



---

**Universidad de Valladolid**

**Campus de Palencia**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR EN INGENIARIAS  
AGRARIAS**

**Grado en Enología**

**Impacto del equilibrio vegetativo en el  
viñedo sobre el perfil aromático de los  
mostos**

Alumna: Sara Yustos Romero

Tutor: Pedro Martín Peña

Cotutora: M<sup>a</sup> Rosa González García

Cotutor: José Manuel Rodríguez Nogales

**JULIO 2020**

# ÍNDICE

<b>1. Resumen .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Introducción .....</b>	<b>1</b>
2.1. Potencial vegetativo de la vid y sus componentes .....	1
2.2. Aromas varietales .....	3
2.3. Relación entre aromas varietales y equilibrio vegetativo.....	5
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>7</b>
<b>4. Materiales y métodos .....</b>	<b>7</b>
4.1. Descripción de la zona de estudio .....	7
4.2. Controles y observaciones.....	9
4.2.1. Parámetros de vigor, rendimiento y grado de madurez de la uva .....	9
4.2.2. Contenido foliar en clorofila .....	10
4.3. Análisis de los compuestos volátiles en el mosto.....	10
4.4. Análisis de datos .....	11
<b>5. Resultados y discusión.....</b>	<b>11</b>
5.1. Vigor rendimiento y equilibrio vegetativo.....	11
5.2. Grado de madurez de la uva .....	15
5.3. Contenido clorofílico foliar.....	16
<b>6. Conclusiones .....</b>	<b>18</b>
<b>7. Bibliografía.....</b>	<b>18</b>

## 1. Resumen

El equilibrio vegetativo de la vid afecta en gran medida a la composición de la uva, incluido su potencial. Determinar estas relaciones es un aspecto clave para microzonificar el viñedo en función de su potencial enológico. Los objetivos de este trabajo son: (1) estudiar el impacto de la variación espacial en parámetros de vigor y rendimiento del viñedo sobre la composición en aromas varietales de la uva cv. Tempranillo y (2) conocer la utilidad del contenido foliar en clorofila registrado en enero, y el grado de madurez de la uva, como indicador del potencial aromático de la uva, de cara a su aplicación en viticultura de precisión.

Para alcanzar estos objetivos, se han estudiado 20 subparcelas de viñedo cv. Tempranillo en la D.O.P. ribera del Duero durante el año 2019. En ellas se realizó un seguimiento de los parámetros de vigor, rendimiento, peso de cien bayas, índice de Ravaz y contenido en clorofila foliar en enero, para luego relacionar estas variables con el análisis del perfil de aromas libres del mosto.

Los resultados de este estudio confirman que una limitación del vigor del viñedo permite alcanzar un perfil aromático de la uva más favorable, detectándose incrementos en la concentración de algunos alcoholes, ésteres y acetatos, monoterpenos, ácidos volátiles, C13 norisoprenoides y fenoles volátiles. Sin embargo, los cambios en el rendimiento de las cepas, el tamaño de la baya o el grado de madurez de la uva no afectaron significativamente a la composición de aromas libres del mosto en la zona de estudio.

Se ha demostrado que valores bajos del contenido foliar en clorofila en enero se han relacionado con concentraciones más altas de aromas libres de diferentes grupos en el mosto. Los resultados obtenidos demuestran que tanto las medidas de vigor como el contenido foliar en clorofila en enero pueden ser buenos indicadores del potencial aromático de las uvas.

## 2. Introducción

El equilibrio vegetativo en el viñedo es de gran importancia. Conocer la expresión vegetativa que tienen las plantas es esencial para poder llegar al máximo de calidad accesible, consiguiendo mejorar la rentabilidad de la plantación (Hidalgo, 2002). Este equilibrio vegetativo afecta a la síntesis o degradación de compuestos aromáticos varietales, pudiendo mejorar la calidad aromática de las uvas (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

### 2.1. Potencial vegetativo de la vid y sus componentes

Según Hidalgo (2002) se denomina *potencial vegetativo* al resultado de la interacción de una variedad determinada en un medio vitícola concreto. El *potencial vegetativo* no es aprovechado completamente por la planta, va a tener un determinado rendimiento marcado por las pérdidas que se puedan llegar a dar. La parte que la planta va a usar para llevar a cabo su desarrollo vegetativo, se denomina *expresión vegetativa*.

La *expresión vegetativa* es el resultado de tres componentes: producción de fruto, madera (incluyendo en este concepto todas las partes de la cepa sin incluir el fruto) y calidad (contenido de azúcares en fruto). Estos tres elementos están íntimamente relacionados entre sí en un equilibrio que puede ser modificado con las técnicas de

cultivo: sistemas de conducción, podas, laboreo, fertilización, riego, podas en verde, tratamientos fitosanitarios, riego y vendimia.

Branas et al. (1946) realiza un análisis del comportamiento de la planta estableciendo su equilibrio vegetativo. Para lograr este fin, se tienen en cuenta las posibilidades de producción o *expresión vegetativa* ( $E_v$ ) componiéndose esta de los resultados obtenidos con respecto a fruto ( $a$ ), madera ( $b$ ) y calidad ( $c$ ), dependiendo todo ello de la vocación de la vinífera señalada, a los que se denomina coeficientes varietales y que se mantienen constantes en cada variedad y nunca pueden ser cero ( $R$ ,  $S$ ,  $D$ ). La expresión vegetativa se desarrolla en la forma en la que el medio se lo permita, contando con factores climáticos y factores del terreno. Esto queda resumido en la *ecuación general del equilibrio vegetativo*:

$$P_v = E_v + P = (R \times a + S \times b + D \times c) + P$$

Gracias a esta ecuación, más adelante, ha sido posible desarrollar fórmulas para hallar índices de rendimiento, vigor o calidad.

### **Rendimiento y equilibrio vegetativo**

La importancia económica que tiene el aumento de rendimiento es innegable (Chapman et al., 2004). Sin embargo, unos altos rendimientos se pueden traducir en bajas calidades, de ahí la importancia de buscar un equilibrio en el que se pueda conseguir un beneficio económico y una buena calidad de la uva.

La nutrición mineral de las plantas puede tener un gran impacto en la producción y calidad en uvas. Un desequilibrio en el contenido de nutrientes se traduce en un desequilibrio vegetativo. Por ejemplo, un exceso de concentración de nitrógeno, implica alto crecimiento vegetativo y una reducción de producción de uva (Amiri y Fallahi, 2007). Igualmente, se ha demostrado que un pequeño déficit de agua después del envero puede disminuir el rendimiento y aumentar la calidad de la uva (González et al., 2019).

La calidad de la uva y el rendimiento del viñedo se contraponen. Unos rendimientos muy elevados dan como resultado una dilución de compuestos como el azúcar, los antocianos o compuestos aromáticos en la uva, lo que se traduce en una disminución de la calidad (Bravdo, 2005).

### **Vigor y equilibrio vegetativo**

La heterogeneidad espacial en el vigor de la vid dentro de un solo viñedo causa una falta de uniformidad en el rendimiento y composición de las bayas (Valdés-Gómez et al., 2008; Baluja et al., 2013).

La planta tiene un microclima que viene relacionado con el vigor de la misma. Smart y Robinson (1991) explican que un bajo o un excesivo vigor da como resultado calidades indeseadas que pueden evitarse mediante labores de cultivo. Grandes vigores producirían racimos sombreados y sometidos a un mayor grado de humedad ambiental (Smart y Robinson, 1991). Esto provocaría falta de iluminación de hojas y racimos, y por tanto un retraso de la maduración, pero también corrimiento, o enfermedades o plagas dadas por un exceso de humedad. Por otro lado, vigores bajos disminuyen la capacidad de síntesis y acumulación de sustancia en la uva durante la maduración. Una alta exposición a la luz de los racimos puede mejorar la acumulación de polifenoles en climas

fríos, pero puede provocar quemaduras en climas cálidos (Kliewer, 1970; Spayd et al., 2002; Chorti et al., 2010).

### **Calidad y equilibrio vegetativo**

La calidad es dependiente de la relación de los dos factores anteriores. La calidad disminuye si la relación producción/vigor crece, de ahí la importancia de conseguir un equilibrio vegetativo adecuado en el viñedo. El índice de Ravaz, que relaciona producción de uva y madera de poda, tiene sus valores óptimos entre 5-10 (Hidalgo, 2002).

Condiciones de estrés en momentos determinados del ciclo de la vid pueden dar lugar a mejoras de calidad de la uva. El estrés hídrico de leve a moderado, siendo evitado en primavera y principios de verano (hasta envero), hace que las plantas enraícen más profundamente permitiendo que, en suelos empobrecidos, puedan obtener mayor concentración de nutrientes, evitando deficiencias (González-Barreiro et al., 2015). Se ha demostrado que tanto los déficits hídricos moderados como la baja disponibilidad de nitrógeno durante todo el período de crecimiento tienen efectos beneficiosos sobre el contenido fenólico de las bayas y la calidad del vino (Choné et al., 2001).

El uso de la agricultura de precisión puede ayudar a realizar una selección de uvas en el viñedo para elaborar vinificaciones distintas según el potencial cualitativo. Existen tecnologías como la propuesta por Oliveira et al. (2016), que estiman el vigor sin tener que contar y pesar los sarmientos en la poda, mediante una relación polinómica entre el área foliar medida con el procesamiento de imágenes digitales y el peso medio de la madera. Por otro lado, Ferrer et al. (2020) hacen un cálculo del Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) mediante el uso de sensores aerotransportados, delimitando zonas con un vigor homogéneo en el viñedo. De esta forma, si existen correlaciones entre el vigor con los parámetros de composición de las uvas, los mapas de vigor se convierten en mapas de calidad. Tramontana et al. (2010) monitorizaron durante el período de maduración varios parámetros vegetativos y enoquímicos, que se correlacionaron significativamente con los datos de vigor detectados mediante sistemas de teledetección multispectral, pudiendo obtener estimaciones de la variación espacial de la calidad de las uvas en el viñedo.

## **2.2. Aromas varietales**

El vino está compuesto por cientos de compuestos volátiles en concentraciones de entre mg/L a algunos ng/L, o incluso menos (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Los compuestos aromáticos en uvas aparecen principalmente tanto en su forma libre como compuestos glicosilados no-volátiles, que estarían unidos a un azúcar. Estos últimos son los predominantes en las variedades aromáticas que, para obtener aroma perceptible de ellos, se tienen que separar del azúcar (Palomo et al., 2007). Los aromas libres, son los que contribuyen directamente al aroma ya que, al no estar unidos a ningún azúcar, son volátiles. Estos, por tanto, si se encuentran en concentraciones mayores que su umbral de detección, son perceptibles por el olfato.

Los compuestos aromáticos varietales se agrupan, principalmente, en las siguientes familias: metoxipiracinas, alcoholes superiores, compuestos de C6, ésteres, ácidos volátiles, terpenos, C13-norisoprenoides, fenoles volátiles y lactonas (Ribéreau-Gayon, 2006; González-Barreiro et al., 2015).

---

**Metoxipiracinas:** son productos heterocíclicos nitrogenados procedentes del metabolismo de aminoácidos, originados en la uva y asociados a aromas vegetales en el vino. Los compuestos más destacados son el 3-isobutil-2-metoxipiracina (IBMP), con aroma a pimienta o grosella verde, el 2-sec-butil-3-metoxipiracina (SBMP), con aroma a pimienta o guisante, y el 3-isopropil-2-metoxipiracina (IPMP) que daría aromas a espárragos o judías verdes. Actualmente, el aroma vegetal que proporcionan estos compuestos no son deseados en el vino, ya que, por ejemplo, en cv. Cabernet sauvignon, implicaría que el vino no está bien estabilizado o se habría elaborado con uvas poco maduras (González-Barreiro et al., 2015).

**Alcoholes superiores:** son alcoholes formados por la transformación de los aminoácidos a través de la vía de Ehrlich (Palomo et al., 2007; González y Morales, 2017). En el vino, los más relevantes son los que proceden de la fermentación, como el 2-feniletanol, con un aroma característico a rosa, o el 3-metil-1-butanol, que da lugar al acetato de isoamilo, un éster con olor a plátano. En uva, el (Z)-3-hexen-1-ol presenta aromas herbáceos (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

**Compuestos de C6:** Una gran parte procede de los ácidos grasos polinsaturados, como el ácido linoleico. A su vez estos dan lugar a C6 aldehídos, que se reducen en C6 alcoholes y pueden esterificarse y dar ésteres (Oliveira et al., 2006). Los aldehídos C6 y alcoholes C6, hexanales y hexenoles, dan aromas herbáceos muy característicos de vinos elaborados con uvas sin madurar (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

**Ésteres y acetatos:** Muchos de los ésteres volátiles son responsables del aroma afrutado en los vinos. Existen dos grupos, uno que tiene como grupo ácido el ácido acético y como grupo alcohol el etanol o un alcohol complejo derivado del metabolismo, y el segundo, el cual el grupo alcohol es etanol y el grupo ácido es un ácido graso de cadena media. Del primero destacan el acetato de isoamilo, que da aroma a plátano, o el 2-fenilacetato que da aroma a rosas. Mientras que, del segundo grupo, destacan el hexanoato de etilo que tiene aromas a semillas de anís y manzana, y el octanoato de etilo con aroma a manzana agria (Saerens et al., 2008).

**Ácidos volátiles:** Proviene de plantas y microorganismos. Ácidos como el ácido butírico o el ácido acético pueden dar aromas rancios y desagradables (González-Barreiro et al., 2015).

**Terpenos:** Se han identificado en uvas unos 40 compuestos de terpenos. Estos se dividen en dos grupos, los monoterpenos con 10 átomos de carbono y los sesquiterpenos de 15 átomos de carbono, con dos y tres isoprenos, respectivamente (Ribéreau-Gayon et al., 2006). El mosto prensado tiene entre dos y cuatro veces más concentración de alcoholes terpénicos que un mosto no prensado, destacando mayores concentraciones de nerol y geraniol. Esto se debe a que la mayoría de los terpenos se encuentran en la piel de la baya (Marais, 1983).

Los monoterpenos, con aromas frutales y cítricos, es el subgrupo más relevante de los terpenos. Estos hacen que por concentración se puedan clasificar las variedades en: variedades Moscateles, variedades aromáticas no Moscateles como, por ejemplo, cv. Riesling o Sylvaner, y variedades neutras (Luo et al., 2019). En este último grupo entraría la variedad Tempranillo, esto quiere decir que su aroma no depende de los monoterpenos, ya que tienen concentraciones tan bajas que juegan un papel muy poco importante (Mateo y Jiménez, 2000). Los monoterpenos se dan en formas simples de

hidrocarburos, aldehídos, alcoholes, ácidos e incluso ésteres (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Los sesquiterpenos se han estudiado con menos profundidad en la uva y el vino en comparación con otros subgrupos de compuestos aromáticos. Se conoce que afectan al aroma y tienen beneficios para la salud. Generalmente, el aroma que producen son balsámicos, picantes y con notas a madera (Li et al., 2020). De entre todos los sesquiterpenos, el compuesto más relevante es la rotundona, que proporciona un aroma picante denominando como 'pimienta', reconocido aroma de la variedad Syrah (Wood et al., 2008).

Los C13-norisoprenoides son derivados de la oxidación de los carotenoides que se encuentran en su mayoría en las membranas de los cloroplastos, siendo los más abundantes el  $\beta$ -caroteno y la luteína (85% del total). Estos compuestos presentan una concentración de dos a tres veces superior en la piel que en la pulpa. Los compuestos más relevantes son: la  $\beta$ -damascenona, con olores a fruta tropical, flores y manzana dulce, el 3-hidroxi- $\beta$ -damascenona, con olor a tabaco y té,  $\beta$ -damascona, con olor afrutado y tabaco,  $\beta$ -ionona, con aroma a violeta, y 3-oxo- $\alpha$ -ionol, también con olor a tabaco (Baumes et al., 2002; Ribéreau-Gayon, 2006).

Fenoles volátiles: Los hidroxicinamatos, formados en la uva en la primera fase de maduración, son los precursores de los fenoles volátiles (González-Barreiro et al., 2015). Los más importantes son el 4-vinilfenol, 4-vinilguayacol, 4-etilfenol y 4-etilguayacol. En vinos blancos hay vinilguayacol, pero no etilfenol, y en vinos tintos hay pequeñas cantidades de vinilfenoles y concentraciones variables de etilfenoles. Los vinil y etilfenoles provocan defectos olfativos en el vino (farmacéuticos y olor a cuadra), mientras que vinil y etilguayacol dan aromas mucho menos desagradables como a claveles y ahumados y picantes, respectivamente (Ribéreau-Gayon, 2006).

Lactonas: Están formadas por una esterificación interna entre un compuesto ácido y un compuesto alcohólico de la misma molécula. Los lactonas se pueden encontrar en la uva en variedades como la Riesling, siendo parte de su aroma característico. Además, las uvas infectadas por *Botrytis cinerea* presentan la lactona 4,5-dimetil-3-hidroxi-2-furanona, que da un aroma a tostado (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Tioles: Representan una gran familia de moléculas que contribuyen al potencial aromático del vino de forma positiva o negativa. En el caso de variedades como la Sauvignon blanc, Riesling y Pinot gris entre otras, se ha visto que estos compuestos forman parte de su aroma característico. Sin embargo, estos compuestos se encuentran en forma de precursores y, por tanto, no son odoríferos en mostos (Helwi et al., 2016).

### **2.3. Relación entre aromas varietales y equilibrio vegetativo**

El equilibrio vegetativo ayuda a conseguir una buena calidad de la uva, asegurando un buen control del vigor y rendimiento del viñedo. Esta calidad no solo incluye la cantidad de azúcares, ácidos, taninos o en su pH, sino que también va a afectar a la concentración de compuestos aromáticos. Escudero et al. (2019) indica que viñedos con alto porcentaje de superficie foliar expuesta y rendimiento equilibrado dan lugar a una alta concentración de terpenoles, alcoholes C6 y ésteres de origen tanto fermentativo como varietal (dihidrocinnamato de etilo, vainillato de metilo y vainillato de etilo) en el vino. Sin embargo, los viñedos con bajo nivel de superficie foliar expuesta y rendimientos

desequilibrados, tienen altas concentraciones de fenoles volátiles (4-etilguayacol y acetovainillona), 3-isopropil-2-metoxipiracina y  $\gamma$ - nonalactonas. En estas condiciones las uvas no han podido madurar bien y probablemente baje la síntesis de diferentes compuestos aromáticos y aumente la degradación de otros.

La calidad de las uvas puede mejorar con prácticas agrícolas que modifiquen el vigor o el rendimiento para conseguir el equilibrio que se está buscando. Hay prácticas con gran impacto sobre las concentraciones de compuestos aromáticos: tipo de suelo, clima, manejo de la vegetación, iluminación, nutrición, agua, o aplicación de fungicidas, son algunos de los más importantes. (González-Barreiro et al., 2015).

Respecto al clima, los climas fríos tienen mayores concentraciones de metoxipiracinas que los climas cálidos. En climas cálidos el nivel de isobutilmetoxipiracina puede caer muy por debajo del umbral de percepción sensorial en el momento de la vendimia, mientras que en áreas frías para Sauvignon blanc puede ser de 20-30 ng/L, cuando los umbrales deseados estén entre 4-8 ng/L (Allen y Lacey, 1998). Otros compuestos cuya concentración se incrementa con la temperatura serían los terpenos como la  $\beta$ -damascenona o el geraniol, mientras que  $\beta$ -ionona y C6 aldehídos, como (E)-2-hexanal disminuyen, igual que otros compuestos carbonilos como el estragol. Estas diferencias en el potencial aromático se deben a que en climas fríos hay más problemas de falta de madurez de las uvas. Las uvas maduras tienden a tener altas concentraciones de ácidos decanoicos y dodecanoicos, y mayores relaciones de alifáticos/ésteres aromáticos (González-Barreiro et al., 2015).

En cuanto a las condiciones de suelo, la disponibilidad de agua se considera uno de los factores más importantes. Se sabe que suelos arcillosos o arcilloso-calcáreos, que tienen mayor retención de agua, tienden a dar aromas de serie floral, afrutado y dulces, mientras que suelos arenosos, con menor retención de agua, pero mayor drenaje, dan lugar a aromas de herbáceo y botica (González-Barreiro et al., 2015).

Niveles de estrés hídrico de pequeños a moderados en la planta pueden dar lugar a una mejora de calidad de las uvas, ya que pueden reducir la densidad de vegetación y el peso de la baya (González et al., 2019). Dado que los compuestos de sabor y aroma se forman en diferentes etapas de crecimiento y desarrollo del fruto, es posible alterar su concentración (biosíntesis y la acumulación de cada uno de ellos) regulando el crecimiento vegetativo en cada etapa y la relación fuente-sumidero en las plantas. El equilibrio, particularmente importante en casos de vides de alto vigor, puede regularse en gran medida actuando sobre el régimen hídrico (Bravdo, 2005).

Coelho et al. (2009) encontraron niveles más altos de terpenos en vinos espumosos procedentes de viñas cultivadas en suelos calcáreos, que son más propensos a la clorosis férrica. Un estrés leve-moderado en la planta provocado por clorosis férrica tiene efectos positivos en el potencial aromático de la vid (González et al. 2019), con aumentos en la concentración de terpenos, C13 norisoprenoides, ácidos volátiles y fenoles volátiles.

La nutrición mineral puede variar el vigor y con ello la composición aromática de la uva. En el caso del nitrógeno, por ejemplo, Yuan et al. (2018) detectan que los componentes en C6 decrecieron en zonas con menor nivel nutricional de N, cuando el vigor de la vid era más bajo.

El vigor también afecta a la exposición de las uvas a la luz solar durante la maduración. Una buena iluminación acelera la degradación de carotenoides y aumenta, por tanto, la cantidad de C13-norisoprenoides glicosilados. Para aumentar esta iluminación se puede hacer uso del deshojado que, además, ayudaría a la reducción de 3-isobutil-2-metoxipiracina, que da aromas herbáceos. El deshojado promovería la fotodegradación de este compuesto, y eliminaría hojas viejas (que tienen concentraciones entre 8 y 10 veces más altas que las jóvenes), evitando la migración de estos aromas a las uvas (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Altos vigores también implicarían un mayor riesgo de enfermedades (Smart y Robinson, 1991), que podrían dar aromas indeseados o provocar el uso de productos fitosanitarios, que debido a la reactividad de los tioles con cobre pueden dar lugar a una disminución de aromas en vinos jóvenes de variedades como Sauvignon blanc y Cabernet sauvignon (Ribéreau-Gayon et al., 2006). En cualquier caso, una buena sanidad de las uvas es importante para tener calidad óptima de las mismas, ya que enfermedades como la *Botrytis cinerea* da lugar a una reducción de aminoácidos muy grande, que puede influir en el desarrollo de aromas que dependen de esas cadenas de aminoácidos (Rapp y Versini, 1995).

Los estudios de cómo afectan los parámetros que determinan el equilibrio vegetativo en el potencial enológico de la uva, particularmente el perfil aromático, son muy interesantes para implementar técnicas que incrementen la sostenibilidad de las explotaciones vitivinícolas. La información obtenida puede ser de gran ayuda en la viticultura de precisión, para realizar mapas de potencial aromático dentro del viñedo que permitan hacer vinificaciones separadas según la calidad de las uvas.

### 3. Objetivos

Los objetivos del trabajo son los siguientes:

- Estudiar el impacto de la variación espacial en parámetros de vigor y rendimiento del viñedo sobre la composición en aromas varietales de la uva cv. Tempranillo.
- Estudiar la utilidad del contenido foliar en clorofila registrado en envero, y el grado de madurez de la uva, como indicadores del potencial aromático de la uva, de cara a su aplicación en viticultura de precisión.

### 4. Materiales y métodos

Para llevar a cabo el estudio, se han elegido 20 subparcelas de viñedo en secano en la D.O.P. Ribera del Duero, realizando un seguimiento de los parámetros de vigor, rendimiento, peso de cien bayas, el índice de Ravaz, grado de madurez de la uva y el contenido en clorofila foliar en envero del viñedo, con el fin de poderlo relacionar con el perfil aromático del mosto resultante.

#### 4.1. Descripción de la zona de estudio

Las 20 subparcelas de estudio son de la variedad Tempranillo y se encuentran en Pesquera del Duero (Valladolid), dentro de la D.O.P. Ribera del Duero, a unos 747 m.s.n.m (tabla 1). Estas subzonas, de 10x10 m<sup>2</sup> cada una, pertenecen a la bodega de Emilio Moro S.L. y no tienen una distancia mayor de 1,5 kilómetros entre ellas. Cuentan con una densidad de plantación de entre 2222 y 2654 plantas por hectárea.

Tabla 1: Marco y localización de las subparcelas usadas para el estudio.

PARAJE	SUBPARCELA	MARCO	LATITUD	LONGITUD
HONTANILLA	VH10-1	3x1,5 m	41,6533993	-4,1750898
HONTANILLA	VH10-5	3x1,5 m	41,6535117	-4,1752565
CAMINO	VH11-1	3x1,5 m	41,6565440	-4,1631387
CAMINO	VH11-5	3x1,5 m	41,6565695	-4,1634587
CHOZO	VH14-1	3x1,5 m	41,6561122	-4,1648545
CHOZO	VH14-5	3x1,5 m	41,6556935	-4,1646035
HONTANILLA	VH15-1	3x1,5 m	41,6530058	-4,1761190
CORNALVO	VC18-1	3x1,5 m	41,6577772	-4,1762960
CORNALVO	VC18-5	3x1,5 m	41,6579713	-4,1764295
CHOZO	VC19-5	3x1,5 m	41,6560313	-4,1663320
CHOZO	VC19-6	3x1,5 m	41,6558372	-4,1654518
CORNALVO	VC21-1	3x1,5 m	41,6577073	-4,1777572
CORNALVO	VC21_5	3x1,5 m	41,6577392	-4,1774133
CORNALVO	VC22-5	3x1,5 m	41,6577778	-4,1766666
HONTANILLA	VH31	3x1,5 m	41,6534858	-4,1755532
HONTANILLA	VC32	3x1,5 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	3x1,5 m	41,6552361	-4,1658278

Los suelos de esta zona son calcáreos, poco profundos, con un pH muy básico, bajos en materia orgánica, con una textura entre franca y arcillosa. Los viñedos tienen entre 20 y 30 años de edad y presentan sistema de conducción de espaldera en doble cordón Royat, con una carga aproximada de 36000 yemas/ha.

La variedad cultivada es Tempranillo, la predominante en la Ribera del Duero. Esta variedad se caracteriza por una brotación tardía debida a las temperaturas de invierno en la zona, aunque tiene un desborre y una maduración temprana. La baya presenta una piel gruesa, alta en antocianos, que ofrece un color profundo, con taninos y acidez moderada (Martínez de Toda y Ramos, 2019). Los aromas que se desarrollan de forma general en sus vinos son afrutados (mora, ciruela, higo, pasas), especias y madera (López et al., 2004).

El portainjerto existente en las zonas de estudio es el 110-Richter (*Vitis berlandieri* cv. Ressaygues nº2 x *Vitis rupestris* cv. Martin). No tiene una gran resistencia a la caliza, resiste bien la sequía, aporta vigor y retrasa la maduración (Hidalgo, 2011).

El clima de la zona es mediterráneo, pero tiene un marcado carácter continental. Se dan veranos con altas temperaturas y bastante secos e inviernos con temperaturas bajas y largos periodos de heladas.

Tabla 2. Promedio de las temperaturas mensuales máximas (T), mínimas (t) y medias (tm), en °C, y precipitaciones totales mensuales (P) en mm del año 2019. Datos adquiridos de la estación meteorológica de Valbuena de Duero (VA-07). Fuente: Inforiego (2020).

Mes	T	t	tm	P
Enero	9,33	-3,13	2,23	31,57
Febrero	15,03	-2,17	5,47	4,96
Marzo	16,97	-0,03	8,5	12,8
Abril	15,95	3,43	9,52	52,97
Mayo	22,69	5,16	14,32	5,23
Junio	27,21	10,24	19,53	14,94
Julio	31,52	13,73	22,65	38,15
Agosto	30,49	12,15	21,44	32,76
Septiembre	24,8	9,31	16,71	25,73
Octubre	20,43	6,58	12,97	54,47
Noviembre	11,38	3,96	7,55	64,73
Diciembre	10,79	1,61	5,68	88,04

Las temperaturas medias de los primeros meses del ciclo vegetativo en el año 2019 (tabla 2) estuvieron en torno a los 10°C, valores favorables para el desarrollo vegetativo de la planta. En el periodo de maduración de las bayas las temperaturas diurnas fueron altas, lo mismo que la oscilación térmica día-noche, lo que beneficia enormemente la síntesis y acumulación de aromas y polifenoles (Jones, 2013).

Las precipitaciones han sido escasas, aunque dentro de lo normal en este área. Según el Consejo Regulador de Ribera del Duero, la pluviometría anual de esta zona está entre 400 y 600 mm.

## 4.2. Controles y observaciones

### 4.2.1. Parámetros de vigor, rendimiento y grado de madurez de la uva

Como índice de vigor se controló el peso de madera de poda (kg madera/m<sup>2</sup>) y se contaron los sarmientos en las subzonas. El peso medio del sarmiento (g) es el resultado del coeficiente entre el peso de poda y el número de sarmientos totales.

El rendimiento (Kg uva/m<sup>2</sup>) se determinó en la vendimia con una báscula de campo.

El peso cien bayas (g) se calculó a partir de un muestreo al azar de granos de uva en cada subzona, tomando racimos de la parte más expuesta al sol y de la parte más sombreada. Dentro de estos racimos, se toman las bayas de las partes altas, bajas, delantera (iluminada) e trasera (sombreada).

**El índice de Ravaz:** es la relación entre la producción de uva por cepa (kg uva/cepa) y el peso de madera de poda por cepa (kg madera/cepa). Obtenemos como resultado un índice que nos permite conocer una valoración del equilibrio entre la producción y el vigor, cuyo rango ideal está entre 5 y 10 (Smart y Robinson, 1991).

**El grado de madurez de la uva se estimó con el contenido en sólidos solubles totales del mosto** el día de la vendimia, medido con un refractómetro.

#### **4.2.2. Contenido foliar en clorofila**

El cálculo del contenido foliar en clorofila se realiza mediante el instrumento portátil CL-01 (Hansatech), tomando medidas en enero, en el tercio superior de los pámpanos principales. Las medidas se hicieron 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.

#### **4.3. Análisis de los compuestos volátiles en el mosto**

Es importante matizar antes de explicar la extracción de compuestos volátiles que la intención de este estudio era analizar la totalidad de los aromas que forman el perfil aromático varietal, contando con aromas libres y glicosilados, pero, dada la situación en la que se ha desarrollado el estudio, solamente se han podido analizar los compuestos aromáticos libres.

El día de la vendimia se almacenaron 30 kg de uva recolectada de cada subparcela a 5°C a lo largo de una noche. Al día siguiente se despalillaron y prensaron, recogiendo 300 ml de mosto de cada subparcela para inmediatamente congelar a -20°C hasta el momento de su análisis.

Para llevar a cabo la extracción de los compuestos volátiles, se hicieron algunas modificaciones al método descrito por Oliveira et al. (2008). Las muestras de mosto se centrifugaron (RCF= 9660, durante 20 min a 4°C) y se filtraron con lana de vidrio. Se agregaron a 75 ml del mosto, 3 µg de 4-nonanol (Merck, ref. 818773) y se pasaron a través de un cartucho LiChrolut EN (Merck, 500mg, 40-120 µm).

Previamente, la resina del cartucho fue acondicionada con 10 ml de diclorometano, 5 ml de metanol y 10 ml de una solución alcohólica en agua (10%, v/v). La elución sucesiva de las fracciones volátiles se realizó con 5 ml de pentano-diclorometano (2:1 v/v). 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 N<sub>2</sub> antes del análisis.

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 180 cm/s a 150°C. El detector se configuró en modo de impacto electrónico

(70eV), con un rango de adquisición de 29 a 360 m/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.

#### **4.4. Análisis de datos**

Se han realizado regresiones lineales de los contenidos en compuestos aromáticos del mosto sobre los parámetros de vigor, rendimiento, peso de 100 bayas, índice de Ravaz, contenido en solubles totales y contenido foliar en clorofila.

Para comparar los niveles de aromas libres en la uva, por grupos, en las subparcelas con nivel alto y bajo de clorofila foliar se realizaron análisis de varianza (ANOVA) analizando las diferencias entre medias con el test de **Tukey** ( $p < 0,05$ ). Para ello, se realizó previamente una partición equilibrada de las subparcelas en función del contenido foliar en clorofila

El análisis de datos se ha realizado con el paquete informático SAS.

### **5. Resultados y discusión**

#### **5.1. Vigor, rendimiento y equilibrio vegetativo**

Las concentraciones de los diversos grupos de aromas libres se han correlacionado con parámetros representativos del vigor como el peso de madera de poda o el peso medio del sarmiento (Tabla 3). Para las concentraciones totales de alcoholes, ésteres y acetatos, monoterpenos, ácidos volátiles y C13 norisoprenoides existen regresiones significativamente negativas con el peso medio del sarmiento. En el caso de los ácidos volátiles, también es significativa la regresión con el peso de madera de poda. Los resultados indican que, dentro de la zona de estudio, un vigor más reducido en la planta tendería a incrementar el potencial aromático de la uva. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por Song et al. (2014), que observaron que vigores bajos del viñedo se asociaban con una mayor cantidad de ésteres, C13-norisoprenoides y alcoholes, como el 2-fenietanol, en la uva. Sin embargo, estos autores no obtuvieron una correlación significativa con las concentraciones de ácidos volátiles, como ocurre en el presente estudio.

Tabla 3: Coeficiente de determinación ( $R^2$ ), nivel de significación y pendiente de la regresión (entre paréntesis) de la concentración aromas libres encontrados en el mosto sobre el contenido clorofílico foliar en enero, parámetros de vigor y rendimiento del viñedo, peso de 100 bayas y contenido en sólidos solubles del mosto en vendimia.

Grupo/Compuesto	Contenido foliar en clorofila	Peso de madera de poda	Peso medio del sarmiento	Rendimiento	Peso cien bayas	Índice de Ravaz	Contenido en sólidos solubles
<b>Alcoholes</b>							
1-butanol	<b>(-) 0,60***</b>	(-) 0,16	<b>(-) 0,32**</b>	(-) 0,05	(-) 0,00	(+) 0,03	(+) 0,03
2+3 metil-1-butanol	(-) 0,12	(-) 0,02	(-) 0,04	(-) 0,00	(-) 0,04	(+) 0,01	(+) 0,04
1-dodecanol	<b>(-) 0,44**</b>	(-) 0,05	(-) 0,17	(-) 0,07	(-) 0,01	(-) 0,01	(+) 0,02
Alcohol bencílico	(-) 0,18	(-) 0,19	<b>(-) 0,19*</b>	(-) 0,01	(-) 0,03	(+) 0,11	(-) 0,11
2 feniletanol	<b>(-) 0,27*</b>	<b>(-) 0,33**</b>	<b>(-) 0,37**</b>	(-) 0,11	(-) 0,03	(+) 0,06	(+) 0,00
Dodecanol	<b>(-) 0,26*</b>	(-) 0,05	(-) 0,14	(-) 0,09	(-) 0,01	(-) 0,01	(+) 0,05
Totales	<b>(-) 0,58***</b>	(-) 0,16	<b>(-) 0,31*</b>	(-) 0,07	(-) 0,02	(+) 0,01	(+) 0,02
<b>Compuestos C6</b>							
Hexanal	(-) 0,18	(+) 0,00	(-) 0,03	(-) 0,00	(-) 0,02	(-) 0,00	(+) 0,02
E-2-hexenal	(-) 0,14	(-) 0,00	(-) 0,05	(-) 0,00	(-) 0,06	(-) 0,00	(+) 0,01
1-hexanol	(-) 0,02	(+) 0,07	(+) 0,02	(+) 0,03	(-) 0,01	(-) 0,03	(-) 0,12
E-3-hexenol	(-) 0,08	(-) 0,03	(-) 0,04	(+) 0,12	(-) 0,00	<b>(+) 0,26*</b>	<b>(-) 0,31**</b>
Z-3-hexanol	(-) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,17	(-) 0,07	(+) 0,09	<b>(-) 0,53***</b>
E-2-hexenol	(+) 0,02	(+) 0,05	(+) 0,02	(+) 0,04	(-) 0,01	(-) 0,01	(-) 0,06
Totales	(-) 0,05	(+) 0,03	(+) 0,00	(+) 0,06	(-) 0,05	(-) 0,00	(-) 0,17
<b>Esteres+Acetatos</b>							
Acetato de isoamilo	<b>(-) 0,46**</b>	(-) 0,09	<b>(-) 0,23*</b>	(-) 0,03	(-) 0,01	(+) 0,01	(+) 0,02
Acetato de hexilo	(-) 0,31*	(-) 0,06	(-) 0,15	(-) 0,10	(+) 0,01	(-) 0,00	(+) 0,09
Malato de dietilo	<b>(-) 0,49***</b>	(-) 0,17	<b>(-) 0,33**</b>	(-) 0,11	(-) 0,05	(+) 0,00	(+) 0,02
Totales	<b>(-) 0,47***</b>	(-) 0,10	<b>(-) 0,25*</b>	(-) 0,05	(-) 0,01	(+) 0,00	(+) 0,03
<b>Monoterpenos</b>							
Nerol	(-) 0,17	(-) 0,00	(-) 0,09	(-) 0,00	(-) 0,04	(-) 0,00	(-) 0,01
Geraniol	<b>(-) 0,37**</b>	(-) 0,02	(-) 0,13	(+) 0,00	(-) 0,01	(+) 0,05	(+) 0,00
Diendiol-II	(+) 0,02	(+) 0,05	(+) 0,01	(+) 0,01	(+) 0,02	(-) 0,02	(-) 0,00
E-8-hidroxilinalol	<b>(-) 0,56***</b>	<b>(-) 0,24*</b>	<b>(-) 0,41**</b>	(-) 0,11	(-) 0,01	(+) 0,02	(+) 0,01
Totales	<b>(-) 0,51***</b>	(-) 0,10	<b>(-) 0,31*</b>	(-) 0,04	(-) 0,01	(+) 0,02	(+) 0,00
<b>Ácidos volátiles</b>							
Ácido hexanoico	<b>(-) 0,31*</b>	(-) 0,13	(-) 0,19	(-) 0,05	(-) 0,03	(+) 0,02	(+) 0,01
Ácido E-2-hexanoico	<b>(-) 0,44**</b>	(-) 0,10	<b>(-) 0,21*</b>	(-) 0,13	(-) 0,01	(-) 0,00	(+) 0,04
Ácido nonanoico	<b>(-) 0,37**</b>	<b>(-) 0,37**</b>	<b>(-) 0,44**</b>	(-) 0,17	(-) 0,02	(+) 0,01	(+) 0,00
Ácido decanoico	<b>(-) 0,54*</b>	<b>(-) 0,28*</b>	<b>(-) 0,40**</b>	(-) 0,19	(+) 0,00	(+) 0,01	(+) 0,02
Ácido hexadecanoico	(-) 0,11	(-) 0,14	(-) 0,12	(+) 0,00	(-) 0,02	<b>(+) 0,22*</b>	(-) 0,01
Totales	<b>(-) 0,48***</b>	<b>(-) 0,32**</b>	<b>(-) 0,39**</b>	(-) 0,07	(-) 0,01	(+) 0,09	(+) 0,00

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

Tabla 3. Continuación.

Grupo/Compuesto	Contenido foliar en clorofila	Peso de madera de poda	Peso medio del sarmiento	Rendimiento	Peso cien bayas	Índice de Ravaz	Contenido en sólidos solubles
<b>C13-norisprenoides</b>							
3,4-dihidro-3-oxo-actinidol I	<b>(-) 0,40**</b>	(-) 0,16	<b>(-) 0,26*</b>	(-) 0,12	(-) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,04
3,4-dihidro-3-oxo-actinidol II	<b>(-) 0,40**</b>	(-) 0,10	(-) 0,19	(-) 0,04	(-) 0,00	(+) 0,01	(+) 0,02
3,4-dihidro-3-oxo-actinidol III	<b>(-) 0,50***</b>	(-) 0,18	<b>(-) 0,28*</b>	(-) 0,02	(-) 0,00	(+) 0,09	(+) 0,01
3-hidroxi-beta-damascenona	<b>(-) 0,39**</b>	(-) 0,08	(-) 0,18	(-) 0,02	(-) 0,01	(+) 0,03	(+) 0,01
3-hidroxi-7,8-dihidro-beta-ionol	<b>(-) 0,29*</b>	(-) 0,11	(-) 0,16	(-) 0,05	(+) 0,02	(+) 0,01	(+) 0,04
4-oxo-7,8-dihidro-beta-ionol	(-) 0,06	(-) 0,00	(-) 0,03	(-) 0,00	(+) 0,04	(-) 0,00	(+) 0,03
3-oxo-7,8-dihidro-alfa-ionol	<b>(-) 0,30*</b>	(-) 0,08	(-) 0,15	(-) 0,09	(-) 0,04	(-) 0,01	(+) 0,04
3-hidroxi-7,8-dihidro-beta-ionol	<b>(-) 0,41**</b>	(-) 0,18	<b>(-) 0,32**</b>	(-) 0,02	(-) 0,00	(+) 0,10	(+) 0,02
Totales	<b>(-) 0,39**</b>	(-) 0,12	<b>(-) 0,21*</b>	(-) 0,05	(-) 0,00	(+) 0,01	(+) 0,03
<b>Fenoles volátiles</b>							
Guayacol	(-) 0,18	(-) 0,00	(-) 0,06	(+) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,01	(+) 0,02
4-vinilfenol	<b>(-) 0,36**</b>	(-) 0,11	<b>(-) 0,21*</b>	(-) 0,01	(+) 0,02	(+) 0,07	(+) 0,00
Totales	<b>(-) 0,25*</b>	(-) 0,01	(-) 0,10	(+) 0,00	(+) 0,00	(+) 0,02	(+) 0,02
<b>Lactonas</b>							
Butirolactona	(-) 0,04	(+) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,02	(-) 0,00	(-) 0,05	(+) 0,12
Totales	(-) 0,04	(+) 0,00	(-) 0,00	(-) 0,02	(-) 0,00	(-) 0,05	(+) 0,12
<b>Aromas totales libres</b>	<b>(-) 0,23*</b>	(-) 0,00	(-) 0,06	(+) 0,00	(-) 0,04	(+) 0,00	(-) 0,05

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

Los aromas aportados por los compuestos volátiles que incrementan su concentración en zonas de vigor más bajo (tabla 3) son, en su gran mayoría, frutales, florales e incluso especiados (Marais, 1983; Ribéreau-Gayon et al., 2006; Saerens et al., 2008). Sin embargo, el aumento de algunos ácidos volátiles podría no ser positivo, por ejemplo, el ácido decanoico que proporciona aromas a sudor (Moreno-García et al., 2015). A modo de resumen, la tabla 4 recoge los aromas de la uva potenciados por una reducción de vigor del viñedo en el presente estudio.

Tabla 4. Caracterización de los compuestos aromáticos que incrementan su contenido con una reducción de vigor en el conjunto de subzonas de estudio.

Grupo	Compuestos específicos	Descripción del olor*
<b>Alcoholes</b>	1-butanol	Afrutado, hierba cortada, medicinal
	Alcohol bencílico	Almendra, dulce, floral
	2-feniletanol	Rosa, miel
<b>Ésteres+Acetatos</b>	Acetato de isoamilo	Plátano, afrutado, dulce
	Malato de dietilo	Caramelo
<b>Monoterpenos</b>	E-8-hidroxilinalol	Afrutado
	E-2-hexanoico	Afrutado
<b>Ácidos volátiles</b>	Ácido nonanoico	Mantequilla, graso
	Ácido decanoico	Rancio, jabón, graso
	3,4-dihidro-3-oxo-actinidol I	Resinoso, madera
<b>C13-norisoprenoides</b>	3,4-dihidro-3-oxo-actinidol III	Resinoso, madera
	3-hidroxi-7,8-dehidro-beta-ionol	Precursor de la beta-damascenona con olor a rosa
<b>Fenoles volátiles</b>	4-vinilfenol	Cáscara de almendra, medicinal, tinta

\*: Shiratsuchi 1995; López et al., 2004; Perestrelo et al. 2006; Ribéreau-Gayon et al., 2006; Selli et al. 2008; Mendes-Pinto, 2009; Froissard et al., 2014; Uckun y Selli, 2017.

El aumento de concentración de la mayoría de los compuestos aromáticos en condiciones de vigor más bajo, se puede deber a que las plantas, al tener menos vegetación, mejoran el microclima luminoso de hojas y racimos. Un incremento de iluminación de los racimos da lugar a mayores concentraciones de compuestos C13-norisoprenoides y monoterpenos (Ribéreau-Gayon et al., 2006). El vigor y microclima de racimos en las cepas puede modificarse con prácticas vitícolas como el deshojado (Kliwer y Dokoozlan, 2005), variando el estado hídrico y nutricional (Yuan et al., 2018; González et al., 2019) o el sistema de conducción (Reynolds y van Den Heuvel, 2009).

Salvo en el caso de los ácidos volátiles, el peso del sarmiento es mejor indicador de la concentración de compuestos volátiles en la uva que el peso de madera de poda. Es posible que este resultado se deba a que el peso medio del sarmiento, en las condiciones de cultivo de la zona de estudio, refleje mejor el microclima (tamaño y distribución de la vegetación) que el peso total de madera de poda.

El peso de cien bayas no proporciona regresiones significativas con ninguno de los compuestos volátiles (Tabla 3). Esto quiere decir que, en este estudio, el tamaño de las bayas no influye en la cantidad de compuestos aromáticos libres de las uvas, a pesar de que estos compuestos se localizan en el hollejo y el tamaño de la baya modifica la relación de hollejo/pulpa (González-Barreiro et al., 2015). Estos resultados confirman los obtenidos por Sánchez et al. (2020) en el mismo área de estudio.

El rendimiento tampoco se correlacionó con la concentración de ninguno de los grupos de compuestos aromáticos. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Chapman et al. (2004) que compararon viñedos con distinta carga de poda en la

variedad Cabernet sauvignon, mostrando que las zonas de menor rendimiento producían vinos menos afrutados y más herbáceos. Sin embargo, Concurso et al. (2016) observaron que una reducción del rendimiento de la planta mediante el aclareo de racimos en cv. Syrah, incrementaba el potencial aromático de la uva. La falta de correlación en el presente trabajo puede estar relacionada con la existencia de unos coeficientes de variación bajos del rendimiento en el grupo de subparcelas.

El equilibrio vegetativo, representado en el parámetro del índice de Ravaz, solamente mantiene correlaciones significativas con la concentración de E-3-hexenol, que aumentaría a la vez que aumenta este índice. Hay que destacar que este es un compuesto C6 que aporta un aroma herbáceo (Ribéreau-Gayon et al., 2006), que sería más abundantes en plantas con sobrecarga de fruta.

Considerando todos los parámetros explicativos estudiados, se halla una correlación negativa entre el índice de Ravaz y el contenido en sólidos solubles totales, ( $r = -0,57$ ,  $p < 0,05$ ). Esto indica que una baja relación rendimiento/peso de madera aceleraría la maduración del fruto, que acabaría alcanzando una mayor concentración de azúcares.

Dadas las relaciones observadas entre el potencial aromático libre de las uvas y el vigor del viñedo (tabla 3), son interesantes métodos de teledetección del desarrollo vegetativo (Arno y Martínez-Casasnovas, 2017) para distinguir en el viñedo zonas con diferente potencial aromático. Esto permitiría realizar vinificaciones separadas, acordes a ese potencial, y con ello captar mayor valor añadido en el producto.

## **5.2. Grado de madurez de la uva**

Se encontraron pocas correlaciones significativas entre el contenido en sólidos solubles y la composición aromática libre del mosto, de acuerdo con Reynolds y Wardle (1989), que indican que a pesar de que los cambios en la concentración de compuestos aromáticos y la acumulación de azúcar ocurren simultáneamente, parece que ambas cuestiones no dependen la una de la otra. De hecho, se considera que la madurez aromática llegaría antes que la madurez tecnológica (Marais, 1983).

Las concentraciones en el mosto de dos alcoholes C6 isoméricos, E-3-hexanol y Z-3-hexanol, han dado correlaciones inversas con el contenido en sólidos solubles totales. Los resultados constatan que una falta de madurez de la uva mantiene altas concentraciones de este grupo de aromas, que dan lugar a olores herbáceos (Salinas et al., 2004; Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Para evitar altas concentraciones de estos compuestos, se puede realizar un manejo de la vegetación que permita una mayor iluminación de hojas y racimos que facilite la maduración (Smart y Robinson, 1991). Situaciones de estrés limitado en el viñedo pueden impedir un crecimiento excesivo de la vegetación y favorecer así la maduración de la fruta (Bravdo, 2005; González et al., 2019).

### 5.3. Contenido clorofílico foliar

La tabla 3 nos indica que, de los factores explicativos estudiados, el que tiene mayor impacto en la concentración de aromas libres en los mostos es el contenido foliar en clorofila. Esta variable viene determinada por la incidencia de clorosis férrica y el nivel nutricional de nitrógeno del viñedo en la zona de estudio (Sánchez et al. 2020).

El nivel foliar de clorofila en enero se correlacionó de manera positiva con los parámetros de vigor del viñedo, tal y como muestra la tabla 5. Estas relaciones tienen que ver con el hecho de que, numerosas regresiones de las concentraciones de compuestos aromáticos sobre el nivel de clorofila hayan sido significativamente negativas (Tabla 3).

Tabla 5. Valores del coeficiente de correlación de Pearson del contenido foliar en clorofila en el enero (Clenv) con los parámetros de vigor y rendimiento del viñedo y el grado de madurez de la uva.

Parámetros	Clenv
Rendimiento	0,27
Peso cien bayas	0,36
Peso madera poda	<b>0,60**</b>
Peso medio sarmiento	<b>0,71***</b>
Índice de Ravaz	-0,32
Sólidos solubles totales	0,11

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

Un contenido foliar en clorofila bajo afecta positivamente a la concentración de compuestos volátiles que proporcionan aromas agradables al olfato, como los alcoholes, los ésteres y acetatos, monoterpenos y C13-norisoprenoides. Sin embargo, el contenido foliar en clorofila también puede relacionarse con ácidos volátiles que pueden dar aromas desagradables (Tabla 3). Los ácidos volátiles son ácidos grasos que normalmente se encuentran en bajas concentraciones en la uva y aportan muy poco al perfil aromático. De encontrarse en altas concentraciones, estos ácidos grasos darían lugar a malos olores en el vino (Bellincontro et al., 2016).

El grupo de fenoles volátiles incrementa su concentración en plantas con un menor nivel de clorofila foliar, afectando significativamente a un aroma en concreto, el 4-vinilfenol. Dentro del este grupo, compuestos como el guayacol dan aromas especiados e incluso florales, mientras que otros fenoles como el 4-vinilfenol y el 4-etilfenol aportan defectos aromáticos, dando aromas a cuadra y botica (Ribéreau-Gayon, 2006).

Los alcoholes, ésteres y acetatos, monoterpenos, C13-norisoprenoides, fenoles volátiles y ácidos volátiles tienen una mayor concentración en los mostos procedentes de subparcelas con niveles bajos de clorofila (Figura 1). La variación en el contenido foliar de clorofila es el reflejo de la incidencia de clorosis férrica y del nivel nutricional de nitrógeno en la zona de estudio, variables que tienen un fuerte impacto sobre el vigor del viñedo (Martin et al., 2008; González et al., 2019). En el estudio de Sánchez et al. (2020), realizado en la misma zona de estudio en las campañas de 2016 y 2017, un menor nivel de clorofila en las hojas se relaciona con mayores concentraciones en C13

norisoprenoides y fenoles volátiles, coincidiendo con los datos de la tabla 3. En el mencionado estudio, las diferencias de concentración de aromas libres en zonas con distinto nivel de clorofila foliar se ven reflejadas solo en los compuestos en C6, 1-octanol y nerol.

Las concentraciones de compuestos C6 y lactonas no fueron significativamente distintas entre subparcelas de alto y bajo nivel de clorofila. Sánchez et al. (2020) registran, en la misma zona de estudio en la campaña de 2016, valores significativamente mayores de concentración de compuestos C6 en las subzonas de nivel clorofílico foliar alto. Las diferencias entre los resultados de las campañas 2016 y 2019 se podrían deber a la variabilidad interanual en las condiciones meteorológicas. Los compuestos C6 son muy sensibles a los elementos climáticos, que condicionan en gran medida la maduración de las uvas (Salinas et al., 2004).

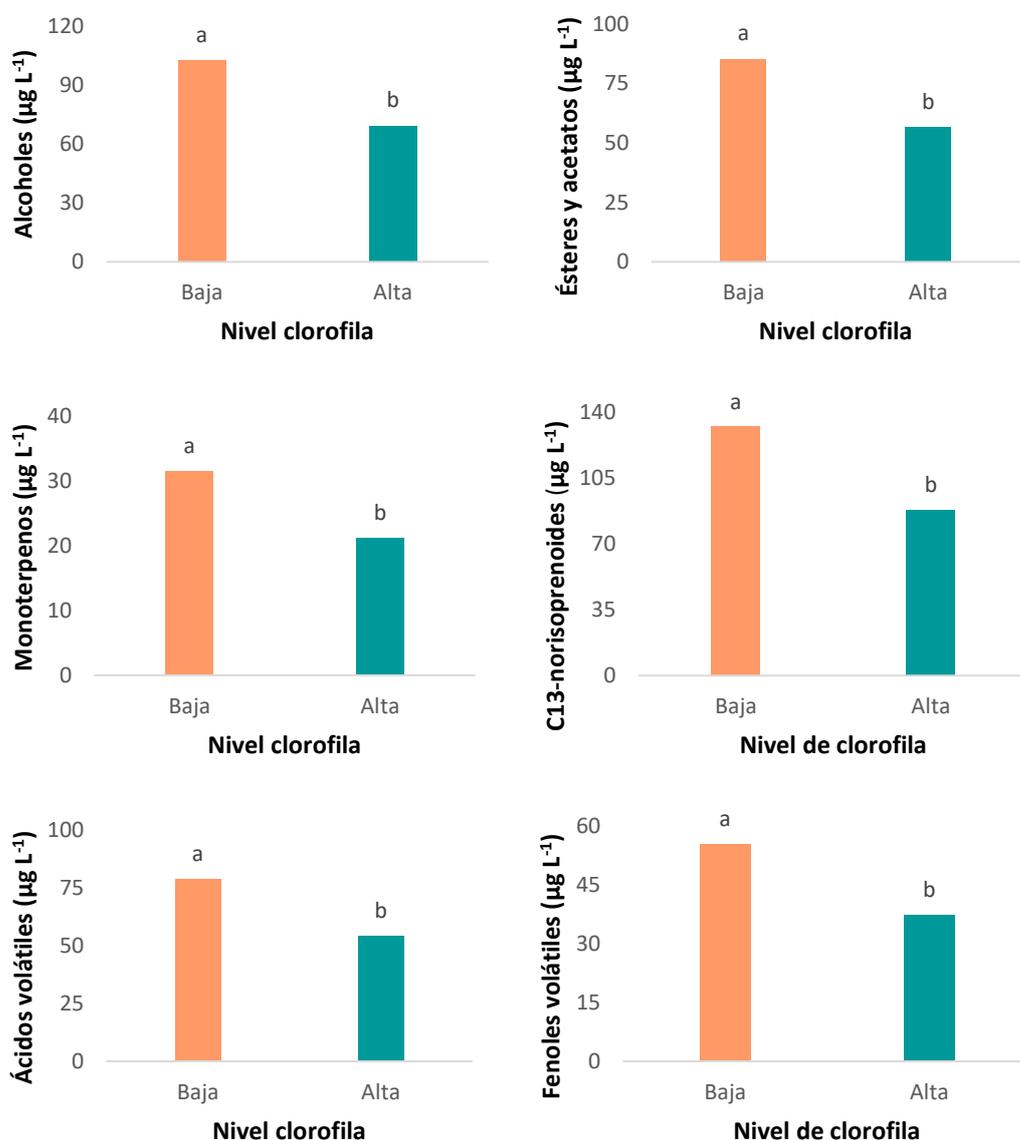


Figura 1. Comparación de las concentraciones de compuestos volátiles libres en subparcelas con alto y bajo contenido foliar de clorofila (test Tukey,  $p > 0,05$ ).

Yuan et al. (2018) observaron que los componentes en C6 decrecen en la uva cuando hay un aporte de nitrógeno bajo, como consecuencia de que disminuye el crecimiento vegetativo de las cepas y se adelanta la maduración. Con baja disponibilidad de nitrógeno hay una menor síntesis de aminoácidos, algunos de los cuáles pueden ser precursores de ciertos componentes del metabolismo secundario como alcoholes superiores, ésteres o ácidos orgánicos. Por ejemplo, el alcohol isobutílico, alcohol amilo activo y alcohol isoamílico están estructuralmente relacionados con la valina, isoleucina y leucina respectivamente (González y Morales, 2017).

Garde-Cerdán et al. (2015) determinan que mediante una fertilización foliar con fenilalanina aplicada dos veces en la viña, una en enero y otra una semana después, se aumenta la cantidad de compuestos aromáticos positivos en la uva, disminuyendo la cantidad de compuestos C6.

Con los resultados del presente estudio se demuestra que, si se delimitan zonas de viñedo con alto y bajo contenido clorofílico en enero, estas corresponderían a zonas de menor y mayor potencial aromático, respectivamente. Para aplicar esto en viticultura de precisión, se puede hacer uso de técnicas de teledetección hiperespectral capaces de estimar el contenido foliar en clorofila (LuYan et al., 2018).

## 6. Conclusiones

Los resultados del presente estudio confirman que una limitación del vigor del viñedo permite conseguir un perfil aromático de la uva más favorable, con incrementos en la concentración de algunos alcoholes, ésteres y acetatos, monoterpenos, ácidos volátiles, C13 norisoprenoides y fenoles volátiles frente a las cepas que alcanzan un mayor desarrollo vegetativo. Sin embargo, la variación en el rendimiento de las cepas, el tamaño de las bayas o su grado de madurez no resultaron parámetros determinantes de la composición de aromas libres del mosto en la zona de estudio.

Se ha demostrado que el contenido foliar en clorofila en enero puede ser un buen indicador del potencial aromático de las uvas. Valores decrecientes de este parámetro, asociados en la zona de estudio a baja disponibilidad de hierro y nitrógeno para las plantas, se corresponden con incrementos en la concentración de numerosos aromas libres en el mosto.

Tanto la medida del vigor como la del contenido foliar en clorofila en enero pueden ser herramientas útiles en viticultura de precisión para distinguir, de manera temprana, zonas de viñedo con diferente potencial aromático.

## 7. Bibliografía

Allen, M. S. and Lacey, M. (1998). Methoxypyrazines of Grapes and Wines. In *ACS Symposium Series* (Vol. 714, pp. 31–38).

Amiri, M. E., and Fallahi, E. (2007). Influence of mineral nutrients on growth, yield, berry quality, and petiole mineral nutrient concentrations of table grape. *Journal of Plant Nutrition*, 30(3), 463-470.

- Baluja, J., Tardaguila, J., Ayestaran, B., and Diago, M. P. (2013). Spatial variability of grape composition in a Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) vineyard over a 3-year survey. *Precision Agriculture*, 14(1), 40–58.
- Baumes, R., Wirth, J., Bureau, S., Gunata, Y., and Razungles, A. (2002). Biogeneration of C13-norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 3–14.
- Bellincontro, A., Matarese, F., D'Onofrio, C., Accordini, D., Tosi, E., and Mencarelli, F. (2016). Management of postharvest grape withering to optimise the aroma of the final wine: a case study on Amarone. *Food Chemistry*, 213, 378-387.
- Branas, J., Bernon, G., and Levadoux, L. (1946). Éléments de viticulture générale. impr. *Delmas, Montpellier, France*.
- Bravdo, B. A. (2005). Effect of irrigation and fertilization on fruit and wine quality. In *International Workshop on Advances in Grapevine and Wine Research 754* (pp. 265-274).
- Chapman, D. M., Matthews, M. A., and Guinard, J. X. (2004). Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different crop yields. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(4), 325-334.
- Choné, X., van Leeuwen, C., Chéry, P., and P., R.-G. (2001). Terroir influence on water status and nitrogen status of non-irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*). Vegetative development, must and wine composition (example of a Medoc Top Estate Vineyard, Saint Julien area, Bordeaux, 1997). *South African Journal for Enology and Viticulture*, 22, 8-15.
- Chorti, E., Guidoni, S., Ferrandino, A., and Novello, V. (2010). Effect of different cluster sunlight exposure levels on ripening and anthocyanin accumulation in Nebbiolo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(1), 23-30.
- Coelho, E., Coimbra, M. A., Nogueira, J. M. F., and Rocha, S. M. (2009). Quantification approach for assessment of sparkling wine volatiles from different soils, ripening stages, and varieties by stir bar sorptive extraction with liquid desorption. *Analytica Chimica Acta*, 635(2), 214-221.
- Condurso, C., Cincotta, F., Tripodi, G., Sparacio, A., Giglio, D. M. L., Sparla, S., and Verzera, A. (2016). Effects of cluster thinning on wine quality of Syrah cultivar (*Vitis vinifera* L.). *European Food Research and Technology*, 242(10), 1719-1726.
- Escudero, A., Arias, I., Lacau, B., Astraín, J., Barón, C., Fernandez-Zurbano, P., and Ferreira, V. (2019). Effects of vineyard 'potential' and grape maturation on the aroma-volatile profile of Grenache wines. *OENO One*, 53(4).
- Ferrer, M., Echeverría, G., Pereyra, G., González-Neves, G., Pan, D., and Mirás-Avalos, J. M. (2020). Mapping vineyard vigor using airborne remote sensing: Relations with yield, berry composition and sanitary status under humid climate conditions. *Precision Agriculture*, 21(1), 178-197.

- Froissard, D., Rapior, S., Bessière, J. M., Fruchier, A., Buatois, B., and Fons, F. (2014). Volatile organic compounds of six French Dryopteris species: Natural odorous and bioactive resources. *Natural Product Communications*, 9(1), 1934578X1400900138.
- Garde-Cerdán, T., Santamaría, P., Rubio-Bretón, P., González-Arenzana, L., López-Alfaro, I., and López, R. (2015). Foliar application of proline, phenylalanine, and urea to Tempranillo vines: Effect on grape volatile composition and comparison with the use of commercial nitrogen fertilizers. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 684-689.
- González, M. R., Hailemichael, G., Catalina, Á., and Martín, P. (2019). Combined effects of water status and iron deficiency chlorosis on grape composition in non-irrigated vineyards. *Scientia Agricola*, 76(6), 473–480.
- González, R., and Morales, P. (2017). Wine secondary aroma: understanding yeast production of higher alcohols. *Microbial Biotechnology*, 10(6), 1449.
- González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., and Simal-Gándara, J. (2015). Wine aroma compounds in grapes: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 202–218.
- Helwi, P., S. Guillaumie, C. Thibon, C. Keime, A. Habran, G. Hilbert, E. Gomes, P. Darriet, S. Delrot, and C. van Leeuwen. (2016). Vine nitrogen status and volatile thiols and their precursors from plot to transcriptome level. *BMC Plant Biology*, 16 (1):173–96
- Hidalgo, J. (2002). *Tratado de viticultura general*. Mundi-Prensa, Madrid.
- Hidalgo, J. (2011). *Tratado de Enología. Tomo I. Segunda edición*. Mundi-Prensa, Madrid.
- Jones, G. V. (2013). Winegrape phenology. In *Phenology: An integrative environmental science* (pp. 563-584). Springer, Dordrecht.
- Kliewer, W. M. (1970). Effect of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* L. grapes. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 95, 693-7.
- Kliewer, W. M., and Dokoozlian, N. K. (2005). Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(2), 170-181.
- López, R., Ezpeleta, E., Sánchez, I., Cacho, J., and Ferreira, V. (2004). Analysis of the aroma intensities of volatile compounds released from mild acid hydrolysates of odourless precursors extracted from Tempranillo and Grenache grapes using gas chromatography-olfactometry. *Food Chemistry*, 88(1), 95-103.
- Li, Z., Howell, K., Fang, Z., and Zhang, P. (2020). Sesquiterpenes in grapes and wines: Occurrence, biosynthesis, functionality, and influence of winemaking processes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(1), 247–281.
- Luo, J., Brotchie, J., Pang, M., Marriott, P. J., Howell, K., and Zhang, P. (2019). Free terpene evolution during the berry maturation of five *Vitis vinifera* L. cultivars. *Food Chemistry*, 299, 125101.

- LuYan, N., Chunyan, G., Jiabo, S., Yanzhong, L., Zhang, X., and Fengyun, W. (2018). Study on Hyperspectral Estimation Model of Chlorophyll Content in Grape Leaves. *Agricultural Biotechnology (2164-4993)*, 7(4).
- Marais, J. (1983). Terpenes in the aroma of grapes and wines: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 4(2), 49–58.
- Martín, P., Zarco-Tejada, P.J., and González, M.R. (2008). Nutritional diagnosis and fertilizer recommendations in the limestone soils of Ribera de Duero = Diagnostico nutricional y recomendaciones de abonado en suelos calizos de la Ribera de Duero. *Vida Rural* 270: 26-32.
- Martínez de Toda, F., and Ramos, M. C. (2019). Variability in grape composition and phenology of 'Tempranillo' in zones located at different elevations and with differences in the climatic conditions. *Vitis: Journal of Grapevine Research*, 58(4), 131-139.
- Mateo, J. J., and Jiménez, M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography A*, 881(1–2), 557–567.
- Mendes-Pinto, M. M. (2009). Carotenoid breakdown products the—norisoprenoids—in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 483, 236-245.
- Moreno-García, J., García-Martínez, T., Millán, M. C., Mauricio, J. C., and Moreno, J. (2015). Proteins involved in wine aroma compounds metabolism by a *Saccharomyces cerevisiae* flor-velum yeast strain grown in two conditions. *Food Microbiology*, 51, 1-9.
- Oliveira, J., Oliveira, P., Baumes, R., and Maia, M. (2008). Volatile and glycosidically bound composition of Loureiro and Alvarinho wines. *Food Science and Technology International*, 14(4), 341-353.
- Oliveira, J. M., Faria, M., Sá, F., Barros, F., and Araújo, I. M. (2006). C6-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 300–309.
- Oliveira, P. C., Moura, J. P., Fernandes, L. F., Amaral, E. M., and Oliveira, A. A. (2016). A non-destructive method based on digital image processing for calculate the vigor and the vegetative expression of vines. *Computers and Electronics in Agriculture*, 124, 289-294.
- Palomo, E. S., Díaz-Maroto, M. C., Viñas, M. A. G., Soriano-Pérez, A., and Pérez-Coello, M. S. (2007). Aroma profile of wines from Albillo and Muscat grape varieties at different stages of ripening. *Food Control*, 18(5), 398–403.
- Perestrelo, R., Fernandes, A., Albuquerque, F. F., Marques, J. C., and Câmara, J. D. S. (2006). Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds. *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2), 154-164.
- Rapp, A., and Versini, G. (1995). Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. In *Developments in Food Science* (Vol. 37, pp. 1659-1694). Elsevier.

- Reynolds, A., and van Den Heuvel, J. (2009). Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(3), 251-268.
- Reynolds, A. G., and Wardle, D. A. (1989). Influence of fruit microclimate on monoterpenes levels of Gewürztraminer. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40(3), 149-154.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., and Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of enology, Vol 2: The chemistry of wine stabilization and treatments*. John Wiley & Sons.
- Saerens, S. M. G., Delvaux, F., Verstrepen, K. J., Van Dijck, P., Thevelein, J. M., and Delvaux, F. R. (2008). Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(2), 454–461.
- Salinas, M., Zalacain, A., Pardo, F., and Alonso, G. L. (2004). Stir bar sorptive extraction applied to volatile constituents evolution during *Vitis vinifera* ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4821-4827.
- Sánchez, R., González, M. R., Vilanova, M., Rodríguez-Nogales, J. M., and Martín, P. (2020). Aroma composition of Tempranillo grapes as affected by iron deficiency chlorosis and vine water status. *Scientia Agricola*. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0112>
- Selli, S., Canbas, A., Varlet, V., Kelebek, H., Prost, C., and Serot, T. (2008). Characterization of the most odor-active volatiles of orange wine made from a Turkish cv. Kozan (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(1), 227-234.
- Shiratsuchi, H., Yoshimura, Y., Shimoda, M., Noda, K., and Osajima, Y. (1995). Contributors to sweet and milky odor attributes of spray-dried skim milk powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), 2453-2457.
- Smart, R., and Robinson, M. (1991). *Sunlight into wine: a handbook for winegrape canopy management*. Winetitles.
- Song, J., Smart, R. E., Dambergs, R. G., Sparrow, A. M., Wells, R. B., Wang, H., and Qian, M. C. (2014). Pinot Noir wine composition from different vine vigour zones classified by remote imaging technology. *Food Chemistry*, 153, 52-59.
- Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L., and Ferguson, J. C. (2002). Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot Berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(3), 171- 182.
- Tramontana, G., Papale, D., Girard, F., Belli, C., Tiberi, D., Comandini, M. C., and Pietromarchi, P. (2010). Airborne remote sensing to support precision viticulture and oenology of "quality". *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 63(1/4), 173-182.
- Uckun, O., and Selli, S. (2017). Characterization of key aroma compounds in a representative aromatic extracts from citrus and astragalus honeys based on aroma extract dilution analyses. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 512-522.

Valdés-Gómez, H., Fermaud, M., Roudet, J., Calonnec, A., and Gary, C. (2008). Grey mould incidence is reduced on grapevines with lower vegetative and reproductive growth. *Crop Protection*, 27(8), 1174–1186.

Wood, C., Siebert, T. E., Parker, M., Capone, D. L., Elsey, G. M., Pollnitz, A. P., and Widder, S. (2008). From wine to pepper: rotundone, an obscure sesquiterpene, is a potent spicy aroma compound. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3738–3744.

Yuan, F., Schreiner, R. P., and Qian, M. C. (2018). Soil nitrogen, phosphorus, and potassium alter  $\beta$ -damascenone and other volatiles in Pinot noir berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 69(2), 157-166.