

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE HOLLEJOS DE
UVAS DE VINIFICACIÓN DE LA VARIEDAD MONASTRELL
SOMETIDAS A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

TRABAJO FIN DE GRADO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNO/A: ÁNGELA JÁVAGA TÉBAR

TUTOR/A: VICTORIA LIZAMA ABAD

Curso Académico: 2016-2017

VALENCIA, 10 de Julio de 2017

RESUMEN

Distintas estrategias de riego llevadas a cabo durante el periodo de maduración sobre uvas de la variedad Monastrell han sido evaluadas a fin de encontrar los efectos que provocan diferentes niveles de agua suministrada y diferentes composiciones de sales minerales sobre la composición polifenólica de los hollejos y las características finales del grano. Posteriormente a la vendimia, se analizaron las bayas y los extractos de sus hollejos, obteniéndose el peso de las 100 bayas, el peso de los hollejos de las 100 bayas, el índice de polifenoles totales, antocianos totales, intensidad colorante, catequinas y taninos condensados totales. Además, mediante técnicas HPLC se ha llevado a cabo el análisis y cuantificación de antocianos pormenorizados y del grado medio de polimerización de taninos. Todo ello para establecer la influencia de las estrategias sobre la composición polifenólica de las uvas.

Palabras clave: Monastrell, hollejos, riego, salinidad, antocianos, taninos, HPLC, mDP.

SUMMARY

Different irrigation strategies carried out during the ripening period on grapes of the Monastrell variety have been evaluated in order to find the effects that cause different levels of water supplied and different compositions of mineral salts on the polyphenolic composition of the skins and the characteristics of grain. After the harvest, the berries and the extracts of their skins were analyzed, obtaining the weight of the 100 berries, the weight of the skins of the 100 berries, determining the total polyphenol index, total anthocyanins, color intensity, catechins and total condensed tannins. In addition, the analysis and quantification of detailed anthocyanins and the average degree of polymerization of tannins have been carried out using HPLC techniques. All this to establish the influence of the strategies on the polyphenolic composition of the grapes.

Keywords: Monastrell, grape skins, irrigation, salinity, anthocyanes, tannins, HPLC, mDP.

ÍNDICE

RESUMEN.....	5
1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE LA VID.	6
1.2. LA VARIEDAD MONASTRELL.....	7
1.3. COMPUESTOS POLIFENÓLICOS PRESENTES EN UVAS TINTAS	7
1.4. INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE AGUA SUMINISTRADA A LOS VIÑEDOS Y SU COMPOSICIÓN EN SALES MINERALES SOBRE LOS GRANOS DE UVA, LA PRODUCCIÓN Y LA COMPOSICIÓN Y SÍNTESIS DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS.	9
2. OBJETIVOS.....	12
3. PLAN DE TRABAJO.....	12
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA PARCELA DE ESTUDIO.	14
4.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO A PARTIR DE LOS HOLLEJOS DE LAS BAYAS.	15
4.3. DETERMINACIONES ESPECTOFOTOMÉTRICAS.....	15
4.3.1. Determinación de la intensidad colorante (IC).	15
4.3.2. Determinación de antocianos totales.	15
4.3.3. Determinación del índice de polifenoles totales (IPT).	16
4.3.4. Determinación de taninos condensados totales.....	16
4.3.5. Determinación de catequinas.	16
4.4. DETERMINACIONES CON CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC).	16
4.4.1. Análisis de antocianos pormenorizados en hollejos.	17
4.4.2. Estimación del grado medio de polimerización (mDP) de proantocianidinas en hollejos.....	17
4.5. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	18
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
5.1. ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE DISTINTOS TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE EL PESO DE 100 BAYAS, EL PESO DE LOS HOLLEJOS DE 100 BAYAS Y LA COMPOSICIÓN DEL EXTRACTO DE LOS HOLLEJOS.	19
5.2. EFECTO DE LA CANTIDAD DE AGUA DE RIEGO SUMINISTRADA SOBRE EL PESO DE 100 BAYAS, EL PESO DE LOS HOLLEJOS DE 100 BAYAS Y LA COMPOSICIÓN DEL EXTRACTO DE LOS HOLLEJOS.....	22
5.3. EFECTO DEL LA SALINIDAD DEL AGUA DE RIEGO SOBRE EL PESO DE 100 BAYAS, EL PESO DE LOS HOLLEJOS DE 100 BAYAS Y LA COMPOSICIÓN DEL EXTRACTO DE LOS HOLLEJOS	25

5.4. INTERACCIÓN ENTRE LA CALIDAD DEL AGUA APLICADA Y EL RÉGIMEN DE RIEGO, MODERADO O DEFICITARIO.....	28
5.5. ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANOS PORMENORIZADOS PRESENTES EN EL EXTRACTO DE HOLLEJOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC).	30
5.6. ANÁLISIS DEL GRADO MEDIO DE POLIMERIZACIÓN (mDP) DE HOLLEJOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC).	33
6. CONCLUSIONES.	37
7. BIBLIOGRAFÍA.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Monómeros que conforman los taninos de las uvas.	8
Figura 2. Disposición de los tratamientos experimentales en la parcela de estudio.....	12
Figura 3. Instantánea aérea de la parcela de estudio en Fuente Álamo.....	14
Figura 4. Instantánea de una de las cepas de la parcela de estudio.....	14

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen detallado de los diferentes tratamientos aplicados a la parcela de estudio.	13
Tabla 2. Promedio y desviación típica del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	19
Tabla 3. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de los hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	20
Tabla 4. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	21
Tabla 5. Promedio y desviación típica del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	22
Tabla 6. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	24
Tabla 7. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	24
Tabla 8. Promedio y desviación típica del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	26
Tabla 9. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	27

Tabla 10. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	27
Tabla 11. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	28
Tabla 12. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	29
Tabla 13. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	29
Tabla 14. Promedio y desviación típica de las concentraciones de las cuatro fracciones de antocianos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	30
Tabla 15. Promedio y desviación típica de la concentración de malvidina-3-glucósido en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	31
Tabla 16. Promedio y desviación típica de la concentración de malvidina-3-glucósido en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	32
Tabla 17. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego de la concentración de malvidina-3-glucósido en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	33
Tabla 18. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) del extracto de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	34
Tabla 19. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) del extracto de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	35
Tabla 20. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) del extracto de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	36
Tabla 21. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) del extracto de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	36

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE LA VID.

El viñedo ha tenido un fuerte peso en el paisaje agrario europeo desde el Medievo y lo conserva en la actualidad proporcionando a estos países unas señas de identidad propias entre el resto de cultivos y espacios del mundo (Fernández, 2012). Los viñedos son uno de los cultivos esenciales en la economía agraria de un gran número de países europeos junto con los cereales.

La superficie de viñedo en hectáreas (ha) es un indicador que refleja la magnitud de este cultivo y el peso que representa en la economía de un país o región. La viticultura según la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) tiene una gran importancia a nivel mundial, y según los datos presentados en 2016 la superficie vitícola mundial se sitúa en 7.500.000 hectáreas, manteniéndose estable con respecto a la de 2015, donde cinco países suponen el 50% de la superficie mundial de viñedo: España (13%), China (11%), Francia (10%), Italia (9%) y Turquía (6%). En la actualidad la superficie de viñedo se concentra en Francia, España e Italia, que reúnen el 85% de la superficie total de viñedo en la Unión Europea, aproximadamente la mitad se dedica a la producción de vino (Vinetur, 2017).

Los datos de la OIV muestran una producción mundial de uva de 75,8 millones de toneladas en 2016, de las cuales el 39% del total se producen en Europa, el 34% en Asia y el 18% en América, que incluye tanto la producción de uvas de vinificación como las uvas de mesa y las uvas pasas. En 2015, de los 73,5 millones de toneladas de uvas, 39,6 millones fueron uvas de vinificación, mientras que los 33,9 millones restantes fueron uvas de mesa y pasas. La producción mundial de vino (sin incluir el mosto), se estima en 2016 en 267 millones de hectolitros. Italia se mantiene en 2016 como el primer productor mundial de vino, con 50,9 millones de hectolitros, seguido de Francia con 43,5 millones de hectolitros y de España, con 39,3 millones de hectolitros (Vinetur, 2017).

La superficie de viñedo plantada en España según datos del Registro Vitícola de cada comunidad autónoma a 31 de julio de 2013 asciende a 957.573 hectáreas. La evolución de esta superficie ha sido descendente en los últimos años, si bien en la última campaña se ha invertido la tendencia con un incremento de la superficie plantada en 4.400 hectáreas respecto a la superficie de la campaña anterior. Las variedades tintas representan el 54% del total de la superficie de viñedo de uva de vinificación plantado en nuestro país. La producción de vino y mosto en España se caracteriza por su gran variabilidad de unas campañas a otras debido a la fuerte dependencia del cultivo de las condiciones climatológicas. En la última campaña se alcanzó los 35.778.000 hectolitros, donde 16.953.000 hectolitros corresponden a la producción de variedades tintas (MAPAMA, 2013).

1.2. LA VARIEDAD MONASTRELL.

Las actuales variedades de vid cultivadas pertenecen a la familia de las vitáceas y a la especie *Vitis vinifera* o europea, teniendo su origen en las *Vitis silvestris* que cruzándose, a veces de manera espontánea y otras por la mano del hombre en un proceso de selección, hoy día forman un inmenso y rico patrimonio varietal compuesto por más de cinco mil variedades distintas (Hidalgo, 2002). La variedad Monastrell es una cepa de origen español que se encuentra extendida por todo el litoral mediterráneo, siendo en España la tercera variedad más plantada. Sus racimos son pequeños y bastante compactos, con bayas esféricas y de tamaño mediano, de coloración azul-negro y de piel gruesa rica en antocianos. Su pulpa es carnosa y blanda con poca cantidad de taninos. Es una variedad de gran rusticidad, elevada resistencia a la sequía y necesita buena insolación (D.O. Jumilla). Sus uvas tintas son muy dulces y productivas. Es característica del Levante español ya que requiere temperaturas elevadas. Suele dar lugar a vinos de color rubí intenso con tonos violetas y notable graduación en los jóvenes, que se van difuminando con el tiempo a colores más sepia y ocre, ya que tiene un alto poder oxidativo. También resulta apta para la elaboración de vinos dulces.

1.3. COMPUESTOS POLIFENÓLICOS PRESENTES EN UVAS TINTAS.

Los polifenoles constituyen una familia heterogénea de compuestos orgánicos derivados del fenol. Están presentes en uvas y juegan un papel importante en las características sensoriales del vino, ya que son responsables de sus propiedades organolépticas más importantes como el aroma, color, sabor, amargura o astringencia (Scalbert, 1993). Estos compuestos no están distribuidos homogéneamente en el fruto si no que se concentran principalmente en las semillas (60%), la piel (30%), y en un menor grado en la pulpa y el raspón (menos de 10%) (Garrido y Borges, 2013).

Estos compuestos se caracterizan por la presencia de al menos un grupo aromático y una sustitución hidroxilo como mínimo, que puede estar libre o formando parte de otra función: éter, éster o heterósido (Bruneton, 1993). La gran diversidad química de esta familia se debe a que estos compuestos fenólicos existen tanto en su forma libre como en su forma conjugada. Además, pueden estar unidos a ácidos, así como a una o más moléculas de un azúcar (glucosa, galactosa, sacarosa y manosa) formando di-, tri- o incluso tetraglucósidos (Cheynier *et al.*, 2010). Desde un punto de vista químico se pueden distinguir dos clases fenólicas: los compuestos flavonoides y los compuestos no flavonoides. Dentro del grupo de los flavonoides los compuestos más relevantes son los antocianos y los flavanoles, que son moléculas con una estructura básica en común y forman parte de una fracción con significativa importancia enológica. Estos compuestos son sintetizados por una vía que viene modulada por factores bióticos y abióticos y por las prácticas de riego (Kennedy y Cohen, 2010).

Los antocianos se encuentran en los hollejos y excepcionalmente en el mesocarpio de variedades tintoreras, y son responsables de la coloración rojiza de las uvas y los vinos (Adams *et al.*, 2015). Son 3- glucósidos y pueden estar esterificados en el carbono 6 del anillo de glucosa con ácido acético, ácido cumárico o ácido cafeico (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000).

Los flavanoles, denominados también taninos condensados o proantocianidinas, se encuentran en los hollejos, pepitas y raspones. En los vinos tintos su importancia radica en la capacidad que tienen de unirse a proteínas, polisacáridos, radicales libres e iones metálicos, y esta propiedad es la responsable de la sensación de astringencia en boca, pues al unirse con las proteínas salivares las hacen precipitar (Haslam *et al.*, 1988).

Los taninos de las semillas y del raspón son más astringentes y herbáceos mientras que los de los hollejos son más suaves debido a que están más polimerizados y tienen un menor número de subunidades galoiladas, por lo que no precipitan todas las proteínas de la saliva siendo la sensación de astringencia en boca menor. Su estructura está formada por polímeros de subunidades de flavan-3-ol y los principales monómeros que conforman los taninos de las uvas son la (+)-catequina, la (-)-epicatequina, la (-)-epicatequina-3-O-galato y la epigalocatequina (Kennedy y Jones, 2001) Las moléculas aparecen en la **Figura 1**.

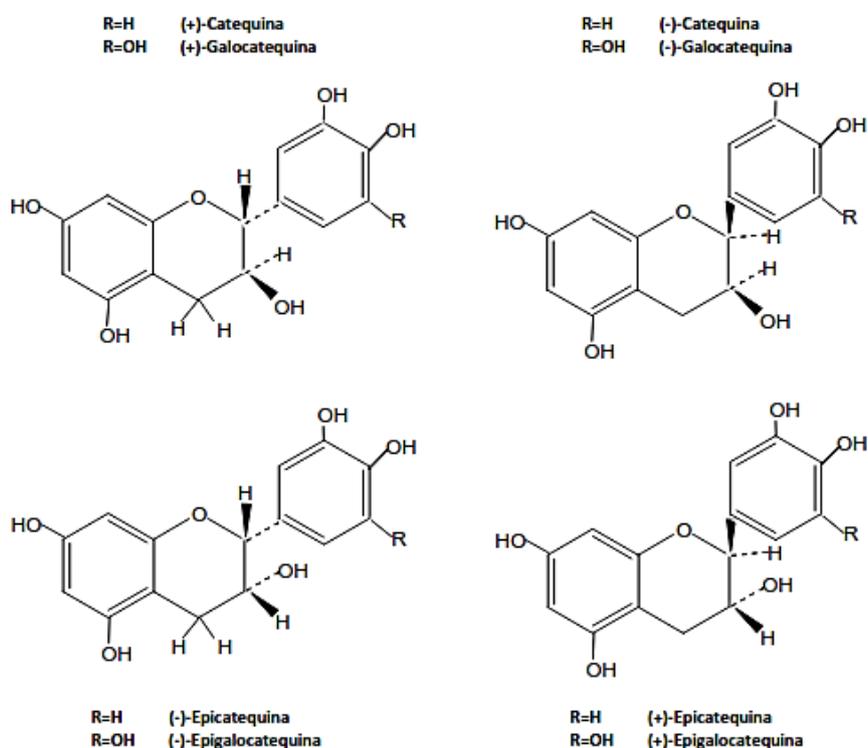


Figura 1. Monómeros que conforman los taninos de las uvas.

Por otro lado, los ácidos fenólicos y estilbenos pertenecen al grupo de los no flavonoides y están constituidos por polifenoles de bajo peso molecular. Existen dos tipos de ácidos fenólicos: los ácidos benzoicos, como el ácido gálico o el ácido catecol, y los ácidos cinámicos, como el ácido cafeico, el ácido p-cumárico y el ácido ferúlico. Se pueden combinar a otras moléculas y polimerizar para formar polifenoles más complejos. Los estilbenos derivan de la combinación de ácido cinámico con tres unidades de acetato de malonil coenzima (Rentsch *et al.*, 2009). El trans-resveratrol es el estilbeno más importante porque es compuesto que se produce en la piel de las uvas en respuesta a una infección o a un estrés inducido por herbicidas, fungicidas o por la luz UV. Tiene acción antioxidante (Baur y Sinclair, 2006).

1.4. INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE AGUA SUMINISTRADA A LOS VIÑEDOS Y SU COMPOSICIÓN EN SALES MINERALES SOBRE LOS GRANOS DE UVA, LA PRODUCCIÓN Y LA COMPOSICIÓN Y SÍNTESIS DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS.

La calidad de la uva es un concepto complejo que engloba principalmente la composición química de las bayas, incluyendo azúcares, ácidos y compuestos polifenólicos y aromáticos (Lund y Bohlmann, 2006). La composición y la concentración de estos compuestos químicos cambian durante el desarrollo de las bayas y pueden ser afectadas por diversos factores ambientales y endógenos o por las técnicas de cultivo utilizadas (Jackson y Lombard, 1993; Dai *et al.*, 2011).

En los próximos años el cambio climático planteará restricciones relevantes para la producción de uva y vino (Santos *et al.*, 2012). Se espera que las temperaturas crecientes, las menores cantidades de agua de lluvia y las olas de calor sean más frecuentes a lo largo de este siglo (IPCC, 2014). Los retos más inminentes que deben afrontar las industrias de uva, vino y pasas, sobre todo en las regiones áridas y semiáridas, son el aumento de la sequía y la salinidad debido a la mayor evaporación y la disminución de la disponibilidad de agua (Schultz y Stoll, 2010).

Bajo el escenario actual de cambio global, las limitaciones que la escasez de agua y la salinidad pueden inducir en la composición de la uva son cada vez más importantes a nivel mundial. Estos factores pueden poner en peligro la sostenibilidad de la viticultura a medio plazo al reducir los rendimientos y modificar la composición de la uva, y representan las restricciones abióticas más comunes que ejercen un impacto negativo en la actuación de los viñedos mediterráneos (Mirás-Ávalos e Intrigliolo, 2017).

El agua es crítica para la sostenibilidad de la viticultura porque la producción, calidad y viabilidad económica de la uva dependen en gran medida de la disponibilidad de agua (Medrano *et al.*, 2015). Esto ha enfocado la atención en el uso de fuentes de agua alternativas para el riego en lugar de fuentes de agua escasas (Laurenson *et al.*, 2012). Sin embargo, la salinidad de estas aguas y las concentraciones de iones salinos específicos, como cloruros y sulfatos, son de suma importancia en relación con la estructura del suelo, el rendimiento de la vid y la composición de las bayas y el vino (Laurenson *et al.*, 2012; Netzer *et al.*, 2014).

En ciertas zonas, como el Mediterráneo, la reutilización del agua puede considerarse como una solución rentable para la agricultura, ya que reduce la necesidad de desarrollar nuevos recursos hídricos y proporciona una solución adaptable al cambio climático junto con un aumento del valor social y medioambiental del agua (Costa *et al.*, 2016). Aunque el uso de este tipo de aguas podría moderar el estrés por sequía, los efectos perjudiciales a corto y medio plazo del estrés salino deben ser cuantificados, como señalan varios autores (Laurenson *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2016).

La creciente salinización de los suelos podría suponer una grave amenaza para el cultivo de la vid, ya que la mayoría de los viñedos de regadío, especialmente los de riego deficitario, corren riesgo debido a las sales disueltas en el agua de suministro (Keller, 2010). Los efectos perjudiciales de la salinidad en el crecimiento de las plantas son causados por un efecto osmótico en el cual el aumento de la concentración de sales solubles de la solución del suelo impone una sequía osmótica en la planta y un efecto tóxico (Marschner, 1986). Sin embargo, los efectos de la salinidad en la composición de las bayas parecen depender de la variedad y de la concentración de sal en el agua de riego, así como de su momento de aplicación durante la temporada de crecimiento. En este contexto, se deben lograr prácticas agronómicas que minimicen estos efectos sobre la composición de las bayas y, en consecuencia, sobre la calidad del vino.

La productividad de la mayoría de los cultivos está directamente relacionada con el volumen de agua consumida a través del proceso de evapotranspiración. Mantener un contenido en agua que no limite la tasa de evapotranspiración en el suelo durante toda la temporada de producción es la estrategia más exitosa para maximizar la productividad de los cultivos. Sin embargo, diversos estudios proponen que para elaborar vinos de alta calidad se requieren estrategias de riego que aporten menor cantidad de agua que los requerimientos evapotranspirativos totales de la vid durante algunos periodos en las diferentes etapas fenológicas del desarrollo anual, ya que pueden mejorar la composición de la uva (Dry *et al.*, 2001). Algunos de los beneficios que incluye este método de riego son la reducción del uso de agua para el cultivo (Fuentes *et al.*, 2010), el control del vigor de la copa de la vid y del tamaño de las bayas y el rendimiento de la producción, lo que conduce a cambios en la composición de las uvas y sus vinos (Casassa *et al.*, 2013).

Esta estrategia se denomina riego deficitario controlado (RDC) y consiste en aplicar breves episodios de restricción de agua programados en periodos y tiempos específicos a intensidades variables, lo que conlleva a que el agua de riego se suministre en cantidades inferiores a las que pierde el viñedo por evapotranspiración (Keller *et al.*, 2008). Se produce un déficit hídrico cuya consecuencia es que la tasa de pérdida de agua por transpiración es mayor que la de absorción de agua por las raíces (Dry *et al.*, 2001).

Diferentes estudios reflejan un efecto negativo del riego en abundancia en la riqueza polifenólica tanto en el mosto como en extractos de hollejo, y hacen notar que los polifenoles son particularmente sensibles a las variaciones hídricas de la planta (Matthews *et al.*, 1990). Los polifenoles son sintetizados por una ruta biosintética que viene modulada por factores bióticos y abióticos y por las prácticas de riego (Kennedy y Cohen, 2010). Se ha demostrado que el déficit hídrico efectivamente regula la expresión de genes que afectan a la biosíntesis de las antocianinas y taninos (Castellarin y Di Gaspero, 2007), y por este motivo el riego suministrado al viñedo afecta a la acumulación de compuestos polifenólicos que se encuentran en la piel de la baya, es decir, en el hollejo y también se considera una herramienta para aumentar el contenido en estos compuestos y así mejorar la calidad de las uvas tintas y consecuentemente la del vino obtenido a partir de estas (Kennedy *et al.*, 2002).

La estrategia de riego deficitario controlado persigue dos objetivos principales: la obtención de racimos con bayas de diámetro reducido y el control del crecimiento vegetativo de la planta (Ginestar *et al.*, 1998). De esta manera se crean condiciones micro-climáticas óptimas en los racimos, caracterizadas por una menor humedad relativa y una mayor iluminación de las bayas así como un incremento en la relación entre la cutícula y la pulpa, un aspecto fundamental debido a que la mayor parte de los compuestos orgánicos del vino que determinan su coloración, sabor y aroma se encuentran en la piel del fruto (Esteban *et al.*, 2001).

En general, un estrés hídrico moderado reduce el peso de las bayas, pero aumenta las concentraciones de antocianinas totales y concentraciones de compuestos polifenólicos en las uvas tintas (Romero *et al.*, 2010), mejorando la calidad de las bayas. Sin embargo, hay estudios que indican que cuando se supera un cierto umbral de estrés hídrico, estos efectos beneficiosos ya no se observan. Esta respuesta parece depender del cultivar, así como de las condiciones del suelo y del clima (Mirás-Ávalos e Intrigliolo, 2017).

Por un lado, los cambios del tamaño de las bayas están condicionados por las prácticas de riego y estos cambios a su vez afectan a la composición fenólica de las uvas (Keller *et al.*, 2008). Las reducciones en el tamaño de la baya se consideran deseables desde el punto de vista de la vinificación porque la relación superficie/volumen de las bayas pequeñas es mayor que la de las bayas grandes (Casassa *et al.*, 2015). Ojeda *et al.*, (2002) impusieron tres niveles de déficit hídrico a las vides de Shyras y observaron que la concentración de compuestos polifenólicos aumentaron en pieles de bayas debido a la reducción del tamaño de la baya. Por otro lado en cuanto al crecimiento vegetativo de la planta un exceso de vigor como resultado de la excesiva humedad del suelo y altos niveles de nitrógeno disponible pueden disminuir la concentración de antocianos produciendo un impacto negativo (Jackson y Lombard, 1993).

La magnitud de los efectos del riego deficitario y la respuesta de la vid al estrés hídrico depende del periodo fenológico en el que se aplique, la cantidad de agua suministrada, la variedad de uva, las condiciones ambientales y de otras prácticas de cultivo asociadas al aporte de riego (Matthews *et al.*, 1987, Medrano *et al.*, 2003). El momento de aplicación del estrés hídrico resulta crucial en etapas previas al envero e inmediatamente posteriores, y según indica Castellarin *et al.*, (2007) se consigue una mayor o menor concentración de antocianos en los hollejos de Cabernet Sauvignon. Por otro lado, Shellie (2014) y Keller *et al.*, (2016) indican que en etapas previas al envero se inducen modificaciones metabólicas importantes en la baya. Por el contrario, los efectos del déficit hídrico posteriores al envero son más variables, evitando una generalización de sus influencias positivas o negativas (Girona *et al.*, 2009; Munitz *et al.*, 2017). Por lo general, la intensidad del estrés hídrico y su período de ocurrencia en el ciclo de crecimiento de la vid son de suma importancia. En zonas con escasez de agua, las prácticas de riego deficitario pueden ser una herramienta útil para manipular la composición de las y del vino tinto (Intrigliolo *et al.*, 2012) que conducen a cambios en las propiedades sensoriales del vino (Chapman *et al.*, 2005).

Por estos motivos resulta interesante estudiar el impacto y los efectos del déficit hídrico y la salinidad sobre la vid y la calidad y composición de las uvas obtenidas para elegir estrategias que permitan obtener vinos de calidad con las características organolépticas que deseamos teniendo en cuenta las limitaciones que se plantean los próximos años.

2. OBJETIVOS.

El presente trabajo persigue evaluar distintas estrategias de riego llevadas a cabo durante el periodo de maduración sobre uvas de la variedad Monastrell y así encontrar los efectos y el impacto que producen la cantidad de agua de riego suministrada al viñedo y su concentración de sales minerales sobre la composición polifenólica de los hollejos y las características finales del grano.

3. PLAN DE TRABAJO.

La experimentación estribó en poner a prueba diferentes estrategias de riego con aguas de diferente calidad sobre un viñedo en Fuente Álamo, 6 estrategias en total (denominadas como T1, T2, T3, T4, T5 y T6). El diseño del ensayo consistió en seccionar la parcela en 4 zonas, las cuales se subdividieron en 6 sectores de riego, uno para cada tratamiento, que integraban 192 cepas cada uno (ver la **Figura 2** donde se contempla la disposición de la parcela estudiada).

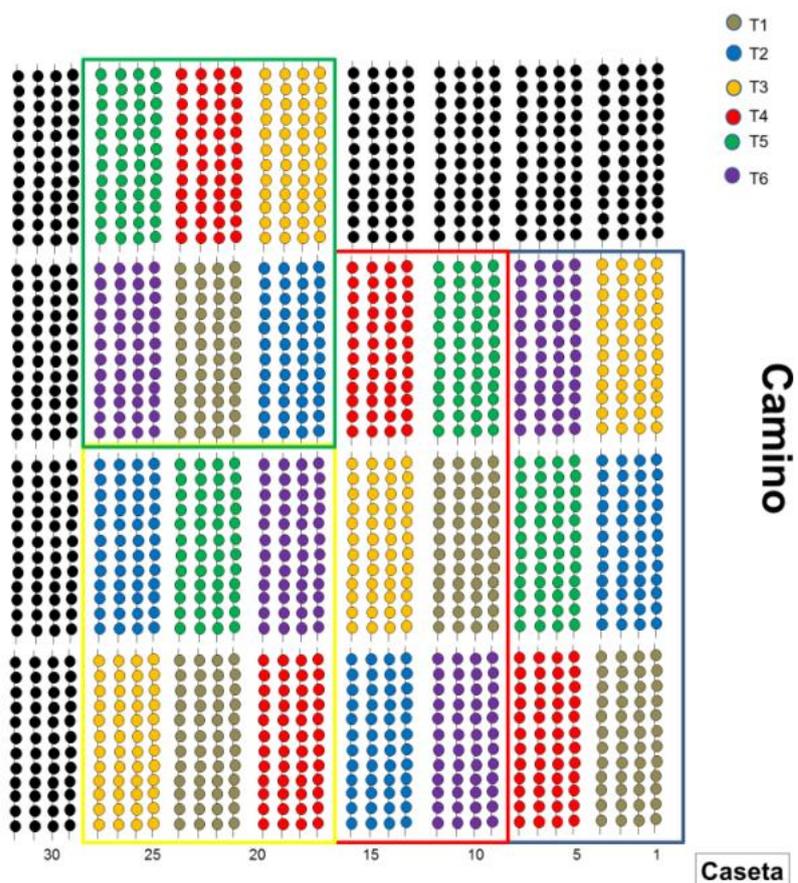


Figura 2. Disposición de los tratamientos experimentales en la parcela de estudio.

Previamente se realizaron las correspondientes modificaciones en las instalaciones para disponer de los diferentes tratamientos de manera independiente. La instalación de riego con la que contaba la finca disponía de un gotero por metro de tubería. Cada ensayo comprendía 28 filas. Los tratamientos se dispusieron en 4 filas. Cada repetición constaba de 40 cepas. En definitiva, el ensayo quedaba reducido a 1152 cepas siendo la superficie total ocupada para el ensayo aproximadamente 5184 m². Posteriormente se efectuó la vendimia de los racimos de uva y su correspondiente muestreo para llevar a cabo la experimentación.

Los diferentes tratamientos aplicados persiguen simular las posibles condiciones que pueden acontecer en los próximos años debido a las restricciones que planteará el cambio climático. Se tuvo en cuenta la disminución de la disponibilidad de agua y la creciente salinización de los suelos, que podrían suponer relevantes limitaciones para el cultivo de la vid si no se logran prácticas agronómicas que permitan obtener las mejores características finales del grano. Los tratamientos aplicados se encuentran detallados en la **Tabla 1**.

Para el estudio de la disponibilidad de agua se plantearon 3 tipos de condiciones: un régimen de secano en el que no se aplica ningún tipo de riego, un régimen de riego moderado en el que se suministra mayor cantidad de agua debido a que el periodo de aplicación de agua se distribuye a partir de la floración, y por último un régimen de riego deficitario en el que se suministra menor cantidad de agua debido el periodo de aplicación de agua se distribuye a partir del envero. Para el estudio de la creciente salinidad de los suelos se adicionaron al agua de riego sulfatos y cloruros básicos y se plantearon 3 tipos de condiciones: agua de riego de buena calidad que no provocaba efecto osmótico, agua de riego con una conductividad eléctrica de 4,0 dS/m de sulfato básico y por último agua de riego con una conductividad eléctrica de 4,0 dS/m de cloruros básicos. Por último, se combinaron las diferentes condiciones para plantear 6 tratamientos diferentes.

Tabla 1. Resumen detallado de los diferentes tratamientos aplicados a la parcela de estudio.

TRATAMIENTO	mm ³	CANTIDAD DE AGUA SUMINISTRADA	EFECTO OSMÓTICO o SALINIDAD DEL AGUA
T1	0,0	Secano, sin riego	
T2	111,4	Riego moderado, distribuido a partir de la floración.	Agua de "buena calidad" Sin efecto osmótico.
T3	114,3	Riego moderado, distribuido a partir de la floración.	Agua con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de sulfato básico.
T4	115,0	Riego moderado, distribuido a partir de la floración.	Agua con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de cloruros básicos.
T5	82,1	Riego deficitario, distribuido a partir del periodo de envero.	Agua con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de sulfato básico.
T6	81,2	Riego deficitario, distribuido a partir del periodo de envero.	Agua con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de cloruros básicos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA PARCELA DE ESTUDIO.

Las diferentes experiencias que se ejecutaron para llevar a cabo el estudio se realizaron sobre un viñedo que se encuentra situado en el término municipal de Fuente Álamo (Albacete) cuyas coordenadas geográficas son 38º 43' 43,3" Norte y 1º 28' 12,6" Oeste, y posee una altitud del terreno de 820 m y una pendiente media del 5%. La plantación cubre una superficie total que corresponde a 1,147 hectáreas. En la **Figura 3** se divide la disposición geográfica de la parcela.

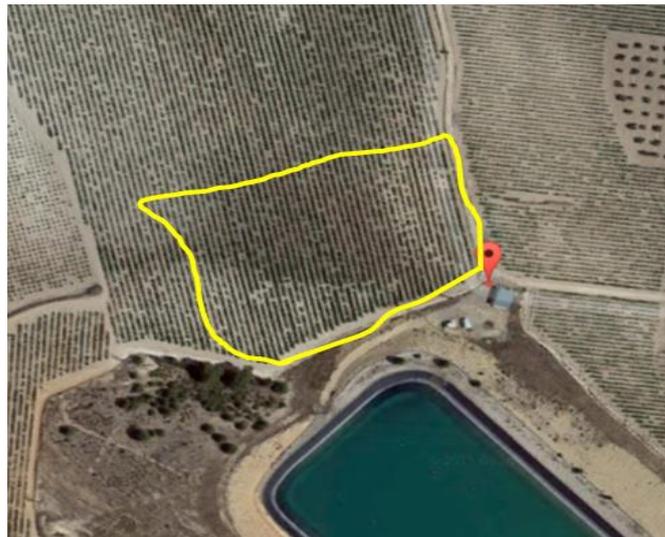


Figura 3. Instantánea aérea de la parcela de estudio en Fuente Álamo.

Dicho viñedo está constituido por cepas de la variedad Monastrell plantadas en 2007 cuyo marco de plantación es de 3 metros entre calles y 1,5 metros entre cepas, aproximadamente 2.222 cepas por hectárea. La orientación de las filas es Norte-Sur. El sistema de conducción constaba de un cordón doble. En la **Figura 4** se presenta una imagen tomada antes del experimento.



Figura 4. Instantánea de una de las cepas de la parcela de estudio.

4.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO A PARTIR DE LOS HOLLEJOS DE LAS BAYAS.

Para la obtención del extracto previamente se descongelaron las muestras 24 horas antes para su posterior procesado. Una vez transcurrido ese periodo de tiempo, se contaron y se pesaron 100 bayas de cada muestra, 50 bayas por duplicado, para obtener su peso promedio y se separaron los hollejos de la pulpa y las pepitas con la ayuda de un bisturí sobre una placa Petri con la superficie fría.

A continuación, se tomaron 10 g de los hollejos separados y se lavaron con una cantidad de 50 mL de agua destilada para eliminar azúcares y se introdujeron en un elenmeyer plástico con tapón con una solución hidroalcohólica compuesta al 10% etanol y 5g/L de ácido tartárico previamente preparada con una relación 1:9 (p/v). Se maceraron los hollejos en un baño a 50°C durante 2 horas a 75 rpm y después se filtró el contenido en un embudo con lana de vidrio. Por último se centrifugó el extracto obtenido a 4.000 rpm durante 15 minutos y se vertió el contenido líquido en 4 tubos Falcon y 2 viales Eppendorf, los cuales fueron almacenados a 14°C para minimizar la precipitación de compuestos fenólicos y para posteriormente hacer las determinaciones correspondientes.

4.3. DETERMINACIONES ESPECTOFOTOMÉTRICAS.

Se realizaron las siguientes determinaciones analíticas a cada uno de los extractos obtenidos a partir de los hollejos y se leyeron cada una de las muestras por triplicado. Los parámetros adquiridos fueron la intensidad colorante (IC), la concentración de antocianos totales, taninos condensados totales y catequinas y el índice de polifenoles totales (IPT).

4.3.1. Determinación de la intensidad colorante (IC).

La intensidad colorante (IC) nos proporciona información sobre los polifenoles responsables del color de los extractos de hollejo. Para su determinación se siguieron las pautas de los métodos oficiales de análisis de la UE (Comisión Europea, 1990). El color se cuantificó por la suma de las densidades ópticas a 420 (amarillo), 520 (rojo) y 620nm (azul), expresándolas en una cubeta de 10 mm de recorrido óptico de vidrio o cuarzo, con relación al agua destilada. La medida se realizó en un directamente del extracto, sin diluciones (Glories, 1978).

4.3.2. Determinación de antocianos totales.

Para su determinación se tomaron en un tubo de ensayo 0,2 mL de extracto a los que se le añadieron 3,8 mL de ácido clorhídrico 1 M y se taparon con parafilm. Se esperaron al menos 3 horas para posteriormente medir la absorbancia a 520 nm con una cubeta transparente a la radiación ultravioleta de cuarzo. También se realizaron las medidas a 280, 320 y 700 nm para verificar que las soluciones eran perfectamente transparentes (Ojeda *et al.*, 2002).

4.3.3. Determinación del índice de polifenoles totales (IPT).

Este índice valora la totalidad de los compuestos polifenólicos de los extractos por medición de la absorbancia a la longitud de onda que se escinde el grupo fenol. El método consistió en realizar diluciones 1/10 y 1/25 de los extractos (según la muestra) y medir la absorbancia de la muestra a 280 nm frente a agua destilada con una cubeta de cuarzo (Ribéreau-Gayon, 1974).

4.3.4. Determinación de taninos condensados totales.

Las proantocianidinas o taninos condensados 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 la formación de carbocationes que se transforman parcialmente en cianidina y catequinas si el medio es suficientemente oxidante (reacción de Bate-Smith). El 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 (Ribéreau-Gayon y Stonestreet 1966).

4.3.5. Determinación de catequinas.

El método de cuantificación de catequinas se fundamenta en la capacidad de la vainillina para reaccionar selectivamente con las posiciones seis y ocho de las moléculas de flavanoles, formando un compuesto de adición que, por eliminación de agua, forma un cromóforo rojo. Por tanto, la reacción de la vainillina con las procianidinas da coloraciones menos intensas cuanto más elevado sea el grado de polimerización de los taninos, ya que son menores los puntos de ataque libres. El procedimiento consistió en diluir el extracto 10 veces con agua desionizada. Posteriormente se introdujeron 1,5 mL en tubos de ensayo denominados Tubo A y Tubo B. En el tubo A se añadió 3 mL de ácido clorhídrico (35%), 1,5 mL de vainillina y 1,5 mL de alcohol etílico (96%). En el tubo B se añadió 3 mL de ácido clorhídrico y 3 mL de alcohol etílico, sin vainillina. Los tubos A se reservaron a la luz durante 15 min y posteriormente se midió la absorbancia de ambos tubos a 500 nm con una cubeta de 10 mm de paso óptico. La relación de catequinas viene dada por la diferencia de absorbancias entre el tubo A y el tubo B (Pompei y Peri, 1971).

4.4. DETERMINACIONES CON CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC).

La técnica HPLC utilizada en el presente trabajo se emplea para la cuantificación de antocianos pormenorizados y para estimación del grado medio de polimerización de proantocianidinas de los extractos de los hollejos.

4.4.1. Análisis de antocianos pormenorizados en hollejos.

Primeramente se prepararon los patrones de malvidina (67,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm y 500 ppm de malvidina) para obtener la recta patrón. Los patrones se analizaron de menor a mayor concentración mediante la técnica de HPLC basada en el método de Ferrer (2011), con la columna en fase reversa termostada a 35°C, pero con algunas modificaciones, siendo la fase móvil A una disolución acuosa al 0,1% de ácido trifluoroacético y la fase B acetonitrilo 100%. Dado que Ferrer (2011) emplea una columna de 150 mm, hemos tenido que adaptar los gradientes a la columna Gemini NX de 250 mm, resultando: 10% de B durante 4,8 minutos, un gradiente lineal de 10 a 15% de B en 19,2 minutos y de 30 a 35% de B en 8 minutos. El flujo de trabajo fue de 0,5 mL/min y el volumen inyectado de 60 µL. Los picos eluidos se monitorearon a 520 nm. Los extractos de hollejos guardados a 12°C en tubos eppendorf se centrifugaron y analizaron siguiendo las mismas condiciones que los patrones. El volumen inyectado fue de 60 µL. Después se procedió a la identificación de los picos por comparativa con los tiempos de retención de los patrones y utilizando la información sobre las características espectrales de los antocianos identificados en hollejos de Graciano presente en Ferrer (2011). Finalmente se expresaron los resultados en equivalentes de malvidina (ppm), haciendo uso de la recta patrón previamente obtenida. Después se obtuvieron las concentraciones de los antocianos glucosilados, acetilados, cumarilados y cafeicos.

4.4.2. Estimación del grado medio de polimerización (mDP) de proantocianidinas en hollejos.

El extracto de los hollejos guardado en tubos Falcon se filtró con un filtro de 0,45 µm. Del filtrado se purificaron mediante el uso de la resina Toyopearl las proantocianidinas de los hidratos de carbono y los monómeros de flavan-3-ol de bajo peso molecular, lavando primero con 5 volúmenes de columna de fase móvil 1:1 de metanol:agua al 0,1% v/v de ácido trifluoroacético, y luego se liberaron las proantocianidinas con 3 volúmenes de columna de fase móvil 2:1 de acetona:agua al 0,1% v/v de ácido trifluoroacético (Kennedy y Jones 2001). Finalmente se eliminó la acetona de la disolución con la ayuda de N₂ en un baño a 35°C. La muestra libre de acetona fue distribuida en flaneras y llevada a -40°C para luego ser liofilizada. El polvo resultante se guardó en viales dentro de un desecador para el posterior análisis del grado medio de polimerización de taninos mediante floroglucinólisis.

El polvo seco obtenido de la liofilización de los extractos de hollejos se sometió a la reacción con floroglucinol basada en el método de Kennedy y Jones (2001) con algunas modificaciones. Se preparó una disolución de HCl 0,1 N en metanol, conteniendo 50 g/L de floroglucinol y 10 g/L de ácido ascórbico. Se hizo reaccionar las proantocianidinas en forma de polvo seco (5 g/L) a una temperatura de 50 °C durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo se paró la reacción adicionando 2 volúmenes de una disolución de acetato de sodio 200 mM.

Los aductos de floroglucinol fueron analizados por HPLC en fase reversa utilizando un gradiente binario. Siendo la fase móvil A una disolución acuosa de ácido acético al 1% v/v y la fase móvil B, metanol 100%. Las condiciones de elución fueron: 5% de B por 10 minutos, un gradiente lineal de 5 a 20% de B en 20 minutos, 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% de B en 5 minutos antes de la siguiente inyección. El grado medio de polimerización (mDP) fue obtenido por la división de la totalidad de las subunidades identificadas (proantocianidinas terminales y de extensión) entre 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, multiplicando por 100. Finalmente el peso molecular promedio (aMW) se obtuvo a través de la proporción de cada molécula y del peso molecular.

4.5. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.

Con los valores obtenidos a partir de las diferentes determinaciones se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) simple para evaluar el efecto de cada tratamiento de forma individual y un análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial para comprobar si existen interacciones la cantidad de agua de riego suministrada y la composición del agua de riego. Para ello se hizo uso del programa informático *STATGRAPHICS Centurion X64*. El nivel de confianza utilizado fue del 95% y se utilizó un valor $p < 0,05$ para indicar posibles diferencias significativas entre los parámetros.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En primer lugar, se realizó un análisis para evaluar el efecto de todos los tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5 y T6) sobre los distintos parámetros analizados por espectrofotometría y los pesos, evaluando las posibles diferencias significativas que se podían producir entre cada uno de los tratamientos. En segundo lugar, se efectuó un análisis para evaluar el efecto de la cantidad de agua suministrada sobre los distintos parámetros a analizar, evaluando las posibles diferencias significativas que se podían producir entre cada uno de los niveles de riego aplicados. Para ello se agruparon los tratamientos según el régimen de riego que se aplicaba en cada uno de ellos: régimen de secano sin riego (T1), riego moderado distribuido a partir de la floración (T2, T3, T4), y por último riego deficitario distribuido a partir del invierno (T5 y T6). En tercer lugar se realizó un análisis para evaluar el efecto de la salinidad del agua de riego sobre los distintos parámetros a analizar, evaluando las posibles diferencias significativas que se podían producir entre cada uno de los tipos de riego aplicados. Para ello se agruparon los grupos según la composición de sales adicionadas: agua de riego de buena calidad (T1), agua de riego con una conductividad eléctrica de 4,0 dS/m de sulfato básico (T3 y T5), y por último agua de riego con una conductividad eléctrica de 4,0 dS/m de cloruros básicos (T4 y T6). Después se estudió la posible interacción entre la cantidad de agua suministrada y la salinidad del agua de riego.

Por último, se repitieron los análisis estadísticos con los resultados obtenidos mediante el análisis de antocianos pormenorizados y del grado medio de polimerización (mDP) de taninos en los hollejos mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

5.1. ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE DISTINTOS TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE EL PESO DE 100 BAYAS, EL PESO DE LOS HOLLEJOS DE 100 BAYAS Y LA COMPOSICIÓN DEL EXTRACTO DE LOS HOLLEJOS.

Los resultados obtenidos para los parámetros “peso de 100 bayas” y “peso de los hollejos de 100 bayas” se recogen en la **Tabla 2**, que refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Tabla 2. Promedio y desviación típica del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

	Tratamiento	Peso 100 bayas (g)	Peso hollejos 100 bayas (g)	% hollejos/baya
T1	Secano	141,08 ± 15,87 a	27,09 ± 4,52 a	19,16 ± 1,93 a
T2	Riego moderado. Agua de buena calidad	183,33 ± 29,76 c	37,32 ± 5,51 d	20,41 ± 1,18 bc
T3	Riego moderado. Agua con sulfato básico	170,16 ± 23,09 bc	33,43 ± 4,32 bc	19,73 ± 1,75 ab
T4	Riego moderado. Agua con cloruros básicos	169,14 ± 17,52 b	35,20 ± 3,75 cd	20,84 ± 1,22 c
T5	Riego deficitario- Agua con sulfato básico	145,63 ± 28,27 a	28,92 ± 5,71 a	19,85 ± 0,27 ab
T6	Riego deficitario. Agua con cloruros básicos	161,57 ± 22,88 b	31,90 ± 3,90 b	19,81 ± 0,84 ab
	Razón- F	11,160	16,130	4,700
	Valor- P	0,000	0,000	0,000

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según los resultados de la **Tabla 2** se observa que hay diferencias significativas entre los valores correspondientes a los diferentes tratamientos para ambos parámetros porque el valor *P* es menor a 0,05. Se puede comprobar que los valores aumentan en aquellos tratamientos en los que el riego es moderado (T2, T3 y T4). Por otro lado, se observa que en los tratamientos en régimen de secano y riego deficitario (T1, T5, T6) se produce un menor incremento de los valores. Además, cuando se analiza la proporción de hollejo/uva también se encuentran diferencias significativas, obteniéndose valores comprendidos entre 19,16 y 20,84%. Esto puede traducirse en que el tipo de tratamiento influye en el peso de las bayas y de los hollejos y se produce un incremento de los dos parámetros cuanto mayor es la cantidad de agua suministrada. En régimen de riego moderado se observa que el tratamiento que utiliza agua de buena calidad (T2) incrementa el valor de estos parámetros en comparación con los tratamientos en los que el agua está compuesta por sulfato y cloruros básicos (T3 y T4). En régimen de riego deficitario, se observa que el tratamiento que utiliza agua con cloruros básicos (T6) incrementa el valor de estos parámetros en comparación con el tratamiento en el que el agua está compuesta por sulfato básico (T5). Esto puede traducirse en que la composición salina repercute en los pesos en los distintos periodos en los que se puede aplicar el riego.

A continuación, los resultados obtenidos mediante determinaciones espectrofotométricas realizadas a los extractos de los hollejos se recogen en las **Tablas 3 y 4**, que reflejan el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Tabla 3. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de los hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Tratamiento	Antocianos (mg/g hollejo)	Antocianos (mg/g uva)	IPT extracto hollejos	IC extracto hollejos
T1	4,13 ± 1,18 c	0,67 ± 0,19 c	30,59 ± 7,44 d	23,42 ± 8,58 c
T2	2,09 ± 1,30 a	0,34 ± 0,21 a	20,31 ± 7,98 a	12,45 ± 8,56 a
T3	2,28 ± 1,02 a	0,37 ± 0,17 a	27,27 ± 3,23 c	19,58 ± 0,92 b
T4	2,55 ± 0,54 a	0,41 ± 0,09 a	23,95 ± 2,36 b	19,13 ± 0,78 b
T5	3,64 ± 0,83 bc	0,59 ± 0,13 bc	29,65 ± 6,20 cd	21,55 ± 6,53 bc
T6	3,14 ± 0,69 b	0,51 ± 0,11 b	30,50 ± 2,64 d	24,43 ± 2,57 c
Razón- F	16,820	16,810	13,760	13,370
Valor- P	0,000	0,000	0,000	0,000

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos; T5= Riego deficitario, agua con sulfato básico; T6= Riego deficitario, agua con cloruros básicos. Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según los resultados reflejados en la **Tabla 3** se observa que hay diferencias significativas entre los valores correspondientes a los diferentes tratamientos para todos los parámetros porque el valor P es menor a 0,05 en todos ellos. Con respecto a la concentración de antocianos, se puede comprobar que los valores aumentan en aquellos tratamientos en régimen de secano y de riego deficitario (T1, T5 y T6). Por otro lado, se observa que en los tratamientos en los que el riego es moderado (T2, T3, T4) se produce un menor incremento de los valores. También se muestra en los resultados de la intensidad colorante (IC) que hay una clara superioridad de los valores obtenidos en los tres tratamientos de menor aporte hídrico con respecto al resto, y tienen una relación proporcional a los valores de antocianos, debido a que estos compuestos son los principales responsables del color característico de los hollejos, y por lo tanto la intensidad colorante irá aumentando conforme lo haga la cantidad de antocianos. Además, como estos tratamientos corresponden a las uvas con valores inferiores en los parámetros “peso de 100 bayas” y “peso de los hollejos de 100 bayas” (**Tabla 1**), aunque la proporción de hollejo/uva sea similar se modifica la síntesis de antocianos en condiciones de restricción de agua. En el caso del índice de polifenoles totales (IPT) se muestra también una superioridad de los valores correspondientes a los tratamientos T1, T5 y T6 sobre el resto. Este parámetro corresponde al sumatorio de todos los polifenoles, mayoritariamente antocianos y taninos, por lo que los mayores valores de IPT corresponden a aquellas muestras con una mayor concentración de antocianos y taninos.

Por otra parte, en este estudio como indica la **Tabla 4**, los resultados de la concentración de taninos muestran que no hay diferencias significativas entre los valores correspondientes a los diferentes tratamientos. Esto quiere decir que el riego no influye de manera significativa en la síntesis de taninos. Simplemente se puede observar que el valor es ligeramente mayor en el tratamiento en régimen de secano. Por el contrario, los valores de la concentración de catequinas indican que hay diferencias significativas entre los tratamientos porque el valor P es menor a 0,05, y se observa que hay un incremento en aquellos tratamientos que se encuentran en un régimen de secano y riego deficitario, es decir, T1, T5 y T6. Por otro lado, se observa que en los tratamientos en los que el riego es moderado (T2, T4) se produce un menor incremento de los valores, exceptuando el tratamiento T3 en régimen de riego moderado con sulfato básico añadido, cuyos valores son mayores.

Si se comparan los valores obtenidos en función de la composición del agua de riego en cada uno de los periodos, se puede comprobar que, en régimen de riego moderado, distribuido a partir de la floración, el tratamiento que utiliza sulfato básico (T3) incrementa el valor en los parámetros IC, IPT y catequinas en comparación con los tratamientos en los que se utiliza agua de buena calidad y/o agua con cloruros básicos (T2 y T4). Sin embargo, la composición del agua de riego no influye en la concentración de antocianos y taninos ya que no hay diferencias significativas en este periodo. En régimen de riego deficitario, distribuido a partir del envero, se observa que la composición del agua de riego no influye en los parámetros IC, IPT, taninos y catequinas, pero sí se observa que provoca diferencias significativas la composición del agua de riego en la concentración de antocianos, y se incrementa el valor cuando se utiliza agua de riego con sulfatos (T5) a partir del envero.

Tabla 4. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Tratamiento	Taninos (mg/g hollejo)	Taninos (mg/g uva)	Catequinas (mg/g hollejo)*1000	Catequinas (mg/g uva)*1000
T1	7,96 ± 1,27 a	1,53 ± 0,29 a	4,72 ± 2,86 abc	0,93 ± 0,59 ab
T2	7,46 ± 1,79 a	1,53 ± 0,42 a	3,13 ± 2,53 a	0,65 ± 0,54 a
T3	7,38 ± 0,93 a	1,46 ± 0,23 a	6,12 ± 3,81 cd	1,22 ± 0,80 bc
T4	6,94 ± 0,64 a	1,45 ± 0,16 a	3,67 ± 2,77 ab	0,77 ± 0,59 ab
T5	7,05 ± 1,76 a	1,40 ± 0,35 a	5,91 ± 4,16 bcd	1,17 ± 0,83 bc
T6	6,89 ± 2,64 a	1,35 ± 0,52 a	7,83 ± 7,23 d	1,58 ± 1,47 c
Razón- F	1,470	0,980	4,100	3,700
Valor- P	0,204	0,431	0,002	0,004

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos; T5= Riego deficitario, agua con sulfato básico; T6= Riego deficitario, agua con cloruros básicos. Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Hay que tener en cuenta que como cada tratamiento difiere en las variables “cantidad de agua suministrada” y “salinidad del agua”, no resulta procedente realizar un estudio estadístico con estos valores tomando como único factor a analizar el tratamiento, sino que es necesario tener en cuenta el resto de factores, cuyos resultados se muestran más adelante. A continuación, se ha realizado el tratamiento estadístico de los datos con el fin de conocer los efectos de la cantidad de agua suministrada y la salinidad del agua de riego y la posible interacción entre ellos sobre el peso de 100 bayas, el peso de los hollejos de 100 bayas y la composición del extracto de los hollejos.

5.2. EFECTO DE LA CANTIDAD DE AGUA DE RIEGO SUMINISTRADA SOBRE EL PESO DE 100 BAYAS, EL PESO DE LOS HOLLEJOS DE 100 BAYAS Y LA COMPOSICIÓN DEL EXTRACTO DE LOS HOLLEJOS.

En las **Tablas 5, 6 y 7** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para evaluar el efecto individual de los niveles de riego en los diferentes parámetros. Los resultados obtenidos para los parámetros “peso de 100 bayas” y “peso de los hollejos de 100 bayas” se recogen en la **Tabla 5**, que refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Según los resultados de la **Tabla 5** se observa que hay diferencias significativas entre los valores correspondientes a las diferentes cantidades de agua suministradas para ambos parámetros porque el valor *P* es menor a 0,05. Se puede comprobar que los valores aumentan en aquellos tratamientos en los que el riego es moderado, siendo el aporte hídrico mayor (T2, T3 y T4). Por otro lado, se observa que un menor suministro de agua como en los tratamientos sin riego o con riego deficitario (T1, T5 y T6) produce un menor incremento de los pesos de bayas y hollejos. El régimen sin riego tiene consecuencias claras sobre estos parámetros, ya que se han obtenido los valores de pesos más pequeños. Esto puede traducirse en que la cantidad de agua de riego influye en el peso de las bayas y de los hollejos, y se produce un incremento de los dos parámetros cuanto mayor es la cantidad de agua suministrada.

Tabla 5. Promedio y desviación típica del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Peso 100 bayas (g)	Peso hollejos 100 bayas (g)	% hollejos/ baya
Sin riego	141,08 ± 15,87 a	27,09 ± 4,52 a	19,16 ± 1,93 a
Riego moderado	174,21 ± 24,52 c	35,31 ± 4,80 c	19,82 ± 0,61 b
Riego deficitario	153,60 ± 26,69 b	30,41 ± 5,07 b	20,33 ± 1,46 c
Razón- F	21,180	31,440	7,220
Valor- P	0,000	0,000	0,001

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Los estudios realizados por Shellie (2014) y Keller *et al.*, (2016) indican que en etapas previas al envero, el aporte de agua induce modificaciones metabólicas importantes en la baya y esto podría explicar el aumento de los pesos de bayas y de hollejos. Diversos estudios indican que el crecimiento de las bayas es más sensible al aporte hídrico en etapas tempranas del desarrollo de la fruta (Girona *et al.*, 2009), entre floración y envero. Esto podría explicar que los pesos fueran mayores cuando el riego se distribuye a partir de la floración que cuando se aporta después del envero o en tratamientos de secano. Asimismo, Gil y Pszczółkowski (2007), consideran que los parámetros se ven más afectados cuando se aplica el agua antes del envero que después de éste. A su vez, Gil y Pszczółkowski (2007) y Bucchetti *et al.*, (2011) indican que el déficit hídrico de la vid conlleva a una reducción del peso y el tamaño de la baya causada por una disminución del contenido en agua de la misma. La pulpa de la baya es la parte que tiene un mayor contenido en agua y resulta lógico que se vea afectada por la cantidad de agua suministrada. Las reducciones en el tamaño de la baya se consideran deseables desde el punto de vista de la calidad de la uva para vinificación porque la relación superficie del hollejo/volumen de las bayas pequeñas es mayor que la de las bayas grandes (Casassa *et al.*, 2015).

A continuación, los resultados obtenidos mediante determinaciones espectrofotométricas realizadas a los extractos de los hollejos se recogen en las **Tablas 6 y 7**, que reflejan el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamientos y acompañadas de su desviación típica.

Según los resultados, se observa que hay diferencias significativas en todos los parámetros analizados, para las diferentes cantidades de agua suministrada, tal y como se refleja en la **Tabla 6** porque el valor P es menor a 0,05. Con respecto a la concentración de antocianos, se puede comprobar que los valores aumentan en aquellos tratamientos que se encuentran en un régimen de secano y de riego deficitario de agua, aunque es el régimen de secano el que mayores concentraciones refleja. Por otro lado, se observa que un mayor suministro de agua (riego moderado) produce un menor incremento de los valores. También se muestra en los resultados de la intensidad colorante (IC), que hay una clara superioridad de los valores obtenidos en los tres tratamientos de riego deficitario y sin riego con respecto al resto, y tienen una relación proporcional con los valores de antocianos debido a que estos compuestos son los principales responsables del color característico de los hollejos, y por lo tanto la intensidad colorante irá aumentando conforme lo haga la cantidad de antocianos. En el caso del índice de polifenoles totales (IPT) se muestra también una superioridad de los valores correspondientes a los tratamientos con menor aporte de agua sobre el resto. Este parámetro corresponde al sumatorio de todos los polifenoles, mayoritariamente antocianos y taninos, por lo que los mayores valores de IPT corresponden a aquellas muestras con una mayor concentración de antocianos y taninos.

Tabla 6. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Antocianos (mg/g hollejo)	Antocianos (mg/g uva)	IPT extracto hollejos	IC extracto hollejos
Sin riego	4,13 ± 1,18 c	0,67 ± 0,19 c	30,59 ± 7,44 b	23,42 ± 8,58 b
Riego moderado	2,31 ± 1,01 a	0,37 ± 0,16 a	23,84 ± 5,83 a	17,05 ± 5,91 a
Riego deficitario	3,39 ± 0,80 b	0,55 ± 0,13 b	30,07 ± 4,73 b	22,99 ± 5,12 b
Razón- F	38,190	38,190	22,000	17,400
Valor- P	0,000	0,000	0,000	0,000

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Sin embargo, tal y como se puede observar en la **Tabla 7**, los resultados de la concentración de taninos muestran que no hay diferencias significativas entre los valores correspondientes a las diferentes dosis de agua suministrada. Esto quiere decir que la cantidad de agua suministrada por los tratamientos no influye de manera significativa en la síntesis de taninos. Simplemente, se puede observar un ligero aumento de la concentración de taninos en régimen de secano. Por el contrario, los valores de la concentración de catequinas indican que hay diferencias significativas entre los tratamientos porque el valor P es menor a 0,05 y se observa que hay un incremento en aquellos tratamientos que se encuentran en un régimen de riego deficitario, pero esto no ocurre cuando se somete a régimen de secano. Por otro lado, se observa que un mayor suministro de agua como en los tratamientos con riego moderado, produce un descenso de los valores, comparados con los de riego deficitario.

Tabla 7. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Taninos (mg/g hollejo)	Taninos (mg/g uva)	Catequinas (mg/g hollejo)*1000	Catequinas (mg/g uva)*1000
Sin riego	7,96 ± 2,22 a	1,53 ± 0,29 a	4,72 ± 2,86 a	0,93 ± 0,59 a
Riego moderado	7,26 ± 1,23 a	1,48 ± 0,29 a	4,30 ± 3,32 a	0,88 ± 0,69 a
Riego deficitario	6,97 ± 1,27 a	1,38 ± 0,44 a	6,87 ± 5,92 b	1,38 ± 1,20 b
Razón- F	2,950	1,960	5,320	4,900
Valor- P	0,056	0,145	0,006	0,009

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según Esteban *et al.*, (2001), la aplicación de riego puede afectar de forma importante al contenido final de polifenoles. Sin embargo, este efecto presenta importantes variaciones en relación con la variedad y dosis y el calendario de riego (Matthews *et al.*, 1988). El momento de aplicación del riego resulta crucial en etapas previas al envero e inmediatamente posteriores, y según indica Castellarin *et al.*, (2007) se consigue una mayor o menor concentración de antocianos en los hollejos de Cabernet Sauvignon. Esto podría explicar que haya variaciones entre los distintos regímenes de riego aplicados. Por lo general, la intensidad del estrés hídrico y su período de ocurrencia en el ciclo de crecimiento de la vid son de suma importancia.

Diferentes estudios reflejan un efecto negativo del riego moderado en la riqueza polifenólica en extractos de hollejos, y hacen notar que los polifenoles son particularmente sensibles a las variaciones hídricas de la planta (Matthews *et al.*, 1990). Los polifenoles son sintetizados por una ruta biosintética que viene modulada por las prácticas de riego (Kennedy y Cohen, 2010). Se ha demostrado que el déficit hídrico efectivamente regula la expresión de genes que afectan a la biosíntesis de las antocianinas y taninos (Castellarin y Di Gaspero, 2007), y por este motivo el riego suministrado al viñedo afecta a la acumulación de compuestos polifenólicos que se encuentran en la piel de la baya, es decir, en el hollejo y también se considera una herramienta útil para aumentar el contenido en estos compuestos y así mejorar la calidad de las uvas tintas y consecuentemente la del vino obtenido a partir de estas (Kennedy *et al.*, 2002).

En general, un estrés hídrico reduce el peso de las bayas, pero aumenta las concentraciones de antocianinas totales y concentraciones de compuestos polifenólicos en las uvas tintas (Romero *et al.*, 2010). Gracias a una reducción del tamaño de la baya se crean condiciones microclimáticas óptimas en los racimos, caracterizadas por una menor humedad relativa y una mayor iluminación de las bayas así como un incremento en la relación entre el hollejo y la pulpa, un aspecto fundamental debido a que la mayor parte de los compuestos orgánicos del vino que determinan su coloración, sabor y aroma se encuentran en la piel del fruto, en los hollejos (Esteban *et al.*, 2001).

Por todos estos motivos se puede afirmar que la concentración de polifenoles es mayor en regímenes de secano y riego deficitario, a excepción de los taninos en los que no se encuentran diferencias significativas, que en regímenes de riego moderado, debido a que el suministro de agua influye en los diferentes parámetros.

5.3. EFECTO DEL LA SALINIDAD DEL AGUA DE RIEGO SOBRE EL PESO DE 100 BAYAS, EL PESO DE LOS HOLLEJOS DE 100 BAYAS Y LA COMPOSICIÓN DEL EXTRACTO DE LOS HOLLEJOS.

En las **Tablas 8, 9 y 10** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para evaluar el efecto individual de la composición salina del agua de riego sobre los diferentes parámetros. Los resultados obtenidos para los parámetros “peso de 100 bayas” y “peso de los hollejos de 100 bayas” se recogen en la **tabla 8**, que refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Tabla 8. Promedio y desviación típica del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Peso 100 bayas (g)	Peso hollejos 100 bayas (g)	% hollejos/ baya
Agua de Buena calidad	183,33 ± 29,76 a	37,32 ± 5,51 a	19,15 ± 1,93 a
Agua con Sulfato básico	157,90 ± 28,38 b	31,17 ± 5,51 b	20,41 ± 1,18 ab
Agua con Cloruro básico	165,35 ± 20,52 b	33,55 ± 4,14 b	19,79 ± 1,24 b
Razón- F	12,680	19,110	5,180
Valor- P	0,000	0,000	0,002

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según los resultados de la **tabla 8** se observa que hay diferencias significativas entre los valores correspondientes a las diferentes composiciones de agua de riego para ambos parámetros porque el valor *P* es menor a 0,05. Se puede comprobar, que los valores aumentan en el tratamiento en régimen de riego con agua de buena calidad, en relación a aquellos regímenes de aguas con concentraciones salinas, que conllevan unos menores valores de los parámetros. Sin embargo, no hay diferencias significativas entre los dos tipos de aguas salinas ensayados. Por lo que la composición de sales del agua de riego influye en el peso de las bayas y de los hollejos, y produce un incremento de ambos parámetros cuanto mejor sea la calidad del agua suministrada y con menor salinidad. Esto puede deberse a lo indicado en un estudio que refleja el efecto perjudicial de la salinidad en el crecimiento de la baya causado por un efecto osmótico en el cual el aumento de la concentración de sales solubles del suelo impone una sequía osmótica en la planta, en el cual las concentraciones de iones de cloro y azufre aumentan (Marschner, 1986). Según Aragüés *et al.*, (2014) el rendimiento y el peso de la baya tienden a declinar con el aumento de sales en el agua de riego.

A continuación, los resultados obtenidos mediante determinaciones espectrofotométricas realizadas a los extractos de los hollejos se recogen en las **Tablas 9 y 10**, que reflejan el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Las concentraciones de iones salinos son de suma importancia en relación con la estructura del suelo, el rendimiento de la vid y la composición de las bayas y el vino resultante de ellas (Laurenson *et al.*, 2012; Netzer *et al.*, 2014). La concentración de sales impone un efecto osmótico en el cual aumenta concentración de sales solubles de la solución del suelo y se produce una sequía osmótica en la planta (Marschner, 1986). Este efecto osmótico provoca la concentración de los compuestos polifenólicos de uvas tintas, aumentando su contenido por gramo de uva y gramo de hollejo.

Tabla 9. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Antocianos (mg/g hollejo)	Antocianos (mg/g uva)	IPT extracto hollejos	IC extracto hollejos
Agua de Buena calidad	2,09 ± 1,30 a	0,34 ± 0,21 a	20,31 ± 7,98 a	12,45 ± 8,56 a
Agua con Sulfato básico	2,96 ± 1,15 b	0,48 ± 0,19 b	28,46 ± 5,03 b	20,57 ± 4,72 b
Agua con Cloruro básico	2,84 ± 0,68 b	0,46 ± 0,11 b	27,22 ± 4,13 a	21,78 ± 3,27 b
Razón- F	15,620	15,620	14,660	17,190
Valor- P	0,000	0,000	0,000	0,000

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según los resultados se observa que riego con agua de distinta composición provocan diferencias significativas entre los valores de los parámetros analizados (**tabla 9**) obteniéndose un valor *P* inferior a 0,05. Se puede comprobar que la concentración de antocianos y los valores de IC e IPT aumentan con el tratamiento de riego con aguas con sales. Por otro lado, se observa que el riego con agua de buena calidad, produce una menor concentración de antocianos, IPT e IC. Sin embargo, el tipo de sales aportadas a las aguas salinas (cloruros o sulfatos), no provoca diferencias significativas en la concentración de antocianos, IPT e IC. La presencia de sales en el agua de riego influye en la concentración de compuestos polifenólicos de los hollejos, produciendo un incremento de los parámetros con agua de riego con concentraciones de sulfato básico y cloruros básicos.

Sin embargo, en este estudio como indica la **Tabla 10**, los resultados de las concentraciones de taninos y catequinas muestran que la calidad del agua no afecta a la concentración de taninos y catequinas en las uvas ($P > 0,05$). La concentración de catequinas es ligeramente inferior en las uvas regadas con agua sin sales.

Tabla 10. Promedio y desviación típica de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Taninos (mg/g hollejo)	Taninos (mg/g uva)	Catequinas (mg/g hollejo)*1000	Catequinas (mg/g uva)*1000
Agua de Buena calidad	7,46 ± 1,79 a	1,53 ± 0,42 a	3,13 ± 2,53 a	0,65 ± 0,54 a
Agua con Sulfato básico	7,21 ± 1,40 a	1,43 ± 0,30 a	6,01 ± 3,95 a	1,19 ± 0,81 a
Agua con Cloruro básico	6,91 ± 1,90 a	1,40 ± 0,38 a	5,75 ± 5,81 a	1,17 ± 1,18 a
Razón- F	2,300	1,240	2,720	2,490
Valor- P	0,080	0,296	0,051	0,063

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

5.4. INTERACCIÓN ENTRE LA CALIDAD DEL AGUA APLICADA Y EL RÉGIMEN DE RIEGO, MODERADO O DEFICITARIO

En las siguientes tablas se incluye el resumen estadístico realizado para estudiar la posible interacción entre la cantidad de agua de riego suministrada y de la composición salina del agua de riego. Los resultados obtenidos para los parámetros “peso de 100 bayas” y “peso de los hollejos de 100 bayas” se recogen en la **Tabla 11**, que refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas.

Según los resultados de la **tabla 11** se observa que no hay diferencias significativas para ambos parámetros porque el valor *P* es mayor a 0,05. La interacción entre la cantidad de agua de riego suministrada y la salinidad del agua de riego no produce un efecto significativo sobre los valores del peso de 100 bayas y del peso de los hollejos de 100 bayas. Se puede observar que se produce ligeramente un aumento en el peso de los hollejos en un régimen moderado con cloruros en su composición, al igual que en riego deficitario.

Tabla 11. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego del peso de 100 bayas y el peso de los hollejos de 100 bayas en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Peso 100 bayas (g)	Peso hollejos 100 bayas (g)	%hollejos/baya
Riego moderado- Sulfato básico	170,16 ± 23,09	33,43 ± 43,32	19,74 ± 1,75
Riego moderado- Cloruro básico	169,14 ± 17,52	35,20 ± 3,75	19,84 ± 0,27
Riego deficitario- Sulfato básico	145,63 ± 28,27	28,90 ± 5,71	20,84 ± 1,22
Riego deficitario- Cloruro básico	161,57 ± 22,88	31,90 ± 3,90	19,81 ± 0,83
Valor- P (Cantidad de agua x Salinidad del agua)	0,077	0,509	0,017

A continuación, se exponen los resultados obtenidos mediante determinaciones espectrofotométricas realizadas a los extractos de los hollejos en las **Tablas 12 y 13**, que reflejan el promedio de todas las repeticiones realizadas, así como la interacción entre el aporte de agua y el tipo de salinidad (cloruro básico o sulfato básico).

Según los resultados se observa hay interacción entre el momento del aporte de agua y su composición (**tabla 12**) porque el valor *P* es menor a 0,05. Se puede comprobar que se obtienen mayores concentraciones de antocianos con riego deficitario distribuido a partir del envero y con agua de riego con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de sulfato básico que cuando se aplica agua con cloruro básico. Pero esta tendencia se invierte cuando se aplica el agua antes de la floración, siendo más bajos los valores obtenidos de antocianos cuando se riega con agua con sulfato básico. Los valores de IC y de IPT de los extractos de hollejos son ligeramente mayores en régimen de riego deficitario distribuido a partir del envero y con agua de riego con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de cloruro básico.

Tabla 12. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Antocianos (mg/g hollejo)	Antocianos (mg/g uva)	IPT extracto hollejos	IC extracto hollejos
Riego moderado- Sulfato básico	2,28 ± 1,02	0,37 ± 0,17	27,27 ± 3,23	19,58 ± 0,92
Riego moderado- Cloruro básico	2,55 ± 0,54	0,41 ± 0,09	23,95 ± 2,36	19,13 ± 0,78
Riego deficitario- Sulfato básico	3,64 ± 0,83	0,59 ± 0,13	29,65 ± 6,20	21,55 ± 6,53
Riego deficitario- Cloruro básico	3,14 ± 0,69	0,51 ± 0,11	30,50 ± 2,64	24,43 ± 2,57
Valor- P (Cantidad de agua x Salinidad del agua)	0,018	0,018	0,011	0,024

Los resultados mostrados en la **Tabla 13** muestran, que existe interacción entre la composición del agua y el momento en el que se aplica, únicamente para la concentración de catequinas. Se puede observar que en régimen de riego deficitario distribuido a partir del envero con agua de riego con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de cloruros básicos la concentración de catequinas es ligeramente mayor que si se usa el agua con sulfato básico. Por el contrario, no hay interacción entre la calidad del agua y el régimen de riego en la concentración de taninos porque el valor *P* es mayor a 0,05.

Tabla 13. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego de la composición de los extractos de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Taninos (mg/g hollejo)	Taninos (mg/g uva)	Catequinas (mg/g hollejo)*1000	Catequinas (mg/g uva)*1000
Riego moderado- Sulfato básico	7,38 ± 0,93	1,46 ± 0,23	6,12 ± 3,81	1,22 ± 0,80
Riego moderado- Cloruro básico	6,94 ± 0,64	1,45 ± 0,16	3,67 ± 2,77	0,77 ± 0,59
Riego deficitario- Sulfato básico	7,05 ± 1,76	1,40 ± 0,35	5,91 ± 4,16	1,17 ± 0,83
Riego deficitario- Cloruro básico	6,89 ± 2,64	1,35 ± 0,52	7,83 ± 7,23	1,58 ± 1,47
Valor- P (Cantidad de agua x Salinidad del agua)	0,685	0,802	0,028	0,036

5.5. ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANOS PORMENORIZADOS PRESENTES EN EL EXTRACTO DE HOLLEJOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC).

Las concentraciones de antocianos en el extracto de los hollejos se recopilaron en 4 grupos basándose en la esterificación o no del carbono 6 del anillo de glucosa con ácido acético, cumárico o cafeico (Cheynie *et al.*, 2000). La fracción de los antocianos glucosilados, carentes de esterificación en la molécula de glucosa, está compuesta por: delphinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, petunidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y malvidina-3-glucósido. La fracción de antocianos acetilados esterificados con ácido acético está compuesta por: acetato de peonidina y acetato de malvidina. La fracción de los antocianos cumarilados con ácido cumárico en su estructura está compuesta por: cumarato de delphinidina-trans, cumarato de cianidina-trans, cumarato de petunidina-trans y cumarato de peonidina-trans. Por último, la fracción de los antocianos cafeicos con ácido cafeico en su estructura está formada por cafeinina-trans. Los antocianos más abundantes en la uva son los antocianos glucosilados, siendo la malvidina-3-glucósido el compuesto mayoritario. Según Ribéreau-Gayon *et al.*, (2000) la malvidina es el compuesto coloreado más abundante en las uvas, desde el 90% en la variedad Garnacha hasta por debajo de 50% en la Sangiovese. Los resultados obtenidos para las concentraciones de las cuatro fracciones de antocianos totales se recogen en la **Tabla 14**, que refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Tabla 14. Promedio y desviación típica de las concentraciones de las cuatro fracciones de antocianos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Tratamiento	Antocianos glucosilados totales (mg/g hollejo)	Antocianos acetilados totales (mg /g hollejo)	Antocianos cumarílicos totales (mg/g hollejo)	Antocianos cafeicos totales (mg/g hollejo)
T1	0,88 ± 0,52 a	0,04 ± 0,02 a	0,11 ± 0,07 a	0,01 ± 0,00 a
T2	0,93 ± 0,02 a	0,05 ± 0,00 a	0,11 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
T3	0,88 ± 0,06 a	0,04 ± 0,01 a	0,11 ± 0,01 a	0,01 ± 0,00 a
T4	0,86 ± 0,04 a	0,05 ± 0,01 a	0,09 ± 0,03 a	0,01 ± 0,00 a
T5	0,88 ± 0,09 a	0,05 ± 0,02 a	0,11 ± 0,05 a	0,01 ± 0,01 a
T6	1,13 ± 0,30 a	0,05 ± 0,01 a	0,14 ± 0,02 a	0,01 ± 0,01 a
Razón-F	0,970	0,760	1,180	2,450
Valor- P	0,451	0,588	0,337	0,051

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos; T5= Riego deficitario, agua con sulfato básico; T6= Riego deficitario, agua con cloruros básicos. Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según los resultados de la **Tabla 14** no se observan diferencias significativas entre los tratamientos para las concentraciones de las cuatro fracciones de antocianos identificadas en los extractos de los hollejos. Únicamente se observa un ligero aumento de los antocianos glucosilados y cumarílicos cuando se someten a un tratamiento de riego deficitario con concentraciones de cloruros básicos. Se puede observar que según lo estipulado por Ribéreau-Gayon *et al.*, (2000), los antocianos más abundantes para la variedad Monastrell son los antocianos glucosilados. Los valores discrepan de los obtenidos por Ferrer (2011) para la variedad Graciano, donde las concentraciones de antocianos glucosilados totales (mg/g hollejo) alcanzan valores en torno a 3,5, los antocianos acetilados totales expresados están en torno a 0,25 y los antocianos cumaroilados totales superan los 0,5. Hay autores que indican que la concentración de antocianos acetilados es la que más contribuye en las diferencias varietales (González-Sanjosé y Diez, 1993; Ortega Meder *et al.*, 1994; González-Neves *et al.*, 2001) pero sin embargo Nuñez *et al.*, (2003) indican que los antocianos acetilados no son el segundo pigmento más abundante después de los antocianos glucosilados. Según los resultados obtenidos y según lo estipulado por Núñez *et al.*, (2004), se puede afirmar que la cantidad de antocianos glucosilados, cumaroilados y acetilados es útil para distinguir diferentes cultivares, pues cada variedad tiene su perfil antociánico característico, y los diferentes estudios tratan diferentes variedades.

A continuación, se procedió a realizar un estudio estadístico para evaluar el efecto de los diferentes regímenes de riego, las diferentes composiciones de sales del agua de riego y las interacciones entre los mismos sobre las concentraciones de los antocianos glucosilados expresados en malvidina-3-glucósido, debido a que este es el compuesto mayoritario. En la **Tabla 15** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para evaluar el efecto individual de los niveles de riego en la concentración de malvidina-3-glucósido. La tabla refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento acompañadas de su desviación típica.

Tabla 15. Promedio y desviación típica de la concentración de malvidina-3-glucósido en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Malvidina-3-glucósido (ppm)
Sin riego	97,71 ± 58,06 a
Riego moderado	98,21 ± 50,63 a
Riego deficitario	111,85 ± 37,54 a
Razón- F	0,88
Valor- P	0,4244

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según los resultados de la **Tabla 15** se observa que en discordancia con los resultados obtenidos por las técnicas espectrofotométricas para la cantidad de antocianos (mg/g hollejo) y antocianos (mg/g uva) de la **Tabla 6**, se puede comprobar que no hay diferencias significativas y que la concentración de malvidina-3-glucósido no se ve afectada por los diferentes regímenes de riego. Se puede observar también, que la concentración en malvidina-3-glucósido es ligeramente superior en régimen de riego deficitario.

En la **Tabla 16** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para evaluar el efecto individual de la composición del agua de riego sobre la concentración de malvidina-3-glucósido. En la tabla se refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Según los resultados de la **Tabla 16** se observa que en discordancia con los resultados obtenidos para la cantidad de antocianos (mg/g hollejo) y antocianos (mg/g uva) de la **tabla 9**, se puede comprobar que no hay diferencias significativas y que la concentración de malvidina-3-glucósido no se ve afectada por las diferentes composiciones del agua de riego suministrada. Se puede observar que la concentración en malvidina-3-glucósido es ligeramente mayor cuando la composición del agua de riego posee sulfato básico.

Tabla 16. Promedio y desviación típica de la concentración de malvidina-3-glucósido en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Malvidina-3-glucósido (ppm)
Agua de Buena calidad	97,71 ± 58,06 a
Agua con Sulfato básico	110,79 ± 17,37 a
Agua con Cloruro básico	103,75 ± 20,75 a
Razón- F	0,470
Valor- P	0,703

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

En la **Tabla 17** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para estudiar la posible interacción entre la cantidad de agua de riego suministrada y de la composición salina del agua de riego en la concentración de malvidina-3-glucósido. La tabla refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Según los resultados de la **Tabla 17** se observa, al contrario que en los resultados obtenidos para la cantidad de antocianos (mg/g hollejo) y antocianos (mg/g uva) de la **Tabla 12**, que no hay diferencias significativas porque el valor *P* es mayor a 0,05 para la interacción entre la composición del agua y el régimen de riego (moderado o deficitario). La concentración de malvidina-3-glucósido no se ve afectada. Sin embargo, se puede comprobar que se obtienen mayores concentraciones de malvidina-3-glucósido con riego deficitario distribuido a partir del envero y con agua de riego con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de sulfato básico.

Tabla 17. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego de la concentración de malvidina-3-glucósido en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	Malvidina-3-glucósido (ppm)
Riego moderado- Sulfato básico	95,55 ± 57,04
Riego moderado- Cloruro básico	98,10 ± 50,65
Riego deficitario- Sulfato básico	126,02 ± 38,05
Riego deficitario- Cloruro básico	97,67 ± 57,90
Valor- P (Cantidad de agua x Salinidad del agua)	2,92

5.6. ANÁLISIS DEL GRADO MEDIO DE POLIMERIZACIÓN (mDP) DE HOLLEJOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC).

El análisis de proantocianidinas de los extractos de hollejos sometidos a una catálisis ácida con exceso de floroglucinol (floroglucinólisis), nos aporta información sobre la concentración de taninos condensados y la composición de las subunidades de los polifenoles aislados (Kennedy *et al.*, 2007). La composición de las unidades se determinó debido a la facilidad con la que se escinde el enlace interflavonoide, ya que en condiciones ácidas las proantocianidinas se despolimerizan liberando subunidades terminales como monómeros de flavan-3-ol y subunidades de extensión. Las subunidades de extensión pueden ser atrapadas por un reactivo, en este caso el floroglucinol, para generar aductos analizables. Las subunidades terminales se dividen en catequina, epicatequina, epigalocatequina y epicatequina-3-O-galato, y las subunidades de extensión unidas al floroglucinol se dividen en catequina-floroglucinol, epicatequinafloroglucinol, epigalocatequina-fluoroglucinol y epicatequina-3-O-galato-floroglucinol.

Los valores obtenidos fueron, el grado medio de polimerización (mDP), el porcentaje de galoilación, y el peso molecular promedio de los taninos. El grado medio de polimerización (mDP) nos proporciona información sobre el poder astringente de los taninos. Cuando los taninos se encuentran menos polimerizados tienen una mayor capacidad de precipitar proteínas de la saliva, lo cual se traduce en un mayor poder astringente. El porcentaje de galoilación nos aporta información sobre la cantidad de taninos galoilados, que tienen la capacidad de unirse al ácido gálico, presentes en los extractos de hollejo. Hay que tener en cuenta que cuanto mayor es el porcentaje de galoilación mayor astringencia y amargor presentará.

Una vez realizado el análisis las subunidades de extensión que encontramos fueron la catequina-floroglucinol, la epicatequinafloroglucinol, la epigalocatequina-fluoroglucinol y la epicatequina-3-O-galato-floroglucinol.

Dentro de las subunidades terminales únicamente encontramos la catequina. Esto discrepa de los resultados obtenidos por Kennedy y Jones (2001) quienes encontraban cuatro subunidades de extensión (catequina, epicatequina, epigalocatequina y epicatequina-3-O-galato) y tres terminales (catequina, epicatequina y epicatequina-3-O-galato, siendo mayoritaria la catequina). Esto puede deberse a los bajos niveles que poseen los hollejos de las subunidades terminales que no aparecen en el análisis. En nuestro caso la epicatequina como unidad de extensión, en posición interna a los taninos, fue la más abundante, y la catequina como unidad terminal también fue la mayoritaria. Esto coincide con lo reportado por Riou *et al.*, (2002).

Los resultados obtenidos de los parámetros citados se recogen en la **Tabla 18**, que refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Tabla 18. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) del extracto de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Tratamiento	mDP	% Galoilación	aMW
T1	9,93 ± 2,51 a	3,19 ± 0,34 a	2908,37 ± 733,05 a
T2	9,84 ± 2,23 a	3,72 ± 1,70 a	2890,17 ± 643,34 a
T3	11,91 ± 0,81 a	3,39 ± 0,32 a	3493,64 ± 233,10 a
T4	12,48 ± 0,92 a	3,82 ± 0,87 a	3669,57 ± 271,12 a
T5	12,37 ± 0,98 a	3,21 ± 0,55 a	3625,74 ± 298,12 a
T6	12,54 ± 1,85 a	3,15 ± 0,28 a	3673,55 ± 573,33 a
Razón- F	2,100	0,400	2,130
Valor- P	0,119	0,840	0,114

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos; T5= Riego deficitario, agua con sulfato básico; T6= Riego deficitario, agua con cloruros básicos. Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según ANOVA realizado, no se observan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los diferentes tratamientos para ninguno de los parámetros de la **Tabla 18**, porque el valor P es mayor a 0,05. Comparado con el estudio obtenido por Inocente y Lizama (2013) sobre la variedad Bobal, el grado medio de polimerización hallado para hollejos de la variedad Monastrell es ligeramente más bajo. Por otro lado, los valores del porcentaje de galoilación son ligeramente mayores en este estudio en comparación con los resultados obtenidos por Bordiga *et al.*, (2011) para Cabernet-Sauvignon, que eran del orden de 2,7 %.

A continuación, se ha procedido a realizar un estudio estadístico para evaluar el efecto de los diferentes regímenes de riego y las diferentes composiciones de sales del agua de riego y las interacciones entre estos en las diferentes determinaciones.

En la **Tabla 19** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para evaluar el efecto individual de los niveles de riego sobre los parámetros. La tabla refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Tabla 19. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMV) del extracto de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	mDP	% Galoilación	aMV
Sin riego	9,93 ± 2,51 a	3,19 ± 0,34 a	2908,37 ± 733,05 a
Riego moderado	11,41 ± 1,78 a	3,64 ± 1,03 a	3351,12 ± 518,91 a
Riego deficitario	12,46 ± 1,33 a	3,18 ± 0,39 a	3649,64 ± 389,52 a
Razón- F	2,340	0,850	2,350
Valor- P	0,124	0,443	0,123

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

Según los resultados de la **Tabla 19** se observa que no hay diferencias significativas porque el valor *P* es mayor a 0,05. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos sobre la concentración de taninos en los hollejos expresados en (mg/g hollejo) y en (mg/g uva) reflejados en la **Tabla 7**, las cuales tampoco presentan diferencias significativas para los distintos regímenes de riego.

Los vinos procedentes de uvas sometidas a regímenes de riego deficitario tendrán ligeramente una mayor concentración tánica y estos serán más astringentes debido a su menor grado de polimerización, por lo que van a tener una mayor capacidad antioxidante y precisarán de un tiempo de estabilización mayor que los obtenidos con las uvas procedentes de riego moderado distribuido a partir de la floración y de riego deficitario distribuido a partir del envero.

En la **Tabla 20** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para evaluar el efecto individual de la composición del agua de riego. La tabla refleja el promedio de todas las repeticiones realizadas agrupadas por tratamiento y acompañadas de su desviación típica.

Resulta interesante estudiar si la composición del agua afecta al grado medio de polimerización de taninos, así como al porcentaje de galoilación como a su tamaño. Para ello, se han agrupado los tratamientos en base a la composición del agua, sin tener en cuenta el régimen de riego que se lleva a cabo (aunque hay que tener en cuenta que el tratamiento con agua de buena calidad, se refiere a riego moderado) En el ANOVA realizado (**Tabla 20**), se obtiene que hay diferencias significativas para el grado medio de polimerización de taninos y para el peso molecular promedio porque el valor *P* es menor a 0,05.

Se puede observar que cuando la composición del agua de riego es de buena calidad el grado medio de polimerización y el peso molecular estimado de los taninos de los hollejos son menores que usando aguas con sulfatos y cloruros en su composición. Sin embargo, no se encuentran diferencias significativas para el porcentaje de galoilación porque el valor *P* es mayor a 0,05.

Tabla 20. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMV) del extracto de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	mDP	% Galoilación	aMV
Agua de Buena calidad	9,84 ± 2,23 a	3,72 ± 1,70 a	2890,17 ± 643,34 a
Agua con Sulfato básico	12,11 ± 0,84 b	3,31 ± 0,40 a	3550,25 ± 248,55 b
Agua con Cloruro básico	12,50 ± 1,25 b	353 ± 0,73 a	3671,27 ± 364,69 b
Razón- F	3,850	0,330	3,920
Valor- P	0,027	0,801	0,026

Letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas al 95% de nivel de confianza para cada parámetro analizado.

En la **Tabla 10**, se puede observar que la concentración de taninos, no presenta diferencias significativas con la calidad del agua, sin embargo, los vinos procedentes de uvas sometidas a riegos con sulfato básico y cloruros básicos tendrán ligeramente una mayor concentración tánica y estos serán menos astringentes debido a su mayor grado de polimerización, por lo que van a tener una menor capacidad antioxidante que los obtenidos con las uvas procedentes de riego con agua de buena calidad.

En la **Tabla 21** se incluye el resumen del análisis estadístico realizado para estudiar la posible interacción entre la cantidad de agua de riego suministrada y la composición del agua de riego en las diferentes determinaciones.

Tabla 21. Promedio y desviación típica de la interacción de la cantidad de agua de riego suministrada x la salinidad del agua de riego del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMV) del extracto de hollejos en uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

Factor	mDP	% Galoilación	aMV
Riego moderado- Sulfato básico	11,91 ± 0,81	3,39 ± 0,32	3493,64 ± 233,10
Riego moderado- Cloruro básico	12,48 ± 0,92	3,82 ± 0,87	3669,57 ± 271,12
Riego deficitario- Sulfato básico	12,37 ± 0,98	3,21 ± 0,55	3625,74 ± 298,12
Riego deficitario- Cloruro básico	12,54 ± 1,85	3,15 ± 0,28	3673,55 ± 573,33
Valor- P (Cantidad de agua x Salinidad del agua)	0,7507	0,4457	0,7325

La **Tabla 21** refleja que no existe interacción entre la cantidad de agua aplicada y la composición de ésta, ya que el valor *P* obtenido es mayor de 0,05. Se puede observar que el valor del grado medio de polimerización aumenta ligeramente en el tratamiento sometido a un régimen de riego deficitario con cloruros básicos en su composición. El porcentaje de galoilación es mayor en régimen moderado con una composición salina de sulfato básico, pero no aparecen diferencias significativas.

6. CONCLUSIONES.

1. El régimen de secano sin riego es la opción más útil para conseguir bayas más pequeñas con mayor carga fenólica en los hollejos, y supone numerosos beneficios para la elaboración de vinos tintos porque aportarán mejores características organolépticas.
2. El riego efectuado con agua de buena calidad es el que proporciona un mayor peso de la baya, pero no aporta mayor carga fenólica en comparación con aguas de riego de composición salina.
3. La concentración de sales puede contribuir al aumento de compuestos polifenólicos aunque también provoca la disminución del peso de la baya.
4. La salinidad de las aguas de riego no parece afectar a la concentración de taninos de los hollejos, pero el grado medio de polimerización de los taninos se ve incrementado cuando se emplean aguas salinas para el riego independientemente del momento de su aplicación, lo cual resulta muy interesante para obtener vinos con taninos menos astringentes y con una buena concentración tánica.

7. BIBLIOGRAFÍA.

- ADAMS, D.O.; CHASSY, A.W.; LAURIE, V.F. & WATERHOUSE, A.L. (2012). Tracing phenolic biosynthesis in *Vitis vinifera* via in situ C-13 labeling and liquid chromatography–diode-array detector–mass spectrometer/mass spectrometer detection. *Anal. Chim. Acta* 747, 51–57.
- BAUR, J.A.; SINCLAIR, D.A.; PEARSON, K.J.; PRICE, N.L.; JAMIESON, H.A.; LERIN C.; KALRA, A.; PRABHU, V.V.; ALLAR, J.S.; LOPEZ-LLUCH, G.; LEWIS, K.; PISTELL, P.J.; POOSALA, D.; BECKER, K.G.; BOSS, O.; WANG, M.; RAMASWAMY, S.; FISHBEIN, K.W.; SPENCER, R.G.; LAKATTA, E.G.; LE COUTEUR, D.; SHAW, J.R.; NAVAS, P.; PUIGSERVER, P.; INGRAM, D.K. & DE CABO, R. (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 444, 337-342.
- BORDIGA, M.; TRAVAGLIA, F.; LOCATELLI, M.; COÏSSON, J. & ARLORIO, M. (2011). Characterization of polymeric skin and seed proanthocyanidins during ripening in six *Vitis vinifera* L. cv. *Food Chem.*, 127: 180-187.
- BRUNETON, J. (1993). *Farmacognosia: Fitoquímica y Plantas Medicinales* (2ª Edición ed.) Editorial ACRIBIA S.A. Madrid, España.

- BUCCHETTI, B.; MATTHEWS, A. M.; FALGINELLA, L.; PETERLUNGER, E. & CASTELLARIN, S.D. (2011). Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons, *Scientia Horticulturae*, 128: 297–305
- CASASSA, L.F.; KELLER, M. & HARBERTSON, J.F. (2015). Regulated Deficit Irrigation Alters Anthocyanins, Tannins and Sensory Properties of Cabernet Sauvignon Grapes and Wines. *Molecules Journal*, 20, 7820-7844.
- CASASSA, L.F.; LARSEN, R.C.; BEAVER, C.W.; MIRELES, M.S.; KELLER, M.; RILEY, W.R.; SMITHYMAN, R. & HARBERTSON, J.F. (2013). Impact of extended maceration and Regulated Deficit Irrigation (RDI) in Cabernet Sauvignon wines: Characterization of proanthocyanidin distribution, anthocyanin extraction, and chromatic properties. *J. Agric. Food Chem.* 61, 6446–6457.
- CASTELLARIN, S.D. & DI GASPERO, G. (2007). Transcriptional control of anthocyanin biosynthetic genes in extreme phenotypes for berry pigmentation of naturally occurring grapevines. *BMC Plant Biol.* 7, 46.
- CASTELLARIN, S.D.; PFEIFFER, A.; SIVILOTTI, P.; DEGAN, M.; PETERLUNGER, E. & DI GASPERO G. (2007). Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruit of grapevine under seasonal water deficit. *Plant Cell Environment*, 30: 1381-1399.
- CHAMPMAN, D. W.; ROBY, G.; EBELER, S. E.; GUINARD, J. X. & MATHEWS, M. A. (2005). Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different water status. *Aust. J. Grape Wine Res.* 11, 339-347.
- CHEYNIER, V.; SCHEIDER, R.; SALMON, J. & FULCRAND, H. (2010). Chemistry of Wine. *Comprehensive Natural Products II*, 3, 1119 - 1172.
- COSTA, J. M.; VAZ, M.; ESCALONA, J.; EGIPTO, R.; LOPES, C. & MEDRANO, H., (2016). Modern viticulture in southern Europe: vulnerabilities and strategies for adaptation to water scarcity. *Agric. Water Manage.* 164, 5–18.
- DAI, Z. W.; OLLAT, N.; GOMÈS, E.; DECROOQ, S.; TANDONNET, J. P. & BORDENAVE, L. (2011). Ecophysiological, genetic, and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review. *Am. J. Enol. Vitic.* 62, 413–425.
- DENOMINACIÓN DE ORIGEN JUMILLA. Visto el 12 de Junio de 2017. <http://vinosdejumilla.org/dop-jumilla/>
- DRY, P. R.; B. R. LOVEYS; M. G. McCARTHY & M. STOLL (2001) Strategic irrigation management in Australian vineyards. *J. Int. Sci. Vigne Vin*35: 129-139
- ESTEBAN, M.; VILLANUEVA, M. J & LISSARRAGUE, J. (2001) Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *J. Sc. Food and Agriculture* 81: 409-420.
- FERNÁNDEZ, J. F. (2012). Los barrios de bodegas tradicionales en la D.O. Cigales: el nuevo uso económico, cultural, patrimonial y social. *Actas del XIII Coloquio de Geografía Rural*, Sevilla.
- FUENTES, S.; ACEVEDO, C.O. & FARIAS, S.O. (2010). Effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: An irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation. *Agric. Water Manag.* 97, 956–964.
- GARRIDO, J. & BORGES, F. (2013) Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. *Food Research International*, 54, 1844-1858.

- GIL, G. & PSZCZÓŁKOWSKI, F. (2007). VITICULTURA, Fundamentos para optimizar producción y calidad. Ed. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- GINESTAR, C.; J. EASTHAM; S. GRAY & P. LLARID (1998) Use of sap-flow sensors to schedule vineyard irrigation I. Effects of post veraison water deficits on water relations, vine grow, arid yield of Shiraz grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 49: 413-420.
- 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. *Aus. J. Grape Wine Res.* 15, 268–277.
- HASLAM, E.; LILLEY, T.H. & BUTLER, L.G. (1988). Natural astringency in foodstuffs—A molecular interpretation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 27, 1–40.
- HIDALGO, L. (2002). *Tratado de Viticultura General* (3ª ed.). Ed. Mundi-Prensa S.A., Madrid.
- INOCENTE, S. & LIZAMA, V. (2013). Efecto de tres niveles de riego, orientación de la viña y poda de raíces sobre la composición de los hollejos de la uva Bobal. Trabajo final de máster. Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Univ. Politécnica de Valencia.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, IPCC (2014). “Climate Change 2014: Synthesis Report,” in Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, eds Core Writing Team, R. K. Pachauri, and L. A. Meyer (Geneva: IPCC), 151.
- INTRIGLIOLO, D. S.; PÉREZ, D.; RISCO, D.; YEVES, A. & CASTEL, J. R. (2012). Yield components and grape composition responses to seasonal water deficits in Tempranillo grapevines. *Irrig. Sci.* 30, 339–349.
- JACKSON, D.I. & LOMBARD, P.B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.*, 44 (4): 409-430.
- 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.
- KELLER, M. (2010). Managing grapevines to optimize fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. *Aus. J. Grape Wine Res.* 16, 56–59.
- KELLER, M.; ROMERO, P.; GOHJL, H.; SMITHYMAN, R. P.; RILEY, W. R. & CASASSA, L. F. (2016). Deficit irrigation alters grapevine growth, physiology, and fruit microclimate. *Am. J. Enol. Vitic.* 67, 426–435.
- KENNEDY, J.A. & COHEN, S.D. (2010). Plant metabolism and the environment: Implications for managing phenolics. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 50, 620–643.
- KENNEDY, J.A. & JONES, G.P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 1740- 1746.
- KENNEDY, J.A.; MATTHEWS, M. A. & WATERHOUSE, A. L. (2002) Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *Am. J. Enol. Vitic.*, 53: 268-274.
- LAURENSEN, S.; BOLAN, N. S.; SMITH, E. & MCCARTHY, M. (2012). Review: use of recycled wastewater for irrigating grapevines. *Aus. J. Grape Wine Res.* 18, 1–10.
- LUND, S.T. & BOHLMAN, J. (2006). The Molecular Basis for Wine Grape Quality, A Volatile Subject. *Science* 311,804-805.

- MARSCHNER, H. (1986). Mineral Nutrition of Higher Plants. London: Academic Press.
- MATTHEWS M.A.; ANDERSON M.M. & SCHULTZ H.R., (1987). Phenologic and growth responses to early and late season water deficits in Cabernet franc. *Vitis*, 26: 147-160.
- MEDRANO, H.; TOMÁS, M.; MARTORELL, S.; ESCALONA, J. M.; POU, A. & FUENTES, S., (2015). Improving water use efficiency of vineyards in semi-arid regions. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 499–517.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE, 2013. Estadísticas. Visto el 12 de Junio de 2017. <http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/produccionesagricolas/vitivinicultura/>
- MIRÁS-ÁVALOS, J.M. & INTRIGLIOLO, D.S. (2017). Grape Composition under Abiotic Constrains: Water Stress and Salinity. *Front. Plant Sci.* 8:851.
- MUNITZ, S.; NETZER, Y. & SCHWARTZ, A. (2017). Sustained and regulated deficit irrigation of field-grown Merlot grapevines. *Aus. J. Grape Wine Res.* 23, 87–94.
- NETZER, Y.; SHENKER, M. & SCHWARTZ, A. (2014). Effects of irrigation using treated wastewater on table grape vineyards: dynamics of sodium accumulation in soil and plant. *Irrig. Sci.* 32, 283–294.
- OJEDA, H.; ANDARY, C.; KRAEVA, E.; CARBONNEAU, A. & DELOIRE, A. (2002). Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *Am. J. Enol. Vitic.* 53, 261
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. Visto el 30 de Abril de 2017 <http://www.oiv.int/es/>
- RENTZSCH, M.; WILKENS, A. & WINTERHALTER, P. (2009). Non-flavonoid Phenolic Compounds. (L. Springer Science+Business Media, Éd.) *Wine Chemistry and Biochemistry*, 509-529.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A. & DUBOURDIEU, D. (2000). *Handbook of Enology, Volume II, The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments*. Ed. John Wiley & Sons. Chichester.
- RIOU, V.; VERNHET, A.; DOCO, T. & MOUTOUNET, M. (2002). Aggregation of grape seed tannins in model wine effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloid*, 16: 17-23.
- ROMERO, P.; FERNÁNDEZ, J. I. & MARTINEZ, A. (2010). Physiological thresholds for efficient regulated deficit-irrigation management in winegrapes grown under semiarid conditions. *Am. J. Enol. Vitic.* 61, 300–312.
- SANTOS, J. A.; MALHEIRO, A. C.; PINTO, J. G. & JONES, G. V. (2012). Macroclimate and viticultural zoning in Europe: observed trends and atmospheric forecasting. *Clim. Res.* 51, 89–103.
- SCALBERT, A. (1993). Phenolics in fruits and fruit products: Progress and prospects, polyphenolic phenomena. Paris: INRA Editions.
- SCHULTZ, H. R. & STOLL, M. (2010). Some critical issues in environmental physiology of grapevines: future challenges and current limitations. *Aus. J. Grape Wine Res.* 16, 4.
- SHELLIE, K. C. (2014). Water productivity, yield, and berry composition in sustained versus regulated deficit irrigation of Merlot grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 65, 197–205.
- VINETUR, 2017. El consumo de vino mundial. Visto el 12 de Junio de 2017. <https://www.vinetur.com/>