

EFECTO DE TRES NIVELES DE RIEGO, ORIENTACIÓN DE LA VIÑA Y PODA DE RAÍCES SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LOS HOLLEJOS DE LA UVA VARIEDAD BOBAL

Soledad Inocente Andahua¹ y Victoria Lizama Abad¹

RESUMEN

En el presente trabajo se pretende encontrar si existe un efecto marcado entre distintos niveles de riego, la orientación de la copa y poda de raíces en vides de la variedad Bobal y si los mismos se reflejan en los parámetros analíticos de laboratorio al realizar algunos análisis de rutina a hollejos de dichas uvas. Además se caracterizó el grado medio de polimerización de proantocianidinas en hollejos de estas mismas uvas mediante una catálisis ácida en presencia de floroglucinol (1, 3, 5 trihidroxibenceno) en exceso. Los resultados obtenidos reflejan en una influencia marcada de los distintos niveles de riego en los valores de peso de bayas, antocianos, taninos, índice de polifenoles totales, intensidad colorante y grado medio de polimerización de taninos. Con riego máximo las bayas tienen un mayor peso, pero menores concentraciones de antocianos y taninos. A medida que la disponibilidad de agua disminuye, el peso de bayas desciende y la concentración de antocianos y taninos se incrementa. El sistema de orientación y poda de raíces sólo tuvo efectos significativo en el incremento de peso de bayas.

Palabras Clave: Proantocianidinas, taninos, uvas, Riego, poda de raíces, floroglucinólisis, antocianos, grado medio de polimerización (mDP), HPLC.

ABSTRACT

In the present paper was treated to find if there is a marked effect between different levels of hydration, canopy orientation and root pruning of grapevines of Bobal and if these levels are reflected in the laboratory analytical parameters when some of the routine analysis are performed in skin of this grapes. Furthermore will attempt to characterize the polymerization degree of proanthocyanidins in grape skin by an acid-catalysis in presence of excess Phloroglucinol. The results show a marked influence of different irrigation levels on the values of berry weight, anthocyanins, tannins, total polyphenol index, color intensity and mean degree of polymerization (mDP). With maximum watering, berries have more weight but lower concentrations

¹ Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022- Valencia (España).

of anthocyanins and tannins. As the availability of water decreases, the berry weight is smaller and there is an increase in the concentration of anthocyanins and tannins. The conduction system and root pruning only had significant effects on the increase in weight of berries.

Keywords: Proanthocyanidins, tannins, grapes, Irrigation, root pruning, Phloroglucinolysis, anthocyanins, mean degree of polymerization (mDP), HPLC.

RESUM

En el treball que a continuació presente, allò que es pretén trobar és si existeix un efecte marcat entre diversos nivells de reg, l'orientació de la copa i poda d'arrels en vinyes de la varietat Bobal i si aquests es reflecteixen en els paràmetres analítics de laboratori al realitzar-los algunes anàlisis de rutina a les pells del mateix raïm. A més a més, es va caracteritzar el grau mitjà de polimerització de proantocianidines en pells d'aquest raïm, mitjançant una catàlisi àcida en presència de floroglucinol (1, 3, 5 trihidroxibenzè) en excés. Els resultats obtinguts reflecteixen una influència marcada dels distints nivells de reg en els valors de pes de les baies, antocians, tanins, contingut de polifenols totals, intensitat colorant i grau mitjà de polimerització de tanins. Amb el reg màxim les baies tenen un major pes, però menors concentracions de antocians i tanins. A mesura que la disponibilitat d'aigua disminueix, el pes de les baies descendeix i la concentració de antocians i tanins s'incrementa. El sistema d'orientació i la poda de les arrels únicament va tenir efectes significatius en l'increment de pes de les baies.

Paraules clau: Proantocianidines, tanins, raïm, reg, poda d'arrels, floroglucinòlisi, antocians, grau mitjà de polimerització (mDP), HPLC.

INTRODUCCION

En el cultivo de la vid destinado a la elaboración de vino, resalta la importancia de conocer y controlar los factores externos que condicionan la calidad de las uvas, así como su rendimiento. Los factores más importantes para la planta son el suelo el agua y la luz. El contenido de taninos y su grado de polimerización dependen de la variedad de la uva y dentro de una misma variedad depende de las condiciones climáticas, del suelo y de manejo de la viña. Se hace necesario someter el racimo a estrés para fomentar la síntesis y concentración de fenoles (Gil y Pszczółkowski, 2007). Sánchez (2008) concluye que para las mismas condiciones de cultivo, el tamaño de bayas de la variedad Bobal es mayor al de cualquier otra

variedad comparada. Por lo que recomienda forzar una restricción hídrica durante el periodo de floración-envero para disminuir el volumen de las bayas, favoreciendo así una mayor biosíntesis de antocianos y flavonoides e iniciando su polimerización en las propias uvas. La síntesis de antocianos y flavanoles, aumentan en hollejos de uvas producidas con estrés hídrico antes o después del envero por producirse uvas de menor tamaño y mayor proporción piel/ pulpa y por mayor síntesis de estos compuestos (Acevedo *et al.*, 2004).

Manejo del agua

Una de las prácticas empleadas para mejorar la calidad final de las uvas se encuentra, el control del vigor de las plantas, con podas y estrategias de riego (Ortega *et al.*, 2007). El exceso de vigor alarga el ciclo fenológico de la viña, aumentando la velocidad de crecimiento, por el contrario el estrés hídrico reduce la fotosíntesis, favorece la parada de crecimiento, limita el tamaño de las bayas y estimula la síntesis de compuestos fenólicos (Sanchez, 2008).

La disponibilidad de agua afecta a todo el proceso de fructificación, desde el cuajado hasta la maduración. El máximo tamaño de uva se alcanza con suministros altos de agua (Gil y Pszczółkowski, 2007), provocando la disminución de calidad de la uva, que se traduce en un aumento de la superficie foliar, sombreado de racimos, y por ello, incremento de la acidez total y descenso del pH del vino, y una reducción significativa del color y de los fenoles totales (Ortega *et al.* 2007). Por ende, un adecuado manejo de riego es un factor crítico para obtener uva con buenas características para la vinificación. Si bien es cierto que un déficit de agua en la viña reduce tanto el tamaño como la producción de la baya (Gil y Pszczółkowski, 2007). Un déficit moderado aumenta el rendimiento en viñas de secano manteniendo igual la calidad (Esteban *et al.*, 1999). En consecuencia, los mayores rendimientos se obtienen con un régimen constante de la disponibilidad de agua.

El crecimiento de las bayas es más sensible a un déficit hídrico en etapas tempranas de desarrollo de la fruta (Girona *et al.*, 2009), entre cuajado y envero. Asimismo Gil y Pszczółkowski, (2007), consideran que el rendimiento resulta más afectado por un déficit hídrico antes del envero que después de éste. Por el contrario el déficit hídrico en post-envero se ha asociado con un incremento lineal en la calidad de la baya. Según Bravdo *et al.* (1985) aumenta la concentración de antocianos y el índice de polifenoles totales. Sin embargo, puede producir la merma de la calidad de la baya, inducida por el estrés hídrico severo en post-envero, que genera un retraso inducido en la maduración en parte por las limitaciones de carbono (Girona *et al.*, 2009).

Poda de raíces

El vigor excesivo, está relacionado con el desarrollo de las bayas, al igual que a una disminución del color y sólidos solubles (°Brix), reduciendo significativamente la calidad de las uvas para vinificación (Ortega *et al.*, 2007). Diversos estudios han demostrado que la ruptura de una porción del sistema radicular reduce el crecimiento vegetativo (Schupp *et al.*, 1992). La reacción de las plantas a la poda de raíces varía según la etapa de desarrollo en que se encuentre cuando ésta se realiza así como el tiempo transcurrido desde de esta operación hasta que se evalúa el efecto (Geisler y Ferre, 1984). Wang *et al.*, (2012) encontraron que una restricción de la raíz reduce la tasa de fotosíntesis y hace que se distribuya mayor cantidad de materia seca en los órganos reproductivos, lo que explica en parte la disminución del crecimiento vegetativo de la vid y el aumento del crecimiento del fruto, bajo restricción radicular. En situación de estrés se genera una acumulación prioritaria de materia seca en los órganos reproductivos.

Xie *et al.* (2009) encontraron que el diámetro de bayas, volumen y la producción fueron mayores en las viñas con poda de raíces frente a las plantas control, realizado durante el segundo período de crecimiento rápido, desde el envero a cosecha. Durante esta etapa de crecimiento, la expansión de la fruta se produce a través de la absorción osmótica del agua, impulsada por el gradiente del potencial osmótico generado por la acumulación de azúcar (Coombe, 1960). Los monosacáridos en las plantas son muy eficaces osmóticamente y el estrés generado por la restricción de raíces aumenta la acumulación de glucosa y fructuosa en las bayas de uva (Xie, *et al.*, 2009).

De acuerdo con Geisler y Ferré (1984), la poda de raíces está directamente relacionada con la absorción de agua y nutrientes. Si la planta tiene menos cantidad de raíces, la resistencia al flujo de agua reside en la planta, a través de sus raíces, si el potencial del suelo es alto (más húmedo); por el contrario si el potencial del suelo es bajo la resistencia al flujo de agua viene determinada por parte del suelo (Gil y Pszczółkowski, 2007).

Sistema de conducción y orientación de la copa

El sistema de conducción tiene una gran influencia en la composición fenólica, y lo hace a través de las hojas y racimos muy bien expuestos. Todos aquellos sistemas que mejoren dichas claves, mejorarán el contenido en antocianos y flavanoles (Martínez, 2013). En algunos estudios se ha señalado que la mayor exposición de los racimos podría tener mayor importancia que la exposición de las hojas (Smart *et al.*, 1988). Por otro lado Carbonneau (1985) advierte que el efecto positivo de la exposición de los racimos, podría verse perjudicado en caso de exposición excesiva, generándose un elevado contenido fenólico que podrían traducirse en aromas indeseables en vinos de Cabernet Sauvignon.

La carga de uva que una parra puede llevar a la madurez con máxima calidad está relacionada con la superficie foliar efectivamente iluminada. Una relación de 10 cm² de follaje iluminado para un gramo de uva parece,

conveniente para uva de vinificación. Un rango 7-15 cm², según la radiación incidente, la variedad y la orientación de la espaldera, provoca un incremento en la calidad de uvas. Por el contrario los extremos de luminosidad y temperatura no favorecen la cantidad de antocianos formados (Gil y Pszczółkowski, 2007). Los antocianos puede desarrollarse también en condiciones de sombra moderada en variedades de mucho color, pero los sólidos solubles disminuyen, por lo que no es recomendable para obtener uvas de calidad. Es importante destacar el manejo de las condiciones óptimas y evitar extremos.

Un estudio de Lakso e Intrigliolo (2011) pone de manifiesto de que el intercambio gaseoso en la viña es influenciado por patrones de interceptación luminosa más que por el área foliar. Manejando la orientación de la copa se puede controlar la mayor o menor transpiración, intercambio gaseoso de la viña, dependiendo de las condiciones ambientales y condiciones de humedad del suelo. Se puede maximizar la eficiencia en el uso del agua y optimizar el balance de carbono de las cepas.

Compuestos polifenólicos de los hollejos de uvas tintas.

Los compuestos fenólicos flavonoides constituyen una porción significativa del material fenólico presente en bayas y existen varias clases con un esqueleto estructural similar (**FIGURA 1**). Los compuestos fenólicos flavonoides de importancia enológica están agrupados en antocianinas, flavonoles y flavanoles.

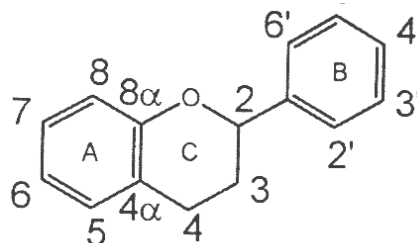


FIGURA 1. Numeración y estructura de los compuestos flavonoides.

Los taninos condensados o proantocianidinas (PAs) son flavonoides poliméricos compuestos por subunidades flavan-3-ol y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal (**FIGURA 2**), donde juegan un papel crucial en los mecanismos naturales de defensa. La característica que define a las proantocianidinas es su capacidad para unirse a sustancias como proteínas, polisacáridos, radicales libres e iones metálicos. Estos compuestos están presentes en las uvas, *Vitis vinifera*, y son los responsables principales de las propiedades astringentes del vino tinto, ya que son capaces de precipitar las proteínas de la saliva. En uvas se encuentran principalmente en pepitas, hollejos y raspón. En el vino estas moléculas son responsables de varias propiedades sensoriales tales como el cuerpo del vino, el amargor y la astringencia y además contribuyen en otros como el color a través de interacciones con las antocianinas.

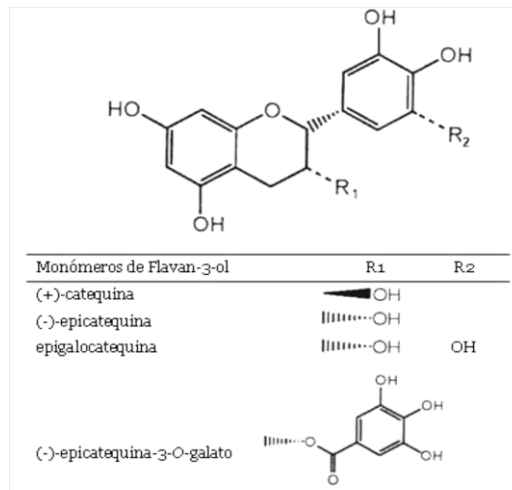


FIGURA 2. Estructura de flavanoles encontrados en bayas *Vitis vinifera*.

Entre las unidades monoméricas más importantes que conforman las proantocianidinas encontramos epigalocatequina, (+)- catequina, (-)-epicatequina, epigalocatequina y (-)-epicatequina-3-O-galato, (**FIGURA 3**). Estos flavon-3-oles son sintetizados antes del envero y cambian su estructura y concentración durante la maduración.

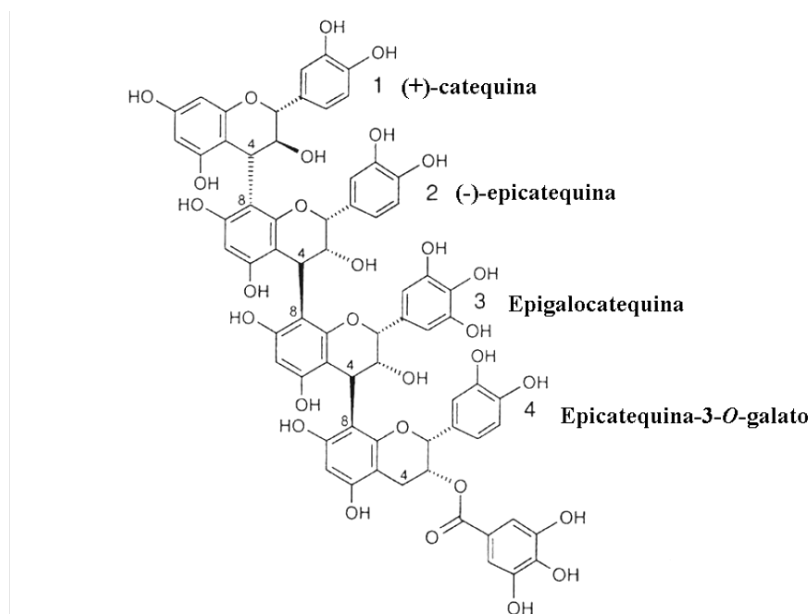


FIGURA 3. Proantocianidinas hipotética formada por cuatro subunidades: (+)- catequina, (-)- epicatequina, epigalocatequina y (-)- epicatequina- 3- O-galato.

Un tetrámero hipotético formado por subunidades que comprenden la mayoría de los taninos, se muestra en la **FIGURA 3**. En esta figura, la (+)-catequina, (-)- epicatequina y epigalocatequina son las subunidades de “extensión”, debido a que ellos muestran puentes interflavánicos entre sus carbonos 4 y 8 de su subunidades adyacente. Por su parte, la (-)-

epicatequina- 3- O- galato es la unidad “terminal” y tiene su posición del carbono 4 libre, pero con el ácido gálico esterificado al grupo hidroxil en el carbono 3. Generalmente, los monómeros de (+)- catequina y (-)-epicatequina constituyen la mayoría de las unidades de extensión en los taninos de las bayas, donde (-)- epicatequina es usualmente mayoritaria entre las dos. Los taninos varían en tamaño desde dímeros hasta polímeros de más de 30 subunidades. Los taninos de los hollejos difieren de los taninos de las semillas en que los primeros poseen mayor tamaño promedio de polimerización que los taninos de las semillas y que además los taninos de los hollejos poseen epigalocatequina mientras que la semilla carece de ella (Adams, 2006).

Considerando la escasa información existente sobre el efecto combinado de la poda de raíces, la orientación de la copa y el suministro hídrico sobre la calidad y rendimiento del viñedo, el presente trabajo, se ha desarrollado con el objetivo de evaluar el efecto combinado de estos factores sobre las características de la uva y composición de los hollejos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales. Estándares de (+)- catequina, (-)- epicatequina, (-)-epigalocatequina y (-)- epicatequina-3- O- galato fueron adquiridos de Extrasynthese, Lyon Nord, France. El floroglucinol y TFA se adquirieron de Merck, Madrid, España. El metanol, ácido clorhídrico y solventes grado HPLC y pro- análisis fueron comprados a Panreac, Barcelona, España.

Instrumentación. Para las determinaciones analíticas, se empleó un espectrofotómetro JASCO V- 630 UV- Visible y un cromatógrafo líquido de alta eficacia (HPLC-DAD) marca JASCO serie MD-2010 Plus, (JASCO, Tokyo, Japón) equipado con un detector Diodo Array LC-Net II/ADC (Tokyo, Japón). La columna cromatográfica utilizada fue Gemini NX (Phenomenex, Torrance, CA), 250 mm x 4,6 mm de 5 µm de tamaño de partícula. Toyopearl TSK HW 40-F size exclusion resin (Nº 807448) fue adquirida en Toso Haas, Stuttgart, Alemania.

TRATAMIENTOS

Las diferentes experiencias, se han planteado en una parcela de media hectárea de viñedo de la variedad Bobal en la comarca de Utiel-Requena. Las plantas tienen al menos 30 años de edad y con sistema de conducción en espaldera. Inicialmente se realizó una partición equitativa y al azar de la parcela en 28 porciones (**FIGURA 3**). Los ensayos consistieron en 3 niveles de riego, dos de poda de raíces y dos tipos de orientación. A continuación se expone un esquema de los siete tratamientos, con 4 repeticiones cada uno.

T1 = Secano, sin poda de raíces y espaldera vertical normal.
 T2 = Secano con poda de raíces y espaldera vertical normal
 T3 = Secano sin poda de raíces y espaldera inclinada
 T4 = Riego deficitario, sin poda de raíces y espaldera vertical normal
 T5 = Riego deficitario con poda de raíces y espaldera vertical normal
 T6 = Riego deficitario sin poda de raíces y espaldera inclinada
 T7 = Riego máximo (sin limitaciones) y sin poda de raíces y con la espaldera vertical normal

T1I	T5I	T3IV	T2III	T6IV	T1II	T4IV
T6 I	T7 IV	T4 I	T3 III	T7 I	T5 III	T2 IV
T4 III	T5 II	T4 II	T6 III	T2 II	T3 I	T5 IV
T1 IV	T2 I	T7 III	T3 II	T7 II	T6 II	T1 III

FIGURA 3: Esquema del reparto de los tratamientos

Ensayo de riego.

Los niveles de riego son: Máximo, deficitario y secano, que corresponden a 2710 y 910 m³/ha, respectivamente. Esta práctica se impuso durante todo el periodo de cultivo.

Ensayo de poda de raíces

Dos niveles evaluados, sin poda y con poda de raíces. Esto se realizara tras el cuajado, mediante dos cortes verticales a 60 cm de distancia a cada lado del tronco y 35 cm de profundidad. Esta tarea se realiza a fin de inducir un cierto déficit hídrico y reducir el crecimiento vegetativo en el periodo entre cuajado y envero. Con los tratamientos de poda de raíces, lo que se pretende es reducir temporalmente la capacidad de absorción del agua para mejorar la composición de la baya y aumentar la concentración de las sustancias fenólicas.

Ensayo de la orientación del sistema de espaldera

A partir de la configuración inicial, se procede a aplicar una inclinación en el sistema de conducción, 30° dirección oeste, obteniéndose dos tipos de orientación: la espaldera vertical normal y la espaldera inclinada. Se busca mejorar la eficiencia de la planta en cuanto al uso del agua así mejorar la composición de la baya al optimizar la captación de radiación luminosa en horas de la mañana ya que en horas de la tarde al haber mayor temperatura la demanda de evapotranspiración es elevada y una menor fotosíntesis.

Preparación del extracto de Hollejos.

Se procedió a pesar 100 bayas. Los hollejos fueron separados manualmente de cada baya. Se lavaron, pesaron y se extrajeron con una solución hidroalcohólica compuesta por 90 % etanol, 10 % agua y 5 g/L de ácido tartárico. Se los dejó macerar durante 2 horas a 50 °C y con agitación constante (75 rpm). La proporción en peso de los hollejos y la solución

hidroalcohólica es 1:10 (p:v). El extracto fue filtrado con lana de vidrio, luego centrifugado. Unos 25 mL se filtraron para realizar una separación de compuestos en la fase Toyopearl y el resto del extracto se conserva a 12°C, para posteriores análisis pertinentes, bajo una atmósfera de N₂. En la fase Toyopearl, se lavó con 5 volúmenes de columna de fase móvil para eliminar hidratos de carbono y material monomérico de flavan-3-ol de bajo peso molecular, luego las proantocianidinas se diluyen con 3 volúmenes de columna en 2:1 de acetona:agua que contenía 0,1% v/v de ácido trifluoroacético (Kennedy y Jones 2001). En la disolución obtenida, la acetona, se elimina en un baño de agua 35 °C acoplada a N₂, la muestra libre de acetona fue llevada a -40 °C para luego ser liofilizada hasta polvo seco.

Todas las determinaciones analíticas, para cada extracto, se realizaron por duplicado, trabajando posteriormente con la media de los resultados obtenidos.

Determinaciones Espectrofotométricas

Parámetros analíticos. A cada extracto de hollejos se le realizaron la determinación de antocianos totales, taninos condensados totales, índice de polifenoles totales (IPT), índice de DMACH e intensidad colorante.

Determinación de antocianos totales (Ojeda *et al.*, 2002). A 0,1 mL de muestra se le añaden 10 mL de ácido clorhídrico 0,1 M, se esperan 3 horas y se lee la absorbancia a 520 nm, utilizando blanco HCl 0,1M.

Determinación de taninos condensados totales (Riberéau-Gayon y Stonestreet 1966). Las proantocianidinas tienen la propiedad de ser transformables parcialmente en antocianidinas rojas por calentamiento en medio ácido. Este calentamiento conduce a la ruptura de ciertas uniones y a la formación de carbocationes que se transforman parcialmente en cianidina y catequinas si el medio es suficientemente oxidante (reacción de Bate-Smith). Este método consiste en utilizar esta propiedad para la detección de taninos en el medio. Esta reacción tiene lugar tanto con las formas monómeras (catequinas) como con las formas polimerizadas (proantocianidinas), en este último caso la reacción provoca la ruptura por hidrólisis de ciertas uniones que luego se transforman en antocianidinas y son éstas las que se determinan en medición por colorimetría.

Índice de polifenoles totales (IPT), (Riberéau-Gayon 1974). El índice de Polifenoles Totales valora la totalidad de los compuestos polifenólicos en los extractos por medición de la absorbancia a la longitud de onda que escinde el grupo fenol. La metodología consiste en diluir previamente el extracto por un factor de 100 y medir la absorbancia de la muestra a 280 nm frente al agua.

Índice DMACH, Vivas *et al.*, (1994). Para evaluar el grado de polimerización de taninos presentes en el extracto. Los autores proponen una nueva técnica de evaluación del grado de polimerización de taninos de

la uva y vino usando un aldehído específico, el *p*-dimetilaminocinamaldehído (DMACH), que se usa para medir el grado de condensación de las proantocianidinas que será tanto más alto cuanto más bajo sea el índice.

Intensidad Colorante, Para la determinación de la intensidad colorante, se siguen los métodos oficiales de análisis de la UE (Comisión Europea, 1990). Para ello se realizan mediciones directas de la muestra a 420, 520 y 620 nm, utilizando el agua destilada como referencia. El valor de la intensidad colorante se obtiene mediante la suma de las absorbancias a las longitudes de onda indicadas anteriormente.

Determinaciones mediante cromatografía en fase líquida (HPLC)

La técnica de HPLC utilizada, se basa en la separación y estimación del grado medio de polimerización de proantocianidinas del método de Kennedy y Jones (2001) con algunas modificaciones. Una solución de 0,1 N HCl en MeOH, conteniendo 50 g/L de floroglucinol y 10 g/L de ácido ascórbico fue preparada para hacer reaccionar con las proantocianidinas en forma de polvo seco (5 g/L) a una temperatura de 50 °C y por 20 minutos, para parar la reacción se adicionaron 2 volúmenes de una solución de acetato de sodio 80 mM.

Los aductos de floroglucinol fueron analizados por HPLC en fase reversa. El método utiliza un gradiente binario, siendo la fase móvil A una solución de ácido acético acuoso al 1% v/v y la fase móvil B, metanol 100%. Los picos eluidos se monitorearon a 280 nm. Las condiciones de elución fueron de 1.0 mL/min; 5 % B por 10 minutos, un gradiente lineal de 5 a 20 % de B en 20 minutos, un gradiente lineal de 20 a 40 % de B en 25 minutos. La columna se lava finalmente con 90% de B durante 10 minutos y se reequilibra con 5 % B en 5 minutos antes de la siguiente inyección. El grado medio de polimerización (mDP) fue obtenido por la división entre la totalidad de las subunidades identificadas (proantocianidinas terminales y extensión) y las proantocianidinas terminales. En el caso del porcentaje de galoilación (%G) se obtuvo por división entre la totalidad de proantocianidinas galoiladas y la totalidad de las proantocianidinas identificadas, multiplicado por 100. Finalmente, el peso molecular promedio (aMW) se obtuvo del resultado de la ecuación $mDP \cdot [288 + (152 \cdot \%G / 100)] + 2$.

Análisis estadístico.

Se han evaluado 7 tratamientos con 4 repeticiones cada una haciendo un total de 28 unidades experimentales. Una unidad experimental está constituida por 100 cepas de vid de la variedad Bobal sitas en la comarca Utiel-Requena. En el momento óptimo de vendimia, se procedió a hacer un muestreo de 500 bayas por triplicado para cada unidad experimental. Las uvas fueron conservadas a -18°C hasta su análisis.

El tratamiento estadístico de los valores obtenidos en las determinaciones analíticas se ha llevado a cabo con el programa informático *STATGRAPHICS Centurion XVI.I.* (Statistical Graphics Corp. Estados

Unidos), se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial para ver si existen interacciones entre los factores y finalmente determinar si existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos aplicados. El nivel de confianza utilizado fue del 95 % y se tomó un valor $p < 0.05$ como indicativo de diferencias significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del sistema de orientación y riego

Para conocer los efectos del sistema de orientación y dos niveles de riego se mantiene constante la variable, “poda de raíces”, por lo tanto, se procede a comparar los tratamientos T6, T4, T3 y T1.

En **TABLA 1**, se observa que la espaldera inclinada tiene efecto significativo en el peso de las bayas, en el momento de la vendimia, es decir, las plantas conducidas en espalderas inclinadas con riego deficitario dieron mayor peso (179 g/100 bayas) que las que están en espalderas verticales normales (151 g/100 bayas), posiblemente debido a que la espaldera inclinada optimiza la interceptación de luz en la copa. Según Lakso e Intrigliolo (2011), cuando el agua disponible es suficiente, la mayor exposición al sol en horas de la mañana, genera un mayor flujo de agua en la planta, favoreciendo el crecimiento de los granos de uva. Por tanto, cuando se trata de plantas en régimen de secano el efecto del tipo de orientación no resulta significativo, debido probablemente a que la disponibilidad de agua es el factor limitante, obteniéndose unos menores valores en el peso de 100 bayas (123 y 127 g).

Tanto el peso de los hollejos, concentración de antocianos, como concentración de taninos se mantienen igual para ambos tipos de orientación. Si bien es cierto que la espaldera inclinada favorece la interceptación luminosa en horas de la mañana, no resulta suficiente para generar diferencias en concentraciones de antocianos y taninos. Asimismo, el sistema de orientación, tampoco tuvo influencia significativa en el índice de polifenóles totales (IPT), Índice DMACH ni en la intensidad colorante (IC).

TABLA 1. Efecto de la orientación de la copa y dos niveles de riego en el peso de 100 bayas y composición de los hollejos de uva variedad Bobal

Nivel	Peso 100 bayas(g)	Peso hollejo 100 bayas(g)	Antocianos (mg/ g uva)	IPT extracto de hollejos	Taninos (mg/ g uva)	Índice DMACH %	IC (Hollejos)
Riego							
Deficitario	165.4 ±24.5a	18.6 ±2.1a	0.56 ±0.02a	58.7 ±1.8a	2.2 ±0.41a	18.4 ±1.0a	48.5 ±8.1a
secano	125.4 ±11.0b	15.3 ±1.1b	0.77 ±0.02b	73.1 ±1.7b	3 ±0.34b	19.1 ±1.3a	64.1 ±4.9b
Tipo de Conducción							
E inclinada	153.4 ±31.9a	17.4 ±2.6a	0.63 ±0.02a	65.3 ±1.6a	2.5 ±0.57a	18.4 ±1.0a	56 ±11.5a
E vertical	137.4 ±20.7b	16.5 ±2.1a	0.7 ±0.02a	66.5 ±1.7a	2.7 ±0.48a	18.9 ±1.3a	56.6 ±9.3a
Riego x Conducción	valorP 0.06	0.3759	0.14	0.48	0.94	0.69	0.56
Deficitario. E inclinada	179.2 ±23.4a	19.3 ±1.9a	0.5 ±0.036a	57.1 ±2.4a	2.1 ±0.38a	18 ±1.1a	47.5 ±7.5a
Deficitario. E vertical	151.7 ±17.8b	17.9 ±2.1a	0.62 ±0.036a	60.1 ±2.5a	2.3 ±0.29a	18.7 ±0.8a	49.2 ±9.0a
secano, E inclinada	127.6 ±23.4c	15.5 ±1.3b	0.77 ±0.036b	73.4 ±2.4b	2.8 ±0.49a	18.8 ±0.7a	64.5 ±6.1b
secano, E vertical	123.2 ±11.6c	15.2 ±0.8b	0.78 ±0.036b	72.8 ±2.5b	3.1 ±0.29a	19.3 ±1.7a	63.7 ±3.7b

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Valores con letras iguales indican que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Efecto de la poda de raíces y riego

Con el fin de conocer los efectos de la poda de raíces y dos niveles de riego se mantiene constante la variable, “espaldera vertical”, es decir se procede a la comparación de los tratamientos: T5, T4, T2 y T1.

Los dos niveles de riego tuvieron efectos significativos en todas las variables de respuesta, es decir, peso de 100 bayas, peso de hollejos en 100 bayas, concentración de antocianos y de taninos, IPT, DAMCH e IC. La poda de raíces ha tenido efecto, aunque menos acusado que el tipo de riego, sobre el peso del grano. En la **TABLA 2** se observa mayor peso de bayas en plantas con raíces podadas y riego deficitario (169 g/100 bayas) que en el ensayo sin poda de raíces, que da como resultado 152 g/100 bayas. El mayor tamaño de uvas en plantas con poda de raíces, se explica porque esta operación potencia el estrés de la planta, generando la disminución del crecimiento vegetativo de la vid por una reducción en la tasa de fotosíntesis y la distribución de mayor cantidad de materia seca en los órganos reproductivos (Xie, *et al.*, 2009). El aumento de tamaño de la fruta tiene lugar a través de la absorción osmótica del agua, impulsado por el gradiente del potencial osmótico generado por la acumulación de azúcar (Coombe, 1960). Sin embargo, este efecto de aumento de tamaño de uva no se observa en plantas de secano, debido posiblemente a que el factor determinante es la disponibilidad de agua, o sea, en condiciones de secano, la planta no responde a ningún tratamiento de poda de raíces u orientación.

En cuanto al peso de hollejos, concentración de antocianos y de taninos, IPT, Índice DMACH y la intensidad colorante del extracto de hollejos, no se observa ningún efecto significativo de la poda de raíces. Estos resultados

hallados, discrepan de los obtenidos por Wang *et al.* (2012) quienes encontraron mayor concentración de antocianos en hollejos de uvas de la variedad Kyoho (*Vitis vinifera* L. × *Vitis labrusca* L.) sometidos a restricción de raíces. Estas diferencias, podrían deberse a que la tendencia de acumulación de antocianos en la uva durante su desarrollo, parece ser dependiente de la variedad. Además, las diferentes tendencias dentro de una misma variedad están condicionadas por diferentes factores climáticos, indicando la complejidad de factores que influyen en la concentración de antocianos (Ryan y Revilla, 2003).

TABLA 2. efecto de la poda de raíces y dos niveles de riego en el peso de 100 bayas y composición de los hollejos de uva variedad Bobal

Nivel	Peso 100 bayas(g)	Peso hollejo 100 bayas(g)	Antocianos (mg/ g uva)	IPT extracto de hollejos	Taninos (mg/ g uva)	Índice DMACH %	IC (Hollejos)
Riego							
Deficitario	161 ±13.2a	17.9 ±0.4a	0.58 ±0.02a	58.2 ±1.3a	2.25 ±0.09a	18.9 ±0.4a	48.3 ±1.5a
Secano	124 ±13.4b	15.4 ±0.3b	0.76 ±0.02b	70.7 ±1.2b	2.93 ±0.08b	20.2 ±0.4b	64.1 ±1.6b
Poda raíces							
con poda	147 ±8.2a	16.8 ±0.3a	0.63 ±0.02a	62.4 ±1.3a	2.45 ±0.09a	20.1 ±0.4a	55.8 ±1.5a
sin poda	137 ±8.4b	16.5 ±0.4a	0.70 ±0.02a	66.5 ±1.2a	2.73 ±0.08a	19 ±0.4a	56.6 ±1.63a
Riego por Poda	<i>Valorp</i> 0.11	0.70	0.59	0.89	0.54	0.22	0.44
Deficitario, con poda	169 ±17.6a	18 ±1.5a	0.54 ±0.06a	56.3 ±4.9a	2.15 ±0.44a	19.1 ±2.4a	47.0 ±5.0a
Deficitario, sin poda	152 ±17.8b	17.9 ±2.1a	0.62 ±0.07a	60.2 ±6.9a	2.35 ±0.29a	18.7 ±0.8a	49.5 ±7.5a
Secano, con poda	125 ±16.8c	15.6 ±1.4b	0.73 ±0.11b	68.5 ±5.1b	2.75 ±0.42b	21.2 ±1.2b	64.6 ±8.8b
Secano, sin poda	123 ±11.6c	15.1 ±0.9b	0.78 ±0.11b	72.9 ±3.3b	3.11 ±0.29b	19.3 ±1.7a	63.6 ±3.7b

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Valores con letras iguales indican que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Efecto del riego

Para evaluar el efecto de los tres niveles de riego aplicados, se comparan los tratamientos, T1, T4 y T7, manteniendo constante el sistema de conducción (espaldera vertical normal) y no han sido sometidas al proceso de poda de raíces.

Los diferentes niveles de riego han tenido un efecto muy claro sobre el tamaño de la baya y la composición de hollejos. Las vides sometidas a una mayor estrés hídrico presentaron bayas más pequeñas, pero con una mayor concentración de antocianos y taninos (mg/g uva). Del mismo modo, la intensidad colorante de los extractos relacionada con el contenido de antocianos y el IPT siguen la misma tendencia de aumento a medida que el déficit de agua se incrementa. Dichos resultados, son mostrados en la **TABLA 3** y son similares a los obtenidos por Chone *et al.* (2001), Ortega *et al.* 2007 y Kennedy *et al.* (2002), quienes observaron una mayor concentración de fenoles y antocianos en bayas de plantas sometidas a

déficit hídrico controlado. Este incremento en la concentración de antocianos a medida que disminuye el suministro de agua, se debe al estrés generado por el déficit de agua provocando una menor expresión vegetativa de la planta, que da lugar a una mayor exposición de racimos a la radiación directa, facilitando la maduración y concentración de sustancias en el grano de uva (Acevedo *et al.*, 2011). En el caso de plantas con riego, Ginestar *et al.* (1998b) observaron que la concentración de antocianos decrece conforme aumenta el suministro de agua, efecto que relacionaron con el aumento de peso y tamaño de la baya, lo que provoca una disminución de la relación hollejo/ pulpa y así como la dilución de todos los compuestos.

Los valores de taninos encontrados en este estudio (**FIGURA 4**) coinciden con los reportados por Navarro *et al.* (2008), al caracterizar uva Bobal en distintos estados de madurez; quien obtuvo valores de taninos, comprendidos entre 2.8 mg/g para bayas “poco maduras” y 3.4 mg/g en bayas “completamente maduras”. La cantidad de antocianos en bayas de plantas con riego máximo obtenidos en nuestro estudio, es similar al valor encontrado por este autor en uvas poco maduras. Así mismo, este mismo autor reportó, valores de IPT, en el rango de 57 y 78, en uvas poco maduras y con madurez completa respectivamente. Estas semejanzas sugieren que las bajas concentraciones de taninos y antocianos en plantas con máximo suministro de agua se deben además del efecto de dilución, al posible retraso en la madurez de las uvas.

TABLA 3. efecto de tres niveles de riego en el peso de 100 bayas y la composición de los hollejos de uva variedad Bobal

Nivel	Peso 100 bayas(g)	Peso hollejo 100 bayas(g)	Antocianos (mg/ g uva)	IPT extracto de hollejos	Taninos (mg/ g uva)	Indice DMACH %	IC (Hollejos)
Riego							
Máximo	249.97 ±17.9a	24.2 ±1.4a	0.30 ±0.06a	45.6 ±3.6a	2.0 ±0.26a	17.535 ±1.1a	30.741 ±3.3a
Deficitario	151.75 ±17.8b	17.9 ±2.1b	0.62 ±0.07b	60.2 ±6.9b	2.4 ±0.29b	18.711 ±0.8ab	49.516 ±7.6b
Secano	123.22 ±11.6c	15.2 ±0.9c	0.78 ±0.11c	72.9 ±3.3c	3.1 ±0.29c	19.272 ±1.7b	63.649 ±3.8c

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Valores con letras iguales indican que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

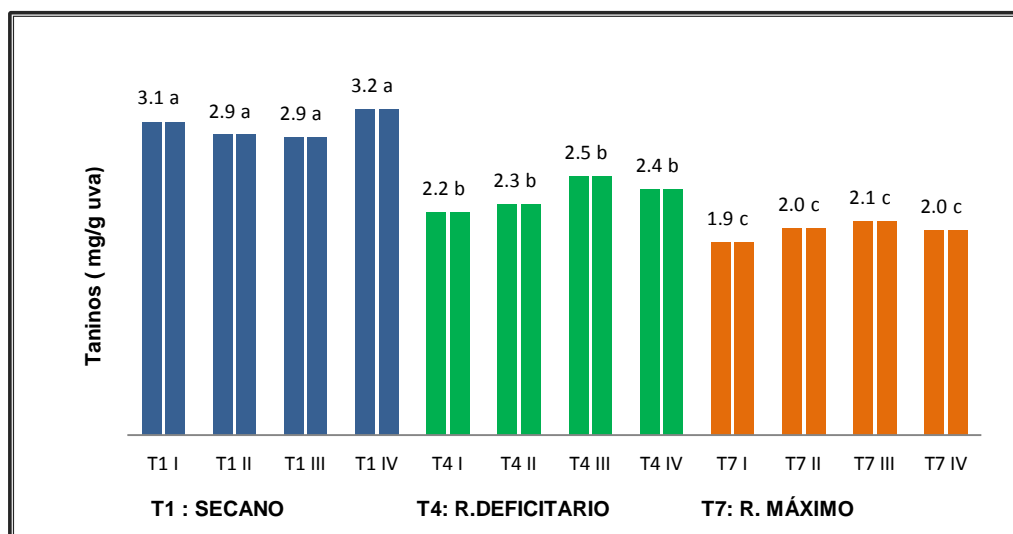


FIGURA 4. valores de concentración de taninos por efecto de tres niveles de riego.

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas ($p < 0.05$).
Valores con letras iguales indican que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Análisis de grado medio de polimerización (mDP)

Se ha obtenido La proporción de proantocianidinas en la variedad Bobal. Los polímeros están constituidos por (+)- catequina y (-)- epicatequina, (-)- epigalocatequina y (-)- epicatequina-3-O-galato.

Bordiga *et al.* (2011) en su estudio el perfil tánico de hollejos de Cabernet Sauvignon, muestra componentes poliméricos similares al obtenido en el presente estudio de la variedad Bobal, **TABLA 4**. Cuatro subunidades de extensión; catequina-Fluoroglucinol (C-F), Epicatequina-fluoroglucinol (EC-F), Epigalocatequina-Fluoroglucinol (EGC-F) y Epicatequina-3-O-galato-Fluoroglucinol (ECG-F). Tres subunidades terminales; catequina (C), epicatequina (EC) y epicatequina-3-O-galato (ECG). En total coincidencia con otros autores, (Kennedy y Jones, 2001; Bordiga *et al.* 2011), no hemos encontrado epigalocatequina como unidad terminal en hollejos; siendo en las subunidades de **extensión** el componente mayoritario la epicatequina seguido de epigalocatequina y epicatequina-3-O-galato que tienen valores similares y alrededor de 17% y el menor porcentaje corresponde a la catequina, el cual, es inferior al 4%. En cuanto a las subunidades **terminales** la catequina representa más del 60% seguida de la epicatequina y finalmente la epicatequina-3-O-galato. Los porcentajes de las subunidades de extensión epigalocatequina y epicatequina-3-O-galato de la variedad Bobal, son diferentes a los obtenidos por Bordiga *et al.* (2011). Los valores discrepan posiblemente por tratarse de cultivares diferentes y las diferencias entre las metodologías utilizadas para obtener el extracto de hollejos.

El valor del grado medio de polimerización de taninos (mDP) está relacionado con la astringencia del vino que se elabore a partir de esa uva;

valores de mDP altos en las uvas, permiten elaborar vinos menos astringentes que si éstos son más bajos. Otro factor que también condiciona la astringencia es el % de galoilación, que indica la proporción de epicatequina-3-O-galato, en la molécula de tanino, contribuyendo a la astringencia.

El mDP encontrado en el presente estudio para la variedad Bobal es similar al reportado para la variedad Monastrell que tiene un valor medio de 14, muy por debajo de mDP de Cabernet Sauvignon de 36.6 según reporte de Bordiga *et al.* (2011) y de 26.6 según Busse *et al.* (2010). Por otra parte, el porcentaje de galoilación de la Bobal es similar al de la variedad Syrah que según Busse *et al.* (2010) está alrededor de 6.

TABLA 4. Composición de proantocianidinas en hollejos de la uva bobal (C-F; catequina-floroglucinol, EC-F; epicatequina-floroglucinol, EGC-F Epigalocatequina-floroglucinol, ECG-F, Epicatequina-galato-floroglucinol), el porcentaje de galoilación (% G), grado medio de polimerización (mDP) y peso molecular promedio de proantocianidinas (aMV)

Trat.	UNIDADES DE EXTENSION (%)				UNIDADES TERMINALES (%)			% G	mDP	aMV
	C-F	EC-F	EGC-F	ECG-F	C	EC	ECG			
T1	1.1 ±0.1	67.5 ±1.5	16.4 ±0.8	15.4 ±2.1	63.1 ±10.6	30.8 ±7.1	14.9 ±5.6	4.6 ±0.8	13.5 ±3.0	4037.4 ±899
T2	2.5 ±0.4	65.8 ±1.2	17.4 ±1.7	16.2 ±2.0	54.1 ±8.5	31.5 ±6.8	14.5 ±1.1	5.1 ±0.7	13.3 ±0.9	3971.2 ±249
T3	2.8 ±1.2	64.9 ±2.8	17.4 ±1.9	15.8 ±1.1	45.2 ±4.5	35.2 ±9.1	19.6 ±5.3	5.1 ±0.5	12.4 ±1.4	3718.1 ±435
T4	1.7 ±0.5	65.7 ±2.0	17.1 ±0.4	16.0 ±1.1	57.6 ±10.2	30.0 ±6.7	16.5 ±2.8	5.0 ±0.4	14.7 ±2.7	4411.1 ±808
T5	3.2 ±1.0	64.3 ±1.5	18.3 ±3.3	15.5 ±0.9	48.5 ±11.5	29.6 ±10.9	21.9 ±5.6	5.1 ±0.2	14.4 ±2.9	4442.2 ±673
T6	3.6 ±2.3	63.0 ±4.3	14.8 ±4.7	18.5 ±4.7	51.2 ±20.3	35.3 ±15.5	18.1 ±4.3	5.9 ±1.8	13.2 ±4.1	3963.2 ±1269
T7	3.4 ±2.1	63.7 ±3.9	21.3 ±1.8	11.5 ±1.4	54.3 ±7.4	28.9 ±5.6	16.8 ±3.2	3.8 ±0.5	10.5 ±2.3	3114.1 ±675

Efecto del riego en el grado medio de polimerización de taninos

El porcentaje de galoilación (% G), y el grado medio de polimerización (mDP) se han visto afectados por el nivel de riego máximo. En la **TABLA 5** se observa que para este nivel de riego, el valor de mDP es el menor, encontrándose diferencias significativas con el resto de los valores de mDP correspondientes al riego deficitario y seco, que tienen valores mayores. Uvas con mDP alto dan lugar a vinos menos astringentes.

TABLA 5. efecto de tres niveles de riego en el %Galoilacion y mDP

Factor	% Galoilación	mDP
Riego Niveles		
Máximo	3.76106 ±0.46a	10.4668 ±2.26a
Deficitario	5.31772 ±1.05b	14.1172 ±3.06b
Secano	4.95244 ±0.66b	13.3226 ±0.66ab

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Valores con letras iguales indican que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Los valores del porcentaje de galoilación con riego máximo presentan diferencias significativas con los valores que se presentan con los tratamientos de riego deficitario y seco. Estos últimos tienen los valores más elevados.

Efecto de la poda de raíces y sistema de orientación en el grado medio de polimerización (mDP)

Como se observa en las **TABLAS 6 y 7** El sistema de orientación y la poda de raíz, ya sea en seco o con riego deficitario, no influyen significativamente en el porcentaje de galoilación ni en el grado medio de polimerización de taninos de los hollejos.

TABLA 6. Valores de %Galoilación y mDP por efecto del sistema de orientación y dos niveles de riego.

Nivel	% Galoilación	mDP
Conducción		
E inclinada	5.02916 ±0.40a	11.8264 ±2.86a
E vertical	4.82936 ±0.64a	14.1375 ±1.96a
Riego		
Deficitario	4.99165 ±0.36	12.9897 ±3.32a
secano	4.86687 ±0.67	12.9742 ±1.24a
Conducción por Riego	Valor P 0.523	0.3436
E inclinada, Deficitario	4.9737 ±0.39a	11.2299 ±4.07a
E inclinada, seco	5.0096 ±0.46a	14.7495 ±1.44a
E vertical, Deficitario	5.08462 ±0.39a	12.423 ±2.72a
E vertical, seco	4.64911 ±0.84a	13.5254 ±0.80a

TABLA 7. Valores de %Galoilación y mDP por efecto de la poda de raíces y riego. Espaldera vertical normal

Nivel	% Galoilación	mDP
Riego		
Deficitario	5.04 ±0.28a	14.6 ±2.62a
Secano	4.89 ±0.77a	13.4 ±0.78a
Poda raíces		
Con poda	5.1 ±0.48a	13.8 ±2.08a
Sin poda	4.83 ±0.64a	14.1 ±1.96a
Riego por Poda	Valor-P 0.509	0.9818
Deficitario, con poda	5.08 ±0.19a	14.4 ±2.92a
Deficitario, sin poda	5.01 ±0.39a	14.7 ±2.72a
Secano, con poda	5.12 ±0.71a	13.3 ±0.85a
Secano, sin poda	4.65 ±0.85a	13.5 ±0.80a

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas ($p < 0.05$).
Valores con letras iguales indican que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

En todas las comparaciones y análisis con combinación de factores no se encontró un efecto significativo de la interacción entre los factores para ninguna variable evaluada. Es decir no se observó interacción entre la poda de raíces, tipo riego y orientación de la espaldera sobre el peso y composición de los hollejos; concentración de antocianos, y taninos, Intensidad colorante del extracto de los hollejos, grado medio de polimerización y porcentaje galoilación. (ver el *valor-p* en las **TABLAS 1, 2, 3, 4, 5 y 6**).

CONCLUSIONES

En condiciones de secano y a tenor de los resultados obtenidos, las prácticas de inclinación de espaldera y poda de raíces, no contribuyen a mejorar las características de las uvas del ensayo. Estas técnicas de cultivo, inclinación de espaldera y poda de raíces, se podrían utilizar en caso de plantas regadas, riego deficitario, ya que en estas condiciones favorecen al incremento de peso de bayas.

El riego es el factor más determinante en la disponibilidad de agua para los procesos fisiológicos de la planta, por lo que, controlando el suministro de agua de acuerdo a los objetivos de cosecha buscados, se puede generar estrés y modificar en gran medida algunas de las características importantes de los granos de uva como el peso de bayas y hollejos, concentración de antocianos y taninos de los hollejos, índice de polifenoles totales e intensidad colorante de los extractos de hollejos y el grado medio de polimerización de taninos de hollejos y porcentaje de galoilación.

El cultivo en sistema de secano es el más adecuado para obtener uvas de grano más pequeño buena concentración de antocianos y taninos, así como menor astringencia con un mayor valor del grado medio de polimerización. Las bayas de plantas bien regadas tienen el doble de peso de bayas que las vides en secano.

En este estudio no existió un efecto significativo de la interacción de los factores poda de raíces y riego y orientación de la espaldera.

REFERENCIAS

- Adams, D. 2006. Phenolics and ripening in grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.* **57 (3)**, 249-256.
- Acevedo, C.; Ortega-Farias, S.; Moreno, Y. y Córdova, F., 2011 Effects of different levels of water application in pre and post veraison on Must composition and Wine color (cv. Cabernet Sauvignon). *ISHS Acta Horticulturae* **664**.

- Bordiga, M.; Travaglia, F.; Locatelli, M.; Coisson, J. y Arlorio, M. 2011. Characterization of polymeric skin and seed proanthocyanidins during ripening in six *Vitis vinifera* L. cv, *Food Chem.* **127** 180-187.
- Bravdo, B. Hepner, Y.; Loinger, C.; Cohen, S. 1985. Effect of crop level and crop load on growth, yield, must and wine composition and quality of Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* **36**, 125- 131.
- Busse, N.; Gómez, E.; López, J.; Gil, R.; Fernandez, J. y Bautista, A., 2010. Effect of different enological practices on skin and seed proanthocyanidins in three varietal wines, *J. Agric. Food Chem.*, **58**,11333-11339.
- Carbonneau, A. 2001. Trellising and canopy management for cool-climate viticulture, Eugene Oregon State University. Experiment Station Technical Publication 1985; 7628: 158-174.
- Chone, X.; Leeuwen, V.; Chery, P.; y Ribereau- Gayon, P. 1997. Terroir influence on water status and nitrogen status of non-irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*). Vegetative development, must and wine composition (example of a Medoc top Estate vineyard, Saint Julien Area, Bordeaux). *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **22**:8-15.
- Coombe, G. 1960. Relationship of growth and development to changes in sugars, auxins and gibberellins in fruits of seeded and seedless varieties of *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.* **25**, 241–250.
- COMISIÓN EUROPEA, 1990. Reglamento (CEE) No 2676/90 de 17 de septiembre de 1990 por el que se determinan los métodos oficiales de análisis de vinos, zumos y mostos de uva. En: *Diario Oficial de las Comunidades Europeas* L272 (3 de octubre de 1990). Comisión Europea ed. Bruselas. Bélgica: 0001-0192.
- Geisler, D. y Ferre D. 1984. Response of plants to root pruning, Department of Horticulture, The Ohio State University, Wooster, Ohio 44691.
- Gil, G. y Pszczółkowski, F. 2007, VITICULTURA, Fundamentos para optimizar producción y calidad. Ed.: Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Ginestar, 1998b. Use of sap-flow sensors to schedule vineyard irrigation. H. Effects of post-veraison water deficits on composition of Shiraz grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* **49 (4)**: 421-428.
- Girona, J.; Marsal, J.; Mata, M.; Del Campo, y J. Basile, J. (2009). Phenological sensitivity of berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress. *Austr. J. Grape Wine Res.* **15**, 268–277.
- Kennedy, J. y Jones, G. 2001. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1740-1746.
- Kennedy, J.; Matthews, M. and Waterhouse. A. 2002. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *Am. J. Enol. Vitic.* **53**:268-274
- Lakso, A. and Intrigliolo, D. 2011, Effects of light interception and canopy orientation on grapevine water status and canopy gas exchange. NYA. Acta Hort 889, *ISHS* 2011.
- Navarro, S.; León, M.; Roca-Pérez, L.; Boluda, R.; García-Ferriz, R.; Perez-Bermúdez, P. y Gavidia, I., 2008, Characterisation of Bobal and Crujidera grape cultivars, in comparison with Tempranillo and Cabernet Sauvignon: Evolution of leaf macronutrients and berry composition during grape ripening, *Food Chemistry* **108** 182–190.
- Ojeda H.; Andary C.; Kraeva E.; Carbonneau A. y Deloire A. 2002. Influence of pre and post-veraison water deficit on the synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* L., cv Shiraz. *Am. J. of Enol. and Vitic.* **53**: 261-267.
- Ortega. S.; Salazar, R. y Moreno, Y. 2007, Efecto de distintos niveles de poda y reposición hídrica sobre el crecimiento vegetativo, rendimiento y composición de bayas en vides cv. Cabernet Sauvignon, *Agricultura Técnica (CHILE)* **67(4)**:401-413.
- Ribereau- Gayon J. y Stonestreet E. 1966. *Chim. Anal* **48**: 188- 196.
- Ribereau-Gayon, P. 1974. The chemistry of red wine color. The Chemistry of Winemaking. A. D. Webb. *Washington. Scientia Horticulturae* **137** (2012) 20-28.
- Ryan, J.M. y Revilla, E., 2003. Anthocyanin composition of Cabernet Sauvignon and Tempranillo grapes at different stages of ripening. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 3372-3378.

- Sánchez, N. 2008. Influencia de diferentes factores agrologicos y tecnológicos sobre la mejora de la calidad de los vinos tintos de Bobal. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Schupp, J.R., 1992. Effect of root pruning and summer pruning on growth, yield, quality, and fruit maturity of McIntosh apple trees. *Acta Hort.* **322**, 173-175.
- Smart, R.E.; Smith, S.M. y Winchester, R.V., 1988, «Light quality and quantity effects on fruit ripening for Cabernet Sauvignon», *Am J Enol Vitic* : **39**: 250-258.
- Xie, Z.S.; Li, B.; Forney, C. F.; Xua, W. P.; Wanga S.P. 2009 Changes in sugar content and relative enzyme activity in grape berry in response to root restriction. *Scientia Horticulturae* **123**: 39–45.
- Wang, B.; He, J.; Duan, C.; Yu, X.; Zhu, L.; Xie, Z.; Zhang, C.; Xu, W. y Wang, S., 2012. Root restriction affects anthocyanin accumulation and composition in berry skin of 'Kyoho' grape (*Vitis vinifera* L. *Vitis labrusca* L.) during ripening, *Scientia Horticulturae* **137** : 20–28.