



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍAS AGRARIAS**

Grado en Enología
Especialidad en Producción Vegetal

Efectos del nivel nutricional de potasio y
magnesio en el viñedo sobre el vigor,
rendimiento y composición de la uva y el vino

Alumno: Jairo de Castro Arronte

Tutora: M^a Rosa González García

Cotutor: Pedro Martín Peña

Cotutor: José Manuel Rodríguez Nogales

Junio de 2018

Copia para el tutor/a

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	1
2.1. LA NUTRICIÓN POTÁSICA Y MAGNÉSICA DEL VIÑEDO	2
2.1.1. <i>El potasio en la nutrición mineral del viñedo</i>	2
2.1.2. <i>El magnesio en la nutrición mineral del viñedo</i>	3
2.2. INTERACCIÓN ENTRE POTASIO Y MAGNESIO	3
2.3. EFECTOS EN EL COMPORTAMIENTO DEL VIÑEDO Y LA CALIDAD DE LA UVA	4
3. OBJETIVOS	5
4. MATERIALES Y MÉTODOS	6
4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL: ZONA DE ESTUDIO Y SELECCIÓN DE SUBPARCELAS	6
4.2. CARACTERÍSTICAS EDÁFICAS	7
4.3. MATERIAL VEGETAL	7
4.4. METEOROLOGÍA	7
4.5. CONTROLES Y OBSERVACIONES	9
4.5.1. <i>Contenido de elementos minerales en peciolo</i>	9
4.5.2. <i>Parámetros de vigor</i>	9
4.5.3. <i>Parámetros de rendimiento</i>	9
4.6. MICROVINIFICACIONES	9
4.6.1. <i>Control de la densidad</i>	10
4.6.2. <i>Azúcares reductores</i>	10
4.6.3. <i>Cromatografía de Papel</i>	10
4.7. ANÁLISIS DE MOSTOS Y VINOS	11
4.7.1. <i>Grado Brix. Mosto</i>	11
4.7.2. <i>pH y acidez total (AT). Mosto y vino</i>	11
4.7.3. <i>Nitrógeno fácilmente asimilable (NFA). Mosto</i>	11
4.7.4. <i>Índices de madurez fenólica de la baya</i>	11
4.7.5. <i>Índice de polifenoles totales (IPT). Mosto y vino</i>	12
4.7.6. <i>Contenido en potasio. Mosto</i>	12
4.7.7. <i>Ácido tartárico. Mosto</i>	13
4.7.8. <i>Ácido málico. Mosto</i>	13
4.7.9. <i>Antocianos totales. Vino</i>	13
4.7.10. <i>Taninos totales. Vino</i>	14
4.7.11. <i>Grado alcohólico. Vino</i>	14
4.7.12. <i>Parámetros colorimétricos. Mosto y vino</i>	14
4.8. ANÁLISIS DE DATOS	14
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
5.1. CONCENTRACIONES DE POTASIO Y MAGNESIO EN SUELO Y PECIOLOS	15
5.2. EFECTOS EN EL VIGOR Y RENDIMIENTO DEL VIÑEDO	17
5.3. EFECTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LA UVA, MOSTO Y VINO	18
5.3.1. <i>Madurez fenólica de las bayas</i>	18
5.3.2. <i>Composición de mosto y vino</i>	21
6. CONCLUSIONES	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1. RESUMEN

La disponibilidad de nutrientes minerales para el viñedo supone un impacto muy importante sobre el crecimiento de la vid, desarrollo y maduración de la baya, y la composición final de mosto y vino. Entre los elementos minerales esenciales para la vid encontramos el potasio (K), de gran importancia en la economía hídrica de las plantas y en la movilización de sustancias dentro de la planta. El magnesio (Mg), por su parte, interviene en la formación de la clorofila y otros pigmentos, y es fundamental en la asimilación fotosintética de la vid.

Los objetivos de este trabajo son: (i) establecer correlaciones entre los niveles de suelo y peciolares de K y Mg en viñedos de la variedad Tempranillo en suelos calizos de la D.O. Ribera del Duero; (ii) estudiar en estas condiciones la influencia del nivel de asimilación de K y Mg sobre parámetros de vigor, rendimiento y calidad de bayas, mosto y vinos.

Para alcanzar estos objetivos, se ha llevado a cabo un seguimiento en campo de 20 subparcelas de viñedo situadas en Pesquera de Duero (Valladolid). Se efectuaron analíticas de suelo y peciolas, y se comprobaron variables de rendimiento y vigor en campo, peso de 100 bayas e Índice de Ravaz. Además, se ejecutaron analíticas de parámetros de composición del mosto y madurez fenólica de la uva. Con las cosechas de cada subparcela se realizaron microvinificaciones y los correspondientes análisis químicos de los vinos.

Los resultados, demuestran la existencia de relaciones antagónicas entre ambos nutrientes, K y Mg. Los contenidos de K en suelo muestran correlación con los niveles foliares, pero los de Mg no. Se reveló una correlación positiva por parte del nivel nutricional de K y la relación K/Mg con el rendimiento y vigor de la viña, mientras que en el caso del Mg fue negativa. Los resultados mostraron una influencia importante del nivel de K sobre la composición fenólica y el color de la uva y el vino, observándose una disminución de ambos parámetros con un contenido peciolar elevado de K, asociado a un aumento del rendimiento. Por el contrario, el nivel de Mg tiene una influencia positiva sobre el color y contenido fenólico en mosto y vino.

Con este estudio se demostró la importancia del control de la nutrición de K y Mg para optimizar el rendimiento, vigor y calidad del viñedo en condiciones ecofisiológicas concretas, así como la potencial utilidad de los índices nutricionales empleados para la microzonificación del viñedo en viticultura de precisión.

2. INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de nutrientes minerales es fundamental para el viñedo, debido a su impacto sobre el vigor y rendimiento, desarrollo y maduración de la baya, y composición final del mosto y vino (Keller, 2005).

Son 14 los elementos minerales esenciales para la nutrición del viñedo: N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Zn, Cu, Cl, Bo, Mo y Ni (Bavaresco *et al.*, 2010). Es fundamental conocer el papel fisiológico de cada elemento, así como la interacción existente con el resto de los elementos, lo que permite evitar trastornos nutricionales o deficiencias del viñedo que puedan afectar al rendimiento, vigor, y composición química de las bayas, mosto y vino (Arrobas *et al.*, 2014).

La vid obtiene los nutrientes del suelo a través de sus raíces, dependiendo el proceso de captación de la capacidad de almacenamiento y disponibilidad de los nutrientes en el suelo. La capacidad de almacenamiento está directamente relacionada con propiedades como la textura, el contenido en materia orgánica, la humedad y el pH del suelo (He *et al.*, 2005).

La disponibilidad y movilidad de los nutrientes para la planta tiene que ver con diversos procesos químicos y bioquímicos que se dan en el suelo: precipitación-disolución, adsorción-desorción, complejación-disociación y oxidación-reducción (He *et al.*, 2005). Finalmente, los nutrientes son absorbidos por la planta en forma de iones disueltos en la solución del suelo, dependiendo, además de los factores anteriores, del flujo de agua a través del sistema suelo-raíz-tallo (Keller, 2005).

2.1. La nutrición potásica y magnésica del viñedo

2.1.1. El potasio en la nutrición mineral del viñedo

La vid absorbe K con facilidad a través de las raíces como catión K^+ , presentando una alta movilidad en la planta, dentro de las células individuales o en el transporte a larga distancia a través del floema y xilema (Arrobas *et al.*, 2014). El K absorbido por las raíces se destina a los tejidos vegetales que se encuentran en crecimiento, pero también a reservas de los ya existentes, convirtiéndose en el catión más abundante en estos tejidos. Una vez aparecen las bayas, estas se convierten en sumidero del K de la planta, acumulándose en ellas hasta el 50% del absorbido por las raíces (Coombe, 1992; Mengel, 2002). Existe, además, removilización del K acumulado en hojas hacia bayas y estructura permanente de la planta durante la senescencia (Arrobas *et al.*, 2014).

El K desempeña una labor fundamental, siendo esencial en el crecimiento y rendimiento del viñedo (Mpelasoka *et al.*, 2003). El K es activador de enzimas, esenciales en procesos de respiración y fotosíntesis, así como de enzimas productoras de almidón y proteínas (Walker *et al.*, 1998). Participa en procesos de transporte a través de la membrana celular y en translocación de asimilados (Patrick *et al.*, 2001). Fundamental en la neutralización aniónica, es esencial para el mantenimiento del potencial de la membrana (Leigh, 2001). Es el elemento primordial en la regulación del potencial osmótico, siendo este uno de los mecanismos más importantes del control de las relaciones hídricas de la vid (Davies *et al.*, 1991). Además, tiene múltiples funciones en la resistencia al estrés biótico y abiótico (Wang *et al.*, 2013)

En las bayas, el K es esencial para su crecimiento (Mpelasoka *et al.*, 2003). El patrón de crecimiento de estas se describe como una curva sigmoideal doble, con un rápido aumento inicial de tamaño, seguido de un periodo de crecimiento lento o nulo, y con una segunda fase de incremento rápido (Griesser *et al.*, 2017). En la primera fase de crecimiento, el K se acumula en las hojas, redistribuyéndose a las bayas a partir del envero (Mpelasoka *et al.*, 2003). Este ejerce diferentes efectos durante el desarrollo de la baya, como osmorregulador antes del envero, cuando las células de la baya se dividen y expanden a altas velocidades, y como cofactor de acumulación de azúcares tras el envero (Conde *et al.*, 2008). Existe una correlación positiva entre el azúcar vacuolar y las concentraciones de K, lo que implica una afluencia combinada de azúcar y K a través del floema (Keller *et al.*, 2004)

Con todo, una adecuada nutrición potásica mejora el crecimiento de los brotes, resistencia a enfermedades, heladas invernales y estrés hídrico, la acumulación de azúcar en bayas y almidón en órganos leñosos (Bavaresco *et al.*, 2010; Karimi, 2016), procurando una óptima distribución de reservas en la vid, con un mejor agostamiento de la madera y mayor longevidad del viñedo (Arrobas *et al.*, 2014).

2.1.2. El magnesio en la nutrición mineral del viñedo

La vid absorbe el Mg en forma de ion divalente, Mg^{+2} , a través de las raíces, siendo este el segundo elemento mineral más abundante en estado intercambiable en el suelo (Arrobas *et al.*, 2014). Al ser absorbido como Mg^{+2} , no puede ser translocado a través del floema, por lo que presenta una baja movilidad en la planta a diferencia del K. El Mg está presente sobre todo en las hojas de la planta, con una removilización poco significativa hacia partes leñosas (Arrobas *et al.*, 2014).

El Mg es un mesonutriente fundamental para el adecuado desarrollo de la vid por su relación con una serie de funciones fisiológicas, esencialmente por ser primordial para la fotosíntesis (Zatloukalova *et al.*, 2011). Es el átomo central de la molécula de clorofila, además de activador de diversos procesos enzimáticos para la formación de pigmentos como los carotenos y las xantofilas (Zlámalova *et al.*, 2015). Influye de forma favorable en el nivel de asimilación de la planta, mejorando el reparto de carbohidratos por la formación de Mg-ATP (Gerendás *et al.*, 2013). Activa enzimas implicadas en el crecimiento de la vid y respiración, siendo esencial en el metabolismo de los glúcidos, implicado en la biosíntesis de proteínas ya que las polimerasas que sintetizan ácidos nucleicos y nucleasas degradantes requieren Mg (Gerendás *et al.*, 2013). Contribuye junto con el K como catión en la regulación del balance catión-anión y como ion osmóticamente activo en la regulación de la turgencia de las células (Gerendás *et al.*, 2013), incrementando la resistencia de la vid a heladas y enfermedades (Zatloukalova *et al.*, 2011). Destaca su participación en el incremento de la actividad enzimática de la fructosa-1 y 6-bis-fosfatasa, aumentando la acumulación y transporte de azúcares a la baya (Mengel, 2002). Las necesidades de Mg en planta varían a lo largo del ciclo, dándose la mayor absorción tras la floración y hasta la cosecha, donde no debe haber escasez, aumentaría la sensibilidad al ataque de los tejidos (Zatloukalova *et al.*, 2011).

2.2. Interacción entre potasio y magnesio

El K y el Mg son dos elementos antagónicos entre sí (Tecchio *et al.*, 2006). Este antagonismo es consecuencia de las interacciones que se dan entre sus iones, los cuales presentan propiedades fisicoquímicas similares (Arrobas *et al.*, 2014). La competencia existente entre los iones se da tanto por la entrada a un mismo canal proteico como por la unión a una proteína transportadora (Cakmak, 2015). Por tanto, excesos de K en suelo desembocan en deficiencias en la absorción de Mg por parte de la planta, y viceversa, incluso con niveles suficientes del elemento en el suelo (Keller, 2005). Se ha demostrado que contenidos elevados de Mg de forma conjunta con el Ca pueden reducir la absorción de K a través de las raíces de la vid (Tecchio *et al.*, 2006).

El análisis de la relación entre K y Mg es fundamental para estudiar la influencia de ambos nutrientes sobre el comportamiento del viñedo y la composición de la uva y el vino. Existen estudios que comprueban una mayor utilidad en la relación K/Mg en peciolo, que los contenidos aislados de los nutrientes, para elaborar un diagnóstico nutricional del viñedo. No obstante, para el estudio de vigor y rendimiento del viñedo, es más adecuada la comparación de los contenidos aislados de los nutrientes (Tecchio *et al.*, 2006).

Además del antagonismo entre K y Mg, existe antagonismo entre K con Ca, Fe y Zn. El antagonismo con el Mg y el Ca será más pronunciado en el caso de vides jóvenes, suelos arenosos y con pH bajo (García *et al.*, 1999). El Mg presenta antagonismo con el Zn y Mn (Zatloukalova *et al.*, 2011). Cuando se dan en la vid carencias de K, los síntomas se muestran en las hojas más viejas, por la removilización del K hacia las que se encuentran en crecimiento supliendo hasta cierto grado la deficiencia, observando necrosamiento y plegado por la producción de clorosis desde los bordes de estas hojas (Zörb *et al.*, 2014). Cuando se da carencia de Mg, por falta de este, o exceso de Ca o K en suelo, se da clorosis en las hojas (Gluhic *et al.*, 2009).

2.3. Efectos en el comportamiento del viñedo y la calidad de la uva

Como se ha indicado, el K es un elemento esencial en la nutrición de la vid. Una adecuada nutrición potásica del viñedo refleja un aumento de tamaño en las hojas; incremento en el diámetro y peso de los sarmientos por unidad de longitud, asegurando un mejor agostamiento (Arrobas *et al.*, 2014; Karimi, 2016); aumenta el número de racimos, incrementando la riqueza azucarada del mosto (Karimi, 2016); favorece la adecuada distribución de las reservas en las diferentes partes de la vid, aumentando la longevidad de las cepas (Arrobas *et al.*, 2014). El K ayuda a incrementar la resistencia de la planta frente a heladas, enfermedades y posibles sequías (Davies *et al.*, 1991).

El K se acumula de forma principal en los tejidos de la piel de la baya durante la maduración, por la removilización del elemento de las hojas a estas (Zlámaloa *et al.*, 2015; Arrobas *et al.*, 2014). El K en la baya contribuye al equilibrio de carga y puede estar involucrado en el transporte de azúcar, reduciendo los niveles de ácido e interactuando con el tartárico, formando bitartrato de potasio con una solubilidad limitada (Spayd *et al.*, 1994).

El K se combina de forma general con partículas de carga negativa en el suelo, por lo que en suelos arcillosos no se plantean problemas de disponibilidad, no así en suelos arenosos o lavados con ácido, donde es probable que se den deficiencias (Ramos *et al.*, 2017). La deficiencia de K se relaciona habitualmente con una carga de floema suprimida, que deriva en un exceso de sacarosa en hojas, provocando una inhibición por retroalimentación de la fotosíntesis (Griesser *et al.*, 2017). Por tanto, con la carencia de K aumenta la acumulación de carbohidratos, Ca y compuestos nitrogenados solubles en las hojas, dándose un fenómeno de sustitución en la removilización de hoja a baya, aumentando el contenido de estos en uva (Wolf *et al.*, 1983). La deficiencia afecta también la viabilidad celular, los órganos de plantas con bajo contenido de K experimentan muerte celular programada inducida (Griesser *et al.*, 2017). Esto se traduce en una serie de efectos sobre la planta, disminuyendo la longitud de los entrenudos, agostamiento precoz de los sarmientos, y fructificación deficiente, dándose una reducción de vigor y rendimiento, afectando en la síntesis de proteínas y provocando incluso la defoliación (Ramos *et al.*, 2017). Con la carencia, se obtienen uvas con un bajo contenido en sólidos solubles, acidez demasiado elevada y una reducción en la biosíntesis de antocianinas (Griesser *et al.*, 2017).

Un exceso de K afecta a la planta por la inhibición en la absorción de sus elementos antagónicos, siendo los más importantes el Mg y el Ca, provocando deficiencias de estos en la vid (Arrobas *et al.*, 2014). En lo que respecta a la calidad de uva y vino la afección de los excesos de K, debido a su carácter de neutralización de los ácidos orgánicos, tiene un importante papel en el control de la acidez y pH del mosto (Coombe, 1992; Ponni *et al.*, 2003). Son diversos los estudios que han comprobado un aumento de pH y reducción de la acidez total consecuencia de un aporte excesivo de K al viñedo, lo que deriva en una pérdida de calidad final en vino (Ramos *et al.*, 2017; Delgado *et al.*, 2004), afectando a su estabilidad química con un aumento del efecto bicarbonato, y su estabilidad microbiológica, además de producirse pérdidas de color en el caso de los vinos tintos (Ramos *et al.*, 2017).

El Mg es fundamental en la vid, por sus funciones fisiológicas en la planta y su importancia en la realización de la fotosíntesis como átomo central de la clorofila (Zlámaloa *et al.*, 2015), importante en la biosíntesis de ácidos nucleicos y nucleasas degradantes (Gerendás *et al.*, 2013). Existen estudios en los que se ha comprobado como el Mg aumenta la producción de masa seca, con incrementos de rendimiento y un aumento en el peso de baya realizando una aplicación foliar del nutriente (Wolf *et al.*, 1983). Sobre la composición de uva y vino, en el caso del vino tinto, la degradación de antocianinas se reduce con suministros excesivos de Mg, disminuyendo el catabolismo de estas (Gerendás *et al.*, 2013).

Las deficiencias de Mg en la planta reducen el contenido de clorofila de las hojas, variando la relación de clorofila a:b a favor de la clorofila b (Zatloukalova *et al.*, 2011; Zlámálova *et al.*, 2015). Esta deficiencia se traduce en síntomas de clorosis en las hojas, especialmente en las más viejas, causa de una abscisión prematura (Zlámálova *et al.*, 2015), dándose su origen en la deficiencia de Mg, alto contenido de Ca en suelo o una combinación de ambos factores (Gluhic *et al.*, 2009). Este déficit implica en la vid reducciones en el rendimiento y un aumento en el riesgo de atrofia (Májer, 2004), ya que todas las funciones fisiológicas del Mg se ven deterioradas, reduciendo además la resistencia de la planta ante enfermedades (Zatloukalova *et al.*, 2011) y posibles sequías o heladas por la implicación del Mg de manera conjunta al K en la regulación del potencial hídrico de la vid (Gerendás *et al.*, 2013).

Los excesos de Mg no tienen un efecto directo sobre el metabolismo de las plantas, no obstante, dado que se ha observado toxicidad de Mg, los deterioros que implica en la fisiología podrían estar meramente relacionados con desequilibrios de nutrientes en la planta, P, Ca y Mn (Gerendás *et al.*, 2013), sobre todo en el caso de cantidades elevadas de Ca y Mg de forma conjunta en suelo (Arrobas *et al.*, 2014).

La aparición de desórdenes fisiológicos, marchitamiento de bayas y necrosis del tallo, se asocia a una nutrición desequilibrada en la vid de K y Mg. Estos trastornos se muestran con una pérdida de turgencia y menor contenido de azúcar en las bayas, aumentando además el contenido de ácidos (Bondada *et al.*, 2012).

Es habitual que los viñedos estén instalados en parcelas con una amplia variación espacial en cuanto a propiedades de suelo. En muchos casos hay una alta variabilidad en los niveles nutricionales de K y Mg, que puede repercutir en los parámetros de vigor, rendimiento y calidad de la uva. Es muy interesante, en el ámbito de la viticultura de precisión, poder disponer de herramientas para la microzonificación del viñedo en función de los niveles nutricionales de ambos minerales. Con estas técnicas se podrían elaborar mapas de rendimiento y calidad, y se podrían diseñar las mejores estrategias de manejo del cultivo, especialmente en el ámbito de la fertilización.

3. OBJETIVOS

El presente Trabajo de Fin de Grado considera los siguientes objetivos específicos:

- 1) Estudiar las correlaciones existentes entre los contenidos de potasio y magnesio en el suelo y en los peciolo recogidos, en enero, en viñedos de la D.O. Ribera del Duero.
- 2) Analizar los efectos de la variación en los niveles nutricionales de Mg y K de las cepas sobre los parámetros de vigor y rendimiento del viñedo y la calidad de bayas, mosto y vino, para su aplicación potencial en viticultura de precisión.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Con el fin de alcanzar los objetivos marcados para el desarrollo del Trabajo de Fin de Grado, se ha llevado a cabo un proceso de seguimiento sobre parámetros fisiológicos y agronómicos en viñedo, así como de composición de la baya, mosto y vino, en un conjunto de 20 subzonas de viñedo de la D.O. Ribera del Duero a lo largo del año 2016.

4.1. Diseño experimental: Zona de estudio y selección de subparcelas

El viñedo se sitúa en la zona oeste de la Denominación de Origen Ribera del Duero, a una altitud media de 800 m.s.n.m. La totalidad de las subparcelas pertenecen a la Bodega Emilio Moro S.L., en el término municipal de Pesquera de Duero (Valladolid).

Las subparcelas presentan unas dimensiones de 10x10 m² de superficie. Para la selección de las subparcelas (Tabla 4.1.) se siguieron una serie de pautas:

- Las subparcelas estudiadas son representativas del cultivo en la zona, corresponden al “viñedo tipo” de la zona en cuanto al sistema de conducción y material vegetal.
- Se buscó la máxima variabilidad en las características del suelo, con la realización, previa a la selección, de analíticas sobre la composición del suelo.

Tabla 4.1. Paraje, denominación de muestra, coordenadas de localización y marco de plantación de las diferentes subparcelas de viñedo sometidas a estudio.

Paraje	Muestra	Marco	Latitud	Longitud
HONTANILLA	VH10-1	3x1,50 m	41,6533993	-4,1750898
HONTANILLA	VH10-5	3x1,50 m	41,6535117	-4,1752565
CAMINO	VH11-1	3x1,50 m	41,6565440	-4,1631387
CAMINO	VH11-5	3x1,50 m	41,6565695	-4,1634587
CHOZO	VH14-1	3x1,50 m	41,6561122	-4,1648545
CHOZO	VH14-5	3x1,50 m	41,6556935	-4,1646035
HONTANILLA	VH15-1	3x1,50 m	41,6530058	-4,1761190
CORNALVO	VC18-1	3x1,50 m	41,6577772	-4,1762960
CORNALVO	VC18-5	3x1,50 m	41,6579713	-4,1764295
CHOZO	VC19-5	3x1,50 m	41,6560313	-4,1663320
CHOZO	VC19-6	3x1,50 m	41,6558372	-4,1654518
CORNALVO	VC21-1	3x1,50 m	41,6577073	-4,1777572
CORNALVO	VC21_5	3x1,50 m	41,6577392	-4,1774133
CORNALVO	VC22-5	3x1,50 m	41,6577778	-4,1766666
HONTANILLA	VH31	3x1,50 m	41,6534858	-4,1755532
HONTANILLA	VC32	3x1,50 m	41,6529948	-4,1766270
CORNALVO II	VC33	3x1,3 m	41,6571578	-4,1750360
CORNALVO II	VH34	3x1,3 m	41,6572288	-4,1743963
CORNALVO II	VC35	3x1,3 m	41,6582721	-4,1755680
CHOZO	VH36	3x1,50 m	41,6552361	-4,1658278

4.2. Características edáficas

La Ribera del Duero está situada en el interior de la Cuenca del Duero, formando parte de la gran meseta septentrional de la Península Ibérica, compuesta por un sótano lleno de depósitos terciarios. La mayor parte de estos depósitos consisten en capas de arena ocre arcillosa, ocre roja y ocre. A diferencia de estas, las terrazas medias y bajas del río Duero se componen de depósitos aluviales cuaternarios (Ramos *et al.*, 2015b).

Las tipologías principales de suelo que podemos encontrar en el área (WRB, 2006), son Cambisoles calcáreos, Cambisoles éutricos, Luvisoles cálcicos, Fluvisoles calcáricos, Fluvisoles éutricos y en menor proporción Leptosoles líticos y Regosoles calcáreos. Estos tipos de suelos presentan poca evolución, procediendo de la erosión de otros suelos ubicados en las partes dominantes de formas onduladas o en laderas calcáreas de pendientes marcadas. Por lo general, son poco profundos, con un perfil fuertemente calcáreo, permeables y de textura media-gruesa (Gómez-Miguel, 2009).

Las analíticas de los suelos sobre las 20 subparcelas seleccionadas las llevó a cabo el laboratorio del Centro Tecnológico ITAGRA.CT. Los resultados obtenidos se muestran y debaten en el apartado de resultados y discusión (Tabla 5.1.).

4.3. Material vegetal

El viñedo de las subzonas tiene una edad de entre 20 y 30 años, compuesto en su totalidad por la variedad Tempranillo sobre portainjerto 110-Richter, en secano y plena producción. Presentan un sistema de conducción de espaldera en doble cordón Royat, con densidades de plantación aproximadas de 2.200 plantas ha⁻¹. Los troncos presentan una altura media de 70 cm. Se da una carga media de 16 yemas planta⁻¹, repartidas en cada brazo de la planta, con una carga aproximada de 36.000 yemas ha⁻¹.

La variedad Tempranillo es la principal en Ribera del Duero, siendo la variedad tinta más extendida en territorio nacional (MAGRAMA, 2014). Por lo general, el Tempranillo tiene una brotación tardía en la zona de Ribera del Duero, siendo esto lo más destacable en lo que a fenología se refiere, con un desborre y maduración temprana (Ramos *et al.*, 2015b). Hay que destacar que presenta un porte erguido sensible al viento, permitiendo la poda corta o larga por su elevada fertilidad y es sensible a Oídio (*Uncinula necator*) (MAPAMA, 2010). Se trata de una variedad de piel gruesa, con una elevada concentración de antocianinas que produce vinos tintos de color profundo, con taninos y acidez moderada (Ramos *et al.*, 2015b).

El portainjerto empleado sobre las cepas sometidas a estudio es 110 Richter (*Vitis berlandieri cv. Ressaiguier n°2 x Vitis rupestris cv. Martin*), siendo este el más empleado para el injerto de Tempranillo (MAPAMA, 2010). Entre sus características destaca la vigorosidad, el retraso de la maduración y el estímulo de la fructificación. Buena tolerancia a la sequía, pero sensible a la humedad. Adaptado a zonas de calidad, con baja resistencia a la salinidad y nematodos (MAPAMA, 2010).

4.4. Meteorología

En la D.O. Ribera del Duero se da un clima mediterráneo en el que destaca la continentalidad, sobresaliendo su carácter templado con inviernos secos y veranos calurosos en la parte occidental, templado con inviernos secos y sosegados en la parte oriental (Ramos *et al.*, 2015a). La media anual de temperatura oscila entre los 11° y los 12,7°C, con temperaturas máximas promedio cercanas a los 18,8°C y unas mínimas promedio de 6,6°C (Ramos *et al.*, 2015a). Existen diferencias significativas de las temperaturas máximas en la estación de crecimiento y sobre las temperaturas extremas máximas de los dos extremos de la zona, con las temperaturas más bajas registradas en la parte oriental de la Ribera del Duero (Ramos *et al.*, 2015a). La precipitación media anual oscila entre 413 y 519 mm, con los principales periodos de lluvia durante abril-mayo y octubre-noviembre-diciembre (Ramos *et al.*, 2015a).

Tabla 4.2. Datos mensuales de temperatura media (T), media de las máximas (TM) y media de las mínimas (Tm) en °C; precipitación total mensual (P) en mm. Datos obtenidos en estación meteorológica de Valbuena de Duero (VA-07) años 2015-2016. Fuente: Inforiego (2018).

*Serie de 1981-2010. Estación meteorológica de Valladolid (08140). Fuente: AEMET (2018).

Año	2015				2016				Año Medio*			
	Valor	T	TM	Tm	P	T	TM	Tm	P	T	TM	Tm
En	1,7	7,8	-2,8	37	5,3	9,2	1,7	136	4,2	8,2	0,2	40
Feb	3,6	8,5	-0,9	29	5,0	9,9	0,7	56	5,9	11,2	0,7	27
Mar	7,2	14,6	0,2	20	5,2	11,7	-0,7	40	9,0	15,2	2,8	22
Abr	11,4	18,2	4,9	52	8,6	14,6	3,1	87	10,7	16,9	4,6	46
May	15,4	23,2	7,6	11	12,9	19,7	6,4	45	14,5	21,0	7,9	49
Jun	19,8	27,8	11,3	43	18,9	27,5	9,7	6	19,3	27,0	11,6	29
Jul	23,1	31,2	13,8	2	22,8	31,9	13,6	27	22,3	30,7	14,0	13
Ago	20,2	28,6	11,8	18	22,3	31,5	12,7	1	22,1	30,1	14,1	16
Sep	15,2	23,2	7,6	24	18,2	27,2	9,3	9	18,5	25,6	11,3	31
Oct	12,1	18,7	6,2	55	13,1	21,4	5,9	38	13,2	18,9	7,6	55
Nov	7,0	13,5	2,2	32	6,4	12,2	1,4	61	7,9	12,4	3,5	52
Dic	4,5	11,5	-0,3	22	3,7	9,5	-0,2	14	5,0	8,6	1,3	53
Año	11,8	19,0	5,1	345	11,9	18,9	5,3	520	12,7	18,8	6,6	433

En la Tabla 4.2. se muestra el seguimiento de la meteorología del área de estudio durante la campaña anterior y la campaña del ensayo, permitiéndonos su caracterización. Para ello, se han realizado las medias correspondientes de los datos obtenidos en la estación meteorológica de Valbuena de Duero, la cual pertenece a la red de Inforiego de Castilla y León (Inforiego, 2018). La estación, en concreto, se sitúa a 12 km de la zona de ensayo, con una altitud de 737 msnm. Se incluyen para realizar la comparación los datos habituales de la zona, empleando la serie climática de 1981-2010 de la estación meteorológica de Valladolid, la cual pertenece a la red de estaciones de AEMET (AEMET, 2018), situada a 43 km de la zona de estudio y altitud de 735 msnm.

Destaca una precipitación muy elevada en los meses de invierno y hasta abril a lo largo del 2016 (Tabla 4.2.) con respecto a los valores obtenidos en un año medio (AEMET, 2018), triplicando el valor en enero y duplicándolo los demás meses. Por el contrario, los meses de verano, salvo julio (alguna tormenta aislada), las precipitaciones que se dieron registraron valores muy inferiores a lo habitual, dándose la misma situación en el mes de septiembre y diciembre. En cuanto a las temperaturas, fueron de forma general algo más bajas a las del año medio, en torno a 1-2°C (AEMET, 2018). En la D.O. Ribera del Duero, se recogió una cosecha histórica en 2016, con un total de 133 millones de kilos de uva. La vendimia se inició el día 22/09 y tuvo su fin el 07/11, retrasándose con respecto a las fechas habituales (Consejo Regulador D.O. Ribera del Duero, 2016).

4.5. Controles y observaciones

4.5.1. Contenido de elementos minerales en peciolo

Siguiendo la normativa recomendada por la O.I.V. (O.I.V., 1996), se realizó el muestro foliar de cada una de las subzonas, para conocer el contenido mineral en hoja. Para ello, se recogieron en enero 60 peciolo de las hojas opuestas al primer racimo de uno de los pámpanos, situados en la zona media de cada brazo de las cepas. Las analíticas de los elementos minerales fueron llevadas a cabo por el Centro Tecnológico ITAGRA. El contenido de K y Mg se determinó tras realizar la acenización de las muestras en un horno a 450°C, extrayendo los minerales con HCl 2N.

4.5.2. Parámetros de vigor

Peso de madera de poda / m²: De forma previa a la realización de la poda, se seleccionaron 9 cepas por repetición en cada uno de los líneas de las subzonas a muestrear, efectuando un recuento del número de pulgares, sarmientos y espurgas por cepa. Tras la realización de la poda, se recogió el material en cubos, pesando este con ayuda de una báscula digital de campo con error de ± 5 g. El peso de madera de poda / m² se expresó en kg madera m⁻².

Peso medio del sarmiento: Se calculó como el coeficiente entre el peso de la madera de poda y el número de sarmientos totales, expresado en gramos.

Sarmientos / cepa: El número de sarmientos por cepa, en las vides seleccionadas por repetición, se calculó realizando la media sobre los valores obtenidos por conteo previo a la poda en relación al número total de cepas.

4.5.3. Parámetros de rendimiento

Racimos / cepa; racimos / sarmiento; racimos / m²: De forma simultánea a la realización de la vendimia, se ejecutó un conteo del número de racimos cortados en cada línea de cepas. A posteriori, efectuando la media entre el total de racimos de cada subzona en relación al número de cepas, sarmientos y superficie de cada parcela se obtuvieron las variables relacionadas.

Peso medio del racimo; peso uva / cepa; peso uva / m²: Con la realización de la vendimia, se realizó la pesada en campo de todo lo recogido en cubos, empleando la báscula de campo digital, con un error de ± 5 g. De este modo conocemos el peso medio del racimo (g), teniendo en cuenta el total de racimos cortados. Con el valor del peso medio conocido, considerando los valores medios del número de cepas y superficie, se calculó el rendimiento por cepa (g uva cepa⁻¹) y por subparcela (g uva m²⁻¹).

Índice de Ravaz: Calculado como la relación entre la producción de uva por cepa (kg uva cepa⁻¹) y el peso de madera de poda por cepa (kg madera cepa⁻¹). Obtenemos como resultado un índice que nos permite conocer una valoración del equilibrio entre la producción y el desarrollo vegetativo (rendimiento peso de madera de poda⁻¹).

Peso de 100 bayas: Determinado en el momento de la vendimia, mediante la pesada de las bayas muestreadas y posteriormente empleadas en la analítica de madurez fenólica de la vendimia.

4.6. Microvinificaciones

La vinificación de la vendimia, separada y diferenciada por subzonas se realizó en la ETSIIAA (Palencia) por duplicado. Tras la recepción de la vendimia, la uva fue despalillada y estrujada, empleando para ello una despalilladora de paletas-estrujadora de rodillos cilíndricos de perfiles conjugados horizontales. Se realizó el encube, 12 kg de pasta (hollejos y mosto) obtenidos para cada subzona, en damajuanas de vidrio de 20 L, obteniendo un total de 40 microvinificaciones.

La vendimia despalillada y estrujada se sulfitó a la dosis de 6 g HL^{-1} SO_2 total con metabisulfito potásico, homogeneizando la pasta a continuación. Para iniciar la fermentación alcohólica (FAL) se inocularon levaduras secas activas comerciales de la especie *Saccharomyces cerevisiae* (Zymaflore RX60, Laffort), previa rehidratación, en dosis de 16 g HL^{-1} . Se controló diariamente la evolución de la FAL midiendo densidad y temperatura. Se consideró terminada la FAL cuando el mosto alcanzó una densidad inferior a 995 g L^{-1} , se confirmó mediante analítica de sustancias reductoras.

Posteriormente, los vinos se descubaron y prensaron, empleando una prensa vertical hidráulica de presión máx. 4 bar, pasando a recipientes de vidrio de 8 L. Se realizó un trasiego pasados 7 días para eliminar las lías gruesas, realizando a continuación la inoculación de bacterias lácticas *Oenococcus oeni* (Lactoenos SB3, Laffort). La fermentación maloláctica (FML) se realizó a $20\text{-}22^\circ\text{C}$, controlando el progreso de la degradación del ácido málico mediante cromatografía de papel. Con la FML terminada, se realizó un trasiego adicionando metabisulfito potásico para alcanzar la dosis de $30\text{-}35 \text{ mg L}^{-1}$ de SO_2 libre, dejándolos estabilizar en cámara a 10°C durante un mes. Finalmente, se realizó un trasiego, homogeneizando y comprobando el SO_2 libre para dejarlo a $30\text{-}35 \text{ mg L}^{-1}$, procediendo al embotellado.

4.6.1. Control de la densidad

Para realizar un control sobre el transcurso de la FAL, se llevaron a cabo mediciones de la densidad en cada una de las damajuanas. La densidad se define como la masa por unidad de volumen de vino o mosto, expresada en g L^{-1} y a 20°C . Su control se realiza con el objetivo de conocer el azúcar que queda en el mosto para fermentar. Para la medición se siguió el proceso recomendado por la OIV (OIV, 2018a), procediendo a medición empleando un densímetro, obteniendo un valor a temperatura ambiente que se expresó en relación a 20°C mediante las tablas establecidas (OIV, 2018a).

4.6.2. Azúcares reductores

Considerando la FAL terminada con densidades $\rho < 995 \text{ g L}^{-1}$, se confirmó el final de esta realizando una analítica de sustancias reductoras en vino. El procedimiento seguido fue el marcado por la OIV (OIV, 2018b), especificado también en el reglamento de los Métodos Oficiales de la Comunidad Europea CEE 2676/90 (Comisión Europea, 1990). Las sustancias reductoras comprenden los azúcares que presentan funciones cetónicas y aldehídicas, y se determinan por su acción reductora sobre una solución alcalina de una sal de cobre en caliente, por la función carbonilo de estos azúcares (OIV, 2018b). En el proceso, se dan reacciones que forman compuestos oxidados, entre estos, el óxido cuproso que precipita como resultado de la reducción del cobre divalente. El óxido cuproso oxida en un medio ácido con una cantidad equivalente de yoduro que pasa a yodo, valorando el yoduro con tiosulfato en presencia de almidón.

4.6.3. Cromatografía de Papel

Con la fermentación maloláctica se produce la disminución del ácido málico y aumento del ácido láctico. Para analizar la evolución de ambos conociendo así el transcurso de la FML se realizaron cromatografías de papel de los vinos, siendo este un método semicuantitativo (Hidalgo, 2010). El método se aplica teniendo como base un Papel Whatman, sobre el que depositamos microgotas de vino en un lateral separadas entre sí, además de las soluciones patrón de ácido málico, entre 1 y 4 g L^{-1} . Con las gotas secas, se sitúa el Papel Whatman en vertical sobre una solución de eluyente, compuesta por una solución A, n-butanol y 1 g de azul bromofenol por 1 L y una solución B, ácido acético al 50% . Se mezclaron en relación $A : B = 5 : 2$ en tarros de cristal con cierre hermético. La solución asciende por capilaridad en el papel, arrastrando los ácidos del vino, situándolos en distintos lugares. Permite ver el avance de la FML de forma semicuantitativa (Hidalgo, 2010).

4.7. Análisis de mostos y vinos

Para la extracción del mosto, las bayas se trituraron con batidora manual, separando a posteriori la fracción sólida. El mosto obtenido se centrifugó en tubos Falcón, 3 minutos a 3500 rpm en centrífuga Centronic-BL (JP Selecta S.A., Barcelona) en el laboratorio de la ETSIIAA (Palencia). Sobre los mostos, las analíticas efectuadas fueron el grado Brix, pH y acidez total titulable, nitrógeno fácilmente asimilable, índices de madurez fenólica, incluido IPT, contenido en K, ácido málico y tartárico y el análisis de los parámetros CIELab. En el vino, las analíticas fueron pH y acidez total titulable, grado alcohólico, parámetros de color CIELab, IPT y taninos y antocianos totales.

4.7.1. Grado Brix. Mosto

Para realizar la analítica del Grado Probable del mosto se empleó el refractómetro digital DR-101 BRIX de Optic Ivymen. Las Mediciones se efectuaron previa calibración del aparato y aplicando corrección sobre los resultados a una temperatura de 20°C. Método descrito por la OIV (OIV, 2018c).

4.7.2. pH y acidez total (AT). Mosto y vino

Las analíticas se llevaron a cabo siguiendo el Método Potenciométrico oficial propuesto por la OIV (OIV, 2018d), revisado en 2015 con la resolución OIV-OENO 551-2015. También es la metodología oficial aplicada por el reglamento CEE 2676/90 (Comisión Europea, 1990).

El equipo automatizado para la valoración es el 702-SM Titrimo. Tras la calibración del equipo, se realizó la medida del pH de las muestras de forma inicial. A posteriori, se valoraron las muestras mediante la adición de NaOH 0,1N hasta alcanzar pH 7, punto en el que se da la neutralización de todos los ácidos presentes en la muestra.

La acidez se ha expresado en $g L^{-1}$ de ácido tartárico aplicando la fórmula descrita por García-Barceló, (Zamora, 2003):

$$Acidez\ Total\ (g\ L^{-1}\ TH_2) = \frac{V\ NaOH(mL) * N\ NaOH * 75}{V\ Mosto -\ Vino\ (mL)}$$

4.7.3. Nitrógeno fácilmente asimilable (NFA). Mosto

La metodología aplicada para la analítica es la de Sørensen, con la revisión propuesta por Masneuf y Dubourdieu (Masneuf *et al.*, 1999).

Se empleó en la determinación el mismo equipo automatizado que en la analítica de pH y AT. Con el equipo previamente calibrado, se neutralizaron 10 mL de cada muestra con NaOH 0,1N hasta pH 8,5. Tras la adición de formaldehído sobre la muestra en esas condiciones de pH, se da una reacción de este con el amonio y las aminas primarias, produciéndose protones que hacen disminuir el pH del medio. De nuevo, mediante la adición de NaOH 0,1N se reestablece el pH 8,5, lo que nos permite evaluar el nitrógeno fácilmente asimilable de las muestras con el gasto de NaOH total:

$$NFA\ (mg\ L^{-1}) = V\ NaOH\ (mL) * 14$$

4.7.4. Índices de madurez fenólica de la baya

La madurez fenólica, relacionada con el contenido de taninos y antocianos, fue evaluada mediante el método de Saint-Cricq (Saint-Cricq *et al.*, 1998). Tras realizar un muestreo de bayas en campo, se baten hasta obtener una pasta homogénea. Separamos dos muestras de 50 g cada una (M_1 y M_2), centrifugando ambas durante 6 minutos a 4200 rpm. Tras este proceso, se filtran con lana de vidrio y se centrifugan en las mismas condiciones. Sobre la muestra 1 (M_1) añadimos 50 mL de una solución de HCl a pH=1 (8,3 mL de HCl al 37% y enrasar a 1L con H₂O destilada) y sobre la muestra 2 (M_2) añadimos 50 mL de una disolución a pH=3,2 (120 mL de etanol 96%, 5 g de ácido tartárico, 2,5 mL de NaOH 32% y enrasar a 1L con H₂O destilada).

Tras dejarlo macerar durante 4 horas, evaluamos el contenido de antocianos totales (M_1) y fácilmente extraíbles (M_2), con cubetas de vidrio de 1 cm y con $\lambda=520$ nm.

Para la determinación de antocianos, se necesitan tres tubos de ensayo por muestra:

- Tubo 1: 0,75 mL de muestra y 15,75 mL de disolución de etanol (añadir 52 mL de etanol al 96% y enrasar a 1 L con la disolución HCl 2% preparada anteriormente) HCl 2% (54 mL de HCl 37% comercial, enrasado a 1 L H₂O destilada).
- Tubo 2: 5 mL del tubo 1 y 2 mL de bisulfito sódico al 16% (400 mL de bisulfito sódico 40%, enrasado a 1 L de H₂O destilada). (D_0 Sample).
- Tubo 3: 5 mL del tubo 1 y 2 mL de H₂O destilada. (D_1 , Reference).

Pasados 20 minutos se realiza la medición de la absorbancia $\lambda=520$ nm. Previamente se hace el blanco con agua destilada, poniendo ambas cubetas enfrentadas para las mediciones (D_0 y D_1). Los cálculos aplicados para los parámetros son los siguientes:

Antocianos totales (ANT): M_1 a pH=1

$$\text{ANT (ppm de malvidina)} = (D_0 - D_1) \times 1500$$

- Antocianos fácilmente extraíbles (AFE): M_2 a pH=3,2

$$\text{AFE (ppm de malvidina)} = (D_0 - D_1) \times 1500$$

- Índice de Madurez Celular (IMC): Este dato es útil para conocer el grado de adaptación de una variedad a la zona, cuanto más bajo sea, más fácil será la extracción de los compuestos fenólicos de la piel. Cercanos a 50 indican una mala adaptación, cercanos a 20 buena.

$$\text{IMC (\%)} = \frac{\text{ANT} - \text{AFE}}{\text{ANT}} \times 100$$

- Índice de Madurez de las Pepitas (IMP): Representa el porcentaje de contribución de los taninos de las pepitas al contenido fenólico total de la uva, relacionándose con la astringencia de los taninos. Un IMP bajo, cercano a 20, indica polimerización de los taninos de la pepita, que pasan a ser no extraíbles.

$$\text{IMP (\%)} = \frac{\text{IPT} - \text{AFE}}{\text{IPT}} \times 100$$

4.7.5. Índice de polifenoles totales (IPT). Mosto y vino

La metodología empleada para su determinación se fundamenta en la obtención del índice por medida de la absorbancia del mosto-vino a $\lambda=280$ nm, debido a que el núcleo bencénico característico de estos compuestos polifenólicos presenta su máxima absorbancia a esta longitud de onda (Zamora, 2003).

Para su determinación se empleó un espectrofotómetro UV/Visible V-530 Jasco Inc (Easton, Maryland, Estados Unidos). En ambos casos se empleó como blanco agua destilada. Para la medición del mosto, se usaron cubetas de cuarzo de 1 mm de paso de luz, multiplicando la lectura del espectrofotómetro por 10 para expresarlo en relación a 1 cm como indica el método oficial. En el caso del vino, se emplearon cubetas de cuarzo de 1 cm de paso, previa disolución de este 1:25. Para el cálculo se aplica:

$$\text{Mosto: IPT} = A_{280} \times 10$$

$$\text{Vino: IPT} = A_{280} \times 25$$

4.7.6. Contenido en potasio. Mosto

El contenido en K de los mostos se determinó mediante fotometría de llama, aplicando la metodología propuesta por la OIV (OIV, 2018e), también metodología oficial de la UE, reglamento CEE 2676/90 (Comisión Europea, 1990).

Como equipo se utilizó un fotómetro PFP-7 Jenway (Bibby Scientific Limited, Staffordshire, Reino Unido), con filtro para medir el K. Para calibrarlo se preparó una solución de referencia, compuesta por K, aniones, cationes y compuestos orgánicos.

En el mosto se da un rango elevado de concentración del K, de modo que se diluyeron las muestras empleando una solución que tenía los mismos componentes que la solución de referencia a excepción del K. El contenido se expresó en mg L^{-1} .

4.7.7. Ácido tartárico. Mosto

El contenido de los mostos en ácido tartárico se evaluó mediante la metodología gravimétrica oficial (OIV, 2018f). Se fundamenta en la precipitación del ácido tartárico en forma de tartrato de calcio, determinando el precipitado gravimétricamente. Las condiciones de precipitación (pH, volumen total utilizado, concentración de iones precipitantes) son tales que la precipitación del tartrato de calcio se completa mientras que el tartrato D (-) de calcio permanece en solución.

4.7.8. Ácido málico. Mosto

Para analizar el contenido en ácido málico se aplicó el método enzimático (OIV, 2018g). El método basa su principio en la oxidación del ácido L-málico con NAD a oxalacetato, en una reacción catalizada por L-malato deshidrogenasa. De forma final, determinamos la concentración de NADH formado, $\lambda = 340 \text{ nm}$, relacionado de forma directa con la cantidad de L-málico de la muestra inicial. Se empleó un kit enzimático (Novakit, S.L.), cuyos reactivos son:

- Solución 1: Tampón de glicilglicina (pH 10,0) con ácido L-glutámico.
- Solución 2: B-NAD liofilizado (reconstituir con 6 mL agua bidestilada).
- Solución 3: Glutamato-oxalacetato-transaminasa (GOT) en sódico n de sulfato de amonio.
- Solución 4: L-malato deshidrogenasa (L-MDH) en sódico n de glicerina.

Empleando cubetas de PVC y 1 cm de paso de luz, se realiza la adición de los diferentes elementos para llevar a cabo el procedimiento:

- Cubeta de referencia: Solución 1 (1 mL); Solución 2 (0,2 mL); Agua bidestilada (1 mL); Solución 3 (0,01 mL).
- Cubeta de la muestra: Solución 1 (1 mL); Solución 2 (0,2 mL); Agua bidestilada (0,90 mL); Solución 3 (0,01 mL); Muestra a medir (0,10 mL).

Se dejó reposar ambas cubetas durante 15 minutos, procediendo a continuación a la medida de la absorbancia $\lambda = 340 \text{ nm}$ (A1). Conocido A1, se adicionan 0,01 mL del reactivo 4 sobre ambas cubetas, dejándolo reposar 10 minutos, realizando una segunda medición (A2). El cálculo para el ácido málico en g L^{-1} es:

$$\text{Ácido málico (g L}^{-1}\text{)} = 0,472 * (A2 - A1)$$

4.7.9. Antocianos totales. Vino

Para la determinación en el vino de los antocianos totales, aplicamos la metodología propuesta por Zamora (2003). Se adiciona sobre un vaso de precipitados, 1 mL de vino previamente filtrado, 1 mL de etanol al 96% y 20 mL de HCl al 2%. Se necesitan 2 tubos para cada muestra, adicionando sobre ambos 5 mL de la mezcla preparada inicialmente. A continuación, sobre uno de ellos se adicionan 2 mL de agua destilada (blanco A2) y 2 mL de NaHSO_3 sobre el otro (muestra A1).

Una vez preparados ambos tubos, se tapan y agitan, esperando 10 minutos en reposo tras el proceso. Realizamos a continuación la lectura de las absorbancias a una $\lambda = 550 \text{ nm}$, obteniendo el valor de A1 y A2, con cubetas de vidrio con camino óptico de 1 cm. La concentración se obtiene a partir del siguiente cálculo:

$$\text{Antocianos Totales (mg L}^{-1}\text{)} = (A1 - A2) \times 875$$

4.7.10. Taninos totales. Vino

El método se fundamenta en la propiedad de los taninos condensados para liberar, en medio ácido y presencia de calor, un carbón muy reactivo por rotura de los enlaces intermonoméricos para dar lugar a antocianidina por oxidación (Bate-Smith, 1991).

Para el procedimiento, se debe preparar una dilución previa de la muestra de vino, 1:10. A partir de esta, se preparan dos tubos de ensayo, tubos A y B, con la adición de 1 mL de la muestra diluida, 0,5 mL de agua destilada y 3 mL de HCl al 37%. Sobre el tubo A se aplica una temperatura de 90°C durante 30 min, tapado y protegido de la luz, dejándolo atemperar tras el proceso en oscuridad. El tubo B se deja a temperatura ambiente, protegido de la luz. Después del atemperado del tubo A, adicionamos 0,5 mL de etanol sobre ambos tubos, midiendo la absorbancia a $\lambda = 550$ nm, en una cubeta de vidrio con 1 cm de paso óptico. El cálculo aplicado es el siguiente:

$$\text{Taninos totales (g L}^{-1}\text{)} = 19,33 \times (A_A - A_B)/5$$

4.7.11. Grado alcohólico. Vino

Para su analítica se empleó el Método Ebuliométrico, con un equipo específico de la casa comercial GAB System. El método se basa en la diferencia de temperaturas de evaporación entre etanol y agua, 78,4°C y 100°C respectivamente, a temperatura ambiente y presión de 760 mm Hg. En función de la diferencia de temperatura en la ebullición del vino, se extrapola el resultado para conocer así su contenido en etanol.

4.7.12. Parámetros colorimétricos. Mosto y vino

Se ha empleado la metodología CIELab (OIV, 2018h), obteniendo los siguientes parámetros:

- (L*): Luminosidad de negro a blanco.
- (a*): Componente de color rojo-verde.
- (b*): Componente de color azul-amarillo.
- (C*): Cromaticidad o saturación.
- (H*): Tono o tonalidad.

Para la realización de las medidas de absorbancia, se ha empleado un espectrofotómetro UV-Visible JASCO V-630, empleando cubetas de cuarzo de 1 mm, el software "JASCO Spectra Manager Corporation" con observador patrón CIE64 y el iluminante D65 (CIE, 1986).

4.8. Análisis de datos

La correlación entre niveles nutricionales detectados en suelo y peciolo se analizó mediante los coeficientes r de Pearson. Para realizar el estudio de los efectos significativos de los niveles nutricionales de Mg y K sobre los diferentes parámetros agronómicos del viñedo y calidad de uva, mosto y vino, se realizó un análisis de regresión lineal. Además, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) de las distintas variables, haciendo una partición equilibrada de las subzonas según los niveles nutricionales de K y Mg en peciolo, diferenciando contenidos bajos, medios y altos. La separación de medias se obtuvo con el Test de Tukey.

Para el análisis y tratamiento de datos se ha empleado el paquete informático SAS, versión 9.1 (SAS Institute INC, 2004).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el apartado se exponen los resultados obtenidos tras la realización de los análisis estadísticos pertinentes sobre los diferentes parámetros considerados y los niveles nutricionales de K y Mg de suelo y peciolo. Se toman los niveles en peciolo para el análisis de varianza (ANOVA) al presentar una mayor fiabilidad para establecer correlaciones con los parámetros del viñedo que los niveles en suelo (Tecchio *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2003; Altemir, 2001).

5.1. Concentraciones de potasio y magnesio en suelo y peciolo

El contenido medio en K intercambiable del suelo en el conjunto de subzonas estudiadas (Tabla 5.1.) es un valor aceptable en comparación con niveles de referencia de 150-250 mg kg⁻¹ (Horneck *et al.*, 2011). Se da una alta variabilidad entre las diferentes muestras de suelo (Tabla 5.1.), de modo que encontramos 7 subparcelas con contenidos bajos de K, 8 subparcelas con contenidos altos y 5 subparcelas dentro de los niveles medios óptimos.

En el caso del Mg, se da un contenido medio en suelo (Tabla 5.1.) en rango óptimo comparado con valores de referencia, entre 0,5-2,5 meq 100 g⁻¹ (Horneck *et al.*, 2011). La variabilidad es menor que para el K en las diferentes subparcelas. Se dan únicamente 3 subparcelas de contenidos elevados, el resto en valores óptimos.

Los contenidos de K en los peciolo tienen una media (Tabla 5.1.) que está dentro del óptimo en valores de referencia, 1,14-1,68 g 100 g⁻¹ (García-Escudero *et al.*, 2013). Existe un coeficiente de variación bajo, con 5 subparcelas en niveles muy bajos y 1 subparcela con niveles bajos, inferiores al óptimo.

El contenido medio de Mg en peciolo de las muestras (Tabla 5.1.), se considera alto, por encima de 1,21 g 100 g⁻¹ (García-Escudero *et al.*, 2013). Se dan 2 subparcelas con niveles de Mg inferiores al considerado como óptimo, 0,78-0,95 g 100 g⁻¹ y 5 con contenidos superiores al óptimo, pero sin llegar al valor considerado como alto.

Tabla 5.1. Contenido en K y Mg en suelo y peciolo obtenidos en las subparcelas estudiadas.

Origen	Suelo			Peciolo		
	K	Mg	K/Mg	K	Mg	K/Mg
Nutrientes	K	Mg	K/Mg	K	Mg	K/Mg
Unidades	mg/kg	meq 100g ⁻¹	meq 100g ⁻¹	%s.m.s.	%s.m.s.	
Máximo	400	3,56	0,52	1,90	2,35	2,50
Mínimo	75	1,01	0,12	0,40	0,76	0,17
Media	206	1,90	0,29	1,21	1,42	1,05
Desviación estándar	92	0,68	0,14	0,46	0,51	0,65
Coeficiente variación (%)	44	35,61	48,20	37,70	36,18	62,43

Considerando la relación K/Mg, se da una media en suelo (Tabla 5.1.) que se encuentra en los niveles óptimos recomendados: 0,16-0,35 meq 100 g⁻¹ (Horneck *et al.*, 2011). No obstante, existe una elevada variabilidad, con un coeficiente de variación cercano al 50%.

Tabla 5.2. Coeficiente de correlación de Pearson de los nutrientes en suelo y peciolo.

	K suelo	Mg suelo	K peciolo	Mg peciolo
K suelo	1			
Mg suelo	+ 0,28	1		
K peciolo	+ 0,90 ***	+ 0,25	1	
Mg peciolo	- 0,67 **	+ 0,27	- 0,66 **	1

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$

Como se observa en la Tabla 5.2., el contenido en K en suelo del conjunto de subparcelas presenta una regresión positiva con el K del peciolo y negativa con el Mg del peciolo. El valor de la correlación de Pearson entre el K del suelo y de peciolo es muy cercana al valor 1, con una significación muy elevada (Tabla 5.2.). Por tanto, en el presente estudio se confirma que las analíticas de K en peciolo en el estadio de envero de la vid son muy sensibles al nivel de disponibilidad del nutriente en el suelo, como ya habían observado Tecchio *et al.* (2006) y Yener *et al.* (2002) en sus estudios.

La regresión negativa entre el K del suelo y el Mg del peciolo, con un valor por encima de 0,5 del coeficiente de correlación de Pearson (Tabla 5.2.), muestra la inhibición que ejerce el K del suelo con respecto a la absorción del Mg por parte de la planta, algo que corrobora los resultados obtenidos en otros estudios (Arrobas *et al.*, 2014; Tecchio *et al.*, 2006; Keller, 2005).

No existe correlación entre el contenido de Mg en suelo y peciolo en envero (Tabla 5.2.), al contrario de lo observado por Tecchio *et al.* (2006) y Yener *et al.*, (2002). La falta de correlación puede deberse al antagonismo que ejerce el K sobre el Mg, provocado por la competencia en la entrada a un mismo canal proteico en el momento de absorción de los nutrientes hacia la planta (Cakmak, 2015).

Sobre el Mg del suelo y el K del peciolo tampoco se obtuvo una significación estadística (Tabla 5.2.), por lo que no existe correlación entre ambos. Por lo tanto, el contenido de Mg del suelo no ejerce inhibición sobre la absorción de K en el caso del estudio llevado a cabo, a diferencia de lo observado por Tecchio *et al.* (2006), donde los niveles de K en el peciolo se correlacionaron negativamente con el nivel de Mg en el suelo, consecuencia de la inhibición del Mg sobre la absorción de K por la planta. Se debe tener en cuenta que sobre la absorción de los nutrientes a la planta influyen diferentes factores relacionados con procesos químicos y bioquímicos que se dan en el suelo (He *et al.*, 2005), lo que explica la diferencia entre los resultados obtenidos en el estudio con respecto a otros estudios realizados previamente.

En lo que respecta al contenido de ambos nutrientes en suelo, K y Mg, no existe una correlación entre ambos (Tabla 5.2.), por lo que el contenido de uno no influye sobre el otro, dándose el antagonismo únicamente en el momento de absorción por parte de la planta. No sucede lo mismo con los contenidos de ambos en peciolo, donde sí que se observó una correlación negativa (Tabla 5.2.), siendo indicador del antagonismo existente en el transporte de K y Mg a través de la planta, algo que ya observó en su estudio Arrobas *et al.* (2014).

5.2. Efectos en el vigor y rendimiento del viñedo

Se han detectado efectos estadísticamente significativos de los contenidos de K y Mg en peciolo, además de la relación entre ambos nutrientes, sobre parámetros de vigor del viñedo como peso de madera de poda por m² y peso medio del sarmiento (Tabla 5.3). Estos resultados muestran regresiones positivas en el caso del contenido en K y de la relación K/Mg en el peciolo, y negativas en el caso del Mg. Los resultados obtenidos corroboran lo observado por otros autores en estudios previos (Altemir, 2001; Sharma *et al.*, 2003; Karimi, 2016).

Tabla 5.3. Valores del coeficiente de determinación R², nivel de significación y pendiente de la regresión de los parámetros de vigor y rendimiento del viñedo sobre el contenido en K, Mg y la relación K/Mg en suelo y peciolo.

Parámetros	Peciolo			Suelo	
	K	Mg	K/Mg	K	Mg
Vigor del Viñedo					
Peso madera poda / m ²	(+)0,275*	(-)0,127	(+)0,230*	(+)0,310	(-)1E-5
Peso medio sarmiento	(+)0,427**	(-)0,242*	(+)0,354**	(+)0,437**	(+)0,016
Sarmientos / cepa	(-)0,133	(+)0,099	(-)0,097	(-)0,125	(-)0,069
Rendimiento del Viñedo					
Racimos / cepa	(-)0,026	(-)0,022	(-)0,003	(-)0,050	(-)0,020
Racimos / sarmiento	(+)0,004	(-)0,057	(+)0,068	(-)0,001	(+)0,013
Racimos / m ²	(-)0,056	(-)6E-6	(-)0,018	(-)0,056	(+)6E-4
Peso medio del racimo	(+)0,189	(-)0,038	(+)0,029	(+)0,058	(+)0,085
Peso uva / cepa	(+)0,046	(-)0,043	(+)0,007	(+)0,002	(+)0,013
Peso uva / m ²	(+)0,052	(-)0,031	(+)0,007	(+)0,006	(+)0,044
Índice de Ravaz	(-)0,035	(+)0,023	(-)0,088	(-)0,115	(+)0,050
Peso de 100 bayas	(+)0,005	(-)0,007	(+)0,004	(-)0,008	(-)0,020

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Analizando los resultados estadísticos obtenidos aplicando un análisis de varianza (ANOVA) (Figura 5.1.), se observa que el peso medio del sarmiento es mayor en las subzonas con un nivel alto de asimilación el K, con diferencias significativas respecto a las subzonas con un nivel medio y bajo. Con una tendencia contraria al K, no hubo diferencias significativas en función del nivel nutricional de Mg. Para el parámetro peso de madera de poda por m² no hubo diferencias significativas para ninguno de los dos nutrientes, observando una ligera tendencia a aumentar con mayores niveles de asimilación en las subparcelas de K y a disminuir con el Mg.

Los resultados obtenidos en otros estudios (Karimi, 2016; Mpelasoka *et al.*, 2003; Spayd *et al.*, 1994; Kliewer *et al.*, 1991), coinciden con los del presente trabajo. La influencia positiva de la nutrición potásica sobre el vigor del viñedo sería consecuencia de su efecto positivo en la fotosíntesis, la redistribución de sustancias, el crecimiento vegetativo en general, y la mejora del agostamiento de los tejidos (Arrobas *et al.*, 2014; Karimi, 2016).

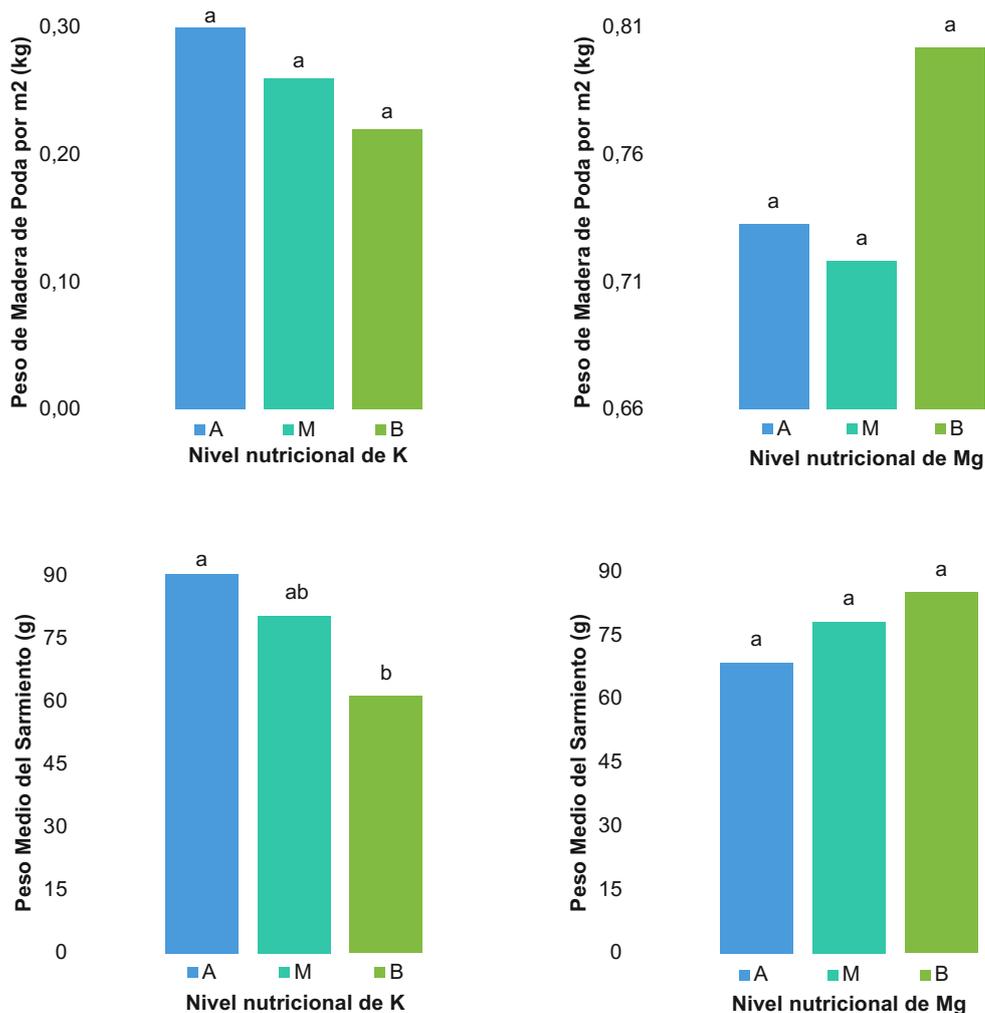


Figura 5.1. Comparación de medias de parámetros de vigor de las subzonas de estudio, en función de los niveles de K y Mg en peciolo en enero (A: alto, M: medio, B: bajo; test Tukey, $p < 0,05$).

A diferencia de lo observado para el vigor, no se manifestaron resultados estadísticamente significativos en el caso de ninguno de los dos nutrientes sobre el rendimiento del viñedo ni el tamaño de la baya (Tabla 5.3.), en concordancia con lo observado por Ciotta *et al.*, (2016). A pesar de no obtener resultados representativos estadísticamente, sí que observamos un comportamiento similar a lo obtenido en estudios previos, donde se establecen correlaciones entre la productividad de los viñedos y el contenido de nutrientes en peciolo, positivas con el contenido de K y relación K/Mg, negativas con el Mg (Altemir, 2001; Sharma *et al.*, 2003; Karimi, 2016).

5.3. Efectos en la composición de la uva, mosto y vino

5.3.1. Madurez fenólica de las bayas

Se obtuvieron efectos estadísticamente significativos del K sobre el contenido fenólico total de las bayas (Tabla 5.4.), con una regresión negativa entre ambos, dándose valores mas altos del contenido fenólico total en subparcelas con niveles bajos de asimilación de K. En el caso del Mg y la relación K/Mg no se detectaron efectos significativos estadísticamente.

Tabla 5.4. Valores del coeficiente de determinación R², nivel de significación y pendiente de la regresión de los parámetros de madurez fenólica, composición del mosto y vino, sobre el contenido en K, Mg y relación K/Mg en suelo y peciolo.

Parámetros	Peciolo			Suelo	
	K	Mg	K/Mg	K	Mg
Madurez Fenólica					
Contenido fenólico total	(-)0,226*	(+)0,045	(-)0,109	(-)0,178	(-)0,005
Antocianos fácilmente extraíbles	(-)0,003	(+)0,009	(-)0,006	(+)0,004	(+)0,128
Antocianos totales	(-)0,008	(-)0,019	(+)5E-5	(+)0,009	(+)0,000
Índice de madurez celular	(-)0,004	(-)0,001	(-)0,003	(-)0,002	(-)0,033
Índice de madurez de la pepita	(-)0,038	(-)0,000	(-)0,005	(-)0,077	(-)0,142
Composición del Mosto					
IPT	(+)0,064	(+)0,044	(-)0,077	(-)0,084	(+)0,002
Nitrógeno fác. asimilable	(+)0,009	(-)0,001	(-)0,001	(-)7E-5	(+)0,017
Grado Brix	(-)0,001	(+)0,011	(-)0,003	(+)0,005	(+)0,018
pH	(+)0,002	(+)0,009	(+)0,001	(-)0,001	(+)0,005
Acidez total	(+)0,116	(-)0,122	(+)0,145	(+)0,153	(-)0,007
L* (Luminosidad)	(+)0,252*	(-)0,111	(+)0,175	(+)0,227*	(+)4E-5
C* (Croma)	(-)0,045	(+)0,000	(-)0,015	(-)0,037	(-)0,003
H* (Tono)	(-)0,226*	(+)0,231*	(-)0,244*	(-)0,219*	(+)0,008
Potasio	(+)0,022	(+)0,032	(+)0,000	(+)0,002	(+)0,069
Ácido tartárico	(-)0,043	(-)0,036	(-)0,007	(-)0,025	(-)0,095
Ácido málico	(+)0,075	(-)0,017	(+)0,110	(+)0,045	(+)0,004
Composición del Vino					
pH	(+)0,139	(-)0,007	(+)0,100	(+)0,176	(+)0,007
Acidez total	(-)0,026	(+)0,068	(-)0,144	(-)0,045	(+)0,011
Grado alcohólico	(-)0,066	(+)0,305	(-)0,149	(-)0,153*	(+)0,049
L* (Luminosidad)	(+)0,254*	(-)0,057	(+)0,098	(+)0,129	(+)0,119
C* (Croma)	(-)0,246*	(+)0,027	(-)0,106	(-)0,107	(-)0,065
H* (Tono)	(-)0,004	(-)0,015	(+)0,001	(+)0,013	(+)0,020
a* (Componente de color rojo-verde)	(-)0,321**	(+)0,038	(-)0,128	(-)0,142	(-)0,074
b* (Componente de color amarillo-azul)	(+)0,076	(-)0,001	(+)0,028	(+)0,019	(-)0,014
IPT	(-)0,337**	(+)0,148	(-)0,286*	(-)0,310*	(-)0,063
Taninos totales	(-)0,044	(-)0,001	(+)0,002	(+)0,001	(-)0,073
Antocianos total	(+)0,004	(-)0,009	(+)0,025	(+)0,037	(-)0,007

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Realizando un análisis de varianza (ANOVA) se comprueba que el contenido fenólico total en baya presenta valores mayores en las subparcelas con niveles de asimilación bajos de K, con diferenciación estadística sobre los niveles medios y altos (Figura 5.2.). El resto de los parámetros relacionados con la madurez fenólica de la baya presentan la misma tendencia (Tabla 5.4.), sin significación estadística. El resultado obtenido en el presente estudio coincide con lo observado por Delgado *et al.* (2004), que registraron una disminución del contenido polifenólico en la baya con dosis mayores de fertilización con K.

En el presente estudio, el nivel nutricional de K mostró tendencia a incrementar las componentes del rendimiento en las subparcelas (Tabla 5.3.). Por otra parte, el K como cofactor de acumulación de azúcares en baya (Conde *et al.*, 2008), favorece la síntesis de compuestos fenólicos por un mayor contenido de carbohidratos en la uva (Delgado *et al.*, 2004). En el presente estudio, los incrementos de tamaño de la baya implican un posible efecto de dilución sobre el contenido fenólico de esta (Spayd *et al.*, 1994). Que sería mayor que el incremento en la síntesis de compuestos fenólicos que promueve K.

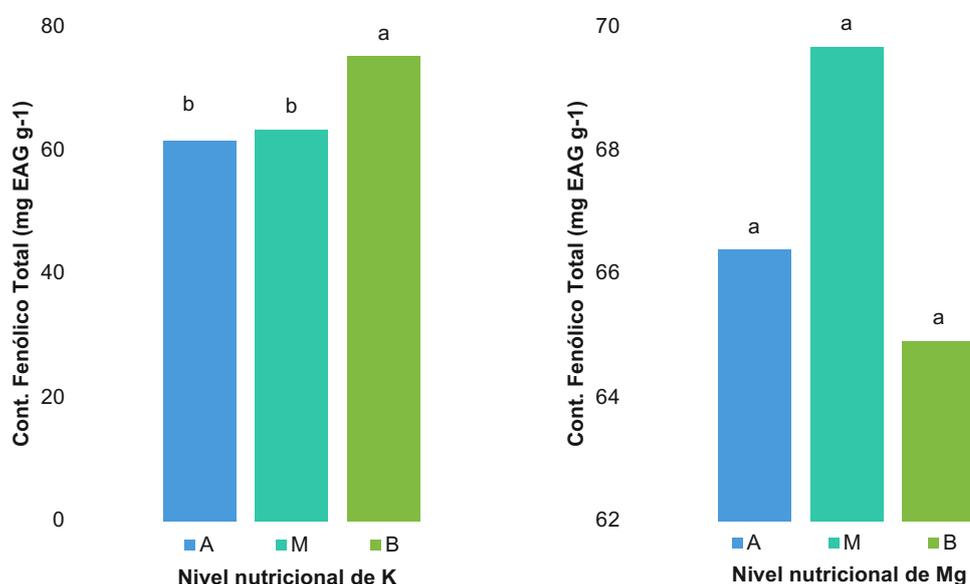


Figura 5.2. Comparación de medias de parámetros de madurez fenólica de las subzonas de estudio, en función de los niveles de K y Mg en peciolo en enero (A: alto, M: medio, B: bajo; test Tukey, $p < 0,05$).

Se observó una tendencia a incrementarse el contenido fenólico total (Figura 5.2.) y de antocianos fácilmente extraíbles en las subparcelas con niveles medios de asimilación de Mg, sin darse diferencias significativas entre los niveles. Sobre los parámetros de antocianos totales e índices de madurez celular y de la pepita, se obtuvo una relación negativa con el contenido de Mg en los peciolo (Tabla 5.4.). En cualquier caso, no se dieron efectos estadísticamente significativos entre el Mg del peciolo y parámetros de madurez fenólica de las bayas. De modo similar, Zatloukalova *et al.* (2011) realizando aplicación foliar de Mg sobre las vides y suelo de Mg no observaron cambios significativos en la composición fenólica de las bayas.

5.3.2. Composición de mosto y vino

A diferencia de lo obtenido por otros autores (Ramos *et al.*, 2017; Karimi, 2016; Zlamalova *et al.*, 2015; Delgado *et al.*, 2004; Coombe, 1992), no se detectaron efectos estadísticamente significativos del contenido de K en peciolo sobre pH y acidez total del mosto y vino (Tabla 5.4). En ensayos de fertilización, estos autores observaron una regresión positiva entre el nivel de K y el pH de mosto y vino, y negativa entre el nivel de K y la acidez. La bajada de acidez sería consecuencia de una migración excesiva de cationes K^+ hacia la baya, con la consiguiente formación de bitartrato potásico que precipita (Ramos *et al.*, 2017). En el presente estudio se registró una tendencia negativa del nivel de nutrición de K sobre el contenido de ácido tartárico del mosto, consecuencia de la precipitación del bitartrato potásico (Tabla 5.4.). En el caso del vino, la tendencia fue acorde a lo indicado por otros autores, negativa para acidez total y positiva para pH.

El N presenta un claro sinergismo con K (Delgado *et al.*, 2004), lo que explica la tendencia positiva sobre el nitrógeno fácilmente asimilable en relación al contenido de K en peciolo en las analíticas de la composición del mosto (Tabla 5.4.). Sobre el grado Brix en mosto y grado alcohólico en vino, parámetros intrínsecamente relacionados, se observó una tendencia a disminuir en relación al contenido de K en peciolo, sin significación estadística. (Tabla 5.4.).

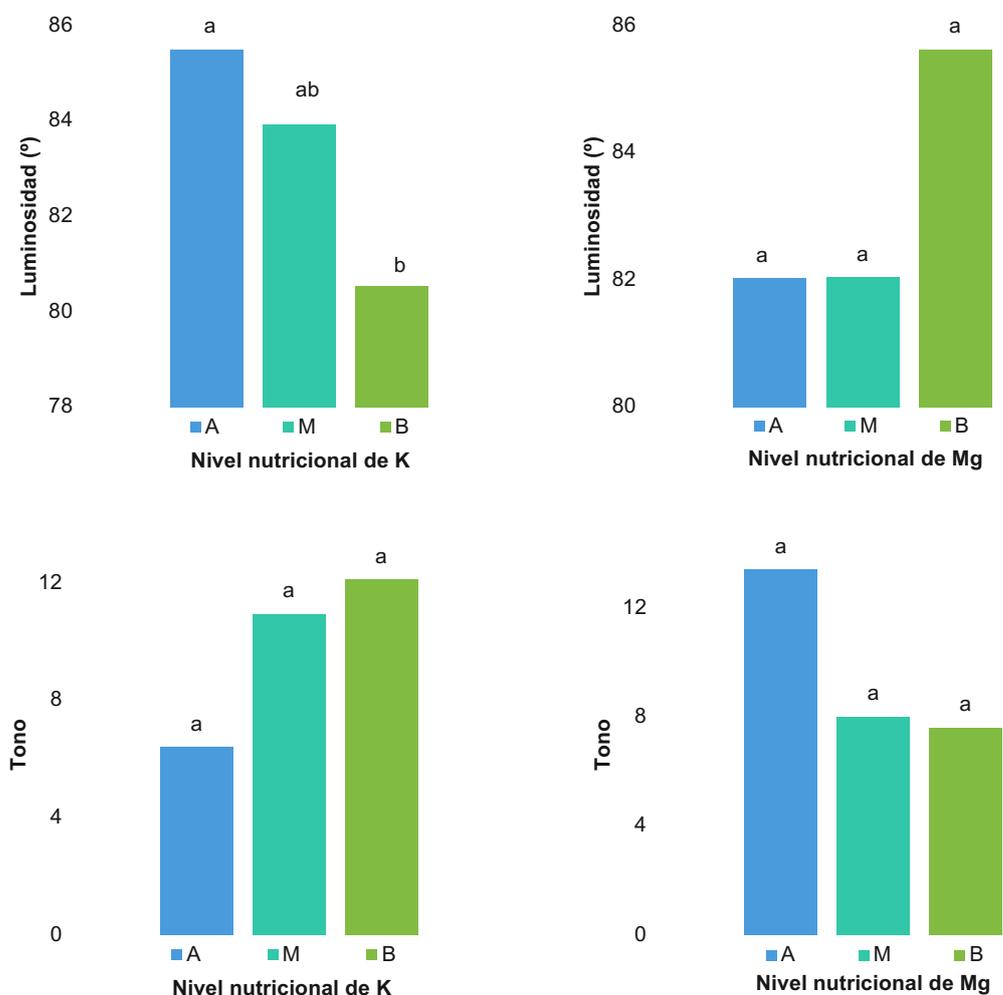


Figura 5.3. Comparación de medias de parámetros de composición del mosto de las subzonas de estudio en función de los niveles de K y Mg en peciolo en enero (A: alto, M: medio, B: bajo; test Tukey, $p < 0,05$).

Se detectaron efectos estadísticamente significativos del K sobre parámetros relacionados con el color de los mostos, luminosidad y tono, y sobre el IPT y parámetros relacionados con el color de los vinos, luminosidad, croma y componente de color rojo-verde (Tabla 5.4.).

Existió una correlación positiva entre la luminosidad del mosto y el K del peciolo, con un valor superior en las subparcelas con niveles altos de asimilación de K, dándose diferenciación estadística con los otros niveles de asimilación (Figura 5.3. Sobre el tono, la regresión tendió a ser negativa, obteniendo valores menores del tono con niveles altos de asimilación de K en las subparcelas, sin diferenciación significativa entre los niveles de asimilación en este caso (Figura 5.3.).

Sobre el vino, se detectó una regresión positiva de la luminosidad sobre el K del peciolo (Tabla 5.4.), acorde a lo obtenido en el mosto. Con la aplicación del análisis de varianza (ANOVA) se observaron valores de luminosidad inferiores en subparcelas de niveles bajos de asimilación, con diferenciación estadística respecto a subparcelas de niveles medios y altos (Figura 5.4.). En el caso del tono, la componente de color rojo-verde e IPT, la regresión fue negativa con respecto al K del peciolo (Tabla 5.4.), dándose valores más elevados de los 3 parámetros en las subparcelas con niveles bajos de asimilación de K, con diferenciación estadística de los niveles medios y altos de K (Figura 5.4.).

Sobre los IPT del vino, los resultados obtenidos son acordes a los de otros estudios (Ciotta *et al.*, 2016; Boonterm *et al.*, 2013; Delgado *et al.*, 2004), que registran una reducción en la acumulación de polifenoles en el fruto a medida que aumenta el nivel de fertilización potásica. Las antocianinas son responsables de la mayor parte del aumento de los compuestos polifenólicos en la piel de las bayas durante la maduración, ya que representan más de la mitad del contenido total de polifenoles (Sommmers *et al.*, 1976). En el presente estudio, la tendencia a incrementarse el rendimiento y el tamaño de la baya con el nivel de nutrición de K implica un aumento en la relación pulpa / piel, lo que deriva en la dilución de antocianinas y taninos en el mosto (Spayd *et al.*, 1994). Este efecto de dilución es superior al incremento de carbohidratos en la baya generado por el K y que implican una mayor biosíntesis del pigmento (Delgado *et al.*, 2004). Por tanto, la regresión entre el K del peciolo y los IPT del vino, tono en mosto, y croma y componente de color rojo-verde en vino fue negativa (Tabla 5.4.). Además, la mencionada disminución en el contenido de antocianinas en la piel de las bayas provoca la regresión positiva entre la luminosidad y el K del peciolo.

Para el Mg, se observa una tendencia contraria al K sobre la mayoría de los parámetros de composición de mosto y vino, aunque con significación estadística únicamente sobre el tono del mosto (Tabla 5.4.). El grado Brix del mosto y el grado alcohólico en vino mostraron una tendencia a aumentar con el contenido de Mg en peciolo, probablemente consecuencia de la implicación del Mg en la síntesis de azúcares procedentes de la fotosíntesis (Zatloukalova *et al.*, 2011). El poco impacto del nivel de Mg registrado en el presente estudio sobre la composición de mosto y vino, coincide con lo obtenido por Rupp *et al.* (2002), que registraron una influencia destacable únicamente sobre parámetros de color.

Efectos del nivel nutricional de potasio y magnesio en el viñedo sobre el vigor, rendimiento y composición de la uva y el vino

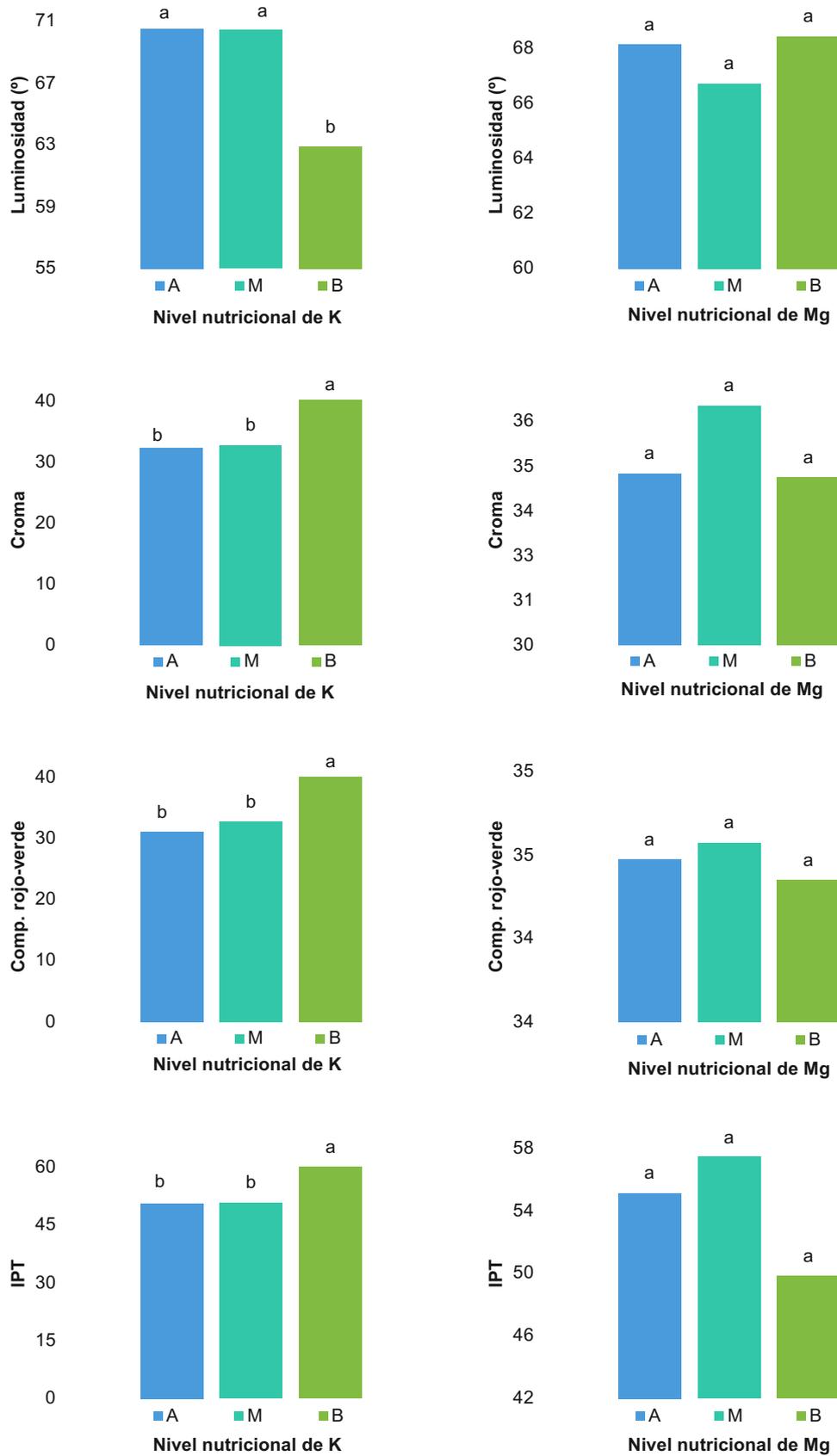


Figura 5.4. Comparación de medias sobre el parámetros de calidad de los vinos de las subzonas de estudio en función de los niveles de K y Mg en peciolos en enero (A: alto; M: medio; B: bajo; Test de Tukey, $p > 0,05$).

Con respecto al tono en mosto, se observó un aumento de los valores en las subparcelas con niveles de asimilación altos de Mg, sin diferenciación estadística con respecto a niveles medios y bajos (Figura 5.3.). En el vino, sobre croma, componente de color rojo-verde y el IPT, se observó una tendencia al aumento en las subparcelas con niveles medios de asimilación de Mg, sin diferenciación estadística entre los niveles (Figura 5.4.), dándose la situación contraria sobre la luminosidad. La regresión positiva sobre el tono en mosto y sobre croma y componente de color rojo-verde en vino, así como la regresión negativa sobre la luminosidad en ambos (Tabla 5.4.), se debería probablemente al papel del Mg reduciendo el catabolismo de las antocianinas de la baya (Shaked-Sachray *et al.*, 2002).

Considerando estos resultados, los vinos procedentes de subzonas con un nivel bajo de asimilación de K y medio de Mg, se caracterizan visualmente por una intensidad de color elevada acorde con el aumento de C^* (croma), un color con tendencia a tonalidades rojas por el incremento de a^* (componente de color rojo-verde). Existe una tendencia similar sobre el tono, que implica también viraje hacia tonos rojos, y una capa alta, por la disminución de L^* (luminosidad).

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman la existencia de antagonismo entre el K y el Mg. Se ha comprobado una alta correlación entre los niveles de K en suelo y peciolo recogidos en enero en la zona de estudio, mientras que no existían correlaciones significativas en el caso del Mg.

Se ha constatado un fuerte efecto de la nutrición de K y Mg sobre el comportamiento del viñedo. El vigor y rendimiento se ha correlacionado positivamente con el nivel nutricional del K y la relación K/Mg en peciolo, y negativamente con el nivel de Mg. Asimismo, se evidenció una influencia clara de ambos nutrientes sobre la composición fenólica de las bayas de Tempranillo, y sobre las características de color y contenido fenólico de mosto y vino. Gracias a ello, sería posible obtener mejores calidades de producto mediante un control adecuado de la nutrición potásica y magnésica del viñedo.

Los resultados obtenidos demuestran la potencial utilidad de los índices nutricionales empleados para la microzonificación del viñedo en viticultura de precisión, especialmente de cara a la obtención de mapas de calidad relacionados con el contenido fenólico y color de los vinos tintos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la inestimable ayuda durante la elaboración de este estudio a mi tutora, María Rosa González García, y cotutores, Pedro Martín Peña y José Manuel Rodríguez Nogales, así como a todas las personas que me han ayudado y han hecho posible llegar al punto que supone la presentación de este trabajo.

Este trabajo se ha realizado en el marco de los proyectos RTA2014-00077-C02-02 (INIA - Ministerio de Economía y Competitividad) y VA013P17 (Junta de Castilla y León), y ha sido cofinanciado con Fondos FEDER.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEMET. Valores climatológicos normales 2018. [Internet]. 2018 [Consultado 23/01/2018]. Disponible en: <http://www.aemet.es/es/elclima/datosclimatologicos/valoresclimatologicos>.
- ALTEMIR M. *Caracterización del estado nutritivo de la variedad Moristel en la Denominación de Origen Somontano*. Georgia Rev. 2001; 8: 61-73.
- ARROBAS M, FERREIRA I, FREITAS S, VERDIAL J, RODRIGUES M. *Guidelines for fertilizer use in vineyards based on nutrient content of grapevine parts*. Sci. Hortic. 2014; 172: 191-198.
- BATE-SMITH. *Astringent tannins of the leaves of Germain species*. Phytochem. 1981; 20: 211-216.
- BAVARESCO L, GATTI M, FREGONI M. *Nutritional deficiencies*. Methodologies and results in grapevine research [Internet]. 2010 [Consultado 9 Feb 2018]; 165-191. Disponible en: https://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&qid=22&SID=E3dvMQNQPUv5r8CWA8d&page=1&doc=1
- BONDADA B, KELLER M. *Not all shrivels are created equal-morpho-anatomical and compositional characteristics differ among different shrivel types that develop during ripening of grape (Vitis vinifera L.) berries*. Am. J. Plant. Sci. 2012; 3: 879-898.
- BOONTERM V, SILAPAPUN A. *Effects of nitrogen potassium fertilizers and clusters per vine on yield and anthocyanin content in Cabernet Sauvignon grape*. Acta Hortic. [Internet]. 2013 [Consultado 10 Abr 2018]; 984: 435-442. Disponible en: <http://www.thaiscience.info/Journals/Article/SJST/10890506.pdf>
- CAKMAK I. *Sinergismos y Antagonismos entre Nutrientes Minerales durante la absorción y transporte en las plantas*. En: Intagri. 2015. Primer Curso Internacional sobre Nutrición de Cultivos; 2015 Oct 12-14; Guadalajara, Jalisco. México.
- CIOTTA MN, CERETTA CA, DA SILVA LOS, FERREIRA PAA, SAUTTER CK, COUTO RD, BRUNETTO G. *Grape yield and must compounds of Cabernet Sauvignon grapevine in Sandy soil potassium contents increasing*. Cienc. Rural. [Internet]. 2016 [Consultado 11 May 2018]; 46: 1376-1383. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782016000801376&script=sci_arttext
- COMISIÓN EUROPEA. *Reglamento (CEE) nº 2676/90 del 17 de septiembre de 1990 por el que se determinan los métodos oficiales de análisis de vinos, zumos y mostos de uva*. Diario Oficial de las Comunidades Europeas L272 (3 de octubre de 1990). Comisión Europea (Ed.) Bruselas (Bélgica), pp. 1-192.
- CONDE C, DELROT S, GEROS D. *Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening*. J. Plant. Physiol. 2008; 165: 1545-1562.
- CONSEJO REGULADOR D.O. RIBERA DEL DUERO. 2016, *una cosecha histórica*. D.O. Ribera del Duero. [Internet]. 2016 [Consultado 05 Mar 2018]. Disponible en: <https://riberadelduero.es/es/node/1892>
- COOMBE BG. *Research on development and ripening of the grape Berry*. AM J Enol Viticult. 1992; 43 (1): 101-110.

- DAVIES W, ZHANG J. *Root signals and the regulation of growth and the development of plants in drying soil*. Annu. Rev. Plant. Phys. [Internet]. 1991 [Consultado 11 May 2018]; 42: 55–76. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Jianhua_Zhang47/publication/234836983_Root_Signals_and_the_Regulation_of_Growth_and_Development_of_Plants_in_Drying_Soil/links/59379228aca272ede1cb3cb5/Root-Signals-and-the-Regulation-of-Growth-and-Development-of-Plants-in-Drying-Soil.pdf
- DELGADO R, MARTÍN P, ÁLAMO M, GONZÁLEZ MR. *Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilization rates*. J. Sci. Food Agr. [Internet]. 2004 [Consultado 07 Feb 2018]; 84: 623-630. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.1685/epdf>
- GARCÍA-ESCUADERO E, ROMERO I, BENITO A, DOMÍNGUEZ N, MARTIN I. *Reference Levels for Leaf Nutrient Diagnosis of cv. Tempranillo Grapevine in the Rioja Appellation*. Commun Soil Sci. Plan. 2013; 44: 645-654.
- GARCÍA M, GALLEGO P, DAVEREDE C, TOUMI M. *Effect of various potassium-calcium ratios on cation nutrition of grape grown hydroponically*. J. Plant. Nutr. [Internet]. 1999 [Consultado 07 May 2018]; 22: 417-425. Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01904169909365639>
- GERENDÁS J, FÜHRS H. *The significance of magnesium for crop quality*. Plant. Soil. [Internet]. 2013 [Consultado 09 May 2018]; 368: 101–128. Disponible en:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-012-1555-2>
- GRIESSER M, CRESPO S, LISA M, KANDLER W, FORNECK A. *Challenging the potassium deficiency hypothesis for induction of the ripening disorder Berry shrivel in grapevine*. Sci. Hortic. [Internet]. 2017 [Consultado 20 May 2018]; 216: 141-147. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423816306707?via%3Dihub#bib0100>
- GLUHIĆ D, HERÁK ČUSTIČ M, PETEK M, ČOGA L, SLUNJSKI S, SINČIĆ M. *The content of Mg, K and Ca ions in vine leaf under foliar application of magnesium on calcareous soils*. Agriculturae Conspectus Scientificus. [Internet]. 2009 [Consultado 08 May 2018]; 74(2): 81–84. Disponible en:
https://hrcak.srce.hr/index.php?id_clanak_jezik=61740&show=clanak
- GÓMEZ-MIGUEL V. 2009. *Inventarios del recurso suelo de las D.O. de Castilla y León: II D.O. Ribera del Duero*. Innovación y tecnología alimentaria; 2009; 2. Castilla y León (España) 2009.
- HE ZL, YANG XE, STOFFELLA PJ. *Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment*. J. Trace Elem. Med. Bio. [Internet]. 2005 [Consultado 10 Feb 2018]; 19(2-3): 125-140. Disponible en:
https://ac.els-cdn.com/S0946672X05000969/1-s2.0-S0946672X05000969-main.pdf?_tid=81983d9a-0cdb-11e8-b891-00000aab0f6c&acdnat=1518099935_2d99e3ba68d6f6fd6d477e8fb02e219f
- HIDALGO J. *Tratado de Enología, Tomo II*. Madrid (España). Ediciones Mundi-Prensa; 2010.
- HORNECK DA, SULLIVAN DM, OWEN JSM, HART JM. *Soil test interpretation quire*. [Covallis, Or]: Oregon State University, Extension Service; 2011.
- INFORIEGO. *Datos meteorológicos de la estación meteorológica de Valbuena de Duero (VA-07)* [Internet]. 2018 [Consultado 23/01/2018]. Disponible en:
http://www.inforiego.org/opencms/opencms/info_meteo/construir/index.html

- KARIMI R. *Potassium-induced freezing tolerance is associated with endogenous abscisic acid, polyamines and soluble sugars changes in grapevine*. Sci. Hortic. [Internet]. 2016 [Consultado 12 May 2018]; 215: 184–194. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423816306586>
- KELLER M. *Deficit irrigation and vine mineral nutrition*. Am. J. Enol. Viticult. [Internet]. 2005 [Consultado 07 Feb 2018]; 56 (3): 267-283. Disponible en: <http://www.ajevonline.org/content/ajev/56/3/267.full.pdf>
- KELLER M, SHRESTHA P. *Solute accumulation differs in the vacuoles and apoplast of ripening grape berries*. Planta. 2014; 239: 633-642
- LEIGH R. *Potassium homeostasis and membrane transport*. J. Plant. Nutr. Soil Sc. [Internet]. 2001 [Consultado 15 May 2018]; 164: 193–198. Disponible en: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1522-2624\(200104\)164:2%3C193::AID-JPLN193%3E3.0.CO;2-7](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1522-2624(200104)164:2%3C193::AID-JPLN193%3E3.0.CO;2-7)
- MÁJER J. *Magnesium supply of the vineyards in the Balaton highlands*. Acta Hortic. (ISHS) [Internet]. 2004 [Consultado 13 May 2017]; 652: 175–182. Disponible en: https://www.actahort.org/books/652/652_21.htm
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). *Clasificación ampelográfica de las variedades de vid*. MAPAMA [Internet]. 2010 [Consultado 19 Ene 2018]. Disponible en: <http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/exposiciones/vid/www/imagenes/pdf/TEMPRANILLO.pdf>
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). *Potencial de producción vitícola en la Unión Europea y en España*. MAGRAMA [Internet]. 2014 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: http://www.magrama.gob.es/es/agricultura/temas/regulacion-de-los-mercados/informe-potencial-junio-2014_tcm7-336903
- MASNEUF I, DUBORDIEU D. *L'azote assimilable: intérêt de son dosage par dormoltitration; étude de quelques paramètres á l'origine des variations de sa teneur dans les mouts*. Revisión Oenol 1999. Paris (Francia).
- MENGEL K. *Alternative or complementary role of foliar supply in mineral nutrition*. Acta Hortic. [Internet]. 2002 [Consultado 09 May 2017]; 594: 33-47. Disponible en: https://www.actahort.org/books/594/594_1.htm
- MPELASOKA B, SCHACHTMAN D, TREEBY M, THOMAS M. *A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation*. Aust. J. Grape Wine R. [Internet]. 2003 [Consultado 05 May 2017]; 9: 154-168. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1755-0238.2003.tb00265.x>
- O.I.V. *Résolution VITI 4/95. Diagnostic foliare une método harmonisée*. Bull O.I.V. 1996. Paris (Francia).
- O.I.V. a. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 1. Método OIV-MA-AS2-01B Density and Specific Gravity at 20°C. Revisado según 377/2009*. [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/2468/oiv-ma-as2-01b.pdf>
- O.I.V. b. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 1. Método OIV-MA-AS311-01A Reducing substances. Resolution Oeno 377/2009*. [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/2481/oiv-ma-as311-01a.pdf>

- O.I.V. c. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 1. Método OIV-MA-AS2-02 Evaluation by refractometry of the sugar concentration in grape, musts, concentrated grape musts and rectified concentrated grape musts. Revisado Oeno 466/2012.* [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/5772/compendium-2018-en-vol1.pdf>
- O.I.V. d. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 1. Método OIV-MA-AS313-01 Total Acidity. Revisado en resolución OIV-OENO 551-2015.* [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/5772/compendium-2018-en-vol1.pdf>
- O.I.V. e. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 2. Método OIV-MA-AS322-02B Potassium (flame photometry). Revisado 2009.* [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/5773/compendium-2018-en-vol2.pdf>
- O.I.V. f. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 1. Método OIV-MA-AS313-11 L-malic Acid: enzymatic method. Revisado por 377/2009.* [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/2507/oiv-ma-as313-11.pdf>
- O.I.V. g. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 1. Método OIV-MA-AS313-05A Resolución 2009. Tartaric Acid* [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/2502/oiv-ma-as313-05a.pdf>
- O.I.V. h. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volumen 1. Método OIV-MA-AS2-11 Resolución OENO 1/2006 Determination of chromatic characteristics according to CIELab.* [Internet]. 2018 [Consultado 02 Feb 2018]. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/2502/oiv-ma-as313-05a.pdf>
- PATRICK J, ZHANG W, TYERMAN S, OFFLER C, WALKER N. *Role of membrane transport in phloem translocation of assimilates and water.* Aust. J. Plant. Physiol. 2001; 28: 695–707.
- RAMOS M, JONES G, YUSTE J. a. *Spatial and temporal variability of cv. Tempranillo phenology and grape quality within the Ribera del Duero DO (Spain) and relationships with climate.* Int. J. Biometeorol. [Internet]. 2015 [Consultado 04 Feb 2018]; 59(12): 1849-1860. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00484-015-0992-z>
- RAMOS M, JONES G, YUSTE J. b. *Phenology and grape ripening characteristics of cv Tempranillo within the Ribera del Duero designation of origin (Spain): Influence of soil and plot characteristics.* Eur. J. Agron. 2015; 70: 57-50.
- RAMOS M, ROMERO M. *Potassium uptake and redistribution in Cabernet Sauvignon and Syrah grape tissues and its relationship with grape quality parameters.* J Sci Food Agr. 2017; 97(10): 3269-3277.
- RUPP D, FOX, R, TRÄNKLE L. *Foliar application of magnesium fertilizer in grapevines: effects on wine quality.* Acta Hort. 2002; 594: 149-155.
- SAINT-CRICQ de GAULEJAC N, VIVAS N, GLORIES Y. *Maturité phénolique: définition et contrôle.* Revue Française d'Oenologie 1998; 173: 22-25.
- SAS INSTITUTE. SAS Procedure Guide, Version 9.1.3. SAS Institute INC. Cary (Estados Unidos); 2004.
- SHAKED-SACHRAY L, WEISS D, REUVENI M, NISSIM-LEVI A, OREN-SHAMIR M. *Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to magnesium treatment.* Physiol. Plant. 2002; 114: 559-565.

- SHARMA J, SHIKHAMANY SD, SINGH RK. *Studies on inward leaf curl disorder in grape*. Indian J. Hortic. 2003; 60(3): 236-238.
- SOMERS TC. *Pigment development during ripening of the grape*. Vitis. 1976; 14: 269-277.
- SPAYD SE, WAMPLE RL, EVANS RG, STEVENS RG, SEYMOUR BJ, NAGEL CW. *Nitrogen fertilization of white Riesling grapes in Washington. Must and wine composition*. Am. J. Enol. Viticult. [Internet]. 1994 [Consultado 03 May 2018]; 45: 34–42. Disponible en: <http://www.ajevonline.org/content/44/4/378.short>
- TECCHIO M, PAIOLI-PIRES E, TERRA M, GRASSI H, CORREA J, VIEIRA C. *Correlation between yield and results of leaf and soil analysis in Niagara Rosada vineyards*. Ciencia e Agrotecnia. [Internet]. 2006 [Consultado 15 May 2018]; 30: 1056-1064. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542006000600002&script=sci_arttext
- WALKER R, CLINGELEFFER P, KERRIDGE G, RÜHL E, NICHOLAS P, BLACKMORE D. *Effects of the rootstock Ramsey (Vitis champini) on ion and organic acid composition of grapes and wine, and on wine spectral characteristics*. Aust. J. Grape Wine R. [Internet]. 1998 [Consultado 13 May 2018]; 4: 100–110. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1755-0238.1998.tb00138.x>
- WANG M, ZHENG Q, SHEN Q, GUO S. *The critical role of potassium in plant stress response*. Int. J. Mol. Sci. 2013; 14: 7370-7390.
- WOLF T, HEASELER C, BERGMAN E. *Growth and foliar elemental composition of seyvel blanc grapevines as affected by four nutrient solution concentration of nitrogen, potassium and magnesium*. Am. J. Enol. Viticult. [Internet]. 1983 [Consultado 12 Feb 2018]; 34(4): 271-277. Disponible en: <http://www.ajevonline.org/content/ajev/34/4/271.full.pdf>
- WRB (IUSS Working Group WRB). *World reference base for soil resources 2006*. World Soil Resources Reports; 103. FAO, Rome; 2006
- YENER H, AYDIN S, GULEC I. *Nutrients status of Kavaklidere vineyards in Alasehir Province*. Anadolu 2002; 12(2): 110-138.
- ZAMORA F. *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos*. Madrid (España). S.A. Mundi-Prensa Libros; 2003.
- ZATLOUKALOVA A, SKARPA P. *The influence of soil and foliar application of magnesium fertilizers on yield and quality of grapevine*. MendelNet, International Ph.D. Students Conference on MendelNet (23 Nov. 2011) [Internet]. 2011 [Consultado 03 May 2017]: 195-203. Disponible en: http://web2.mendelu.cz/af_291_mendelnet/mendelnet2011/articles/23_zatloukalova_524.pdf
- ZLAMALOVA T, ELBL J, BARON M, BELIKOVA H, LAMPIR L, HLUSEK J, LOSAK T. *Using foliar applications of magnesium and potassium to improve yields and some qualitative parameters of vine grapes (Vitis vinifera L.)*. Plant Soil Environ. [Internet]. 2015 [Consultado 03 May 2017]; 61: 451-457. Disponible en: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/164943.pdf>
- ZÖRB CH, SENBAYRAM M, PEITER E. *Potassium in agriculture status and perspectives*. J. Plant Physiol. [Internet]. 2014 [Consultado 03 May 2018]; 171: 656–669. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0>