



Universidad de Valladolid

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERIAS AGRARIAS

Actividad fotosintética y perfil aromático de los mostos en viñedos de la variedad Tempranillo afectados por clorosis férrica.

Grado en enología

Alumno/a: María Carro Rodilana
Tutor/a: Pedro Martín Peña
Cotutor/a: M^a Rosa González García
Jose Manuel Rodríguez Nogales

JULIO DE 2019

INDICE

1. Resumen	2
2. Introducción	2
2.1 La fluorescencia de la clorofila	2
2.2 Efecto de la clorosis férrica sobre la actividad fotosintética.	3
2.3 Los aromas varietales de la uva.	4
2.4 Efecto de la clorosis férrica sobre la composición aromática de la uva.....	5
3. Objetivos.....	6
4. Material y métodos.	6
4.1 Diseño experimental. Descripción de la zona de estudio.....	6
4.2 Controles y observaciones.	8
4.2.1 Contenido foliar en clorofila.....	8
4.2.2 Actividad fotosintética	8
4.2.3 Peso de 100 bayas	9
4.2.4 Vigor del viñedo	9
4.2.5 Rendimiento.....	9
4.2.7 Determinación de aromas varietales	9
4.3 Análisis de datos	10
5. Resultados y discusión	11
5.1 Relaciones entre el nivel de clorofila y la actividad fotosintética.	11
6.2 Efectos del vigor, rendimiento del viñedo y el tamaño de la uva sobre la composición aromática del mosto.	12
6.3 Relación entre la actividad fotosintética del viñedo y la composición específica de aromas de la uva.....	14
6. Conclusiones	21
7. Bibliografía.....	21

1. Resumen

La medición de la fluorescencia de la clorofila permite obtener información de la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida en la fotosíntesis.

Los objetivos de este trabajo consisten en (1) establecer relaciones entre la carencia de hierro (clorosis férrica), la actividad fotosintética del viñedo y la composición en aromas del mosto, (2) estudiar la influencia del vigor, rendimiento del viñedo y tamaño de la uva sobre la composición aromática del mosto, y (3) evaluar el interés de las medidas de fluorescencia de la clorofila para estimar en campo el potencial aromático de las uvas.

Para alcanzar estos objetivos, se ha llevado a cabo un seguimiento en campo de la actividad fotosintética y los niveles de clorofila en 20 subparcelas de viñedo cv. Tempranillo situadas en Pesquera de Duero (Valladolid) durante el año 2018. Se controlaron los valores de rendimiento, vigor y el peso de 100 bayas, y efectuaron analíticas de la composición específica de aromas libres y ligados en la uva de cada una de las subparcelas.

Las medidas del contenido foliar de clorofila en enero y previas a la vendimia se han correlacionado poco con los parámetros de eficiencia fotosintética en la zona de estudio, pero han mostrado una fuerte correlación negativa con el contenido total de aromas libres del mosto. Un mayor tamaño de la uva incrementó significativamente las concentraciones de diferentes terpenos y C13-norisoprenoides libres se correlacionan con el rendimiento de las cepas. Las medidas de fluorescencia de la clorofila una semana antes de la vendimia mostraron un mejor valor predictivo de la composición aromática de las uvas que las medidas en enero, a excepción de los compuestos en C6. La fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la luz y la fluorescencia estacionaria son los parámetros que presentan mayor interés para la estimación del potencial aromático de la uva en zonas afectadas por clorosis férrica.

2. Introducción

El hierro es un elemento indispensable para la fotosíntesis, ya que, interviene en la síntesis de clorofilas (Miller et al., 1984) y es un constituyente de los citocromos y otros transportadores de electrones, por lo que su carencia afecta a la estructura y funcionalidad del aparato fotosintético (Bavaresco et al., 2010).

La carencia de hierro (clorosis férrica) provoca no solo una pérdida de rendimiento en la vid, sino también perjuicios importantes en las componentes de calidad de las uvas, mostos y vinos (Martín et al., 2007). Sin embargo, niveles moderados de estrés nutricional pueden tener efectos positivos en la calidad de la uva, ya que las plantas restringen el crecimiento vegetativo, tienen menor rendimiento y producen bayas más pequeñas. Estas situaciones tienden a concentrar constituyentes tales como compuestos fenólicos, que son responsables del color, la astringencia y la amargura de los vinos tintos (González et al., 2019).

2.1 La fluorescencia de la clorofila

El proceso fotosintético se inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos fotosintéticos (básicamente clorofila a y b, y carotenoides) de los complejos antena. Parte de la energía absorbida es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, en donde es utilizada de una forma químicamente útil. La otra parte es disipada como calor y, en menor grado, reemitida como energía luminosa de menor energía (fluorescencia). Esta distribución de la energía en los tres procesos ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento en la eficiencia de uno de ellos, resultará en la disminución de los otros dos. Por lo tanto, a través de la medición de la

fluorescencia de la clorofila se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida (González et al., 2008).

Al comenzar las medidas con un fluorímetro obtenemos el valor de fluorescencia mínima (F_o) aplicando sobre una hoja adaptada a la oscuridad una luz de muy baja intensidad. Cuando aplicamos un flash de luz saturante con la hoja adaptada a la oscuridad, la fluorescencia aumenta hasta un nivel máximo (F_m). La diferencia entre F_m y F_o se llama fluorescencia variable (F_v) (Baker and Rosenqvist, 2004). Al aplicar luz actínica y flashes de luz saturantes en intervalos apropiados, obtenemos los valores de fluorescencia máximos en la hoja adaptada a la presencia de luz (F_m'). Este valor de F_m' es considerablemente menor que el valor de F_m generado por la hoja adaptada a la oscuridad. En el caso de hojas adaptadas a la luz, la fluorescencia variable (F_v') es la diferencia entre F_m' y F_o' . El valor de la fluorescencia inmediatamente anterior al flash se denomina F_s . Después del flash, eliminando la luz actínica se puede medir F_o' (Catalina, 2015).

La obtención de los parámetros de fluorescencia de la clorofila ha resultado un método interesante para la evaluación del estado fotosintético de las plantas, debido a su rapidez y versatilidad (Iacono and Sommer, 1999). Esta técnica ha tenido un papel importante en el estudio de las respuestas fotosintéticas de las plantas en relación a los cambios ambientales, la variación genética y la diversidad ecológica (Murchie and Lawson, 2013).

Diversos autores han utilizado con éxito los parámetros de fluorescencia de la clorofila para la detección de diferentes tipos de estrés. Por ejemplo; F_s y el ratio F_s/F_o pueden resultar útiles para la detección precoz del estrés hídrico en vides (Flexas et al., 2002). F_v/F_m resulta ser una buena herramienta para detectar el estrés por altas temperaturas (Baker and Rosenqvist, 2004).

2.2 Efecto de la clorosis férrica sobre la actividad fotosintética.

La reducción en la fotosíntesis neta en condiciones de deficiencia de hierro ha sido observada en muchas especies de plantas (Larbi et al., 2006) y se atribuye principalmente a la disminución de la eficiencia del fotosistema II, debido al cierre de centros de reacción y a la propia reducción de la eficiencia intrínseca del fotosistema II (Covarrubias et al., 2014). La deficiencia de hierro se traduce a nivel fisiológico en un descenso de la concentración de pigmentos fotosintéticos y en la tasa de transporte de electrones en la fotosíntesis (Bavaresco et al., 2006).

La deficiencia de hierro induce un aumento considerable del nivel inicial de fluorescencia F_o y una disminución de la proporción de fluorescencia variable F_v (Morales et al., 1991), lo que refleja una pérdida de eficiencia fotoquímica del fotosistema II (Greene et al., 1992). Esta pérdida de eficiencia puede ser cuantificada mediante el parámetro F_v/F_m . Los valores de F_m y la relación F_v/F_m disminuyen a medida que se acentúa la clorosis férrica (Pestana et al., 2005).

En plantas cloróticas la alteración de los procesos fotosintéticos se traduce en un lento y reducido crecimiento, limitando a su vez potencialmente la productividad y el vigor del viñedo (Tagliavini and Rombolá, 2001). En la vid, la deficiencia de Fe induce una reducción de la tasa de cuajado, disminuye el diámetro de la baya y la compacidad de los racimos (Bavaresco et al., 2010). Una severa carencia nutricional de hierro puede causar una drástica reducción en la longevidad y la productividad del viñedo, el crecimiento de la raíz y tallos y pérdidas en el rendimiento y la calidad de la uva (Bavaresco et al., 2003).

2.3 Los aromas varietales de la uva.

La composición de la uva depende de la variedad y el clon de vid que se utilice, también depende de la interacción del genotipo y el fenotipo con los factores ambientales, en términos enológicos, del "terroir" (Styger et al., 2011).

La composición general de la mayoría de las variedades de uva es muy similar, solo unos pocos compuestos aromáticos han sido asociados directamente a aromas varietales específicos. (Styger et al., 2011). Dentro de la composición general encontramos: terpenos, C13 norisoprenoides, alcoholes, compuestos de C6, aldehídos, ácidos volátiles, fenoles volátiles, acetatos y ésteres y lactonas (Gonzalez-Barreiro et al., 2013).

Las siguientes secciones proporcionan una revisión de los compuestos encontrados en uvas agrupados según sus grupos funcionales:

Terpenos y C13 norisoprenoides. Los monoterpenos son responsables del aroma floral y frutal de la uva, por lo tanto, son importantes contribuyentes al aroma de los vinos blancos, sobre todo los que se hacen con variedades aromáticas (p.e., Gewürztraminer, Riesling, Muscat) (Mateo and Jiménez, 2000). Varios monoterpenos están sujetos a transformaciones en las condiciones de pH y temperatura que se encuentran en el mosto y el vino. (Raguso and Pichersky, 1999). Los monoterpenos también pueden surgir a partir de materia cercana a los viñedos (Rocha et al., 2007), por ejemplo, el eucaliptol, aunque probablemente se sintetice en bayas de Cabernet Sauvignon (Kalua and Boss, 2009), también puede originarse a partir de los árboles de eucalipto de alrededor de los viñedos (Capone et al., 2012).

Los sesquiterpenos se encuentran presentes principalmente como hidrocarburos insaturados y se acumulan en la pruina de las uvas íntegras. Últimamente los sesquiterpenos han tomado fuerza gracias al descubrimiento del sesquiterpeno rotundona, compuesto clave del aroma a pimienta de vinos Syrah producidos en regiones de clima frío de Australia (Schuab and Würst, 2015).

Los norisoprenoides derivan de los carotenoides, se encuentran comúnmente en la naturaleza y han atraído una atención considerable como aromas en muchos productos alimenticios y fragancias (Winterhalter and Rouseff, 2002). Se encuentran en muchas vides, pero son más abundantes en las plantas aromáticas (Schneider et al., 2001) y se cree que tienen un papel importante en el aroma de muchas variedades (Sefton, 1998). La β -damascenona tiene un aroma floral y a fruta exótica, encontrándose algo más en las variedades tintas, la α -ionona con un característico olor a violeta típico de algunas variedades tintas, el 3-oxo- α -ionol de aroma a tabaco, la 3-hidroxi- β -damascenona de olor a té y la β -damascona de aroma afrutado y a tabaco (Mendes-Pinto, 2009).

Aldehídos y compuestos de C6. Estos compuestos aromáticos proceden de los ácidos grasos (Iyer et al. 2010), muchos de los cuales pueden contribuir al aroma de la uva, proporcionan aromas herbáceos, aunque tienen menos impacto en los vinos (Kotseridis and Baumes, 2000).

El producto de los hidroperóxidos, que se obtiene mediante el ácido graso catalizado por la enzima lipoxigenasa, se transforma mediante la enzima hidroperóxido liasa en pequeñas moléculas de alcoholes C6, aldehídos C6, ésteres C6 (Matsui et al., 2006), estas pequeñas moléculas son la principal fuente de aromas de uvas y vinos de uva (Buttery et al., 1988).

Ésteres y acetatos. Los ésteres volátiles son compuestos volátiles importantes que contribuyen principalmente a los aromas frutales y florales de la uva (Yang et al., 2011). Más importante aún, se ha descrito que estos compuestos volátiles sirven como

importantes moléculas de señal para la polinización y/o la prevención contra la intrusión de patógenos (D'Auria et al., 2007).

Algunos ésteres volátiles como el acetato de hexilo Z-3 se puede encontrar en la variedad 'Cabernet Sauvignon'. Se presenta en las bayas, aunque en niveles bajos y su acumulación disminuye por debajo de los niveles de detección durante la maduración (Kalua and Boss, 2009)

Se ha observado que el acetato de etilo, el butanoato de etilo, el 2-butenato de etilo, el hexanoato de etilo y el 2-hexenoato de etilo son los ésteres dominantes que aportaron el olor de fresa a algunos híbridos de *V. labrusca* x *V. Vinifera* (Yang et al., 2009).

Alcoholes. Los aminoácidos aromáticos, que incluyen fenilalanina y tirosina, producen alcoholes aromáticos, como el alcohol fenilético (Rossouw et al., 2008, 2009), que tiene un aroma con descriptores a miel, especias, rosa y/o lila (Francis and Newton, 2005). Como se mencionó anteriormente, se considera que el alcohol fenilético juega un papel importante en el aroma del vino blanco.

Ácidos volátiles. Son el sustrato directo de las "hojas verdes" debido a su característico aroma a "verde" y olor fresco (Chen et al., 2012).

Fenoles volátiles. En la uva y en el vino, los fenoles volátiles están presentes en sus formas libres, sensoriales-activas, pero más predominantemente se han encontrado como una serie de glicoconjugados no volátiles (Hayasaka et al., 2013) que, al igual que otros metabolitos sensoriales activos unidos, no poseen propiedades organolépticas inherentes.

Lactonas. Los descriptores de aroma para estos compuestos incluyen albaricoque, melocotón, melocotón en conserva y dulce (Sarris and Latrasse, 1985), la importancia de estos compuestos en los mostos aún no está clara. Las lactonas individuales no contribuyen en gran medida al aroma general de los mostos debido a las bajas concentraciones encontradas.

2.4 Efecto de la clorosis férrica sobre la composición aromática de la uva.

Existe muy poca información sobre el efecto de la clorosis férrica sobre la composición aromática de la uva. Recientemente, se ha descrito que la expresión de algunas enzimas implicadas en el metabolismo de diversos compuestos aromáticos se ve afectada por deficiencias de hierro en la vid (Vannozzi et al., 2017).

Se ha observado que la expresión de la enzima lipoxigenasa es menor en plantas afectadas por clorosis férrica. Esta enzima participa en la síntesis de los compuestos aromáticos C6-alcoholes y C6-aldehídos a partir de ácidos grasos insaturados y precisa de la presencia de un átomo de hierro como cofactor en su centro activo. Bavaresco et al. (2005) sugirieron que el hierro era un constituyente importante de diversas enzimas implicadas en la síntesis de lignina y que la deficiencia de hierro puede modificar la ruta metabólica del ácido shikímico hacia otros compuestos fenólicos. También se ha descrito que la síntesis de la enzima β -caroteno hidrolasa se incrementa en vides en condiciones de clorosis férrica (Vannozzi et al., 2017). Esta enzima es responsable de la hidroxilación de los β -carotenos a zeaxantina y β -criptoxantina, compuestos precursores de los C13-norisoprenoides (Young et al., 2012). Otras enzimas implicadas en el metabolismo de los terpenos también se ven afectadas por una deficiencia de hierro (Vannozzi et al., 2017). Coelho et al. (2009) observaron que la concentración de terpenos y C13-norisoprenoides en un vino espumoso elaborado con vides cultivadas en suelos calcáreos (donde la disponibilidad de hierro puede ser limitada) fue mayor que en suelos arcillosos y arenosos.

Con independencia de los efectos directos comentados anteriormente, una deficiencia de hierro de leve a moderada puede tener efectos positivos en la calidad aromática, relacionados con la reducción del crecimiento vegetativo, el rendimiento o el tamaño de la baya. Las plantas afectadas pueden beneficiarse, por ejemplo, de un microclima más favorable que mejora los índices de madurez y favorece la acumulación de compuestos fenólicos en las bayas (González et al., 2019). Todo ello impacta de un modo u otro en la composición específica de compuestos volátiles de la uva.

3. Objetivos

Los objetivos del trabajo son los siguientes:

- Establecer relaciones entre la clorosis férrica, la actividad fotosintética y la composición en aromas del mosto en viñedos cv. Tempranillo en las condiciones de cultivo de la DO Ribera de Duero.
- Estudiar la influencia del vigor, rendimiento del viñedo y tamaño de la uva sobre la composición aromática del mosto.
- Evaluar el interés de las medidas de fluorescencia de la clorofila para estimar en campo el potencial aromático de las uvas.

4. Material y métodos.

Para poder lograr los objetivos del Trabajo Fin de Grado, se ha llevado a cabo un estudio sobre como la clorosis férrica afecta a la actividad fotosintética y el perfil aromático de las uvas. Para ello, se ha realizado un seguimiento de parámetros tanto fisiológicos como agronómicos del viñedo, así como de la composición de la baya y el mosto, sobre un conjunto de 20 subparcelas de viñedo cv. Tempranillo cultivada en suelo calizo, en el municipio de Pesquera de Duero (Denominación de Origen Ribera de Duero).

4.1 Diseño experimental. Descripción de la zona de estudio.

El área de estudio se encuentra a una altitud media de 800 m.s.n.m. con pendientes suaves.

Los suelos de la zona son poco profundos, fuertemente calcáreos, permeables y de textura media-gruesa.

El clima es de tipo mediterráneo y con carácter continental, caracterizado por: inviernos fríos con un largo periodo de heladas, en primavera las temperaturas son cálidas y coinciden con las precipitaciones máximas optimizando el desarrollo y crecimiento de los órganos verdes de la planta. Los veranos son cortos, secos y calurosos.

Tabla 1: Datos mensuales de temperatura media (T), media de las máximas (T M) y media de las mínimas (T m) en °C; precipitación total mensual (P) en mm. Datos obtenidos en estación meteorológica de Valbuena de Duero (VA-07) año 2018. Fuente: Inforiego (2019).

	2018			
	T	TM	Tm	P
anual	12,14	18,91	5,77	1255,87
ene	4,39	9,14	0,31	72,05
feb	3,26	8,96	-2,02	52,35
mar	6,46	11,01	2,37	123,42
abr	10,81	17,15	4,84	88,59
may	13,76	20,59	7,19	97,97
jun	18,21	25,08	11,59	61,86
jul	21,42	29,91	12,30	11,64
ago	22,41	31,84	12,40	-
sep	19,62	29,02	10,69	6,98
oct	11,67	19,45	4,76	24,62
nov	7,77	12,83	3,39	89,23
dic	4,84	10,74	0,51	35,25

En la tabla 1 se muestra el seguimiento de la meteorología del área de estudio durante la campaña del ensayo, los datos obtenidos corresponden a los datos de la estación meteorológica de Valbuena de Duero, la cual pertenece a la red de Inforiego de Castilla y León.

Destaca que en el mes de agosto no hubo precipitaciones, el mes de marzo fue el más lluvioso de todo el año y en el mes de septiembre hubo muy pocas precipitaciones, pero coincidiendo con la vendimia que inició el 20 de septiembre (datos de la denominación de origen ribera de Duero). En cuanto a las temperaturas, se encuentran dentro de la normalidad, siendo las mínimas más altas de lo normalmente conocido, pudiendo ser debido al cambio climático.

Los criterios utilizados para la selección de las 20 subparcelas han sido, que en ellas podemos encontrar la máxima diversidad en condiciones de suelo, eligiendo también viñedos afectados y no afectados por clorosis férrica.

Cada subzona cuenta con una superficie aproximada de 100 m², la cual podemos observar en la tabla 2, las subparcelas se encuentran en distintos parajes de parcelas pertenecientes a la bodega Emilio Moro S.L., con el objeto de encontrar la máxima variabilidad entre zonas. El viñedo es de secano en plena producción de la variedad Tempranillo (*Vitis vinífera*.) Está injertado sobre el patrón 110-Ritcher (110R).

El viñedo está conducido en espaldera y con el sistema de poda doble cordón Royat con un marco de plantación de 3m x 1,5m a excepción de VC33, VH34 y VC35 que tiene un marco de 3m x1,3m. La densidad de plantación se encuentra entre 2.300 y 2.600 plantas/ha.

Tabla 2: Subparcelas utilizadas en el estudio.

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

4.2 Controles y observaciones.

4.2.1 Contenido foliar en clorofila

Esta medida se realizará mediante el instrumento portátil CL-01 (Hansatech),

El contenido en clorofila va variando en función de la edad de las hojas, por eso se midió siempre la 4ª ó 5ª hoja contando hacia abajo desde la primera hoja extendida y preferiblemente en pámpanos principales.

Sobre las hojas elegidas se midió el verdor en los espacios internerviales del lóbulo principal del lado derecho de hojas sanas.

Se tomaron dos mediciones por planta (una de cada brazo), en todas las cepas de cada subzona. Se tomaron los datos en enero y una semana antes de la vendimia, antes de las medidas de fotosíntesis.

4.2.2 Actividad fotosintética

Se utilizó un medidor LiCor, LI-6400 este equipo está equipado con una cámara de medida de fluorescencia 6400-40 (Li-Cor, Inc. Lincoln, Nebr., EE.UU.).

Se realizaron dos mediciones: una por la noche, en la cual obtendremos los parámetros de fluorescencia en condiciones de oscuridad) y otra en las primeras horas de la mañana (13-15 hora local) esto coincidiría con la máxima actividad fotosintética y obtendremos los parámetros de fluorescencia en condiciones de iluminación, además de los parámetros fotosintéticos.

Se realizaron dos medidas, una en enero y otra una semana antes de la vendimia.

Las medidas se tomaron en 3 cepas de cada línea (3 filas), realizándose una medida de una hoja por cada cepa (9 hojas), sobre el espacio internervial del lóbulo principal derecho de hojas expuestas del tercio superior de la vegetación, siendo estas hojas las

mismas tanto para las medidas de fluorescencia como para las de fotosíntesis. Las hojas serán del pámpano principal, completamente adultas, pero sin mostrar síntomas de envejecimiento (aspecto coriáceo, rugoso, brillante...)

El LI 6400 dispone de un circuito abierto, esto significa que la fotosíntesis y la conductancia estomática se basan en las medidas de diferencia de concentración de CO₂ y H₂O entre el flujo de aire que fluye por la hoja y el de una corriente de aire análoga que no ha tenido contacto con la misma. El aparato dispone de dos analizadores de gases para determinar las tasas de fotosíntesis neta y, conductancia estomática a través de las siguientes expresiones:

Fotosíntesis neta (Pn) = (flujo de aire x ΔCO₂) / área foliar

Conductancia estomática (gs) = (flujo de aire x ΔH₂O) / área foliar

Para la fluorescencia, se establecerá el valor de absortancia característico de cada parcela calculado previamente mediante los valores del contenido de clorofila obtenidos con el medidor portátil CL-01 (González et al., 2005).

Se establecerán condiciones fotosintéticas óptimas de humedad, luz, CO₂ y temperatura que se mantendrán a lo largo de todas las mediciones para maximizar las diferencias entre las plantas sanas y las cloróticas. Para ello nos aseguraremos de realizar las medidas a las mismas horas con el cielo completamente descubierto.

Las hojas en las que se haga la medición de fluorescencia por la noche serán las mismas en las que se realice la medición por el día. Para ello se marcarán las hojas.

Se midieron los siguientes parámetros de fluorescencia la tasa de transporte de electrones (ETR), la atenuación fotoquímica (qP), la fluorescencia mínima en hojas adaptadas a la luz (FoDIA), la fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la luz (FmDIA), la fluorescencia variable en hojas adaptadas a la luz (FvDIA) y la fluorescencia estacionaria (Fs).

4.2.3 Peso de 100 bayas

De cada subparcela se muestrean 15 cepas. Se tomarán bayas de racimos de cada cara de la vid, situados en las partes altas y también en las bajas, los que estén más expuestos al sol y los que se encuentren sombreados, etc. Dentro de cada uno, se cogerán granos de uva de todas las partes del racimo y de todos los tipos (tamaño, maduración, etc.) recogiendo bayas al azar de racimos de cada cara de la vid.

4.2.4 Vigor del viñedo

En este caso se ha calculado el vigor de la zona podando sin haber hecho anteriormente la pre poda. Antes de podar se han contado los sarmientos y después se han pesado los sarmientos por cepa calculando el peso de madera por m².

4.2.5 Rendimiento

Se vendimió cada subparcela y se pesó la cosecha, así tenemos el peso por unidad de superficie o rendimiento.

4.2.7 Determinación de aromas varietales

Cuando se realizó la vendimia las uvas fueron almacenadas a 5°C durante una noche antes de ser despalilladas y prensadas.

Se cogieron 300ml de mosto de cada subzona y se congelaron inmediatamente a -20°C hasta la realización del análisis.

Para llevar a cabo la extracción de compuestos volátiles, se hicieron algunas modificaciones al método descrito por Oliveira et al. (2008).

Las muestras del mosto se centrifugaron (RCF= 9660, durante 20 minutos a 4°C) y se filtraron con lana de vidrio, se agregaron 75ml del mosto, 3 µg de 4-nonanol (Merck, ref. 818773) y se pasaron a través de un cartucho LiChrolut EN (Merck, 500mg, 40-120µm).

Previamente, la resina fue acondicionada con 10ml de diclorometano, 5ml de metanol y 10 ml de solución alcohólica (10% v/v).

La elución sucesiva de las fracciones volátiles libre y combinada (precursores aromáticos) se realizó con 5 ml de pentano-diclorometano (2:1 v/v) y 7 ml de acetato de etilo, respectivamente. El eluyente de pentano-diclorometano con los compuestos volátiles libres se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a 200 µl por evaporación del disolvente con N₂ antes del análisis.

El eluyente de acetato de etilo con los volátiles combinados se concentró en un MultivaporTM de Buchi (40°C) y se redisolvió en 200µl de tampón citrato-fosfato 0,1M (pH= 5,0).

Se agrego 14 mg de la enzima Rapidasa Revel aroma (Erbslöh) al extracto con los precursores aromaticos y la mezcla se incubó a 40°C durante 12h. Las agliconas liberadas se extrajeron con pentano-diclorometano (2:1 v/v) después de la adición de 3 µg de 4-nonanol como estándar interno. Posteriormente la fase orgánica se concentró a 200 µl con N₂.

El análisis cromatográfico de los compuestos volátiles se realizó utilizando un cromatógrafo Agilent GC 6890N acoplado al espectrómetro de masas Agilent 5975C. Se realizó una inyección de 1 µl en una columna capilar, recubierta con CP-Wax 52 CB (50 mx 0,25 mm, i.d., 0,2 µm de espesor de película, Chrompack). La rampa de la temperatura del inyector se programó desde 20°C a 250°C, aumentando a 180°C/min. La temperatura del horno se mantuvo a 40°C durante 5 min, luego se programó para aumentar de 40°C a 250°C a una velocidad de 3°C/min, manteniéndose durante 20 min a 250°C y finalmente se programó para que aumentara hasta los 255°C a 1°C/minuto. El gas portador fue helio N60 (Air Liquide) a 103 kPa, que corresponde a una velocidad lineal de 180cm/s a 150°C. El detector se configuró en modo de impacto electrónico (70eV), con un rango de adquisición de 29 a 360m/z, y una tasa de adquisición de 610 ms.

La identificación de los compuestos volátiles se realizó con el software GC/MSD ChemStation (Agilent), se compararon los espectros de masas y los índices de retención con los de los compuestos estándar puros. Los compuestos estándar puros se adquirieron en Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemania) con una pureza superior al 98%. Todos los compuestos se cuantificaron como equivalentes de 4-nonanol.

4.3 Análisis de datos

El tratamiento de los datos se ha realizado mediante el paquete estadístico SAS.

Las relaciones de los parámetros de fotosíntesis con el contenido clorofílico y las concentraciones de aromas en el mosto se analizaron mediante métodos de regresión lineal.

5. Resultados y discusión

5.1 Relaciones entre el nivel de clorofila y la actividad fotosintética.

El efecto más obvio de la deficiencia de Fe es, una gran disminución de las concentraciones de pigmentos fotosintéticos en las hojas de las plantas afectadas (Morales et al., 1994). La concentración de clorofila foliar se considera un indicador de la capacidad fotosintética de las plantas.

La deficiencia de Fe induce cambios en la actividad fotosintética con un aumento considerable del nivel inicial de fluorescencia F_o , y una disminución de la proporción de fluorescencia variable F_v (Greene et al., 1992), lo que refleja una pérdida de eficiencia fotoquímica en el PSII. La clorosis férrica reduce el transporte aparente de electrones (ETR) y el apagado fotoquímico (qP) (Bavaresco et al., 2006).

A pesar de que en la zona de estudio hay subparcelas afectadas y no afectadas por clorosis férrica (Catalina, 2015), los niveles de afección son de débiles a moderados y no se han podido constatar las relaciones comentadas anteriormente. En la tabla 3 observamos que las regresiones de los parámetros de fluorescencia sobre los contenidos foliares de clorofila en envero y antes de la vendimia son, en general, poco significativas.

Tabla 3: Valores del coeficiente de determinación R^2 , nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de los parámetros clorofila medida en envero (clenv) y en vendimia (clve) sobre el la asimilación neta (Pn), la conductancia estomática (Gs), la atenuación fotoquímica (qP), la tasa aparente de transporte de electrones (ETR), la tasa de transpiración (Trmmol), la fluorescencia mínima (F_o'), máxima (F_m') y variable en hojas adaptadas a la luz (F_v'), la máxima eficiencia del fotosistema II (F_v/F_m'), la fluorescencia estacionaria (Fs) y eficiencia del fotosistema II en operativo (Φ_{PSII}).

	Clenv	clve
Pn	(+) 0,00	(+) 0,05
Gs	(-) 0,34**	(-) 0,16
Fo'	(-) 0,00	(-) 0,01
Fm'	(+) 0,02	(+) 0,03
Fv'	(+) 0,04	(+) 0,08
Fv'/Fm'	(+) 0,10	(+) 0,20*
Fs	(+) 0,01	(+) 0,02
Φ_{PSII}	(+) 0,20	(+) 0,13
qP	(-) 0,00	(-) 0,02
ETR	(+) 0,16	(+) 0,11
Trmmol	(-) 0,33**	(-) 0,23*
Fo	(+) 0,01	(+) 0,08
Fm	(-) 0,03	(-) 0,11
Fv	(-) 0,03	(-) 0,14
Fv/Fm	(-) 0,11	(-) 0,21*
Fs/Fo	(+) 0,01	(+) 0,00

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

6.2 Efectos del vigor, rendimiento del viñedo y el tamaño de la uva sobre la composición aromática del mosto.

Los resultados del estudio de regresión recogidos en la Tabla 4 muestran cómo el peso de 100 bayas, el rendimiento y el peso de madera de poda se relacionan directamente con la concentración del diendiol-II. Para el peso de poda se obtienen regresiones significativamente positivas en relación al E-3-hexenol y negativas en relación al isoamilacetato, 3-oxo-7,8-dihidro-alfa-ionol y las lactonas.

Se observan relaciones positivas entre compuestos C6 libres con el peso de 100 bayas, lo que vendría a indicar que existe un menor grado de madurez en las subparcelas con tamaño de la uva más grueso. Por otra parte, se han registrado relaciones positivas de diferentes terpenos y C13-norisoprenoides libres con el rendimiento de las cepas (tabla 4).

Tabla 4: Coeficiente de determinación (R^2), nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de la concentración aromas libres encontrados en el mosto en vendimia sobre el peso de 100 bayas (P100), el rendimiento o peso de uva por metro cuadrado (PU) y el peso de madera de poda (PMP).

	P100	PU	PMP
Alcoholes	(-) 0,00	(+) 0,26*	(-) 0,03
1-butanol	(+) 0,00	(+) 0,12	(-) 0,00
2+3metil-1-butanol	(+) 0,02	(-) 0,03	(-) 0,07
1-dodecanol	(+) 0,00	(+) 0,27	(-) 0,00
3-metil-2-buten-1-ol	(-) 0,15	(+) 0,07	(-) 0,08
3+4-metil-1-pentanol	(-) 0,04	(+) 0,02	(-) 0,05
Alcohol bencílico	(-) 0,03	(+) 0,12	(-) 0,03
2 feniletanol	(+) 0,17	(+) 0,10	(-) 0,07
Dodecanol	(-) 0,03	(+) 0,37**	(-) 0,04
Compuestos en C6	(+) 0,32*	(-) 0,16	(+) 0,00
1-hexanol	(+) 0,31*	(-) 0,15	(+) 0,00
E-3-hexenol	(+) 0,20	(+) 0,00	(+) 0,23*
E-2-hexenol	(+) 0,29*	(-) 0,21	(-) 0,01
Aldehídos	(-) 0,01	(+) 0,27*	(+) 0,00
E-2-hexenal	(+) 0,02	(+) 0,22*	(+) 0,08
Feniletanal	(-) 0,00	(+) 0,04	(-) 0,12
Hexanal	(-) 0,05	(+) 0,25*	(-) 0,00
Ésteres y acetatos	(+) 0,01	(+) 0,18	(-) 0,01
2-feniletacetato	(+) 0,08	(+) 0,11	(+) 0,03
Isoamilacetato	(+) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,22*
Malato de dietilo	(-) 0,32*	(+) 0,17	(-) 0,12
Ácidos Volátiles	(-) 0,07	(+) 0,32*	(-) 0,13
Ácido nonanoico	(-) 0,20	(+) 0,49**	(-) 0,01
Ácido geránico	(-) 0,00	(+) 0,06	(-) 0,18
Ácido Hexadecanoico	(-) 0,03	(+) 0,24*	(-) 0,13
Acido E-2-hexanoico	(-) 0,12	(+) 0,13	(-) 0,04
Terpenos+C13 norisoprenoides	(-) 0,15	(+) 0,28*	(-) 0,19
Diendiol-II	(-) 0,40**	(+) 0,26*	(-) 0,07
Geraniol	(-) 0,17	(+) 0,54***	(+) 0,01
3,4-dihidro-3-oxo-actinidol i	(-) 0,02	(+) 0,01	(-) 0,20
3,4-dihidro-3-oxo-actinidol ii	(-) 0,16	(+) 0,08	(-) 0,20
3-hidroxi-b-damascenona	(+) 0,01	(+) 0,13	(-) 0,14
3-hidroxi-7,8-dihidro-beta-ionol	(-) 0,05	(+) 0,31*	(-) 0,16
3-oxo-7,8-dihidro-alfa-ionol	(-) 0,10	(+) 0,15	(-) 0,26*
3-hidroxi-7,8-dehidro-beta-ionol	(-) 0,04	(+) 0,24*	(-) 0,21
Fenoles volátiles	(-) 0,20	(+) 0,43**	(+) 0,00
Lactonas	(+) 0,02	(+) 0,01	(-) 0,28*

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

En la tabla 5 observamos que los resultados obtenidos para los aromas ligados no coinciden con los obtenidos para los aromas libres. No hay una relación significativa con el vigor y rendimiento en ningún grupo. Las regresiones con el peso de 100 bayas son negativas con el total de alcoholes ligados y con algunos compuestos específicos del grupo de terpenos + C13 norisoprenoides.

Tabla 5: Coeficiente de determinación (R^2), nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de la concentración de aromas ligados a azúcares encontrados en el mosto en vendimia sobre el peso de 100 bayas (P100), el rendimiento o peso de uva por metro cuadrado (PU) y el peso de madera de poda (PMP).

	P100	PU	PMP
Alcoholes	(-) 0,45**	(+) 0,12	(-) 0,05
1-butanol	(-) 0,27*	(-) 0,00	(-) 0,12
3-metil-1-butanol	(-) 0,03	(-) 0,07	(-) 0,22
3-metil-3-buten-1-ol	(-) 0,14	(-) 0,00	(-) 0,21
4-metil-1-pentanol	(-) 0,07	(+) 0,20	(-) 0,05
3-metil-1-pentanol	(-) 0,06	(+) 0,10	(+) 0,53***
1-heptanol	(+) 0,00	(-) 0,02	(-) 0,17
Alcohol bencílico	(-) 0,10	(+) 0,08	(-) 0,02
2 feniletanol	(-) 0,13	(+) 0,14	(-) 0,07
Compuestos en C6	(-) 0,20	(+) 0,02	(-) 0,18
1-hexanol	(-) 0,29*	(+) 0,03	(-) 0,33*
Z-3-hexanol	(-) 0,07	(+) 0,06	(-) 0,02
E-2-hexanol	(+) 0,14	(-) 0,15	(+) 0,11
Aldehídos	(-) 0,37*	(+) 0,14	(-) 0,12
Hexanal	(-) 0,35*	(+) 0,13	(-) 0,14
E-2-hexenal	(+) 0,01	(+) 0,00	(+) 0,07
Ésteres	(+) 0,23	(-) 0,10	(+) 0,13
Hexanoato de etilo	(+) 0,20	(-) 0,16	(+) 0,04
Octanoato de etilo	(+) 0,05	(+) 0,00	(+) 0,19
Ácidos volátiles	(-) 0,05	(+) 0,06	(-) 0,02
Acido E-2-hexanoico	(+) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,07
Ácido geránico	(-) 0,00	(+) 0,04	(+) 0,05
Ácido Hexadecanoico	(-) 0,06	(+) 0,05	(-) 0,05
Terpenos +C13 norisoprenoides	(-) 0,13	(+) 0,01	(-) 0,16
Nerol	(+) 0,05	(+) 0,00	(-) 0,00
Geraniol	(-) 0,23*	(+) 0,05	(+) 0,01
E-8-hidroxi-linalol	(+) 0,01	(+) 0,01	(-) 0,18
3-hidroxi-b-damascona	(-) 0,21	(+) 0,08	(-) 0,15
3-oxo-alfa-ionol	(-) 0,00	(-) 0,03	(-) 0,33*
4-oxo-7,8-dihidro-beta-ionol	(-) 0,23*	(+) 0,05	(-) 0,11
3-oxo-7,8-dihidro-alfa-ionol	(-) 0,01	(-) 0,02	(-) 0,15
3-hidroxi-7,8-dehidro-beta-ionol	(-) 0,20	(+) 0,01	(-) 0,06
Fenoles volátiles	(-) 0,03	(+) 0,01	(-) 0,06
4-vinilfenol	(-) 0,00	(+) 0,00	(-) 0,01
Vainillina	(-) 0,12	(-) 0,02	(-) 0,32*
Eugenol	(-) 0,00	(+) 0,00	(-) 0,01
4-vinilguaiacol	(-) 0,03	(+) 0,06	(-) 0,02

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

6.3 Relación entre la actividad fotosintética del viñedo y la composición específica de aromas de la uva

El contenido total de aromas y el contenido total de aromas libres está inversamente correlacionado con el contenido foliar de clorofila (tabla 6), indicando que niveles moderados de clorosis férrica, como los que se observan en la zona de estudio, podrían

tener efectos positivos en la calidad aromática de los mostos. Los niveles moderados de estrés pueden afectar positivamente a la calidad de la uva, ya que las plantas restringen el crecimiento vegetativo, tienen menos rendimiento y bayas más pequeñas (González et al., 2019).

Los resultados del estudio de regresión recogidos en la Tabla 6 muestran cómo algunos contenidos en aromas libres del mosto se relacionan directamente con parámetros fotosintéticos analizados en envero, siendo los coeficientes de regresión más significativos los correspondientes a compuestos en C6 y aldehídos. Para los compuestos en C6 se obtuvieron regresiones significativamente positivas en relación a la eficiencia máxima del fotosistema II y la atenuación fotoquímica, y negativas en relación a la concentración de clorofila, la fluorescencia máxima y variable en hojas adaptadas a la luz, estimación de la eficiencia máxima del PSII y la fluorescencia estacionaria con los compuestos en C6 en el mosto de vendimia.

Por su parte, los aldehídos no tuvieron regresiones significativas en relación a la eficiencia máxima del fotosistema II, pero sí con la fluorescencia mínima, máxima y variable en hojas adaptadas a la luz, la estimación de la eficiencia máxima del PSII y la fluorescencia estacionaria y negativas en relación a la eficiencia del fotosistema II en operativo, la atenuación fotoquímica y la tasa aparente de transporte de electrones (Tabla 6). Ubeda et al (2017) consideran a los compuestos en C6 y los aldehídos (ambos procedentes de ácidos grasos) como los compuestos aromáticos más abundantes, que proporcionan a la uva aromas herbáceos, que se trasladan con menos impacto a los vinos.

Las regresiones significativas comentadas en el párrafo anterior pueden estar relacionadas con una variabilidad amplia en el estado hídrico y nutricional de las cepas en el momento del envero, que repercutirá a su vez en el grado de madurez final alcanzado por la uva. Los mencionados parámetros de fluorescencia podrían ser utilizados como indicadores del potencial aromático de las subparcelas.

Es bien conocido que la escasez de hierro fisiológicamente activo conduce a una disminución de la tasa de transporte de electrones, (Val et al. 1987), así como a una reducción de la eficiencia fotoquímica del PSII, (Bertamini et al. 2002). Numerosos autores han estudiado el comportamiento de diferentes parámetros de la fluorescencia de las hojas en condiciones de clorosis férrica. Así, Bertamini et al. (2002) y Bavaresco et al. (2006) concluyeron que la relación F_v/F_m disminuía en hojas de vides cloróticas respecto a las medidas en vides sanas. La medida de la fluorescencia variable se redujo notablemente en las hojas cloróticas (Setlik et al., 1990). En nuestro caso la fluorescencia variable y la máxima eficiencia del fotosistema II tienen regresiones significativas (Tabla 6) con los aromas totales.

El análisis de regresión mostrado en la Tabla 7 revela que los alcoholes, compuestos en C6 y aldehídos ligados se relacionan de forma positiva con la fluorescencia mínima y máxima medidas en envero, encontrando una regresión positiva de las concentraciones de alcoholes y aldehídos en mostos con la fluorescencia estacionaria. El resto de grupos de aromas ligados no mostró relaciones significativas con ningún parámetro de actividad fotosintética estudiado.

Los resultados de la tabla 7 señalan que los compuestos aromáticos ligados que más regresiones significativas tienen son los compuestos en C6, los alcoholes y los aldehídos.

Cuando se han estudiado las relaciones entre concentraciones de aromas y actividad fotosintética en la semana previa a la vendimia (Tabla 8), se han observado regresiones estadísticamente significativas de las concentraciones de aromas libres totales,

alcoholes, aldehídos, esterés y acetatos, y, fenoles volátiles con los parámetros de fluorescencia mínima y máxima en hojas adaptadas a luz, estimación de la eficiencia máxima del PSII y la fluorescencia estacionaria. Además, los terpenos + C13 noroisoprenoides tuvieron regresiones estadísticamente significativas con los parámetros anteriores exceptuando la estimación de la eficiencia máxima fotoquímica del PSII. También encontramos regresiones significativas negativas en los aromas totales sobre la asimilación neta y la concentración de alcoholes, aldehídos, esterés y acetatos, terpenos y fenoles volátiles sobre la atenuación fotoquímica.

Comparando las tablas 6 y 8 vemos como el valor predictivo del perfil aromático es mayor en las medidas de fluorescencia previas a la vendimia que en las de enero, abarcando a un mayor número de grupos de aromas libres. Únicamente la estimación de compuestos en C6 sería más favorable con las medidas de actividad fotosintética a comienzos de la maduración. Los parámetros más apropiados como estimadores del potencial aromático serían la fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la luz, la fluorescencia estacionaria, la estimación de la eficiencia máxima de PSII y la atenuación fotoquímica.

En la tabla 9 el análisis de regresión realizado muestra que las concentraciones de alcoholes, compuestos en C6, aldehídos y esterés son significativas con los parámetros de fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la luz y con la fluorescencia estacionaria, y la asimilación neta (exceptuando los alcoholes en este último caso). Las regresiones son positivas con la fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la luz y con la fluorescencia estacionaria en el caso de los alcoholes, los compuestos en C6 y los aldehídos y negativas con los esterés. Para la asimilación neta ocurre lo contrario, las regresiones son negativas en alcoholes, compuestos en C6 y aldehídos y negativas con los esterés.

En el caso de los aromas ligados (tablas 7 y 9) ocurre algo similar que en los no ligados (tablas 6 y 8). Las medidas de fluorescencia en vendimia muestran regresiones significativas con un mayor número de grupos de compuestos aromáticos. En este caso disminuyen las relaciones con los alcoholes y aumentan con los esterés (en la tabla 7 no había ninguna regresión significativa). Los parámetros de fluorescencia más correlacionados con la composición de aromas ligados en las dos épocas de medida coinciden con los obtenidos para aromas no ligados, exceptuando la atenuación fotoquímica y la estimación de la eficiencia máxima del PSII.

Tabla 6: Coeficiente de determinación (R^2), nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de las concentraciones de aromas libres, por grupos, en la uva sobre los niveles foliares de clorofila (cl), asimilación neta (Pn), conductancia estomática (gs), tasa aparente de transporte de electrones (ETR), fluorescencia mínima (Fo), máxima (Fm) y variable en hojas adaptadas a la oscuridad (Fv), la máxima eficiencia del fotosistema II (Fv/Fm), fluorescencia mínima (Fo'), máxima (Fm') y variable en hojas adaptadas a la luz (Fv'), estimación de la eficiencia máxima fotoquímica del PSII (Fv'/Fm'), fluorescencia estacionaria (Fs), eficiencia del fotosistema II en operativo (PSII), y la atenuación fotoquímica (qP), medidas en enero.

	Aromas totales	Total aromas libres	Alcoholes	Compuestos en C6	Aldehídos	Ésteres y acetatos	Ácidos Volátiles	Terpenos + C13 norisoprenoides	Fenoles volátiles	Lactonas
cl	(-) 0,29*	(-) 0,41**	(-) 0,16	(-) 0,23*	(-) 0,09	(-) 0,11	(-) 0,02	(-) 0,09	(-) 0,10	(-) 0,03
Pn	(-) 0,00	(+) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,00	(+) 0,03	(+) 0,00	(-) 0,01	(-) 0,03	(+) 0,01	(-) 0,08
gs	(+) 0,10	(+) 0,25	(+) 0,06	(+) 0,11	(+) 0,08	(+) 0,05	(+) 0,07	(+) 0,04	(+) 0,05	(+) 0,01
Fo	(-) 0,12	(-) 0,06	(-) 0,00	(-) 0,25	(+) 0,04	(+) 0,01	(-) 0,01	(-) 0,00	(+) 0,02	(-) 0,07
Fm	(+) 0,23	(+) 0,08	(+) 0,08	(+) 0,07	(-) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,06	(+) 0,05	(-) 0,01	(+) 0,10
Fv	(+) 0,25*	(+) 0,09	(+) 0,05	(+) 0,15	(-) 0,01	(+) 0,00	(+) 0,06	(+) 0,04	(-) 0,01	(+) 0,12
Fv/Fm	(+) 0,26*	(+) 0,16	(+) 0,04	(+) 0,25*	(-) 0,00	(+) 0,01	(+) 0,05	(+) 0,04	(-) 0,00	(+) 0,10
Fo'	(+) 0,10	(+) 0,09	(+) 0,19	(-) 0,11	(+) 0,32*	(+) 0,21	(+) 0,17	(+) 0,26*	(+) 0,11	(+) 0,07
Fm'	(+) 0,04	(+) 0,02	(+) 0,16	(-) 0,32*	(+) 0,41**	(+) 0,18	(+) 0,12	(+) 0,17	(+) 0,09	(+) 0,00
Fv'	(+) 0,02	(+) 0,01	(+) 0,12	(-) 0,39**	(+) 0,39**	(+) 0,15	(+) 0,08	(+) 0,11	(+) 0,08	(-) 0,01
Fv'/Fm'	(+) 0,00	(-) 0,00	(+) 0,07	(-) 0,39**	(+) 0,29*	(+) 0,07	(+) 0,03	(+) 0,03	(+) 0,04	(-) 0,05
Fs	(+) 0,05	(+) 0,02	(+) 0,17	(-) 0,33*	(+) 0,43**	(+) 0,19	(+) 0,12	(+) 0,19	(+) 0,10	(+) 0,00
PSII	(-) 0,10	(-) 0,05	(-) 0,15	(+) 0,11	(-) 0,25*	(-) 0,12	(-) 0,08	(-) 0,22	(-) 0,12	(+) 0,00
qP	(-) 0,02	(-) 0,01	(-) 0,12	(+) 0,35**	(-) 0,37**	(-) 0,14	(-) 0,06	(-) 0,12	(-) 0,10	(+) 0,03
ETR	(-) 0,10	(-) 0,04	(-) 0,15	(+) 0,11	(-) 0,22*	(-) 0,10	(-) 0,07	(-) 0,21	(-) 0,11	(+) 0,00

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Tabla 7: Coeficiente de determinación (R^2), nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de las concentraciones de aromas ligados, por grupos, en la uva sobre los niveles foliares de clorofila (cl), asimilación neta (Pn), conductancia estomática (gs), tasa aparente de transporte de electrones (ETR), fluorescencia mínima (Fo), máxima (Fm) y variable en hojas adaptadas a la oscuridad (Fv), la máxima eficiencia del fotosistema II (Fv/Fm), fluorescencia mínima (Fo'), máxima (Fm') y variable en hojas adaptadas a la luz (Fv'), estimación de la eficiencia máxima fotoquímica del PSII (Fv'/Fm'), fluorescencia estacionaria (Fs), eficiencia del fotosistema II en operativo (PSII), y la atenuación fotoquímica (qP). medidas en enero.

	Total aromas ligados	Alcoholes	Compuestos en C6	Aldehídos	Esteres	Ácidos volátiles	Terpenos +C13 norisoprenoides	Fenoles volátiles
cl	(-) 0,02	(-) 0,00	(-) 0,09	(-) 0,04	(+) 0,08	(-) 0,01	(-) 0,06	(+) 0,00
Pn	(-) 0,07	(-) 0,00	(-) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,00	(-) 0,06	(-) 0,12	(-) 0,20
gs	(-) 0,03	(+) 0,01	(+) 0,00	(+) 0,01	(-) 0,05	(-) 0,02	(-) 0,05	(-) 0,01
Fo	(-) 0,00	(+) 0,00	(-) 0,01	(-) 0,00	(+) 0,08	(-) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,18
Fm	(+) 0,13	(+) 0,12	(+) 0,06	(+) 0,02	(-) 0,09	(+) 0,09	(+) 0,07	(+) 0,15
Fv	(+) 0,09	(+) 0,07	(+) 0,05	(+) 0,02	(-) 0,12	(+) 0,06	(+) 0,05	(+) 0,21
Fv/Fm	(+) 0,04	(+) 0,03	(+) 0,04	(+) 0,01	(-) 0,15	(+) 0,01	(+) 0,02	(+) 0,15
Fo'	(+) 0,08	(+) 0,36*	(+) 0,42**	(+) 0,33*	(-) 0,23	(+) 0,01	(+) 0,11	(-) 0,02
Fm'	(+) 0,08	(+) 0,38**	(+) 0,21*	(+) 0,24*	(-) 0,10	(+) 0,01	(+) 0,05	(-) 0,02
Fv'	(+) 0,07	(+) 0,34*	(+) 0,12	(+) 0,18	(-) 0,06	(+) 0,02	(+) 0,03	(-) 0,01
Fv'/Fm'	(+) 0,05	(+) 0,18	(+) 0,01	(+) 0,06	(-) 0,01	(+) 0,03	(+) 0,00	(+) 0,00
Fs	(+) 0,09	(+) 0,41**	(+) 0,21	(+) 0,25*	(-) 0,11	(+) 0,02	(+) 0,06	(-) 0,01
PSII	(-) 0,09	(-) 0,29*	(-) 0,06	(-) 0,06	(+) 0,15	(-) 0,02	(-) 0,10	(-) 0,02
qP	(-) 0,08	(-) 0,28*	(-) 0,04	(-) 0,09	(+) 0,05	(-) 0,03	(-) 0,04	(-) 0,00
ETR	(-) 0,11	(-) 0,25*	(-) 0,03	(-) 0,05	(+) 0,10	(-) 0,03	(-) 0,13	(-) 0,04

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Tabla 8: Coeficiente de determinación (R^2), nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de las concentraciones de aromas libres, por grupos, en la uva sobre los niveles foliares de clorofila (cl), asimilación neta (Pn), conductancia estomática (gs), tasa aparente de transporte de electrones (ETR), fluorescencia mínima (Fo') y máxima (Fm') en hojas adaptadas a la luz, estimación de la eficiencia máxima fotoquímica del PSII (Fv'/Fm'), fluorescencia estacionaria (Fs), eficiencia del fotosistema II en operativo (PSII), y la atenuación fotoquímica (qP), medidas en vendimia.

	Aromas totales	Total aromas libres	Alcoholes	Compuestos en C6	Aldehídos	Ésteres y acetatos	Ácidos Volátiles	Terpenos + C13 norisoprenoides	Fenoles volátiles	Lactonas
cl	(-) 0,40**	(-) 0,23	(-) 0,14	(-) 0,14	(-) 0,01	(-) 0,06	(-) 0,14	(-) 0,15	(-) 0,01	(-)0,31*
Fo'	(+) 0,21	(+) 0,34*	(+) 0,51***	(-) 0,03	(+) 0,68***	(+) 0,32*	(+) 0,08	(+) 0,30*	(+) 0,32*	(+) 0,03
Fm'	(+) 0,23	(+)0,43**	(+) 0,60***	(-) 0,03	(+) 0,78***	(+)0,51**	(+)0,15	(+) 0,30*	(+)0,35**	(+)0,04
Fv'/Fm'	(+) 0,12	(+) 0,32*	(+) 0,41**	(-) 0,03	(+) 0,62***	(+)0,43**	(+) 0,15	(+) 0,19	(+) 0,31*	(+) 0,01
Fs	(+) 0,22	(+)0,41**	(+) 0,62***	(-) 0,04	(+) 0,78***	(+) 0,52***	(+) 0,16	(+) 0,32*	(+)0,36**	(+) 0,05
Pn	(-) 0,34*	(+) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,09	(+) 0,00	(-) 0,05	(+) 0,13	(-) 0,30*	(-) 0,13	(-) 0,05
gs	(-) 0,01	(+) 0,14	(+) 0,14	(-) 0,00	(+) 0,26*	(+) 0,27*	(+) 0,02	(+) 0,00	(+) 0,12	(-) 0,02
PSII	(+) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,16	(+) 0,15	(-) 0,09	(-) 0,12	(-) 0,03	(-) 0,14	(-) 0,06	(-) 0,12
qP	(-) 0,04	(-) 0,14	(-) 0,50**	(+) 0,21	(-) 0,57***	(-) 0,45**	(-) 0,13	(-) 0,31*	(-) 0,33*	(-) 0,08
ETR	(-) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,16	(+) 0,15	(-) 0,09	(-) 0,12	(-) 0,03	(-) 0,14	(-) 0,06	(-) 0,12

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Tabla 9: Coeficiente de determinación (R^2), nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de las concentraciones de aromas ligados, por grupos, en la uva sobre los niveles foliares de clorofila (cl), asimilación neta (Pn), conductancia estomática (gs), tasa aparente de transporte de electrones (ETR), fluorescencia mínima (F_o') y máxima en hojas adaptadas a la luz, estimación de la eficiencia máxima fotoquímica del PSII (F_v'/F_m'), fluorescencia estacionaria (Fs), eficiencia del fotosistema II en operativo (PSII), y la atenuación fotoquímica (qP). medidas en vendimia.

	Total aromas ligados	Alcoholes	Compuestos en C6	Aldehídos	Esteres	Ácidos volátiles	Terpenos +C13 norisoprenoides	Fenoles volátiles
cl	(-) 0,14	(-) 0,10	(-) 0,18	(-) 0,09	(+) 0,25	(-) 0,07	(-) 0,19	(-) 0,10
Fo'	(+) 0,10	(+) 0,18	(+) 0,36**	(+) 0,40**	(-) 0,25	(+) 0,05	(+) 0,05	(-) 0,01
Fm'	(+) 0,06	(+) 0,26*	(+) 0,24*	(+) 0,36*	(-) 0,38**	(+) 0,01	(+) 0,01	(-) 0,00
Fv'/Fm'	(+) 0,01	(+) 0,17	(+) 0,08	(+) 0,17	(-) 0,24	(-) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,01
Fs	(+) 0,07	(+) 0,27*	(+) 0,26*	(+) 0,38**	(-) 0,38**	(+) 0,01	(+) 0,02	(-) 0,00
Pn	(-) 0,17	(-) 0,23	(-) 0,44**	(-) 0,37**	(+)0,59***	(-) 0,07	(-) 0,09	(-) 0,10
gs	(-) 0,06	(-) 0,00	(-) 0,06	(-) 0,02	(-) 0,00	(-) 0,04	(-) 0,14	(-) 0,03
PSII	(-) 0,08	(-) 0,03	(-) 0,05	(-) 0,04	(+) 0,01	(-) 0,06	(-) 0,10	(-) 0,03
qP	(-) 0,10	(-) 0,20	(-) 0,19	(-) 0,23	(+) 0,15	(-) 0,05	(-) 0,07	(-) 0,00
ETR	(-) 0,08	(-) 0,03	(-) 0,06	(-) 0,05	(+) 0,01	(-) 0,06	(-) 0,10	(-) 0,03

Niveles de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

6. Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos en este estudio se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Las medidas del contenido foliar de clorofila en enero y previas a la vendimia se han correlacionado poco con los parámetros de eficiencia fotosintética en la zona de estudio, pero han mostrado una fuerte correlación negativa con el contenido total de aromas libres del mosto.
- El tamaño de la uva afectó significativamente al perfil aromático, observándose mayores concentraciones en compuestos C6 libres en las zonas con fruto más grueso. Por otro lado, diferentes terpenos y C13-norisoprenoides libres se han correlacionado con el rendimiento de las cepas.
- Las medidas de fluorescencia de la clorofila medidas una semana antes de la vendimia mostraron un mejor valor predictivo de la composición aromática de las uvas que las medidas en enero, a excepción de los compuestos en C6. La fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la luz y la fluorescencia estacionaria son los parámetros que han mostrado mayor interés para la estimación del potencial aromático de la uva en zonas afectadas por clorosis férrica.

7. Bibliografía

Baker N.R. and Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.* 2004 Aug; 55: 1607-1621.

Bavaresco L., van Zeller MI, Civardi S, Gatti M, and Ferrari F. Effects of traditional and new methods on overcoming lime-induced chlorosis of grapevine. *Am. J. Enol. Vitic.* 2010; 61: 186–190.

Bavaresco L., Beertamini M. and Iacono F. Lime-induced chlorosis and physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot blanc) leaves. *Vitis.* 2006; 45: 45-46.

Bavaresco L, Giachino E and Pezzutto S. Grapevine rootstock effects on lime-induced chlorosis, nutrient uptake, and source-sink relationships. *J. Plant Nutr.* 2003; 26: 1451-1465.

Bavaresco L, Civardi S, Pezzutto S, Vezzulli S and Ferrari F. Grape production, technological parameters, and stilbenic compounds as affected by lime-induced chlorosis. *Vitis.* 2005; 44:63-65.

Bertamini M, Muthuchelian K and Nedunchezian N. Iron deficiency induced changes on the donor side of PS II in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. *Plant Sci.* 2002; 162: 599-605.

Buttery RG, Teranishi R, Ling LC, Flath RA and Stern DJ. Quantitative studies on origins of fresh tomato volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 1988; 36:1247-1250.

Capone DL, Jeffery DW and MAS. Vineyard and fermentation studies to elucidate the origin of 1,8-cineole in Australian red wine. *J Agric Food Chem.* 2012; 60(9):2281-7.

Catalina A. Utilización de medidas de fluorescencia de la clorofila para monitorizar el estado nutricional y estimar el potencial enológico en viñedos afectados por clorosis férrica. Tesis doctoral. Universidad de Valladolid. 2015.

Chen J, Li Y, Yu T-S, McKay RM, Burns DK, Kernie SG, et al. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature.* 2012; 488(7412):522-6.

Coelho E, Coimbra M, Nogueira J and Rocha S. Quantification approach for assessment of sparkling wine volatiles from different soils, ripening stages, and varieties by stir bar sorptive extraction with liquid desorption. *Anal Chim Acta*. 2009; 635:214-221.

Covarrubias JI, Pisi A and Rombolà AD. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *ASVO*. 2014; 20: 149-159.

D'Auria J, Pichersky E, Schaub A, Hansel A and Gershenzon J. Characterization of a BAHD acyltransferase responsible for producing the green leaf volatile (Z)-3-hexen-1-yl acetate in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*. Jan 2007; 49(2):194-207.

Flexas, J, Bota J, Escalona J.M, Sampol B and Medrano H. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Funct. Plant Biol*. 2002; 29: 461-471.

Francis IL and JLN. Determining wine aroma from compositional data. *ASVO*. 2005; 11(2): 114-126.

González R, Hailemichael G, Catalina A and Martín P. Combined effects of water status and iron deficiency chlorosis on grape composition in non-irrigated vineyards. *Sci. Agric*. November/December 2019; 76(6):473-480.

González Moreno S, Perales Vela H and Salcedo Alvarez M. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *REB*. 2008; 27(4): 119-129.

Gonzalez R, Nuñez LC, Martín P, Berjon A and Zarco P. Estimación de la absorbancia de radiación PAR en hojas de vid a partir de su contenido en clorofila. V Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas. *Actas Portuguesas de Horticultura*. 2005; 6: 384-389.

González-Barreiro C and Rial-Otero B. Cancho-Grande and JS-G. Wine aroma compounds in grapes: A critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 2015; 55(2): 202-18.

Greene RM, Geider RJ, Kolber Z and Falkowski PG. Ironinduced changes in light harvesting and photochemical energy conversion processes in eukaryotic marine algae. *Plant Physiol*. 1992; 100: 565-575.

Hayasaka D, Saito-Morooka F, Sánchez-Bayo F, Goka K, Suzuki K, Korenaga T, et al. Effects of two successive annual treatments of two systemic insecticides, imidacloprid and fipronil, on dragonfly nymph communities in experimental paddies. *Journal of Pesticide Science*. 2013; 38(2): 101–107.

Iacono, F. and Sommer KJ. The measurement of chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the photosynthetic performance of grapevine leaves. *Acta Horticulturae*. 1999; 493: 31-44.

Inforiego. Datos meteorológicos de la estación meteorológica de Valbuena de Duero (VA-07) [Internet]. 2019. Disponible en: http://www.inforiego.org/opencms/opencms/info_meteo/construir/index.html.

Iyer MM, Sacks GL and OIP-Z. Impact of harvesting and processing conditions on green leaf volatile development and phenolics in concord grape juice. *J Food Sci*. Apr 2010; 75(3): 297-304.

Kalua C.M. and PKB. Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.). *J Agric Food Chem*. May 2009; 57(9):3818-30.

Kotseridis Y and Baumes R. Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. *J Agric Food Chem.* Feb 2000;48(2):400-6.

Larbi A, Abadía A, Abadía J and Morales F. Down co-regulation of light absorption, photochemistry and carboxylation in Fe-deficient plants growing in different environments. *Photosynth. Res.* 2006; 89: 113-126.

Martín P, González MR, González R, Boned J, and Pérez J. Efectos de la clorosis férrica en la calidad de la uva de vinificación. *Viticultura/Enología Profesional.* 2007; 110:33-42.

Mateo JJ and Jimenez M. Monoterpenes in grape juice and wines. *J Chromatogr A.* Jun 2000; 881(1-2):557-67.

Matsui K, Hirayama T, Kuroda K, Shirahige K, Ashikari T and Ueda M. Screening for candidate genes involved in tolerance to organic solvents in yeast. *Appl Microbiol Biotechnol.* Jun 2006; 71(1): 75-9.

Mendes-Pinto MM. Carotenoid breakdown products the–norisoprenoids–in wine aroma. *Arch Biochem Biophys.* Mar 2009; 483(2): 236-45.

Miller GW, Pushnik JC and Welkie GW. Iron chlorosis, a world wide problem, the relation of chlorophyll biosynthesis to iron. *J Plant Nutr* [Internet]. Jan 1984; 7(1–5):1–22. Available from: <https://doi.org/10.1080/01904168409363172>.

Morales F, Abadía A, Belkhodja R and Abadía J. Iron deficiency-induced changes in the photosynthetic pigment composition of field-grown pear (*Pyrus cornrnunis* L.) leaves. *Plant Cell Environ.* 1994; 17: 1153-1160.

Morales F, Abadía A and Abadía J. Chlorophyll fluorescence and photon yield of oxygen evolution in iron-deficient sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves. *Plant Physiol.* 1991; 97: 886-893.

Murchie EH and Lawson T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *J. Exp. Bot.* 2013; 64(13): 3983-3998.

Oliveira J, Oliveira P, Baumes R, and Maia M. Volatile and glycosidically bound composition of Loureiro and Alvarinho wines. *Food Sci Technol Int.* 2008; 14:341-353.

Pestana M, Varennes A, Abadía J and Faria EA. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Scientia Horticulturae.* 2005; 104: 25-36.

Raguso, RA and Pichersky, E. New Perspectives in Pollination Biology: Floral Fragrances. A day in the life of a linalool molecule: Chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: Linalool biosynthesis in flowering plants. *Plant Species Biology.* 1999; 14: 95-120.

Rocha SM, Coelho E, Zrostlíková J, Delgadillo I and MAC. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry of monoterpenoids as a powerful tool for grape origin traceability. *Journal of Chromatography.* Jun 2007; 1161(1-2):292-299.

Rossouw D and Bauer FF. Comparing the transcriptomes of wine yeast strains: toward understanding the interaction between environment and transcriptome during fermentation. *Appl Microbiol Biotechnol.* Oct 2009; 84(5):937-54.

Rossouw D, Næs T and Bauer FF. Linking gene regulation and the exo-metabolome: A comparative transcriptomics approach to identify genes that impact on the production of volatile aroma compounds in yeast. *BMC Genomics.* Nov 2008; 9:530.

- Sarris A and Latrasse A. Production of odoriferous γ -lactones by *Fusarium poae*. *Agric. Biol. Chem.* 1985; 49:3227-3230.
- Schneider R, Razungles A, Augier C and RB. Monoterpenic and norisoprenoidic glycoconjugates of *Vitis vinifera* L. cv. Melon B. as precursors of odorants in Muscadet wines. *J Chromatogr A.* Nov 2001;936(1-2):145-57.
- Schwab W and Wüst M. Understanding the Constitutive and Induced Biosynthesis of Mono- and Sesquiterpenes in Grapes (*Vitis vinifera*): A Key to Unlocking the Biochemical Secrets of Unique Grape Aroma Profiles. *J Agric Food Chem.* 2015 Dec 2015;63(49):10591-603.
- Sefton MA. Hydrolytically-released volatile secondary metabolites from a juice sample of *Vitis vinifera* grape cvs. Merlot and Cabernet Sauvignon. *ASVO.* 1998; 4(1): 30-38.
- Setlik I, Allakhverdiev SI, Nedbal L, Setlikova E and Klimov VV. Three types of photosystem II photoinactivation. 1. Damaging processes on the acceptor side. *Photosynth. Res.*1990; 23: 39-48.
- Styger Gustav, Prior Bernard and Bauer FF. Wine flavor and aroma. *J Ind Microbiol & Biotechnol. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.* 24 Jul 2011; 38(9):1145-1159.
- Tagliavini M and Rombolà AD. Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystems. *Eur J Agron [Internet].* 2001; 15(2):71–92. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1161030101001253>.
- Ubeda C, Cortiella MG and Galán RDB. Influence of Maturity and Vineyard Location on Free and Bound Aroma Compounds of Grapes from the País Cultivar. *SAJEV.* 2017; 38(2): 201-221.
- Val J, Monge E, Heras L and Abadía J. Changes in photosynthetic pigment composition in higher plants as affected by iron nutrition status. *J. Plant Nutr.* 1987; 10: 995-1001.
- Vannozzi A, Donnini S, Vigani G, Corso M, Valle G, Vitulo N, et al. Transcriptional characterization of a widely-used grapevine rootstock genotype under different iron-limited conditions. *Front Plant Sci.* 2017; 7:1-17.
- Winterhalter P and Rouseff R. Carotenoid-Derived Aroma Compounds: An Introduction. In: *Carotenoid-Derived Aroma Compounds.* American Chemical Society; 2002; 802: 1.
- Yang C, Wang Y, Wu B, Fang J and Li S. Volatile compounds evolution of three table grapes with different flavour during and after maturation. *Food Chemistry.* 2011; 128(4): 823-830.
- Yang J, Martinson TE and Lui RH. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. *Food Chemistry.* 2009; 116 (1):332-339.
- Young P, Lashbrooke J, Alexandersson E, Jacobson D, Moser C, Velasco R, et al. The genes and enzymes of the carotenoid metabolic pathway in *Vitis vinifera* L. *BMC Genomics.* 2012; 13:1-17.