se le ha añadido metabisulfito es el que mejor color presenta, menor pardeamiento.



Fig. 3. Mosto tras el desfangado, a las 24h.

En las muestras obtenidas tras el desfangado (Fig. 3), las diferencias de color que se encuentran son las mismas que antes del desfangado. La variante 2 es la que menos oxidación presenta.

A continuación, la evolución de la fermentación alcohólica se representa en la siguiente figura y es parecida en todos los casos. Se puede destacar que el arranque de la variante 2 es algo más lento que los demás, debido a la inhibición del sulfuroso.

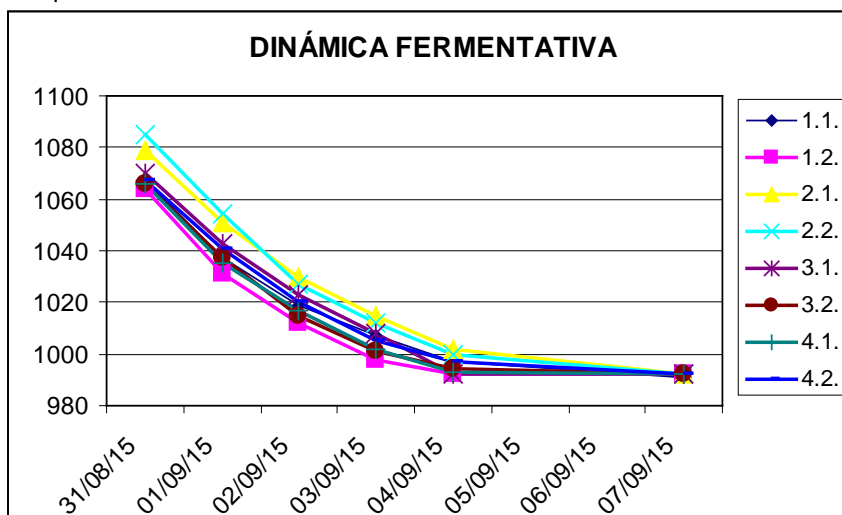


Fig. 4. Dinámica fermentativa de todas las variantes, expresada en densidad.

Al finalizar la fermentación alcohólica (Tabla 2) aunque no hay diferencias de sulfuroso libre entre las diferentes variables, el contenido de sulfuroso total es apreciablemente mayor en la variantes 2, con adición de sulfuroso, que en el resto de variantes a las que no se les ha añadido.

Tabla 2. Datos de SO₂ libre y total tras la estabilización.

	V1R1	V1R2	V2R1	V2R2	V3R1	V3R2	V4R1	V4R2
SO ₂ libre (mg/l)	2	1	2	1	1	0	3	2
SO ₂ total (mg/l)	44	41	54	54	35	43	39	40

Al finalizar la fermentación alcohólica se recogen muestras de vino sin sulfitar para comparar el pardeamiento. Se observa en la Fig. 5 que las dos repeticiones de la variante 1, que no llevan sulfuroso, están más anaranjadas, presentando mejor color las dos repeticiones de la variante 2, con sulfuroso. Las variantes 3 y 4, con primaflora, presentan un ligero tono marrón-grisáceo.



Fig. 5. Vino tras la fermentación alcohólica.

A continuación, se muestran los valores de los parámetros básicos analizados en vino (Tabla 3). Las variantes 1 y 2 son las que mayor Grado Alcohólico Adquirido presentan. Los valores de pH son parecidos en todas las variantes. El Anhidrido Sulfuroso Total como se ha mencionado anteriormente, se observa que es algo mayor en la variante 2, a la que se le añadió metabisulfito desde el principio.

Tabla 3. Resultados de los análisis básicos realizados en vino.

PARAMETROS BASICOS VINO	V1R1	V1R2	V2R1	V2R2	V3R1	V3R2	V4R1	V4R2
Grado Alc. Vol. Adquirido 20/20 %Vol	13,42	13,12	13,61	13,63	13,00	12,75	13,07	12,90
Acidez Total (g/l ac. Tartárico)	8,9	8,5	8,5	8,2	9,6	8,9	8,4	8,6
Acidez Volátil (g/l ac. Acético)	< LC 0,15	< LC 0,15	< LC 0,15	< LC 0,15	< LC 0,15	< LC 0,15	< LC 0,15	< LC 0,15
Anh. Sulf. Libre (mg/l)	56,32	67,20	64,40	53,76	56,32	45,44	44,80	55,68
Anh. Sulf. Total (mg/l)	81	93	113	101	81	87	93	90
Azucares Reductores (g/l glucosa)	1,2	1,0	1,2	1,3	1,0	1,0	1,1	1,1
Ácido L-Málico (g/L)	3,1	2,6	2,7	2,6	2,7	2,7	2,3	2,3
Calcio (mg/l)	54	52	50	50	56	56	56	60
Hierro (mg/l)	3,1	2,9	3,3	2,8	4,3	3,7	3,5	3,5
Potasio (mg/l)	453	433	401	410	390	980	374	390
Magnesio (mg/l)	102	132	102	216	107	103	96	99
pH	3,05	3,06	3,08	3,09	2,98	3,01	3,04	3,01

En la Tabla 4 se presentan los análisis de color realizados a los vinos finales. Aunque los valores obtenidos en general son buenos, la Densidad Óptica 420 nm indica que al contrario de lo que se ha observado en las muestras que se han analizado visualmente, las variantes que mayores resultados dan, es decir, que mayor pardeamiento presentan son la variante 2 y la 3.

Tabla 4. Resultados de los análisis de color realizados en vino.

PARAMETROS DE COLOR DEL VINO	V1R1	V1R2	V2R1	V2R2	V3R1	V3R2	V4R1	V4R2
Densidad Optica 320 nm (Un Abs/cm)	3,644	4,157	4,729	5,012	4,308	4,235	4,045	4,567
Densidad Optica 420 nm (Un Abs/cm)	0,043	0,052	0,059	0,063	0,060	0,059	0,056	0,053
Índice Polifenoles Totales (Un Abs/cm)	5	6	6	6	6	6	6	6

Los resultados de los Esteres están en la tabla que sigue (Tabla 5). Se puede decir, que la variante que mayores valores de Esteres Totales tiene, por lo tanto, el que mayor aroma tiene, es la variante 2. Pero hay que mencionar, que también es el que mayores contenidos de Acetato de Etilo posee, por lo que, puede que no todos los aromas sean positivos.

Tabla 5. Resultados de los análisis de esterres realizados en vino.

ESTERES	V1R1	V1R2	V2R1	V2R2	V3R1	V3R2	V4R1	V4R2
Esteres Totales (mg/l acetato de etilo)	126	132	134	140	108	111	129	117
Acetato de Etilo (mg/l)	112	119	123	127	97	100	119	106
Acetato de Metilo (mg/l)	12	11	10	11	10	10	9	10

El análisis organoléptico se realizó mediante cata descriptiva y la llevaron a cabo once catadores. Las muestras se evaluaron de forma comparativa, mediante el sistema de cata a ciegas y en orden aleatorio. Primero se cataron todas las variantes por separado y después las mezclas de los vinos de las repeticiones de cada variante. La ficha de cata empleada se basó en la utilizada por la Unión Internacional de Enólogos (UIE) que valora las fases visual, olfativa, gustativa y armonía, con puntuaciones crecientes al aumentar la calidad.

La puntuación para cada vino catado se expresa como la media ponderada de las puntuaciones dadas por todos los catadores y con estas medias se establece el orden de preferencia de cada serie de vinos.

Para comprobar la existencia de diferencias significativas entre los vinos se realiza el tratamiento estadístico de los datos obtenidos en la cata por el método de ANOVA considerando los resultados para un nivel de significación $\leq 0,05$.

Tabla 6. Puntuaciones obtenidas de las mezclas de los vinos de cada variante.

FASE	V1	V2	V3	V4
Fase Visual	8,91 a	10,90 b	10,27 b	10,27 b
Fase Olfativa	21,64	22,60	21,36	20,55
Fase Boca	32,00	31,40	31,09	30,55
Impresión General	8,91	9,00	8,82	8,91
Puntuación Total Promedio	71,45	73,91	71,55	70,27
Puntuación Total Mediana	73	73	74	70
Orden Preferencia	3º	2º	1º	4º

Puntuación de las fases: promedio de las valoraciones emitidas por los catadores.

Orden de preferencia: Según mediana-promedio de la puntuación total.

Mezclando los vinos de las repeticiones de cada variante, los resultados obtenidos en cuanto a la preferencia de los vinos son parecidos. La mejor valorada, con 74 puntos, es la variante tres a la que se le añadió primaflora y en segundo lugar encontramos la variante dos con sulfuroso. El que menos ha gustado es la variante 4, con primaflora y tanino.

El análisis estadístico indica que con un 95% de probabilidad no hay diferencias significativas excepto en la fase visual, que se encuentran dos grupos, una comprendida por la variante 1 y otra comprendida por las variantes 2, 3 y 4. Estas diferencias pueden ser debidas a que la variante 1 no lleva sulfuroso y se haya oxidado más fácilmente que las demás, encontrando diferencias en la fase visual.

4. Conclusiones

La V2, que lleva sulfuroso, es la que menor pardeamiento presenta en mostos, tras el desfangado y al finalizar la fermentación alcohólica.

El inicio de la fermentación es más lenta en la V2 debido a la inhibición de las levaduras por el sulfuroso.

La concentración de Anhídrido Sulfuroso Total en la V2 es la mayor, porque a sido a la única a la que se le ha añadido sulfuroso desde el principio.

Las variantes mejor valoradas en el análisis organoléptico, son las que se vinificaron con primaflora y de manera convencional (utilizando sulfuroso).

La variante peor valorada organolépticamente es aquella a la que se le añadió primaflora y tanino.

Fermentación de mostos de la variedad Treixadura con levaduras no-*Saccharomyces* autóctonas de Galicia.

David Castrillo, Eva Rabuñal, Noemi Neira y Pilar Blanco

Estación de Viticultura e Enoloxía de Galicia (EVEGA-INGACAL), Ponte San Clodio s/n, 32428, Leiro-Ourense.

E-mail: pilar.blanco.camba@xunta.gal

Resumen

En este trabajo se ha evaluado el efecto de la aplicación de levaduras no-*Saccharomyces* en la elaboración de vino con la variedad Treixadura. Las fermentaciones se inocularon de forma secuencial con *Candida zemplinina* Cz474, *Kluyveromyces thermotolerans* Kt193, *Metschnikowia* sp. Mp278 y *Torulaspota delbrueckii* Td315, y con *Saccharomyces cerevisiae* XG3 una vez iniciada la fermentación. Se utilizó un proceso de fermentación espontánea y otro inoculado solo con *S. cerevisiae* XG3 como controles. La evolución de las fermentaciones varió de unas levaduras a otras, especialmente en el tiempo que tardaron en arrancar, pero una vez inoculadas de manera secuencial con *S. cerevisiae*, el proceso terminó normalmente. La dinámica de la población de levaduras y el porcentaje de implantación del inóculo variaban entre las especies utilizadas. Los vinos mostraron diferencias significativas en el grado alcohólico, acidez y contenido en glicerol. También se distinguían en cuanto a la concentración de compuestos volátiles y en las características sensoriales. Así, los vinos elaborados con *Metschnikowia* Mp278 y *S. cerevisiae* XG3 presentaron un contenido de ésteres, acetatos, y algunos ácidos mayor que los demás, y fueron los más apreciados por los catadores.

1. Introducción

La aportación de las levaduras no-*Saccharomyces* a las propiedades químicas y sensoriales de los vinos constituye un tema de gran interés en la actualidad (Ciani et al., 2010; Jolly et al., 2014; Blanco et al., 2014). El potencial de algunas especies como *Torulaspota delbrueckii* está bien documentado y, de hecho, existen cepas disponibles a nivel comercial de esta levadura. Otras especies como *Metschnikowia* también están disponibles, y son apreciadas por su papel en la liberación de aromas y/o su potencial para reducir el grado en los vinos (Canónico et al., 2016; Varela et al., 2016; Liu et al., 2017). Menos extendida está la aplicación de *Kluyveromyces*, especie a la que se le atribuye una reducción del pH así como un aumento de 2-phenylethanol y glicerol en el vino (Goddi et al., 2013). Por último, se ha observado que *Candida zemplinina* ofrece la posibilidad de reducir el alcohol y aporta mayor contenido en glicerol y ésteres a los vinos (Englezos et al., 2016a y 2016b).

La Estación de Viticultura e Enoloxía de Galicia (EVEGA-INGACAL) dispone de una colección de levaduras vínicas propias. Basándonos en los datos bibliográficos existentes, y tras un estudio previo de preselección (datos no mostrados), elegimos 4 cepas (cada una de ellas de una especie diferente) para evaluar su potencial enológico en bodega.

En este trabajo se presentan los resultados de la fermentación de mosto de la variedad Treixadura con las levaduras no-*Saccharomyces*: *Candida zemplinina* Cz474, *Kluyveromyces*

thermotolerans Kt93, *Metschnikowia* sp. Mp278 y *Torulaspota delbrueckii* Td315, mediante inoculación secuencial de estas cepas y *Saccharomyces cerevisiae* XG3. Como controles se utilizaron una fermentación con *S. cerevisiae* XG3 y una fermentación espontánea. Se evaluó la cinética fermentativa, la dinámica de la población de levaduras y el porcentaje de implantación de la cepa inoculada, así como las características químicas y sensoriales de los vinos elaborados.

2. Material y Métodos

2.1. Levaduras utilizadas y preparación de inóculos

Las levaduras utilizadas en este estudio proceden de la colección de levaduras de la Estación de Viticultura e Enología de Galicia (EVEGA-INGACAL). El nombre de la especie y cepa, así como su origen (variedad y zona) son: *S. cerevisiae* XG3 (Godello-EVEGA), *T. delbrueckii* Td315 (Treixadura-DO Ribeiro), *K. thermotolerans* Kt93 (Mencia-DO Monterrei-Eco), *Metschnikowia* sp. Mp278 (Treixadura-DO Ribeiro), *C. zemplinina* Cz474 (Treixadura-DO Ribeiro-Eco). Los inóculos se prepararon como se indica en Blanco et al. (2013).

2.2. Procesado de la uva y fermentación

La uva, de la variedad Treixadura, se vendimió en la finca de la EVEGA y se trasladó a la bodega, donde se procesó para la obtención del mosto. Las uvas se despallaron y prensaron en una prensa de agua. Durante este proceso se añadió Antiox Aromas (20g/hL) y Zymolyase Clar FCE (2g/hL) para evitar oxidaciones y facilitar el desfangado en frío durante 24 horas. A continuación, el mosto se distribuyó en depósitos de acero inoxidable de 5L. El mosto tenía 231,8 g/L azúcares y 5,1 g/L de acidez total. Los ensayos se realizaron por triplicado en una cámara fría con temperatura controlada a 16 °C, inoculando 1×10^8 cél/mL de cada una de las levaduras en los depósitos correspondientes (en el control de fermentación espontánea no se inoculó levadura). En las fermentaciones con levaduras no-*Saccharomyces*, se inoculó además *S. cerevisiae* XG3 de forma secuencial (1×10^8 cél/mL) cuando la densidad bajó 10-15 puntos. La evolución de las fermentaciones se siguió mediante la medida diaria de la densidad y la temperatura. En la fase inicial (Fi), tumultuosa (Ft) y final (Ff) de la fermentación se tomaron muestras para el control de implantación de las levaduras inoculadas. Una vez terminada la fermentación, los vinos se trasegaron y sulfitaron (50 mg/L), se estabilizaron por frío, y se embotellaron para posteriores análisis.

2.3. Control microbiológico de las fermentaciones

Las muestras de mosto y fermentación se diluyeron de forma adecuada y se sembraron en medio WL Nutrient Agar (Scharlau Microbiology). Las placas se incubaron a 28 °C hasta la aparición de colonias visibles, tras lo cual se procedió al recuento de levaduras y al aislamiento de un número representativo de colonias de cada muestra para su posterior identificación. Los aislados se crecieron en Lysine Medium (Oxoid) para su diferenciación en levaduras de tipo *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*.

La identificación de las levaduras a nivel de especie se realizó mediante amplificación por PCR del gen 5.8S rRNA y dos espaciadores ribosomales internos (ITS), y posterior corte del producto obtenido con los enzimas *Hinf* I, *Hae* III y *Cfo* I (Esteve-Zarzoso et al., 1999). Aquellos aislados identificados como *Saccharomyces* se caracterizaron a nivel de cepa mediante la técnica

de análisis de los patrones de restricción del mtDNA (mtDNA-RFLPs) según el protocolo descrito por Querol et al. (1992).

2.4. Análisis químicos de mostos y vinos

Para el análisis del mosto y de los vinos se utilizaron los métodos oficiales (OIV, 2012). En mosto se determinaron: grado Brix, azúcares reductores, pH y acidez total. En el vino se determinaron: grado alcohólico, azúcares reductores, acidez total, acidez volátil, pH, glicerol y sulfuroso libre y total. El análisis de los compuestos fermentativos volátiles se realizó mediante cromatografía de gases según el método descrito en Blanco et al. (2013).

2.5. Análisis sensorial

En la evaluación sensorial de los vinos participó un panel de 11 catadores expertos. La ficha de cata incluía diversos descriptores puntuados en una escala de 1 a 9. Los catadores indicaron también el orden de preferencia por los vinos.

3. Resultados

3.1. Cinética fermentativa

La evolución de las fermentaciones varió de unas levaduras a otras, especialmente en el tiempo que tardaron en empezar (2 días en *S. cerevisiae* XG3 y *T. delbrueckii* Td315; 3 días con *C. zemplinina* Cz474, 6 días con *K. thermotolerans* Kt93 y en el proceso espontáneo y, de forma muy lenta hasta el 9º día con *Metschnikowia* sp. Mp278) (Fig. 1). Una vez inoculadas de forma secuencial con *S. cerevisiae*, la fermentación evolucionó normalmente.

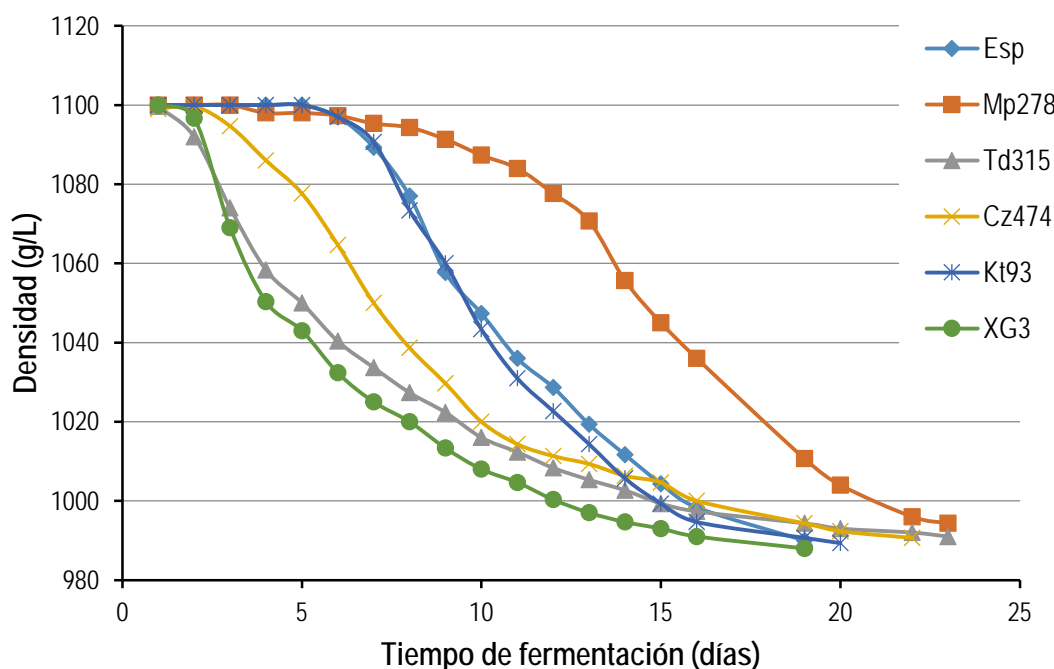


Fig.1. Evolución de las fermentaciones inoculadas con distintas especies de levaduras.

3.2. Control microbiológico

El mosto desfangado contenía $1,2 \times 10^4$ levaduras/mL. A nivel cualitativo estaban presentes levaduras de las especies *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia fructicola*, *K. thermotolerans* y *Debaromyces hansenii*. Tras añadir las levaduras a ensayar se observaron diferencias entre las fermentaciones (Fig. 2). En general la población microbiana aumentó en fase tumultuosa y disminuyó ligeramente al final excepto en dos casos. Con Td315, el número de levaduras era elevado al inicio del proceso para ir disminuyendo en fase tumultuosa y final. Con XG3 ocurrió lo contrario, la población aumentó a lo largo del proceso hasta el final. En las fermentaciones con Cz474 la población de levaduras era mayor en todas las fases, respecto a los demás ensayos.

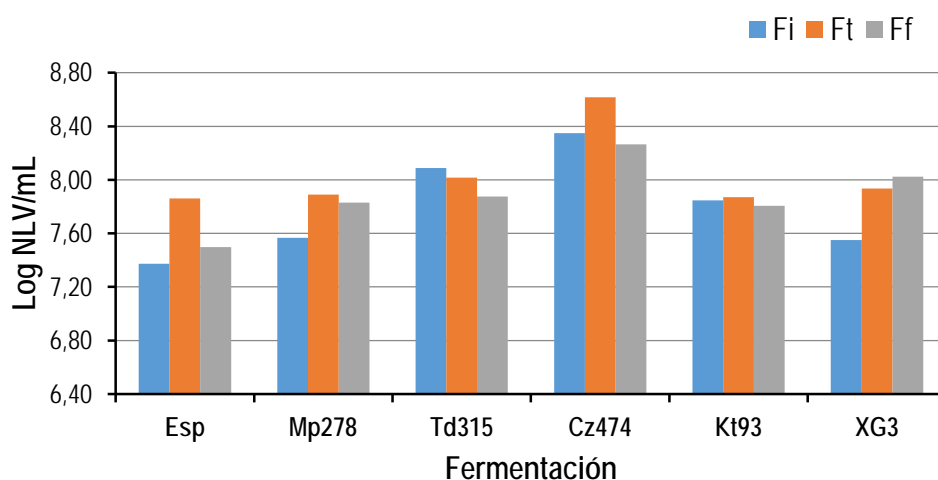


Fig. 2. Evolución de la población de levaduras durante las fermentaciones.

En cuanto al control de implantación de la levadura inoculada, los resultados indicaron que *S. cerevisiae* XG3 aparecía como levadura dominante al 100 % en la fermentación en la que fue el inóculo añadido. En el proceso espontáneo se identificaron hasta 15 cepas diferentes de *S. cerevisiae*, con predominio de dos de ellas que actuaron en codominancia (46 y 25 %, respectivamente). La segunda corresponde a la cepa XG3.

Con las levaduras no-*Saccharomyces*, el porcentaje de implantación y su presencia una vez añadido el segundo inóculo varió entre las especies (Fig. 3). En la fermentación con Td315 y Cz474 la primera levadura inoculada estuvo presente en elevada proporción, >85 % y 77 % respectivamente, hasta el final. Sin embargo, la levadura Mp278 era claramente desplazada por *S. cerevisiae*. Por último, Kt93 estaba presente en todas las fases de la fermentación, pero en bajo porcentaje. En las fermentaciones Td315, Mp 278, Cz474, la segunda levadura inoculada, XG3, era la cepa de *S. cerevisiae* dominante en Ft y Ff. Sin embargo, en los procesos con Kt93 se identificaron distintas cepas de *S. cerevisiae* además de XG3, al igual que en la fermentación espontánea.

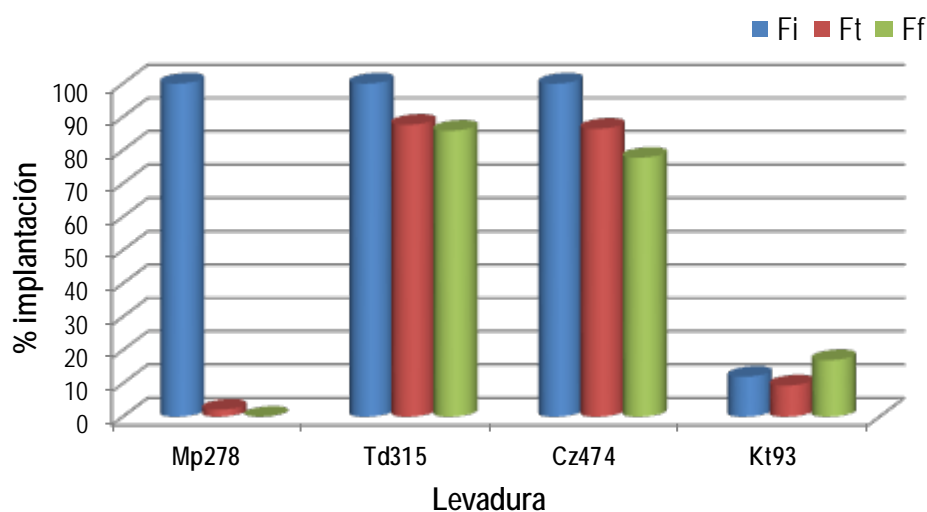


Fig. 3. Porcentaje (%) de implantación de las levaduras no-*Saccharomyces* inoculadas en las distintas fases de la fermentación.

3.3. Caracterización química de los vinos

El análisis químico básico de los vinos mostró diferencias significativas entre las levaduras en todos los parámetros determinados. El grado alcohólico era más elevado en la fermentación espontánea y la inoculada con *S. cerevisiae*. Con las levaduras no-*Saccharomyces* se redujo ligeramente en el caso de *Metschnikowia* Mp278 y *K. thermotolerans* Kt93, y en mayor medida con *C. zemplinina* Cz474. Esta última levadura dio lugar también a vinos con mayor glicerol, acidez total y volátil, y menor pH, coincidiendo con lo descrito en otros trabajos (Englezos et al., 2016a y 2016b). Con *T. delbrueckii* Td315 se obtuvieron vinos de menor grado que con *S. cerevisiae*, pero con presencia de azúcares y acidez total mayor.

Tabla 2. Características de los vinos obtenidos por fermentación de mosto Treixadura con distintas especies de levaduras.

	XG3	Kt93	Cz474	Td315	Mp278	Esp
Grado Alcohólico (%vol)	14,6±0,1 ^a	14,3±0,0 ^b	13,5±0,1 ^d	13,9±0,1 ^c	14,4±0,1 ^{ab}	14,6±0,1 ^a
Glucosa+Fructosa (g/L)	0,6±0,4 ^d	0,3±0,1 ^d	0,2±0,0 ^d	4,8±0,5 ^a	1,7±0,4 ^c	2,7±0,3 ^b
Acidez Total (g tart/L)	4,6±0,1 ^c	4,7±0,1 ^c	5,8±0,1 ^a	5,1±0,1 ^b	4,7±0,1 ^c	4,8±0,1 ^c
Acidez Volátil (g acético/L)	0,34±0,02 ^c	0,36±0,03 ^c	0,75±0,01 ^a	0,35±0,01 ^c	0,46±0,01 ^b	0,31±0,03 ^c
pH(-)	3,46±0,0 ^b	3,46±0,02 ^b	3,42±0,0 ^c	3,49±0,01 ^b	3,53±0,0 ^a	3,48±0,01 ^b
Glicerol (g/L)	6,2±0,2 ^{cd}	6,6±0,3 ^c	9,3±0,1 ^a	5,6±0,1 ^d	8,0±0,3 ^b	5,9±0,2 ^d

*Los datos son la media de tres repeticiones±SD. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas para ese parámetro entre los vinos elaborados con las distintas levaduras.

Los resultados obtenidos en la cuantificación de los compuestos volátiles fermentativos también mostraron diferencias entre los vinos elaborados con las distintas levaduras (Fig. 4). Las cepas XG3 y *Metschnikowia* Mp278 presentaban un contenido mayor de acetatos, ésteres y ácidos

grasos de cadena larga. Estos datos confirman el potencial de estas levaduras en la potenciación del aroma del vino (Blanco et al., 2013; Canonico et al., 2016; Liu et al., 2017). En este ensayo *T. delbrueckii* Td315 dio lugar a una elevada concentración de ácido isobutírico en el vino. Estos resultados determinaron las características y valoración sensorial de los vinos.

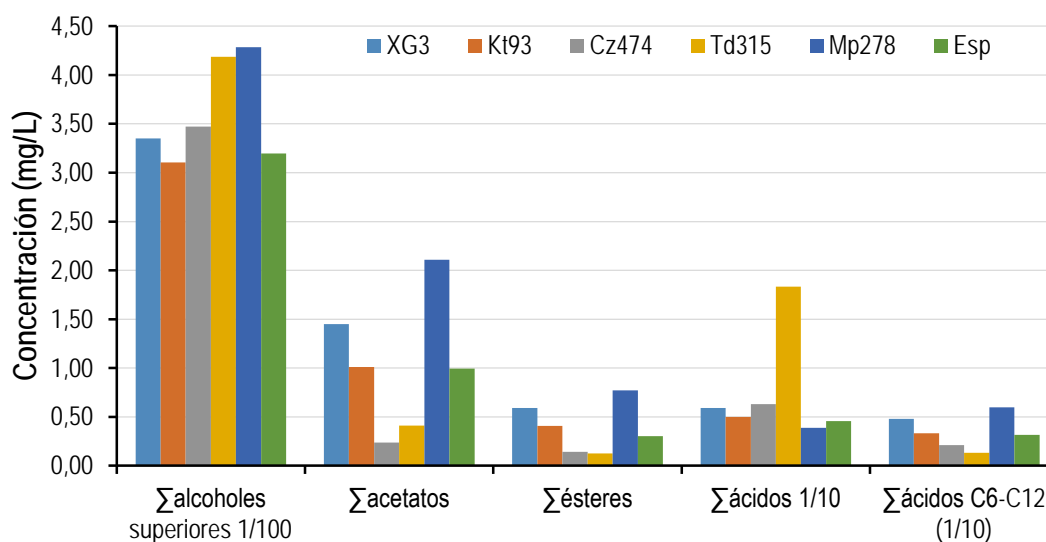
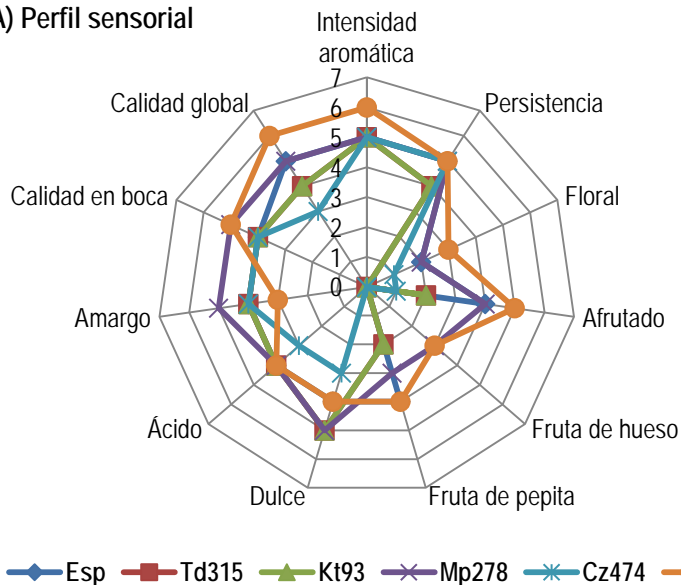


Fig. 4. Concentración de los principales grupos de aromas fermentativos en los vinos elaborados con distintas levaduras.

3.4. Evaluación sensorial de los vinos

En el perfil sensorial destacó el vino elaborado con XG3, la cepa de *S. cerevisiae* seleccionada en EVEGA. Este vino obtuvo mayor puntuación a nivel global y en intensidad aromática, con mayores notas afrutadas (a fruta de pepita) y florales que los demás, y era menos amargo en boca (Fig. 5A). Sin embargo, fue más apreciado el vino elaborado con la cepa de *Metschnikowia* Mp278 (Fig. 5B). Ambos, que habían mostrado mayor contenido en ésteres y acetatos, fueron los vinos mejor valorados. Los vinos resultantes de la fermentación espontánea y con Kt93 también fueron apreciados, mientras que los dos restantes (Cz474 y Td315) solo fueron elegidos entre los tres primeros por uno o dos catadores, respectivamente (Fig. 5B).

A) Perfil sensorial



B) Preferencia por los vinos

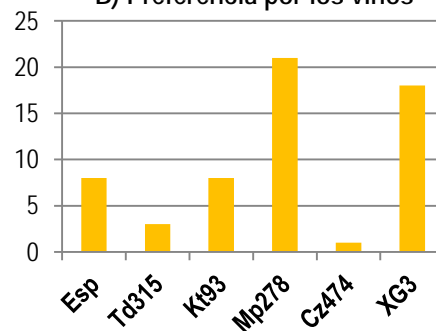


Fig. 5. A) Perfil sensorial de los vinos Treixadura elaborados con distintas especies de levaduras. B). Preferencia de los catadores por los vinos.

4. Conclusiones

- La cinética fermentativa varió entre las distintas levaduras, especialmente al inicio de la fermentación.
- La dinámica de la población de levaduras durante la fermentación mostró distinta tendencia entre especies.
- El porcentaje de implantación de las levaduras no-*Saccharomyces* depende de la especie y fase fermentativa.
- Las levaduras evaluadas aportaron características distintivas a los vinos.
- Las levaduras *Metschnikowia* Mp278 y *S. cerevisiae* XG3 aportaban mejores propiedades químicas y sensoriales a los vinos.

5. Bibliografía

1. BLANCO ET AL. 2014. **Guía sobre la utilización de levaduras no-*Saccharomyces* en la elaboración de vino.** Anexo a la 28ª Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. Ed. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. ISBN: 978-84-491-1382-6.
2. BLANCO, P.; MIRÁS-AVALOS, J.M.; PEREIRA, E.; ORRIOLS, I. 2013. **Fermentative aroma compounds and sensory profiles of Godello and Albariño wines as influenced by *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains.** J Sci Food Agric. 93: 2849–2857.
3. CANONICO, L.; COMITINI, F.; ORO, L.; CIANI, M. 2016. **Sequential fermentation with selected immobilized non-*Saccharomyces* yeast for reduction of ethanol content in wine.** Frontiers Microbiol.7 : Article 278.
4. CIANI, M.; COMITINI, F.; MANNAZZU, I.; DOMIZIO, P. 2010. **Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking.** FEMS Yeast Res. 10: 123-133.

5. ENGLEZOS, V.; RANTSIOU, K.; CRAVERO, F.; TORCHIO, F.; ORTIZ-JULIEN, A.; GERBI, V.; ROLLE, L.; COCOLIN, L. 2016a. *Starmerella bacillaris* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermentations to reduce ethanol content in wine. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100: 5515-5526.
6. ENGLEZOS, V.; TORCHIO, F.; CRAVERO, F.; MARENGO, F.; GIACOSA, S.; GERBI, V.; RANTSIOU, K.; ROLLE, L.; COCOLIN, L. 2016b. Aroma profile and composition of Barbera wines obtained by mixed fermentations of *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) and *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT - Food Sci Technol.* 73: 567-575
7. ESTEVE-ZARZOSO, E.; BELLOCH, C.; URUBURU, F.; QUEROL, A. 1999. Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. *Int J Syst Bacteriol.* 49: 329-337.
8. GOBBI, M.; COMITINI, F.; DOMIZIO, P.; ROMANI, C.; LENCIONI, L.; MANNAZZU, I.; CIANI, M. 2013. *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiol.* 33: 271-281.
9. LIU, J.; ARNEBORG, N.; TOLDAM-ANDERSEN, TB.; ZHANG, S.; PETERSEN, MA.; BREDIE, WLP. 2017. Impact of sequential co-culture fermentations on flavour characters of Solaris wines. *Eur Food Res Technol.* 243: 437-445.
10. JOLLY, NP.; VARELA, C.; PRETORIUS, IS. 2014. Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res.* 14 : 215-237.
11. OIV. International Organization of Wine. 2012. Compendium of international methods of wine and must analysis. Vol. 1 y 2. Paris. <http://www.oiv.int>.
12. QUEROL, A.; BARRIO, E.; HUERTA, T.; RAMÓN, D. 1992. Molecular Monitoring of Wine Fermentations Conducted by Active Dry Yeast Strains. *Appl Environ Microbiol.* 58, 2948-2953.
13. VARELA, C.; SENGLER, FA.; SOLOMON, M.; CURTIN, C. 2016. Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*. *Food Chem.* 209: 57-64.

6. Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto RTA2012-00021-C03-01 del INIA (Instituto nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria) cofinanciado con fondos FEDER. David Castrillo agradece al INIA su contrato predoctoral FPI.

Levaduras aisladas de *Vitis vinífera* subsp. *sylvestris*: ¿una herramienta para afrontar las consecuencias enológicas del cambio climático?

Anna Puig-Pujol¹, Núria Ferrando¹, Fina Capdevila¹ y Rafael Ocete²

¹Sección de Investigación Enológica, Institut Català de la Vinya i el Vi-Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA-INCAVI). Plaça Àgora, 2. 08720 Vilafranca del Penedès (Barcelona). 93 890 02 11. anna.puig@irta.cat.
apuigpujol@gencat.cat

²Facultad de Biología. Universidad de Sevilla. Avda. de la Reina Mercedes, s/n. 41012 Sevilla.

Resumen

El impacto del calentamiento global en la viticultura está afectando a la calidad de las uvas y sus vinos. Como consecuencia, las variaciones climáticas están produciendo un desajuste entre la madurez tecnológica y fenólica y están afectando a la ecología microbiana, biodiversidad y su metabolismo en el viñedo, la uva, el mosto y el vino. No obstante, existen recursos naturales que pueden ayudar a mitigar los efectos del cambio climático. Entre ellos, se ha demostrado que las uvas procedentes de vides silvestres presentan características apropiadas para afrontar este problema: madurez tardía, alta acidez, alto contenido en polifenoles,... Se ha realizado un estudio molecular de 819 cepas de levaduras aisladas de fermentaciones espontáneas de uvas de vides silvestres procedentes de 30 localizaciones del Norte de España, revelando 8 géneros y 18 especies diferentes. El 71.5 % de las levaduras se clasificaron como no-*Saccharomyces* y el 28.5 % como *S. cerevisiae*. El trabajo incluye también la caracterización de éstas últimas a nivel de cepa. Esta prospección demuestra una amplia diversidad de microbiota y permite realizar una selección de levaduras para la industria vinica en un escenario de cambio climático.

1. Introducción

Existe un acuerdo global entre la comunidad científica que el cambio climático es un hecho que en la actualidad no puede ignorarse. El calentamiento global está ejerciendo una profunda influencia en la fenología del viñedo y en la composición de la uva y, consecuentemente afecta a las fermentaciones, la microbiología vinica y en los aspectos químicos y sensoriales del producto acabado. En lo que concierne a la microbiología enológica, las variaciones climáticas en las condiciones ambientales (temperatura, estrés hídrico,...) y en la composición del sustrato (concentración de azúcar más elevada en las uvas, baja acidez y valores altos de pH) puede afectar a la ecología microbiana, su biodiversidad y su metabolismo (Coulter et al., 2008). La diversidad genética natural presente en el viñedo permite buscar nuevos genotipos (plantas y microorganismos) adaptados a las nuevas condiciones. Relacionado con este hecho, las vides silvestres representan una fuente genética de gran valor para las vides cultivadas. *Vitis vinífera* subsp. *sylvestris* es la subespecie "salvaje" de *Vitis vinífera* L. la cual incluye la ampliamente cultivada *V. vinífera* subsp. *vinífera*. La subespecie silvestre dispersa sus semillas a través de los pájaros y coloniza un amplio rango de hábitats y suelos en la cuenca Mediterránea. En España, las poblaciones naturales de *V. vinífera* subsp. *sylvestris* se pueden encontrar aún a lo largo de la orilla de los ríos y costas (De Andrés et al., 2012). Se han descrito algunas características fenotípicas y enológicas de las uvas de estas poblaciones: elevada acidez y bajo pH y una alta intensidad de color (Ocete et al., 2011). Estas características se podrían utilizar para mitigar el efecto potencial del calentamiento global en la producción de vino, usando un recurso natural para adaptar la viticultura a las nuevas condiciones climáticas.

Hasta donde sabemos, se han realizado pocos o nulos estudios sobre la población de levaduras que se encuentra presente en las vides silvestres. El objetivo de este trabajo ha sido analizar la biodiversidad de levaduras en este tipo de uvas, con el fin de seleccionar cepas indígenas y crear una colección de levaduras que pueda permitir a las bodegas producir vinos utilizando microorganismos y variedades adaptadas a las condiciones de cambio climático.

2. Material y Métodos

2.1. Muestras y procesamiento

Las muestras de uvas silvestres se recolectaron de plantas femeninas en 30 localizaciones del Norte de España durante Octubre y Noviembre de 2015 (Fig. 1).



Fig 1. Localizaciones donde se recolectaron las uvas de vides silvestres

Las uvas se recogieron de cada emplazamiento en bolsas estériles y se transportaron al laboratorio en el menor tiempo posible. Los granos de uva tinta se prensaron en condiciones asépticas utilizando un homogeneizador tipo stomacher. Se realizaron fermentaciones espontáneas a 22°C en recipientes estériles con las levaduras indígenas de las uvas, con maceración pelicular y sin adición de sulfuroso. La cinética de la fermentación se controló mediante el análisis del azúcar residual a lo largo del tiempo. Cuando su valor fue menor a 2 g/L (final de fermentación), se recogió una muestra para el aislamiento de levaduras.

2.2. Aislamiento e identificación molecular de las levaduras

De cada fermentación, se realizaron diluciones decimales seriadas con tampón Ringer y se sembraron sobre el medio de cultivo WLN (Oxoid), el cual es capaz de diferenciar la población de levaduras en base al color y morfología de las colonias. Las placas se incubaron a 28°C durante 4 días. Después de realizar el recuento de la concentración de levaduras presente en cada muestra, se seleccionaron y aislaron al menos 20 colonias en base a su aspecto. Una estría de cada aislado se conservó a 4°C sobre medio WLN hasta su análisis molecular.

Para el análisis molecular, se realizó una extracción del ADN genómico de cada aislado a partir de 1,8 ml de crecimiento en caldo de cultivo YPD. Se efectuaron dos aproximaciones con el fin de identificar las levaduras a nivel de género o especie (OIV, 2011). En primer lugar, todos los aislados se analizaron mediante la técnica del polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP) de la región ITS1-5.8S rRNA-ITS2. El ADN se amplificó con los *primers* ITS 1 e ITS4, y las condiciones de PCR descritas por Esteve-Zarzoso et al. (1999). Los fragmentos amplificados se digirieron con las endonucleasas Hinf I y Hae III (New England Biolabs), de acuerdo con las condiciones del fabricante. El enzima Dde I se utilizó para discriminar especies del género *Hanseniaspora*. Los productos de PCR y los fragmentos de restricción se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.4 y 3 % respectivamente y se revelaron con tinción con bromuro de etidio. Los tamaños de los amplicones y de los fragmentos de restricción se utilizaron para la identificación de las levaduras por comparación de resultados aparecidos en la literatura

(Esteve-Zarzoso et al., 1999; Guillamón et al., 1998; Sabaté et al., 2002). En base a este análisis, las levaduras se clasificaron en distintos grupos. La identificación se confirmó analizando la región D1/D2 del gen 26S rRNA. El ADN de al menos 2 representantes de cada grupo se amplificó con los oligos NL1 y NL4, tal y como describen Kurtzman and Robnett (1998). Los amplicones de la PCR se purificaron con el kit QIAquick PCR purification kit (Qiagen) y se enviaron a secuenciar a un centro externo (Secugen, Madrid). Las secuencias resultantes se alinearon en la base de datos GeneBank utilizando el método Blast de NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

Con el fin de identificar el grupo de *S. cerevisiae* a nivel de cepa, todos los aislados clasificados en este grupo se analizaron mediante la amplificación de las secuencias delta utilizando los oligos delta 12 y delta 21 según Legras and Karst (2003). Los productos de PCR se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 %. Se obtuvieron diferentes patrones (cepas) mediante la comparación de la distribución de bandas de cada aislado analizado.

3. Resultados

Los resultados del presente estudio muestran una primera aproximación a la diversidad de levaduras que pueden encontrarse en un recurso natural como son las vides silvestres (*V. vinifera* L. ssp. *sylvestris*), las cuales presentan unos rasgos enológicos interesantes que podrían ser usados para contrarrestar los efectos del cambio climático.

Debido a las diferentes condiciones edafoclimáticas de los ambientes donde se recogieron las uvas, el estado de madurez de los racimos fue muy variable, una característica inherente a las poblaciones de vides silvestres. El número de racimos por planta y de granos por racimo fue también altamente variable. Los granos de uva tintos presentaron un tamaño pequeño, de menos de 1 cm de diámetro. Como consecuencia, el peso de las muestras y la cantidad de mosto obtenido fue distinto en cada localización: osciló entre 44 g y 560 g. En la Tabla 1 se muestra un resumen de las principales variables de los mostos de donde se aislaron las levaduras.

Tabla 1. Rango de los principales parámetros enológicos en mostos de *V. vinifera* L. *sylvestris* utilizados para el aislamiento de levaduras.

Variable	Valor mínimo	Valor máximo
Grado alcohólico probable (% vol)	5.3	13.2
Gluc + Fruct (g/L)	44.8	222
Acidez total (g/L ácido tartárico)	5.6	27.7
Ácido málico (g/L)	2.7	21.7
pH	2.91	3.80
Ácido acético (g/L)	0.10	0.34
Ácido glucónico (g/L)	< 0.1	0.8

La fermentación a 22°C duró entre 5 y 26 días, dependiendo del lote de mosto. Durante este periodo, la población de levaduras alcanzó hasta 2.7×10^8 ufc/mL.

Se procesaron un total de 819 colonias aisladas de final de FA de las 30 fermentaciones espontáneas. Los aislados se analizaron mediante la técnica del polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP) de la región ITS1-5.8S rRNA-ITS2, obteniéndose amplicones de entre 390 y 880 pares de bases (pb). Éstos se digirieron con los enzimas Hinf I, Hae III y Dde I y el tamaño molecular de los productos de restricción obtenidos se compararon con los descritos en la bibliografía, discriminándose 18 perfiles o grupos distintos. Dos cepas representativas de cada grupo se analizaron por la región D1/D2 del gen 26S rRNA y se secuenciaron para confirmar la

asignación a nivel de especie. La Tabla 2 resume las especies identificadas, su frecuencia de aislamiento y el número de distintas localizaciones donde se encontraron.

Tabla 2. Listado de especies de levaduras aisladas de vides silvestres. Frecuencia y nº de localizaciones donde se detectó cada especie.

Espece	Frecuencia (%)	Nº de localizaciones
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	44.08	17
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	28.57	15
<i>Candida californica</i>	7.69	5
<i>Pichia anomala</i>	4.76	4
<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	4.52	4
<i>Pichia manshurica</i>	2.81	2
<i>Lachancea thermotolerans</i>	1.71	3
<i>Hanseniaspora osmophila</i>	1.47	2
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	1.34	1
<i>Pichia membranifaciens</i>	0.98	1
<i>Pichia kudriavzevii</i>	0.85	1
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0.37	1
<i>Metschnikowia fructicula</i>	0.24	2
<i>Hanseniaspora vineae</i>	0.12	1
<i>Kloeckera lindneri</i>	0.12	1
<i>Lachancea fermentati</i>	0.12	1
<i>Pichia occidentalis</i>	0.12	1
<i>Zygosaccharomyces florentinus</i>	0.12	1

3.1. Biodiversidad de levaduras no-*Saccharomyces*

Un 71,5 % del total de cepas analizadas se identificaron como levaduras no-*Saccharomyces*, que se incluyeron en 8 géneros y 17 especies diferentes. La más abundante fue *Hanseniaspora uvarum*, aislada en mayor o menor frecuencia en 17 de las 30 fermentaciones analizadas. Además se encontraron 3 especies adicionales de *Hanseniaspora*: *H. valbyensis*, *H. osmophila* y *H. vineae*. Y una especie relacionada con este género: *Kloeckera lindneri*. Las levaduras apiculadas representan a menudo la población dominante en las etapas iniciales de la fermentación del mosto. Aunque el crecimiento de estas levaduras se limite a los primeros días de fermentación, la actividad de *Hanseniaspora* (*Kloeckera*) puede influenciar significativamente en la composición química del vino final. Aunque a *H. uvarum* se la conoce como una especie productora de ácido acético (Jolly et al., 2005), la gran variabilidad de cepas que se incluyen en esta especie podría derivar en la identificación de cepas adecuadas para ser usadas como estárter en inoculación secuencial con *S. cerevisiae* (Romano et al., 2003). Varios estudios han demostrado el impacto de especies de *Hanseniaspora* en la composición analítica y las propiedades sensoriales del vino. Viana et al. (2009) sugirieron el uso potencial de *H. osmophila* en cultivos mixtos con *S. cerevisiae* para incrementar los niveles de 2-feniletil acetato (aroma floral y afrutado) en vinos. Resultados similares se obtuvieron en los trabajos de Viana et al. (2011) y Lleixà et al. (2016) cuando se utilizaron cepas de *H. vineae* en co-cultivo con *S. cerevisiae*. Aunque en el presente estudio las muestras para el aislamiento de levaduras se tomaron al final de la fermentación, cuando la concentración de azúcares residuales era menor a 2 g/L, el contenido de alcohol en las que se detectó *Hanseniaspora* sp. fue bajo (menor de un 5 % v/v). Este factor podría explicar la alta frecuencia de presencia de estas especies.

Otro género bastante abundante en uvas de *V. vinifera* L. ssp *sylvestris* es *Pichia* sp. Se identificaron 5 especies distintas (9,52 % del total de aislados), algunas de ellas en baja proporción (Tabla 2): *P. anomala* (*Hansenula anomala* o *Wickerhamomyces anomalus*), *P. manshurica*, *P. membranifaciens*, *P. kudriavzevii* y *P. occidentalis* (*Issatchenkia occidentalis*). *P. anomala* y *P. membranifaciens* se han sugerido para la producción de vinos con bajo contenido de alcohol (Erten and Campdell, 2001) y algunas cepas de *P. anomala* se ha demostrado que presentan actividad β -glucosidasa, con capacidad para mejorar el aroma del vino (Swangkeaw et al., 2009).

Del género *Zygosaccharomyces* sp. se encontraron 2 especies: *Z. baillii* y *Z. florentinus*, que se detectaron en dos fermentaciones espontaneas, con un 1,34 % y 0,12 % de presencia respectivamente respecto al total de levaduras analizadas. Algunas publicaciones consideran a este género como contaminante ya que produce elevadas cantidades de ácido acético y puede llegar a ser un problema en bodegas que elaboran vinos dulces o espumosos, debido a su capacidad para refermentar en botella. No obstante, se han descrito algunas cepas de *Z. baillii* que producen altas cantidades de ésteres etílicos cuando se utilizan en cultivo mixto con *S. cerevisiae*, incrementando la complejidad aromática del vino (Garavaglia et al., 2015).

Otra especie aislada en este trabajo y relevante desde el punto de vista tecnológico es *Lachancea thermotolerans* (*Kluyveromyces thermotolerans*), detectada con una frecuencia del 1,71 % en 3 diferentes localizaciones. Esta levadura tiene la interesante propiedad de ser capaz de metabolizar el azúcar a ácido láctico, y de este modo disminuirla concentración de etanol producido a partir de la fermentación del mosto y mejorando la acidez (Gobbi et al., 2013). *Kluyveromyces marxianus* se aisló 3 veces, representando un 0,37 % de las levaduras analizadas. Esta especie es capaz de fermentar azúcares a alta temperatura (hasta 45°C), incluyendo mosto de uva. También forma parte de preparaciones comerciales de levaduras para contribuir a la complejidad sensorial (Morrissey et al., 2015).

Se aislaron 2 cepas de *Metschnikowia fructicola* (0.24 % de frecuencia), especie estrechamente relacionada con *M. pulcherrima*, en dos localizaciones distintas. Se ha descrito que esta especie posee actividad antifúngica, sugiriendo que la presencia de especies de *Metschnikowia*, específicamente *M. pulcherrima* y *M. fructicola* pueden jugar un papel protectorio contra el crecimiento de hongos filamentosos en las uvas durante la sobremaduración (Kurtzman and Droby, 2001).

Candida californica se detectó con una frecuencia bastante alta (7.69 %) en 5 localizaciones distintas. No obstante, no se ha encontrado información relevante sobre su importancia en vinificación.

En general, enólogos e investigadores de este sector se han dado cuenta que las levaduras no-*Saccharomyces* contribuyen significativamente a mejorar la calidad organoléptica del vino. Este estudio demuestra la presencia abundante de diferentes especies no-*Saccharomyces* en uvas de vides silvestres. En la actualidad, se están realizando ensayos fermentativos para buscar alguna cepa que exhiba rasgos fenotípicos interesantes para la elaboración de vino.

3.2. Comunidad de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en uvas silvestres

En las uvas de vides silvestres se encontró una amplia diversidad de cepas de *S. cerevisiae*: hasta un total de 229 aislados de 15 fermentaciones espontaneas se identificaron en

este grupo. Todos ellos se caracterizaron a nivel de cepa mediante el estudio del perfil de amplificación de los elementos delta. De acuerdo con los resultados, se obtuvieron 30 genotipos o cepas: B1 a B30 (Tabla 3). Esto demuestra la existencia de un elevado polimorfismo dentro de esta especie. Seis de las cepas: B1, B5, B6, B8, B12 y B29 se aislaron en 2 y hasta 4 localizaciones distintas. En algunos casos, la distancia entre puntos de muestreo donde se detectó la misma cepa fue de más de 250 Km (por ejemplo, la cepa B6 aislada en uvas de las localizaciones BU1A y AS5A), probando así un nicho ecológico en esta área. En dos emplazamientos, BU1A y AL4A, se encontró una elevada heterogeneidad de cepas: 14 y 8 cepas distintas, respectivamente. Las cepas más abundantes fueron: B1 (24.9 %), B8 (13,1 %), B29 (10.5 %), B2 (8.3 %), B6 y B26 (7.0 % cada una) y B5 (6.1 %).

Actualmente, se está realizando un cribado de las distintas cepas para averiguar su idoneidad para fermentar. Algunas de ellas se ha visto que son capaces de consumir altas concentraciones de azúcar, llegando a alcanzar más de 14 % v/v, sin producir acidez volátil. Está previsto realizar estudios adicionales para detectar la posible producción de metabolitos secundarios que puedan contribuir a las propiedades sensoriales de los vinos.

Tabla 3. Clasificación de las cepas de *S. cerevisiae* de vides silvestres y localizaciones donde se aislaron.

Genotipos de <i>S. cerevisiae</i>	Localización (nº aislados/localización)	Nº de cepas aisladas
B1	FR4 (9); LR1 (11); FR1 (17); NA1B (20)	57
B2	NA1A (19)	19
B3	LR1 (1)	1
B4	LR1 (1)	1
B5	BU1A (3); AL1B (11)	14
B6	BU1A (2); AS5A (13); SA1B (1)	16
B7	BU1A (4)	4
B8	BU1A (3); AL4A (7); BU2A (17); AL1A (3)	30
B9	BU1A (5)	5
B10	BU1A (1)	1
B11	BU1A (2)	2
B12	BU1A (3); BU1B (1)	4
B13	BU1A (2)	2
B14	BU1A (1)	1
B15	BU1A (1)	1
B16	BU1A (1)	1
B17	BU1A (1)	1
B18	BU1A (1)	1
B19	BU1B (9)	9
B20	AL4A (1)	1
B21	AL4A (1)	1
B22	AL4A (1)	1
B23	AL4A (1)	1
B24	AL4A (2)	2
B25	AL4A (1)	1
B26	BU2A (16)	16
B27	AL6A (1)	1
B28	AL7A (10)	10
B29	AL1A (17); AL1B (7)	24
B30	AL4A (1)	1

4. Conclusiones

Las levaduras se encuentran distribuidas ampliamente en el medio ambiente. No obstante, no se encuentran al azar, sino en hábitats específicos donde diferentes especies forman comunidades. En este sentido, este es el primer estudio sobre diversidad de levaduras nativas aisladas de uvas silvestres (*V. vinifera* L., ssp *sylvestris*), un recurso natural con rasgos enológicos que pueden ayudar a mitigar los cambios que el calentamiento global está produciendo en los viñedos. Este trabajo proporciona información de apoyo para futuros estudios sobre la contribución en la calidad del vino de estas especies aisladas y de varias cepas de *S. cerevisiae* que presentan buenas perspectivas para su uso enológico. Son necesarias más experiencias a escala de laboratorio y a escala de planta piloto para comprobar la idoneidad de estas cepas en cultivo puro o mixto (no-*Saccharomyces* y *S. cerevisiae*).

5. Bibliografía

COULTER, A.D.; HENSCHKE, P.A.; SIMOS, C.A.; PRETORIUS, I.S. 2008. **When the heat is on, yeast fermentation runs out of puff.** Australian and New Zealand Wine Ind. J. 23, 26-30.

DE ANDRÉS, M.; BENITO, A.; PÉREZ-RIVERA, G.; OCETE, R.; LÓPEZ, M.A.; GAFORIO, L.; MUÑOZ, G.; CABELLO, F.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J.M.; ARROYO-GARCÍA, R. 2012. **Genetic diversity of wild grapevine populations in Spain and their genetic relationship with cultivated grapevines.** Mol. Ecol. 21, 800-816.

ERTEN, H.; CAMPDELL, I. 2001. **The production of low-alcohol wines by aerobic yeasts.** J. Inst. Brew. 107, 207-215.

ESTEVE-ZARZOSO, B.; BELLOCH, C.; URUBURU, F.; QUEROL, A. 1999. **Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8 S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers.** Int. J. Syst. Bact. 49, 329-337.

GARAVAGLIA, J.; DE SOUZA-SCHNEIDER, R. C.; CAMARGO-MENDES, S.D.; WELKE, J.E. ALCARAZ-ZINI, C.; BASTOS-CARAMAO, E.; VALENTE, P. 2015. **Evaluation of *Zygosaccharomyces bailii* BCV 08 as a co-starter in wine fermentation for the improvement of ethyl esters production.** Microbiol. Res. 173, 59-65.

GOBBI, M.; COMITINI, F.; DOMIZIO, P.; ROMANI, C.; LENCIONI, L.; MANNAZZU, I.; CIANI, M. 2013. ***Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: a strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine.** Food Microbiol. 33, 271-281.

GUILLAMÓN, J.M.; SABATÉ, J.; BARRIO, E.; CANO, J.; QUEROL, A. 1998. **Rapid identification of wine yeast species based on RFLP analysis of the ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region.** Arch. Microbiol. 169, 387-392.

JOLLY, N.P.; AUGUSTYN, O.P.H.; PRETORIUS, I.S. 2005. **The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production.** S.Afr.J.Enol.Vitic., 27, 15-39.

KURTZMAN, C.P.; ROBNETT, C.J. 1998. **Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences.** Antonie Van Leeuwenhoek 73, 337-371.

KURTZMAN, C.P.; DROBY, S. 2001. ***Metschnikowia fructicola*, a new ascosporic yeast with potential for biocontrol of postharvest fruit rots.** Syst. Appl. Microbiol. 24, 395-399.

LEGRAS, J.L.; KARST, F. 2003. **Optimisation of interdelta for *Saccharomyces cerevisiae* strain characterization.** FEMS Microbiol. Lett. 221, 249-255.

LLEIXÀ, J.; MARTÍN, V.; PORTILLO, M.C.; CARRAU, F.; BELTRAN, G.; MAS, A. 2016. **Comparison of fermentation and wines produced by inoculation of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*.** Front. Microbiol. 7: 338.

MORRISSEY, J.P.; ETSCHMANN, M.M.W.; SCHRADER, J.; DE BILLERBECK, G.M. 2015. **Cell factory applications of the yeast *Kluyveromyces marxianus* for the biotechnological production of natural flavour and fragrance molecules.** Yeast 32, 3-16.

OCETE, R.; ARROYO-GARCÍA, R.; MORALES, M.L.; CANTOS, M.; GALLARDO, A.; PÉREZ, M.A.; GÓMEZ, I.; LÓPEZ, M.A. 2011. **Characterization of *Vitis vinifera* L. subspecies *sylvestris* (Gmelin) Hegi in the Ebro river basin (Spain).** Vitis 50, 11-16.

OIV Resolution OIV-OENO 408. 2011. **Molecular tools for identification of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast and other yeast species related to winemaking.**

ROMANO, P.; FIORE, C.; PARAGGIO, M. ; CARUSO, M. ; CAPECE. A. 2003. **Function of yeast species and strains in wine flavor.** Int.J. Food Microbiol. 86, 169-180.

SABATÉ, J.; CANO, J.; ESTEVE-ZARZOSO, B.; GUILLAMÓN, J.M. 2002. **Isolation and identification of yeasts associated with vineyard and winery by RFLP analysis of ribosomal genes and mitochondrial DNA.** Microbiol. Res. 157, 267-274.

SWANGKEAW, J., VICHITPHAN, S.; BUTZKE, C.E.; VICHITPHAN, K.. 2009. **The characterization of a novel *Pichia anomala* β -glucosidase with potentially aroma-enhancing capabilities in wine.** Ann. Microbiol., 59, 335-343.

VIANA, F.; GIL, J.V.; VALLÉS, S.; MANZANARES. P. 2009. **Increasing the levels of 2-phenylethyl acetate in wine through the use of a mixed culture of *Hanseniaspora osmophila* and *Saccharomyces cerevisiae*.** Int. J. Food Microbiol. 135, 68-74.

VIANA, F.; BELLOCH, C.; VALLÉS, S.; MANZANARES, P. 2011. **Monitoring a mixed starter of *Hanseniaspora vineae*-*Saccharomyces cerevisiae* in natural must: impact on 2-phenylethyl acetate production.** Int. J. Food Microbiol. 151, 235-240.

6. Agradecimientos

Este proyecto está financiado por el INIA-MINECO-CCAA (RTA2014-00016-C03-03). Nuestro sincero agradecimiento al Dr. Rafael Ocete por proporcionar las muestras de uvas silvestres sin las cuales no hubiera sido posible este trabajo.

Selección de levaduras autóctonas en la D.O. Empordà: un ejemplo de nicho ecológico para diferenciar "terroir"

Anna Puig-Pujol y Fina Capdevila

Sección de Investigación Enológica, Institut Català de la Vinya i el Vi-Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA-INCAVI). Plaça Àgora, 2. 08720 Vilafranca del Penedès (Barcelona). 93 890 02 11. anna.puig@irta.cat.
apuigpujol@gencat.cat

Resumen

Tradicionalmente, la elaboración de vinos se ha realizado a partir de fermentaciones de mostos llevadas a cabo por cepas de levaduras endémicas residentes en las superficies de las uvas. La fermentación con levaduras autóctonas es de gran interés porque con ella se consiguen características organolépticas típicas de la zona. Sin embargo, la calidad del producto puede ser muy variable de un año a otro. Para no decantarse por las fermentaciones espontáneas, por el hecho de no poder ser controladas ni reproducibles, ni por las inoculadas por un estárter comercial, existe la posibilidad de seleccionar cepas de levaduras autóctonas de una determinada zona vitivinícola, adaptadas al *terroir* y a las características de las variedades en cultivo y utilizarlas como cultivo iniciador, simulando en cierto modo una fermentación espontánea pero conociendo de forma controlada la/las cepas de *S. cerevisiae* indígenas que están actuando.

Este trabajo presenta el estudio de biodiversidad poblacional y selección de levaduras autóctonas de dos fincas situadas en la D.O Empordà (Cataluña), efectuada durante tres vendimias consecutivas. Los resultados indican la presencia de un nicho ecológico de levaduras en esta zona que podría repercutir en las características de "terroir" de sus vinos.

1. Introducción

Producir un vino de calidad es más que cultivar buenas uvas en las condiciones climáticas adecuadas. Un ejército invisible de microorganismos contribuye al proceso desde que el viñedo se planta hasta que el vino se sirve en la copa.

Aunque el papel que juegan las levaduras en la transformación del mosto en vino ya se conoce desde hace más de 150 años cuando Louis Pasteur en 1866 fue el primero que elucidó esta bioconversión, aún existen muchas etapas en las que intervienen estos microorganismos que se pretenden optimizar para mejorar la calidad del vino obtenido.

La selección y uso de levaduras autóctonas puede ser un importante instrumento para mejorar las características sensoriales de un vino producido con variedades autóctonas. De hecho, las levaduras indígenas son los microorganismos mejor adaptados a las condiciones de la uva y del mosto de donde se han aislado y por lo tanto, pueden ser capaces de exaltar las peculiaridades (aromas, estructura, color,...) de un vino (Lopes *et al.*, 2007). En fermentaciones espontáneas, algunas cepas de *S. cerevisiae* pueden encontrarse y aislarse en años consecutivos como cepas predominantes, y por lo tanto pueden ser representativas de una zona vitivinícola o parcela (Rodríguez *et al.*, 2010). Estas cepas de levaduras nativas pueden asociarse al *terroir*, convirtiéndose en factores fundamentales para determinar la tipicidad de los vinos de la zona donde se han aislado.

Desde el año 2008, en colaboración con varias bodegas de diferentes Denominaciones de Origen en Cataluña, estamos investigando sobre el aislamiento, caracterización y uso de levaduras autóctonas propias de parcelas de las bodegas participantes. La existencia dentro de una misma especie de levadura, en este caso *S. cerevisiae*, de múltiples cepas que son distintas desde un punto de vista metabólico requiere la selección de aquellas que sean más aptas para el objetivo deseado: producción de vinos con determinadas características aromáticas, cepas aptas para la producción de vino espumoso, etc. Este trabajo muestra los resultados del estudio de biodiversidad y selección de las cepas más representativas de *S. cerevisiae* en dos parcelas de la D.O. Empordà, en el Norte de Cataluña.

2. Material y Métodos

Este estudio se llevó a cabo en colaboración con la bodega Brugarol, situada en el término municipal de Palamós (Girona – D.O. Empordà) durante las vendimias de 2014, 2015 y 2016. Las uvas procedían de dos fincas propiedad de la misma bodega. La finca 1: Mas Salvà, en la que se cultiva Malvasía istriana, es un viñedo interior rodeado de bosque. La finca 2: Mas del Vent, es un viñedo donde se cultiva Garnacha tinta, Mazuelo y Xarel-lo y está situada muy cerca del mar. Ambas fincas se escogieron por su distinta topografía y por tener un microclima distinto entre ellas.

Como primera etapa del estudio se procedió al aislamiento en cultivo puro de una población representativa de levaduras de una fermentación espontánea de uvas de las dos fincas por separado. Las fermentaciones, una de vinificación en blanco (Mas Salvà) y otra destinada a vino rosado o tinto joven (Mas del Vent) se llevaron a cabo en tanques de acero inoxidable con control de temperatura y su cinética se siguió mediante medida de densidad diaria, de acuerdo con el protocolo de la bodega. Las muestras para el aislamiento de levaduras se tomaron asépticamente en dos momentos del proceso: a mitad (densidad aproximada de 1040-1050) y al final de la fermentación (densidad alrededor de 1000). Las muestras se sembraron sobre placas con medio Sabouraud-cloramfenicol y se escogieron al azar alrededor de 50-55 colonias de cada punto de muestreo. Para el estudio y caracterización de las 100-110 colonias de cada fermentación espontánea, se utilizaron dos técnicas moleculares: el perfil de restricción del ADN mitocondrial (RFLP-mtDNA) y la amplificación de las secuencias delta (OIV, 2011).

La extracción de ADN genómico y la determinación de los patrones de restricción del mtDNA de cada una de las cepas se llevó a cabo según lo descrito por Querol et al., 1992. Para el análisis de los elementos delta se utilizaron los oligonucleótidos delta 12 y delta 21 (Legras and Karst, 2003). Como primer cribado, todos los aislados se analizaron mediante RFLP-mtDNA. Las cepas que mostraron el mismo patrón de bandas por este método se caracterizaron con más detalle mediante la tipificación por elementos delta. Las levaduras se agruparon de acuerdo con los resultados obtenidos por ambas técnicas y se nombraron alfabéticamente. Se compararon los perfiles de cepas de los 3 años de estudio en una misma finca y entre las dos fincas y se determinaron las cepas de *S. cerevisiae* mayoritarias.

3. Resultados

El hecho de realizar el estudio de selección durante tres vendimias consecutivas permite obtener una representación óptima de la biodiversidad de levaduras predominante en la finca donde proceden las uvas.

De las cepas de levadura que en abundancia y actividad han destacado en las fermentaciones espontáneas, se escogieron las 5 o 6 más representativas de la conducción de la fermentación alcohólica de los tres años de selección, para formar una colección y poder realizar posteriormente pruebas enológicas comparativas, utilizándolas como estárteres en cultivo puro o mixto.

Finca 1: "Mas Salvà" (Malvasía istriana)

La Fig. 1 muestra en porcentaje (%) la representación de las cepas más abundantes a mitad y final de FA en la vendimia de 2014. Se caracterizaron 53 cepas a mitad y 55 a final de fermentación alcohólica. Entre ellas, 6 cepas de *S. cerevisiae* se encontraron como mayoritarias: A1, B, C1, D, E1 y E2, 3 de ellas como más abundantes al final de fermentación y predominantes a mitad: E1, A1 y C1.

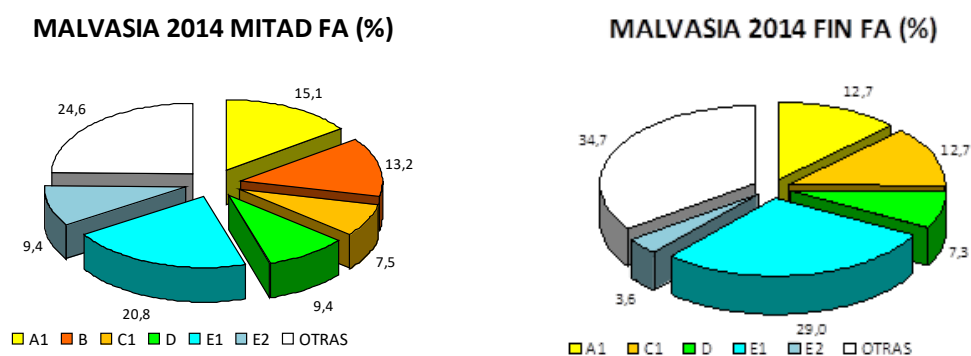


Figura 1. Cepas de *S. cerevisiae* más abundantes en Mas Salvà: vendimia 2014.

Nota: los perfiles con las mismas letras y colores a mitad y final de FA en las dos gráficas corresponden a la misma cepa. "Otras" agrupa la suma de cepas minoritarias.

En la vendimia de 2015 se estudiaron 54 cepas a mitad y 54 a final de FA. La Fig. 2 representa los porcentajes de las cepas que se encontraron en mayor proporción. La nomenclatura y color con que se representa cada cepa es independiente cada año. Las más abundantes en 2015 fueron: A1, A2, B1, B3 y C, y 3 de ellas: A1, B1 y C coincidieron como mayoritarias en ambos momentos de muestreo.

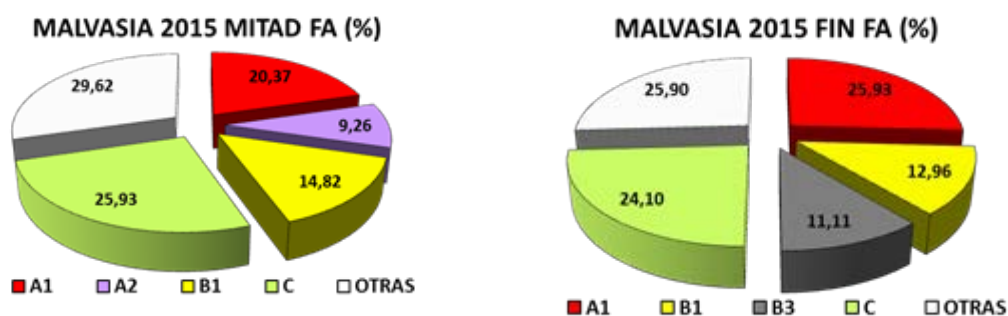


Figura 2. Cepas de *S. cerevisiae* más abundantes en Mas Salvà: vendimia 2015.

Finalmente, en la vendimia de 2016 se analizaron molecularmente 53 cepas a mitad y 51 aisladas a final de FA. En este año se encontraron 5 cepas mayoritarias y coincidentes en los dos momentos de fermentación. A1, A2, B, D1 y D2 (Fig. 3).

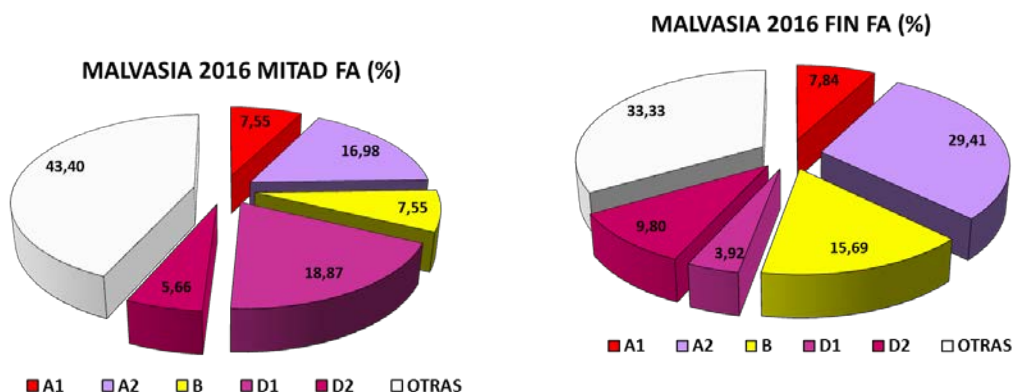


Figura 3. Cepas de *S. cerevisiae* más abundantes en Mas Salvà: vendimia 2016.

Cuando se realizó la comparación entre cepas en las tres vendimias se encontraron las siguientes coincidencias entre cepas mayoritarias y algunas minoritarias (Tabla 1).

Tabla 1. Resumen de cepas autóctonas de *S. cerevisiae* coincidentes en la finca Mas Salvà (D.O. Empordà) en los tres años de estudio.

“E1” de 2014 = “A1” de 2015 = “A2” de 2016
“O” de 2014 (minoritaria) = “B” de 2016
“C1” de 2014 = “B1” de 2015 = “D1” de 2016
“C2” de 2014 (minoritaria) = “B3” de 2015 = “D2” de 2016
“E2” de 2014 = “A2” de 2015 = “A1” de 2016
“A1” de 2014 = “C” de 2015 = “E” de 2016 (minoritaria)

La cepa “A2”, la más abundante en el 2016 coincide con la segunda cepa en mayor presencia en 2015, la “A1” y la más abundante en 2014: la “E1”. La segunda en % en 2016, la “B” presenta igualdad con una cepa minoritaria encontrada en el 2014, la “O”, pero no se detectó en 2015. La tercera en abundancia del 2016, la “D1” también fue la tercera en presencia en el 2015, la “B1” y la tercera en el 2014, la “C1”. La cuarta cepa encontrada en cantidad en 2016, la “D2” coincide con la cuarta más abundante a final de FA en 2015, la “B3” y una cepa minoritaria en 2014, la “C2”. La cepa “A1” de 2016, la quinta en cantidad, coincide con cepas aisladas como mayoritarias en 2015 (la “A2”) y 2014 (la “E2”). Y finalmente, la cepa mayoritaria en 2015, la cepa

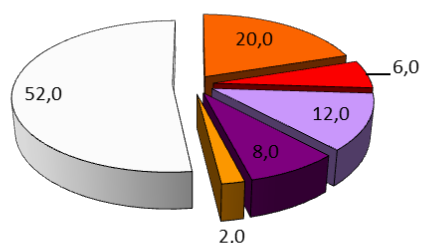
“C”, igual a la segunda en abundancia en 2014 (la “A1”) se encuentra de manera residual en el 2016: cepa “E”.

Por lo tanto, estas levaduras, sobretodo la “A2” (2016), se podrían tener en cuenta para empezar a realizar pruebas de siembra en cultivo puro con pie de cuba en fermentaciones a pequeña escala para valorar la calidad del vino producido.

Finca 2: “Mas del Vent” (Garnacha tinta, Mazuelo y Xarel-lo)

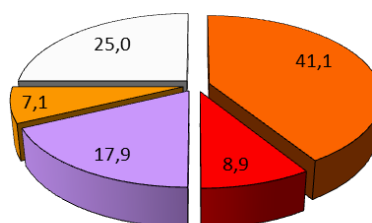
En la vendimia de 2014, de la fermentación espontanea de las uvas de esta finca se analizaron 50 levaduras a mitad y 56 a final de FA. Cinco cepas: B1, E1, F, K y S se consideraron como más abundantes respecto al resto. Y dos de ellas: B1 y F, claramente mayoritarias a mitad y final de la fermentación (Fig. 4).

VINO ROSADO 2014 MITAD FA (%)



■ B1 ■ E1 ■ F ■ K ■ S □ OTRAS

VINO ROSADO 2014 FIN FA (%)

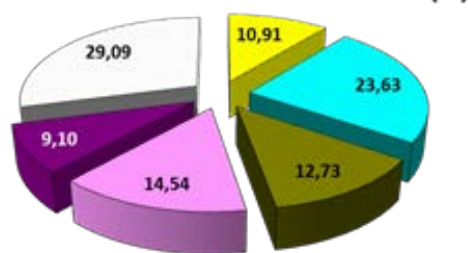


■ B1 ■ E1 ■ F ■ S □ OTRAS

Figura 4. Cepas de *S. cerevisiae* más abundantes en Mas del Vent: vendimia 2014.

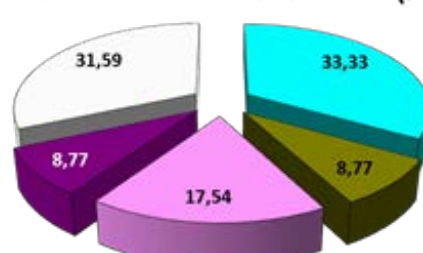
La Fig. 5. muestra las cepas más abundantes aisladas en la vendimia de 2015. Se caracterizaron 55 levaduras a mitad y 57 a final de proceso. Se escogieron 5 cepas como las más representativas: A, C1, C4, E1 y G1, siendo la C1 y E1 las que predominaron claramente al final.

VINO TINTO JOVEN 2015 MITAD FA (%)



■ A ■ C1 ■ C4 ■ E1 ■ G1 □ OTRAS

VINO TINTO JOVEN 2015 FIN FA (%)

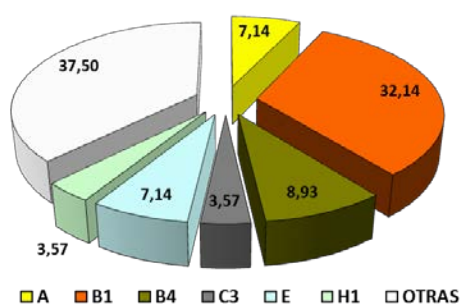


■ C1 ■ C4 ■ E1 ■ G1 □ OTRAS

Figura 5. Cepas de *S. cerevisiae* más abundantes en Mas del Vent: vendimia 2015.

En la última campaña de vendimia estudiada, la del 2016, se analizaron 56 levaduras a mitad y 55 al final de la fermentación espontanea. Las cepas A, B1, B4, C3, E y H1 se aislaron como las más abundantes, siendo la B1 y B4 mayoritarias al final del proceso (Fig. 6).

VINO TINTO JOVEN 2016 MITAD FA (%)



VINO TINTO JOVEN 2016 FIN FA (%)

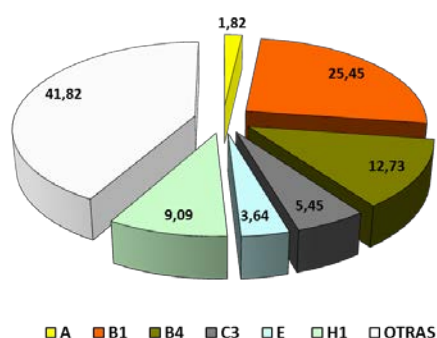


Figura 6. Cepas de *S. cerevisiae* más abundantes en Mas del Vent: vendimia 2016.

Al realizar el estudio comparativo entre cepas en las tres vendimias se hallaron las siguientes coincidencias entre cepas mayoritarias y algunas minoritarias (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de cepas autóctonas de *S. cerevisiae* coincidentes en la finca Mas del Vent (D.O. Empordà) en los tres años de estudio.

“B1” de 2014 = “C1” de 2015 = “B1” de 2016
“C4” de 2015 = “B4” de 2016
“I” de 2014 (minoritaria) = “H1” de 2016
“F” de 2014 = “A” de 2015 = “E” de 2016
“E1” de 2014 = “G1” de 2015 = “C3” de 2016
“T” de 2014 (minoritaria) = Q de 2015 (minoritaria) = “A” de 2016
“S” de 2014 = “E1” de 2015 = “T3” de 2016 (minoritaria)

La cepa mayoritaria en el 2016: la “B1”, también lo es en el 2015, la “C1” y en el 2014: “B1”. La cepa “B4”, la segunda en abundancia en 2016 coincide con la 3ª en presencia encontrada en 2015. La tercera en la vendimia del 2016: la cepa “H1” coincide con una levadura minoritaria en 2014: la “I”. La cepa “E” 2016, cuarta en presencia, coincide con la tercera en abundancia del 2014, la “F” y una de las cepas mayoritarias a mitad de FA en el 2015: la cepa “A”. La cepa “C3” de 2016, 5ª en presencia, coincide con la cuarta cepa en % del 2015: cepa “G1” y la tercera con más presencia en el 2014: la “E1”. La cepa “A” 2016, coincide con 2 cepas minoritarias: en la vendimia del 2015: la “Q”, y la cepa “T” de la vendimia del 2014. Finalmente, la segunda cepa en mayor % de presencia en el 2015, la “E1” y la 4ª en abundancia en el 2014: la “S” coinciden con una cepa minoritaria del 2016, la cepa “T3”.

Todas estas levaduras, sobretodo la “B1”, han de tenerse en consideración para empezar a realizar pruebas de siembra con estériles de levaduras autóctonas (en cultivo puro o mixto) en fermentaciones a pequeña escala para establecer la calidad del vino elaborado.

Comparación de cepas de *S. cerevisiae* aisladas de “Mas Salvà” y “Mas del Vent”

A lo largo de los 3 años de estudio se realizó la comparación de cepas mayoritarias entre las dos fincas para comprobar si existía algún *S. cerevisiae* común en ambos parajes, independientemente de la diferencia de microclima existente: viñedo interior rodeado de bosque (Mas Salvà) o influencia del mar (Mas del Vent). La tabla 3 establece las igualdades entre levaduras más importantes por su abundancia cuando se compararon los patrones o perfiles de bandas obtenidos por las dos técnicas moleculares.

Tabla 3. Resumen de las homologías de cepas entre las dos fincas. Entre paréntesis, año de aislamiento.

Mas Salvà		Mas del Vent
A2 (16) = A1 (15) = E1 (14)	=	B1 (16) = C1 (15) = B1 (14)
A1 (16) = A2 (15) = E2 (14)	=	B4 (16) = C4 (15)
D1 (16) = B1 (15) = C1 (14)	=	C3 (16) = G1 (15) = E1 (14)

4. Conclusiones

Se han encontrado tres cepas de *S. cerevisiae* comunes y predominantes en dos viñedos situados en condiciones de microclimas distintos pero próximos en ámbito geográfico (municipio de Palamós). Este hecho es de interés ya que sugiere la presencia de un nicho ecológico y característico para estas cepas.

Los aromas fermentativos de estas levaduras autóctonas (en cultivo puro o mixto) pueden influir en la diferenciación y complejidad del vino elaborado, obteniéndose un sello de la bodega o zona vitivinícola mediante un sistema que utiliza la biodiversidad natural de microorganismos existente en el propio viñedo.

5. Bibliografía

LEGRAS, J.L.; KARST, F. 2003. **Optimisation of interdelta for *Saccharomyces cerevisiae* strain characterization.** FEMS Microbiol. Lett. 221, 249-255.

LOPES, C.A.; RODRÍGUEZ, M.E.; SANGORRÍN, M.; QUEROL, A.; CABALLERO, A.C. 2007. **Patagonian wines: the selection of an indigenous yeast starter.** J. Indust. Microbiol. Biotechnol., 34, 539-546.

OIV Resolution OIV-OENO 408. 2011. **Molecular tools for identification of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast and other yeast species related to winemaking.**

QUEROL, A.; BARRIO, E.; RAMÓN, D. 1992. **A comparative study of different methods of yeast strain characterization.** Syst. Appl. Microbiol. 15, 439-446.

RODRÍGUEZ, M.E.; INFANTE, J.J.; MOLINA, M.; DOMÍNGUEZ, M.; REBORDINOS, L.; CANTORAL, J.M. 2010. **Genomic characterization and selection of wine yeast to conduct**

industrial fermentations of a white wine produced in a SW Spain winery. J. Appl. Microbiol., 108, 1292-1302.

6. Agradecimientos

Agradecemos a Explotaciones Agrícolas Forestales Brugarol S.A. el haber participado en este trabajo.

Evolución de los marcadores que discriminan los vinos tintos de barrica de los macerados con de fragmentos de roble. Comportamiento de vinos añejos

Ernesto Franco Aladrén^a, Laura Culleré Varea^b, Carlos González Huerta^c, Juana Martínez García^d, Mariano Cabellos Caballero^e, Julián Suberviola Ripa^f Ignacio Orriols Fernández^g, Ernesto Franco Luesmar^b.

^aUnidad de Enología. Gobierno de Aragón. Movera. Zaragoza. ^bLaboratorio de Análisis del Aroma y Enología, Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias de la Universidad de Zaragoza. ^cEstación Enológica de Castilla y León. Rueda. Valladolid. ^dCentro de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario. Logroño. ^eInstituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario. Madrid. ^fEstación enológica de Navarra. Olite. Navarra. ^gEstación enológica de Galicia. Leiro Orense.

1. Introducción

Posiblemente las virutas sobrantes de las tonelerías se han usado en algún momento en cantidades insignificantes para aromatizar el vino. La incidencia en los mercados se produce cuando vinos tratados con virutas o tacos de roble, procedentes principalmente de países emergentes en el sector (Australia, Sudáfrica, USA, etc.) se empiezan a comercializar en gran escala a principios de la década de los años noventa y comienzan a competir con los vinos europeos envejecidos de forma tradicional en barrica de roble y en concreto con nuestros crianza, reserva y gran reserva.

De otra parte el envejecimiento de vinos es una técnica usada habitualmente en las bodegas para aumentar la estabilidad, conseguir aromas más complejos y clarificar espontáneamente los vinos. En España habitualmente el envejecimiento del vino se realiza en envases de roble. El vino encubado en la barrica de 225 l (envase usado mayoritariamente) modifica su composición ya que extrae de la madera compuestos como taninos, ácidos fenólicos, y compuestos volátiles. Además, debido a la microoxigenación que se produce al penetrar el aire a través de la madera, se estabiliza la materia colorante y aumenta la calidad del vino. Este método requiere periodos de tiempo largos y es caro.

El uso de esta nueva técnica enológica, como algunos de los productores de los países emergentes defendían, produce vinos equilibrados, con aroma y sabor a roble pero conservando los caracteres varietales y frutales propios de la juventud de los vinos jóvenes, en definitiva es un tipo de vino que ha tenido gran aceptación en el mercado, hoy lo confirmamos, y que de alguna forma ha hecho que muchas Bodegas se hayan tenido que replantear su estrategia en cuanto al diseño y tipicidad de sus vinos. Un claro ejemplo ha sido la irrupción en algunas DDOO de los "vinos roble", vinos encubados durante cortos periodos de tiempo en barricas, habitualmente nuevas y en las que se suele realizar la degradación maloláctica en presencia de lías finas.

En Europa el uso de fragmentos, para macerar los vinos, es una alternativa al encubado del vino en barrica de roble y hoy es una práctica enológica aprobada por la CE reglamento (CE) N° 2165/2005 y (CE) N° 1507/2006 que definen las normas de uso de los trozos de madera a utilizar en vinos. El Real Decreto 1365/2007, de 19 de octubre, por el que se modifica el Real Decreto 1127/2003, aclara que las indicaciones "crianza, reserva, barrica roble, etc.", no podrán utilizarse para designar vinos elaborados con ayuda de trozos de madera de roble, aun cuando se haya empleado también en dichos procesos barricas de madera de roble

Los efectos que produce la adición de trozos de madera al vino dependen de varios factores que definen las características del producto, el origen de la madera (Chatonnet & Dubourdiou, 1998; De Simon, Cadahia & Jalocha, 2003; Frangipane, De Santis & Ceccarelli, 2007), tipo de secado (Vivas & Glories, 1996; Masson, Baumes, Moutounet & Puech, 2000),

proceso de tostado (De Simon, Cadahia, & Jalocha, 2003; Franco, Castells, Martínez & Pérez, 2007; Fernandez de Simon, Cadahia, del Alamo & Nevares, 2010) dosis del tratamiento (Fan, Xu & Yu, 2006), tiempo de contacto entre la madera y el vino (Martínez, Rubio & Ojeda, 2007; Bautista-Ortín, Lencina, Cano-Lopez, Pardo-Minguez, Lopez-Roca & Gomez-Plaza, 2008), tamaño de los trozos de madera y edad de la bodega (Mosedale, Puech & Feuillat, 1999; Arapitsas, Antonopoulos, Stefanou & Dourtoglou, 2004).

Los fragmentos son productos derivados del roble que aportan notas de madera a los vinos sin necesidad de emplear barricas. Esto puede producir, si no se regula convenientemente, un fraude cuando se ofrecen como vinos envejecidos en bodega. El objetivo principal de este trabajo es encontrar marcadores que nos permitan diferenciar si un vino ha sido criado en bodega de roble o ha fermentado o macerado con fragmentos de madera de roble. Se pretende diferenciar entre los vinos que se han elaborado siguiendo dos prácticas enológicas bien diferenciadas, y que el CODEX enológico de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), en la edición de 2006, incluye como "Envejecimiento en recipientes de madera de baja capacidad (OENO 8/01)" y como "Uso de trozos de madera de roble en la elaboración de vino (OENO 9/01)"

En el estudio realizado entre 2008 y 2010 en el que participaron el Centro de Transferencia Agroalimentaria (CTA-Aragón), Estación Enológica de Castilla y León (EE-Castilla y León), Centro de Investigación y Desarrollo Agrario (CIDA-La Rioja), Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural Agrario (IMIDRA-MADRID), Estación Enológica de Navarra (EVENA-Navarra) y Estación Enológica de Galicia (EVEGA-Galicia), y cuyos resultados se han expuesto en la reunión del GTEVE de Logroño en 2014, (Franco, 2014) y (Hernández-Orte, P, 2014). Los resultados mostraban que la aplicación de los criterios de discriminación, clasificaban los vinos con un 92% de acierto, pero solo aquellos que superaban el umbral de concentración. Los vinos que no superaban este umbral eran el 24,2%, no se pueden clasificar.

En 2016 y nuevamente con el apoyo del Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, se dispusieron una serie de ensayos, con los siguientes objetivos:

- 1º- comprobar vinos tintos del estudio anterior que los criterios de discriminación aplicados siguen siendo válidos después de varios años de permanencia en botella.
- 2º- comprobar en vinos tintos de largo envejecimiento, vinos añejos, en botella o en barricas, si se cumplen los criterios de discriminación.

2. Material y Métodos

Para la realización del estudio se parte de los siguientes vinos tintos:

- * 40 de la cosecha 2009 del estudio anterior (Franco 2014), ya analizados en 2011 y que se han conservado en botella durante 5 años.
- * 12 de diferentes cosechas, que se encuentran en bodega desde hace al menos seis años.
- * 46 de cosechas antiguas desde 1987 a 2012, conservados en botella.

En cada muestra se han analizado en el LAEE de UNIZAR los compuestos traza ($\mu\text{g/L}$) siguiendo el método propuesto por López et al, en 2002 con pequeñas modificaciones.

El análisis estadístico se ha realizado con SPSS vs 15.0 from SPSS Inc. (Chicago, IL).

Básicamente en el ensayo se compara la evolución de los volátiles, de los vinos tintos del 2009, del primer estudio, después 5 años de permanencia en botella. También se analizan por primera vez vinos tintos de añadas antiguas, que bien han permanecido en bodega o en botella. En ambos casos además se estudio el comportamiento de los vinos frente a los criterios de clasificación del primer estudio.

También se intentará identificar nuevos marcadores para aquellos vinos que no se puedan clasificar, por no superar el umbral de concentración.

3. Resultados

3.1 Evolución de los volátiles de mayor interés, después de permanencia de los vinos en botella durante 5 años.

Se compara la evolución de los parámetros analíticos (eugenol, furfural, vainillina y acetovainillona) que clasifican los vinos, además de siringaldehído como marcador de fragmentos. Se someten a comparación 40 vinos, 16 de ellos de barrica y 24 de maceración o fermentación con fragmentos.

Los resultados de los vinos de barrica se muestran en la **Tabla 1**, y en la **tabla 2** los de vinos macerados o fermentados con fragmentos. En ambos casos se observa como las concentraciones de vainillina, siringaldehído, y acetovainillona descienden después de permanecer el vino 5 años en botella. Vainillina y acetovainillona en 2016 presentan, aproximadamente, un tercio de su valor en 2011. Siringaldehído desciende hasta en un 96% respecto de su concentración en 2011. La concentración de eugenol se mantiene prácticamente constante. El furfural presenta un descenso en los vinos de barricas, mientras aumenta en el caso de los fragmentos.

Ahora bien, ¿la evolución de las concentraciones de estos compuestos es similar en todos los vinos y es proporcional al tiempo transcurrido en botella? Para responder a esta pregunta, se comparan los resultados de los análisis de 2011 con los de 2016.

Tabla 1: Concentración de los analitos en los mismos vinos de barrica después de permanecer 5 años en botella. Concentraciones expresadas en µg/l. B: barrica

Ref	Codi	Furfural		Vainillina		Siringaldehído		Acetovainillona		Eugenol	
		2011	2016	2011	2016	2011	2016	2011	2016	2011	2016
19	B-50	41,34	175,18	21,37	32,29	371,05	39,35	376,32	116,98	43,29	36,41
20	B-51	57,19	167,97	42,79	41,03	443,31	66,10	361,01	132,04	64,47	62,20
21	B-52	23,49	121,12	83,01	29,69	392,50	18,52	378,31	62,72	44,33	35,67
26	B-53	15,40	115,85	1,00	12,14	127,51	15,15	335,32	101,15	11,63	9,85
27	B-54	8,31	116,26	1,00	13,70	19,37	14,60	315,52	109,11	10,13	21,31
28	B-55	9,37	126,74	0,54	9,63	73,53	10,74	384,48	90,11	24,96	13,84
30	B-56	1,57	22,58	146,47	32,71	619,93	14,82	157,31	44,30	12,20	20,48
31	B-57	2,59	9,60	96,34	32,52	349,81	13,48	86,43	41,90	18,97	30,11
32	B-58	11,89	32,76	73,32	20,55	227,31	9,49	130,50	34,20	12,75	10,62
38	B-60	10,71	24,24	39,76	21,05	208,01		130,30	43,97	9,14	7,37
51	B-61	464,64	80,52	329,41	57,94	1440,45	43,36	193,77	50,89	46,08	29,60
52	B-62	294,37	117,13	221,25	81,97	621,09	53,37	95,00	37,04	41,74	58,76
60	B-63	10,0	80,82	257,64	59,73	282,58	17,57	75,50	37,65	26,8	40,99
61	B-64	606,88	119,85	218,57	205,12	1028,76	46,10	73,45	55,45	27,94	46,23
68	B-65	187,36	106,24	174,08	72,32	819,18	26,13	123,20	54,81	34,50	57,67
69	B-66	299,40	79,73	308,98	45,13	1671,03	9,41	135,43	43,90	85,72	31,16
	MED	127,22	93,54	125,97	47,97	543,47	26,55	209,49	66,01	32,16	32,02

Se propone realizar una regresión lineal para comprobar si existe proporcionalidad en la variación de las concentraciones de los compuestos estudiados. La relación entre las concentraciones de vainilla y acetovainillona se representan en las Fig 1 y 2 respectivamente, desechando dos valores anormales, ambas regresiones son muy buenas con constante de correlación de $R^2= 0,64$ y $R^2= 0,73$ respectivamente. La relación para el eugenol se representa en la Fig 3, observando como su concentración prácticamente permanece constante, $R^2= 0,76$, particularmente en concentraciones inferiores a $20 \mu\text{g/l}$. Para furfural y siringaldehído no existe relación entre ambos análisis, $R^2=0,025$ y $R^2=0,001$ respectivamente, esto indica que estos compuestos no se pueden usar como marcadores de barrica o fragmentos, excluyéndolos también del primer criterio de clasificación, (Franco, 2014) y (Hernández-Orte, P, 2014), y proponiendo un nuevo criterio, limitado solo a la concentración de vainillina. 1º criterio, cuando la concentración de vainillina es inferior a $20 \mu\text{g/l}$, los vinos no superan el umbral de concentración y no se les puede aplicar los siguientes criterios de clasificación.

Tabla 2: Concentración de los analitos en los mismos vinos de fragmentos después de permanecer 5 años en botella. Concentraciones expresadas en $\mu\text{g/l}$. C: fragmentos.

Ref	Codi	Furfural		Vainillina		Siringaldehído		Acetovainillona		Eugenol	
		2011	2016	2011	2016	2011	2016	2011	2016	2011	2016
22	C-10	14,41	130,99	336,52	137,36	1157,26	94,55	343,39	140,12	3,26	6,45
23	C-11	18,35	118,15	419,27	130,61	1766,05	93,15	397,21	134,91	4,37	1,00
24	C-12	15,03	148,81	322,11	120,47	1191,85	90,35	319,93	138,84	13,21	14,30
25	C-13	11,89	128,96	302,80	107,18	1165,22	88,23	366,63	122,95	18,65	20,79
33	C-14	19,95	30,24	416,94	96,95	1379,84	35,38	142,05	58,38	5,97	9,67
34	C-15	28,29	30,37	634,74	193,12	4908,45	135,64	196,26	112,07	3,96	7,08
35	C-16	43,71	33,29	1889,08	134,23	13954,94	60,19	536,54	101,47	13,62	9,59
36	C-17	47,82	39,42	1592,92	130,25	11541,50	108,96	452,39	104,93	11,89	12,76
53	C-18	19,64	94,23	242,07	27,30	650,48	7,89	142,32	29,88	16,59	13,77
54	C-19	26,35	65,61	306,94	56,85	996,53	23,72	163,40	63,30	10,88	9,22
55	C-20	16,01	75,81	328,44	55,26	802,64	13,96	145,15	53,63	6,74	6,50
56	C-21	149,20	76,21	761,80	124,45	2539,75	81,63	229,29	76,16	9,64	10,57
57	C-22	157,03	58,76	357,55	98,58	844,91	48,02	125,78	56,12	10,07	13,58
58	C-23	134,84	77,22	557,42	112,67	1508,32	54,46	174,56	66,85	6,67	6,98
59	C-24	13,59	65,70	25,43	13,50	81,62	9,20	76,84	32,30	5,93	10,00
62	C-25	21,90	84,07	682,49	227,94	3427,31	344,25	227,24	66,63	4,77	6,25
63	C-26	75,39	49,61	2239,11	761,70	14407,67	1279,65	466,28	147,59	9,76	6,80
64	C-27	13,34	53,02	30,16	28,70	274,00	33,74	534,11	166,88	8,90	8,37
65	C-28	3,43	61,95	2,01	13,30	65,46	5,98	240,51	73,23	5,06	7,24
66	C-29	9,04	74,17	17,00	27,52	253,38	40,29	565,36	142,10	8,76	7,90
70	C-30	9,42	81,56	11,24	15,90	36,18	5,68	131,04	54,13	12,03	16,32
71	C-31	11,33	76,61	0,82	21,13	40,51	7,96	94,24	58,46	12,99	13,75
72	C-32	12,91	73,07	4,42	13,34	53,80	4,34	118,85	46,59	14,09	12,36
37	C-33	30,86	33,99	1482,21	135,50	9551,13	121,88	447,38	98,53	15,64	11,70
	MEDI	37,66	73,41	540,15	115,99	3024,95	116,21	276,53	89,42	9,73	10,12

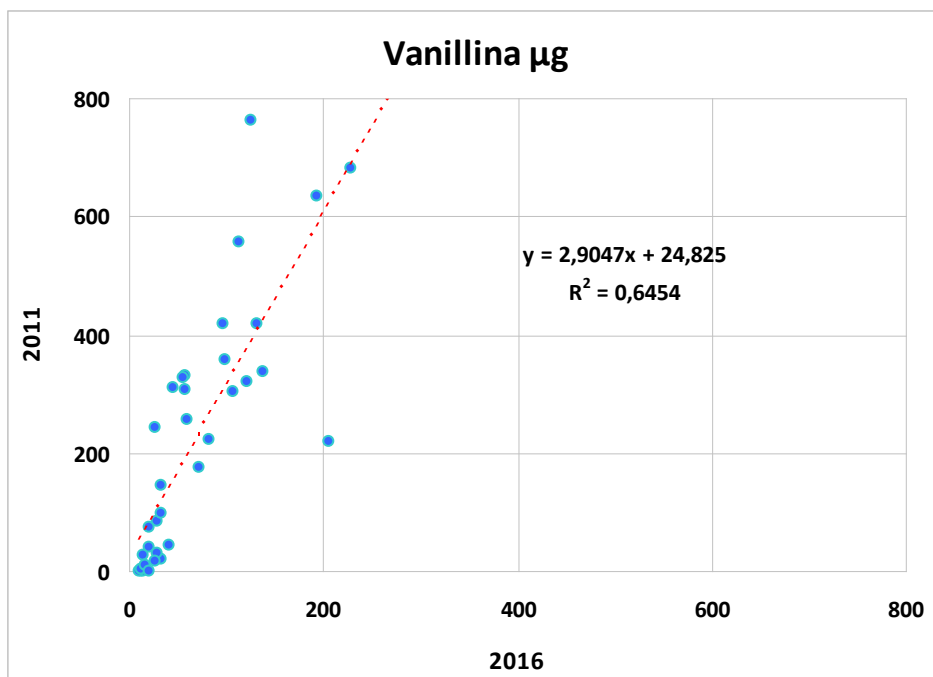


Fig 1: Relación entre la concentración de vainilla analizada en 2011 y 2016, de vinos de barrica y fragmentos después de permanecer 5 años en botella.

3.2 Evolución del valor de la relación (Vainillina+Acetovainillona)/Eugenol, después de permanencia de los vinos en botella durante 5 años.

De los 40 vinos en los que se comparan las analíticas de 2016 y 2011, en 2011 solo ocho vinos no superan el umbral de concentración y de los 32 vinos restantes solo dos se clasifican erróneamente, uno de barrica y otro de fragmentos. En la analítica de 2016 son también ocho los que no superan el umbral de concentración, siete coincidentes con 2011 y de los 32 que superan el umbral, nueve se clasifican erróneamente, todos ellos de fragmentos que se clasifican como barricas.

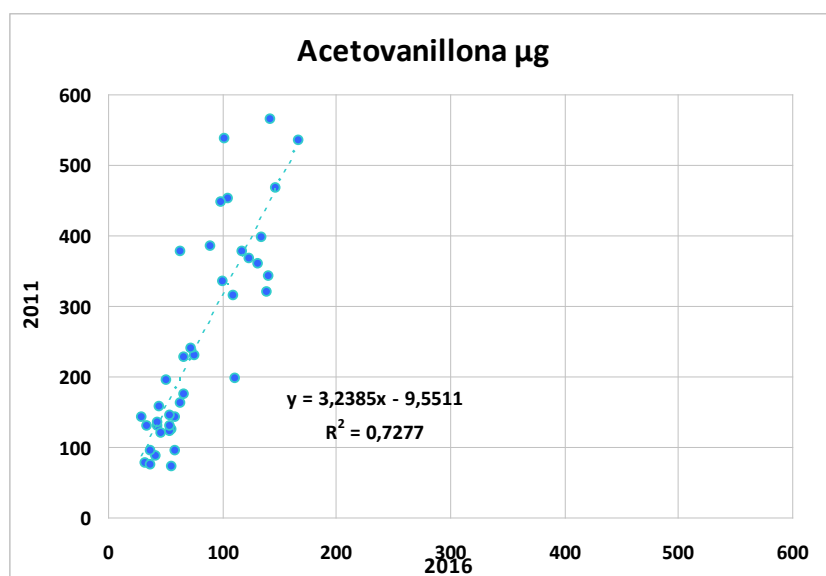


Fig 2: Relación entre la concentración de acetovainillona analizada en 2011 y 2016, de vinos de barrica y fragmentos después de permanecer 5 años en botella.

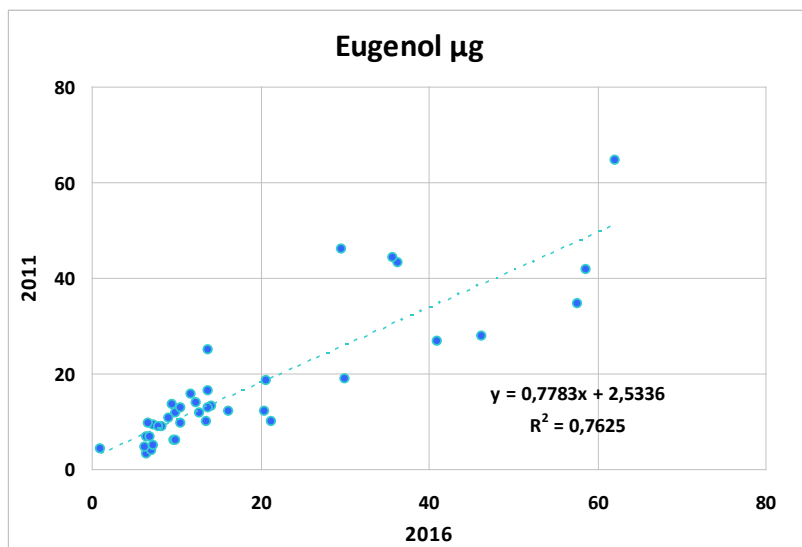


Fig 3: Relación entre la concentración de eugenol analizado en 2011 y 2016, de vinos de barrica y fragmentos después de permanecer 5 años en botella.

Como con las concentraciones, cabe preguntarse si existe proporcionalidad entre los valores de la relación Vainillina+Acetovainillona)/Eugenol. Los resultados se muestran en el **gráfico 4**. Se observa como el valor de la relación disminuye cinco veces en el periodo de cinco años de permanencia en botella; este resultado está de acuerdo con la disminución de la concentración de vainillina y acetovainillona y la estabilidad de la concentración de eugenol, como se ha comentado anteriormente. Esta situación favorece a los vinos de barrica, dado que al ser normalmente menos ricos en aldehídos la relación con eugenol disminuye con el tiempo en botella, por esto en la analítica de 2016 los vinos que se clasifican erróneamente, son los de fragmentos los que lo hacen como barricas.

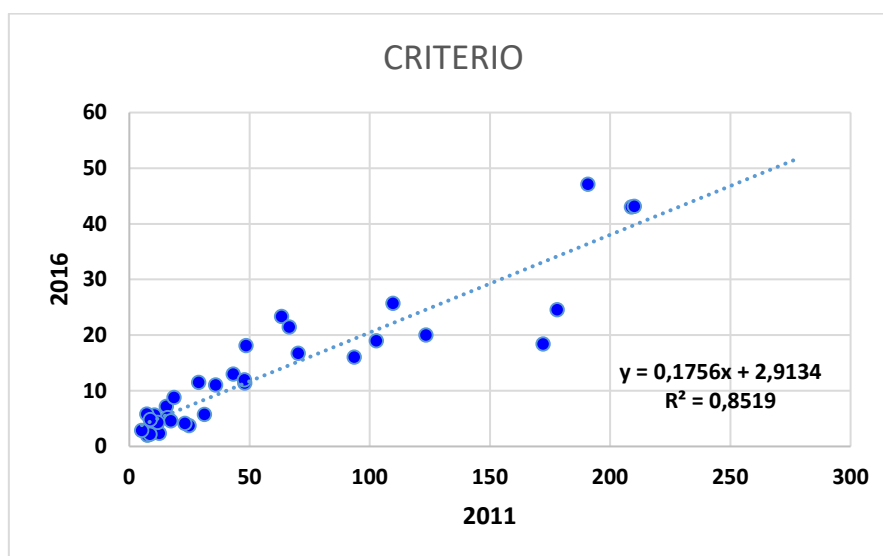


Fig 4: Regresión entre los valores de la relación (Vainillina+Acetovainillona)/Eugenol) que clasifican los vinos de barrica o fragmentos.

3.3 Vinos añejos tanto en barrica como en botellas. Comportamiento frente a los criterios de clasificación.

Se estudian 58 vinos tintos, 12 de diferentes cosechas están en barrica desde al menos 6 años, 46 están en botella y se corresponden con cosechas entre 1987 y 2012. Cuatro vinos no superan el umbral de concentración, 1º criterio, tres son barricas y uno de fragmentos, de los 54 vinos restantes, seis no se clasifican correctamente, todos macerados con fragmentos. Lo anterior indica que los vinos añejos o de larga permanencia en botella, pueden clasificarse con los criterios propuestos sin mayor dificultad que los vinos más nuevos.

4. Conclusiones

Las concentraciones de vainillina, siringaldehído, y acetovainillona descienden después de permanecer el vino 5 años en botella, el siringaldehído hasta en un 96%. La concentración de eugenol prácticamente permanece constante.

Para furfural y siringaldehído no existe relación entre los valores de los análisis de 2011 y 2016, esto indica que estos compuestos no se pueden usar como marcadores de barrica o fragmentos.

El valor de la relación Vainillina+Acetovainillona/Eugenol de la analítica del 2016 es el 20% del valor de 2011. Esta situación favorece a los vinos de barrica.

Los vinos añejos o de larga permanencia en botella, pueden clasificarse con los criterios propuestos sin mayor dificultad que los vinos más nuevos.

5. Bibliografía

- ARAPITSAS, P., ANTONOPOULOS, A., STEFANOY, E., & DOURTOGLOU, V. G. 2004. **Artificial aging of wines using oak chips**. Food Chem. 86, 563-570.
- Bautista-Ortín, A. B., Lencina, A. G., Cano-Lopez, M., Pardo-Minguez, F., Lopez-Roca, J. M., & GOMEZ-PLAZA, E. 2008. **The use of oak chips during the ageing of a red wine in stainless steel tanks or used barrels: effect of the contact time and size of the oak chips on aroma compounds**. Aust. J. Grape Wine Res. 14, 63-70.
- CHATONNET, P., & DUBOURDIEU, D. 1998. **Comparative study of the characteristics of American white oak (Quercus alba) and European oak (Quercus petraea and Q-robur) for production of barrels used in barrel aging of wines**. Am. J. Enol. Vitic. 49, 79-85.
- DE SIMÓN, B. F., CADAHIA, E., & JALLOCHA, J. 2003. **Volatile compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French, and American oak wood**. J. Agric. Food Chem. 51, 7671-7678.
- FAN, W. L., XU, Y., & YU, A. M. 2006. **Influence of oak chips geographical origin, toast level, dosage and aging time on volatile compounds of apple cider**. J. Inst. Brew. 112, 255-263.
- FERNANDEZ DE SIMON, B., CADAHIA, E., DEL ALAMO, M., & NEVARES, I. 2010. **Effect of size, seasoning and toasting in the volatile compounds in toasted oak wood and in a red wine treated with them**. Anal. Chim. Acta 660, 211-220.
- FRANCO, E., CASTELLS, E., MARTÍNEZ, J.A., PÉREZ, J. 2007. **Efecto del grado de tostado sobre algunos parámetros de la fracción aromática de vinos tintos de Garnacha criados en barrica o macerados con chip de roble americano**. Vitic. Enol. Prof. nº 112, 47-54.
- FRANCO, E. HERNÁNDEZ-ORTE, P., GONZÁLEZ HUERTA, C., MARTÍNEZ, J., CABELLOS, M., SUBERVIOLA, J., ORRIOLS, I., CACHO, J. 2014. **Discriminación analítica entre los vinos**

criados en barrica de roble y los fermentados o macerados con fragmentos de roble. XXII Reunión Anual del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. Logroño. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

FRANGIPANE, M.T., DE SANTIS, D., CECCARELLI, A. 2007. **Influence of oak wood of different geographical origins on quality of wines aged in barrels and using oak chips.** Food Chem. 103, 46-56.

HERNÁNDEZ-ORTE, P., FRANCO, E., GONZÁLEZ HUERTA, C., MARTÍNEZ, J., CABELLOS, M., SUBERVIOLA, J., ORRIOLS, I., CACHO, J. 2014. **Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments.** Food Res. Int. 57: 234-241.

LOPEZ, R., AZNAR, M., CACHO, J., & FERREIRA, V. 2002. **Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection.** J. Chromatogr. A 966, 167-177.

MARTÍNEZ J., RUBIO P., OJEDA S. 2007. **Aplicación de chips en vinos tintos. Optimización del tiempo de contacto madera-vino.** XXII Reunión Anual del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. Logroño. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

MASSON, E., BAUMES, R., MOUTOUNET, M., & PUECH, J. L. 2000. **The effect of kiln-drying on the levels of ellagitannins and volatile compounds of European oak (Quercus petraea Liebl.) stave wood.** Am. J. Enol. Vitic. 51, 201-214.

MOSEDALE, J. R., PUECH, J. L., & FEUILLAT, F. 1999. **The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components.** Am. J. Enol. Vitic. 50, 503-512.

VIVAS M., GLORIES Y. 1996. **Étude et optimisation des phénomènes impliqués dans le séchage naturel du bois de chêne.** Rev. Fr. Oenol. n° 158, 28-35.

Aplicación de un fitorregulador de crecimiento en viñedo de Garnacha Tinta y efectos en la maduración de la uva y la calidad del vino

Julian Suberviola, Karmele Jimeno, Amaia Altuna, Cristina Gorriz, Untzizu Luquin, Ramiro Vélez, Felix Cibriain.

*Sección de Viticultura y Enología, Gobierno de Navarra, C/ Valle de Orba, 34 - 31390 Olite (Navarra). 948741707.
jsubervr@cfnavarra.es*

Resumen

Los cambios en el manejo actual del viñedo, unido a distintas variables como el clima, la variedad cultivada y la modificación de los sistemas productivos, han provocado de un tiempo a esta parte un adelanto en la parada del crecimiento vegetativo y un inicio más precoz de la maduración en nuestros viñedos. Esto produce ciertos desequilibrios debido a que las uvas acumulan rápidamente azúcares dando lugar a un desajuste entre la maduración fenólica y la tecnológica.

Por otro lado, la actual tendencia del mercado es la de obtener vinos con menor graduación alcohólica, lo que ha provocado una búsqueda de alternativas, tanto de manejo del cultivo como de uso de fitorreguladores, que sean capaces de solventar el problema y obtener maduraciones más homogéneas.

Para ello, se ha ensayado con la variedad Garnacha tinta en la Ribera Alta de Navarra, pulverizando en la primera parte del envero un fitorregulador del crecimiento vegetal. Los resultados demuestran que las cepas tratadas tienen menor grado alcohólico potencial, mayor intensidad colorante y el tratamiento puede considerarse como herramienta para el ajuste de la madurez tecnológica y fenólica de la Garnacha Tinta.

1. Introducción

Los cambios en el manejo actual del viñedo, unido a distintas variables como el clima, la variedad cultivada y la modificación de los sistemas productivos, han provocado, de un tiempo a esta parte un adelanto en la parada del crecimiento vegetativo y un inicio más precoz de la maduración en nuestros viñedos. Esto produce ciertos desequilibrios debido a que las uvas acumulan rápidamente azúcares dando lugar a un desajuste entre la maduración fenólica y la tecnológica. Este desacoplamiento es especialmente notorio en zonas cálidas, en viñedos con variedades y/o clones muy productivos, o en aquellas donde el cambio climático está comenzando a descubrir un problema hasta ahora inexistente.

Por otro lado, la actual tendencia del mercado es la de obtener vinos con menor graduación alcohólica, lo que ha provocado una búsqueda de alternativas, tanto de manejo del cultivo como de uso de fitorreguladores, que sean capaces de solventar el problema y obtener maduraciones más homogéneas.

Una de estas posibles alternativas es el Etefón; Fruitel 180 es un fitorregulador del crecimiento vegetal con propiedades sistémicas. Está compuesto de Etefón 18% p/v, que se descompone en el interior de los tejidos vegetales liberando etileno. Esta hormona interviene en la maduración promoviendo la actividad de enzimas como fenilalanina-amino-liasa (PAL), involucrada en la síntesis de antocianos y polifenoles.

2. Material y Métodos

El ensayo consta de dos partes:

- Aspectos vitícolas: diseño del ensayo de la parcela, aplicación del producto, análisis de maduración fenólica-tecnológica y vendimia.
- Aspectos enológicos: vinificación, análisis de mosto-vino y análisis sensorial.

- Aspectos vitícolas

La parcela en la que se sitúa el ensayo está en la localidad de Olite (Navarra), polígono 14, parcela 1131. Se trata de una viña de Garnacha tinta conducida en espaldera a doble cordón.

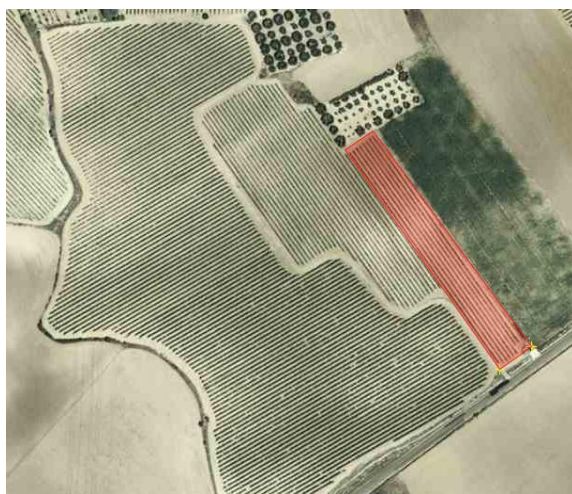


Fig. 1. Parcela objeto de ensayo.

Para estudiar la influencia del Fruitel se establecen 2 variantes (Tratamiento y Testigo). Cada una de las variantes consta de tres repeticiones y cada repetición de una única fila. La aplicación del producto Fruitel se realizará una sola vez cuando aproximadamente el 20–30% de las uvas se encuentren enveradas a una dosis de 2,2 l/ha.



Fig. 2. Momento del tratamiento con el nebulizador.

Las tomas de muestras de maduración se cogieron en 4 momentos distintos del ciclo comenzando unas tres semanas después del tratamiento y coincidiendo la última toma con la fecha de vendimia. Se analizó la evolución tanto de los parámetros que definen la madurez tecnológica como los que definen la madurez fenólica.

- Aspectos enológicos

Las elaboraciones de los vinos se llevaron a cabo en la Bodega experimental del Gobierno de Navarra (EVENA). Tras la vendimia, se realizaron tres microvinificaciones por variante dando un total de 6. Después del estrujado y sulfitado (6 g/Hl) se inocularon con una levadura comercial (*Erbloh, Oenoferm Bio*; 25 g/Hl) para llevar a cabo la fermentación alcohólica (FA) a temperatura ambiente.

Se controló su cinética mediante determinación del descenso de la densidad como medida del consumo de azúcares. Diariamente, se procedió al bazuqueo de todos los depósitos, que se prensaron una vez finalizada la FA. Se inocularon con una bacteria láctica comercial (0,63 g/Hl) para llevar a cabo la fermentación maloláctica (FML), a una temperatura próxima a los 20° C. Controlando su evolución mediante determinación periódica del contenido de ácido málico. Una vez finalizada la FML, los vinos se trasegaron y sulfitaron (6 g/Hl). Después de la estabilización se trasegaron y sulfitaron de nuevo para finalmente filtrar por placas K200, se sulfitaron y se embotellaron.

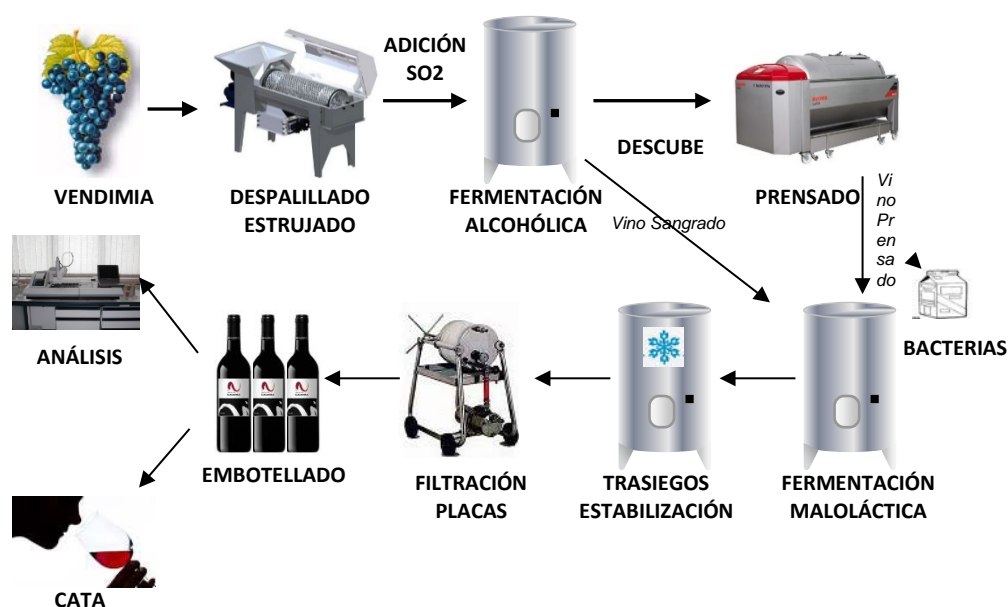


Fig. 3. Diagrama de la elaboración de los vinos.

3. Resultados

En la Tabla 1 se muestra la composición físico-química de los mostos en los cuatro momentos de muestreo. Como puede observarse, el grado alcohólico probable es el único parámetro en el que se encuentran diferencias significativas con un 95% de probabilidad, siendo el resultado mayor en las uvas sin tratar. Por tanto, estos resultados indicarían que el tratamiento foliar con el producto fitoregulator retrasó en cierta medida la acumulación de los azúcares en la baya.

Tabla 1. Evolución de la composición físico-química de la uva durante la maduración, sin tratar (Testigo) y tratada con Etefón (Fruitel).

Parámetros generales (1-sep-15)	Testigo	Fruitel
Peso 100 bayas	153	165
Grado Probable (% v/v)	13,4 b	12,5 a
pH	3,28	3,26
Ac. Total (g/l ac. Tartárico)	5,33	5,00
Ácido Málico	1,63	1,50

Parámetros generales (14-sep-15)	Testigo	Fruitel
Peso 100 bayas	166	176
Grado Probable (% v/v)	15,3 b	13,4 a
pH	3,31	3,31
Ac. Total (g/l ac. Tartárico)	4,30	4,04
Ácido Málico	1,13	1,16

Parámetros generales (21-sep-15)	Testigo	Fruitel
Peso 100 bayas	167	174
Grado Probable (% v/v)	15,9 b	14,4 a
pH	3,40	3,40
Ac. Total (g/l ac. Tartárico)	4,23	3,90
Ácido Málico	1,03	0,97

Parámetros generales (24-sep-15)	Testigo	Fruitel
Peso 100 bayas	165	176
Grado Probable (% v/v)	16,1 b	14,6 a
pH	3,36	3,36
Ac. Total (g/l ac. Tartárico)	5,20	5,07
Ácido Málico	0,90	0,87

El peso de 100 bayas fue algo superior en el caso de las uvas tratadas. El resto de parámetros controlados durante la maduración no se vieron afectados por el tratamiento. La acidez total y el ácido málico evolucionaron disminuyendo sus valores al mismo tiempo que aumentaba el pH en el mosto, pautas generales en el proceso de maduración.

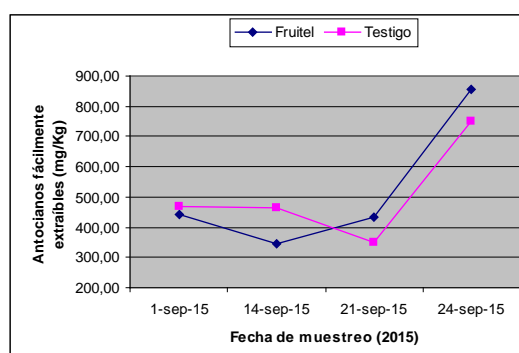
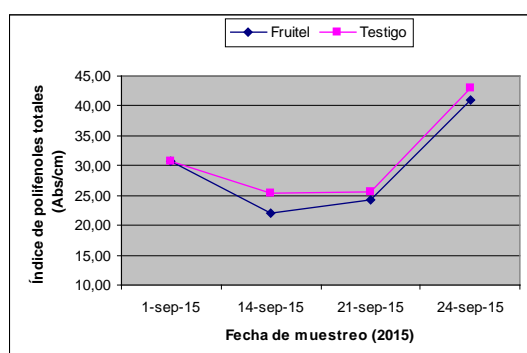
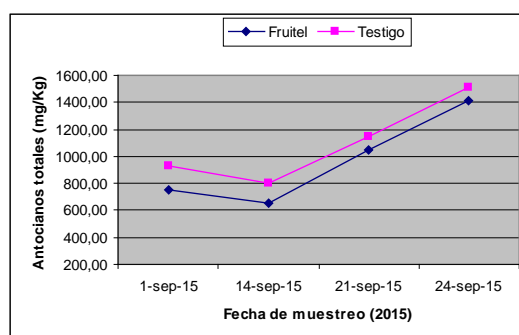
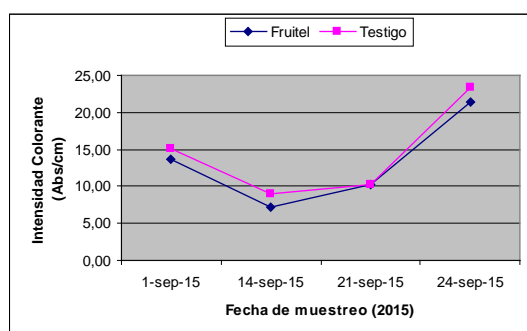


Fig. 4. Evolución de la intensidad de color, determinada directamente en el mosto procedente de la uva triturada, durante el periodo de maduración (uva sin tratar: testigo y tratada: Fruitel)

Los parámetros de color analizados durante la maduración (Fig. 4), exceptuando alguna oscilación, demuestran que las evoluciones de los compuestos siguieron cursos paralelos. En los parámetros de Intensidad Colorante, Antocianos Totales e Índice de Polifenoles Totales las uvas tratadas con Fruitel obtienen valores algo inferiores respecto a las no tratadas. En el caso de los Antocianos fácilmente extraíbles ocurre al contrario, la variable tratada presenta valores sensiblemente mayores en los dos últimos días de muestreo.

En cualquier caso debemos valorar la maduración en su conjunto de tal manera que si enfrentamos las graficas correspondientes a maduración fenólica con la evolución del grado probable se observa que a igualdad de grado el contenido fenólico es significativamente mayor en las variedades tratadas con Fruitel.

La evolución media del descenso de la densidad de los vinos durante la fermentación alcohólica se observa (Fig. 5) que la cinética de fermentación fue ligeramente más rápida en los vinos tratados con Fruitel. Este resultado pudo ser consecuencia del menor grado alcohólico probable de la uva tratada en el momento del encubado, así como de su distinta composición.

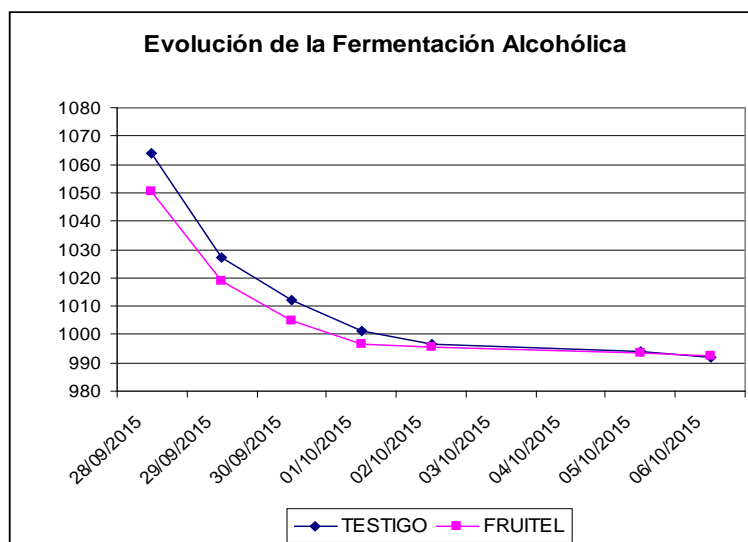


Fig. 5. Evolución de la Fermentación Alcohólica de las dos variantes.

Una vez finalizada la FML, los vinos se trasegaron y sulfitaron, y se analizaron en cuanto a parámetros físico-químicos. Lo más destacable fue el grado alcohólico, ya que los elaborados con las uvas tratadas con Fruitel tuvieron 1,67 unidades menos de media que los vinos testigo. Estos datos corroboran lo previamente observado durante el periodo de maduración, en el que se observó que el tratamiento foliar con el producto fitorregulador retrasó notablemente la acumulación de los azúcares en la baya. Se obtuvieron asimismo diferencias significativas en la acidez volátil, en la acidez total y en el contenido de ácido málico, que en los tres casos su valor fue superior en los vinos testigo.

Tabla 2. Parámetros físico-químicos de los vinos finalizados.

PARAMETROS BASICOS VINO	FRUITEL	TESTIGO
Grado Alc. Vol. Adquirido 20/20 (%Vol)	15,17 b	16,84 a
Acidez Total (g/l ac. Tartárico)	5,43 b	6,07 a
Acidez Volatil (g/l ac. Acético)	0,49 b	0,60 a
Ácido L-Málico (g/L)	0,25 b	0,67 a
pH	3,29	3,28

ALCOHOLES SUPERIORES	FRUITEL	TESTIGO
1-Propanol (mg/l)	79,67	94,00
Isoamilicos (mg/l)	215,33	200,00
Isobutanol (mg/l)	41,33	35,67

PARAMETROS DE COLOR DEL VINO	FRUITEL	TESTIGO
Intensidad Colorante (Un Abs/cm)	5,55	5,86
Índice Polifenoles Totales (Un Abs/cm)	28,33	28,67
Antocianos (mg/l)	333,00	312,33
Tonalidad	0,54	0,56
Índice de Ionización de Antocianos	21,97	24,40
Catequinas (mg/l)	221,00	181,67

Para el resto de los parámetros no se encontraron diferencias significativas para un nivel del 95%, a pesar de ello el Índice de Ionización de Antocianos tiende a ser mayor que en los vinos testigo y en cambio la cantidad de catequinas algo superior en los tratados con fruitel.

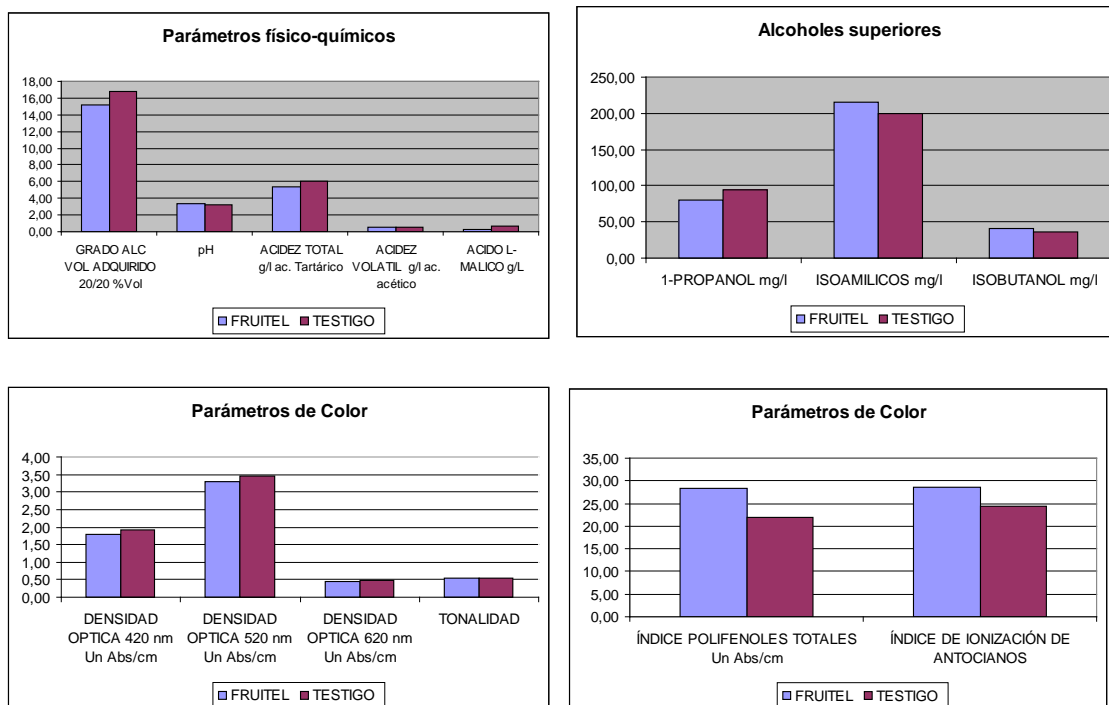


Fig. 6. Parámetros físico-químicos de los vinos finales.

Aproximadamente un mes después del embotellado se realizó un análisis organoléptico llevado a cabo por nueve catadores. Las muestras se evaluaron de forma comparativa, mediante el sistema de cata ciega, y en orden totalmente aleatorio. La ficha de cata empleada se basó en la utilizada por la O.I.V. Se valoraron las fases visual, olfativa (intensidad y calidad), gustativa (intensidad y calidad) e impresión general, con puntuaciones crecientes al aumentar la calidad.

Tabla 3. Análisis organoléptico realizado por 9 catadores.

	TESTIGO	FRUITEL
Fase visual	10,56	10,67
Fase olfativa	23,22	23,56
Fase en boca	34,89	32,78
Impresión general	9,33	9,22
Puntuación total promedio	78,00	76,22
Puntuación total mediana	79,00	77,00
Orden de preferencia	1º	2º

Como se puede comprobar en la tabla 3 y en la Fig. 7 ambos vinos fueron bien valorados, la variante testigo obtuvo 1,8 puntos sobre cien más que la variante tratada, siendo esta última precisamente, mejor valorada en fase visual y olfativa y ligeramente peor en fase gustativa y armonía general, donde la variante testigo obtuvo una puntuación superior en estructura, astringencia y persistencia, lo que podría estar relacionado con su mayor grado alcohólico. En cualquier caso en la cata no se apreciaron diferencias significativas entre ambas variantes.

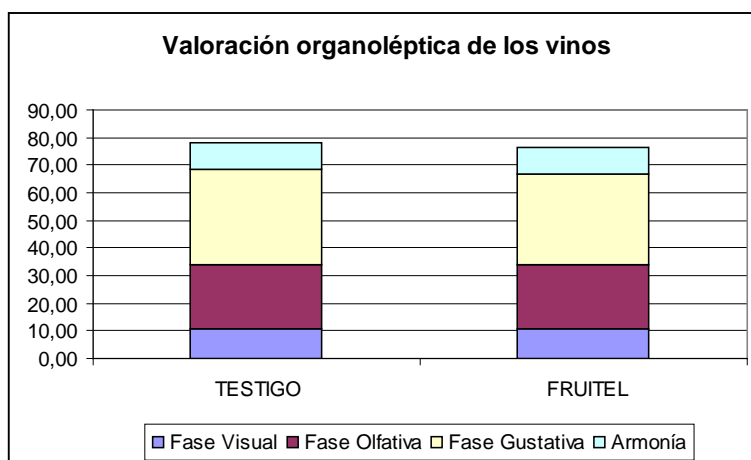


Fig. 7. Valoración organoléptica de los vinos finales.

4. Conclusiones

Durante la maduración el Grado Probable es menor en las uvas tratadas debido a que el fitoregulador retrasa la acumulación de azúcares.

El Grado Alcohólico Adquirido es mayor en la variante sin tratar.

La variante mejor valorada organolépticamente ha sido el testigo sin diferencias significativas entre ambas.



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN