

# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**

Efectos del riego deficitario con aguas salinas en  
la producción y composición de la uva y la  
calidad del vino

**D. Alejandro Martínez Moreno**  
**2020**





# **Efectos del riego deficitario con aguas salinas en la producción y composición de la uva y la calidad del vino**

**D. Alejandro Martínez Moreno**

Murcia, 2020





**Doctorado en Tecnología de los Alimentos,  
Nutrición y Bromatología**



**Centro de Edafología y Biología Aplicada del  
Segura**



**Departamento de Desarrollo rural, Enología y  
Agricultura sostenible**



**Departamento de Investigación en el Manejo  
del Agua**

# **Efectos del riego deficitario con aguas salinas en la producción y composición de la uva y la calidad del vino**

Memoria de Tesis presentada por D. Alejandro Martínez Moreno para aspirar al grado de  
Doctor con Mención Internacional por la Universidad de Murcia

Directores de la Tesis:

D. Diego Sebastiano Intrigliolo Molina

Dña. Rocío Gil Muñoz

D. Ramón López Urrea



Esta Tesis Doctoral ha sido realizada gracias a las ayudas para contratos predoctorales para la formación de doctores contemplada en el Subprograma Estatal de Formación, del Programa Estatal de Promoción del Talento y su Empleabilidad, en el marco del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica e Innovación 2013-2016.

El trabajo de investigación ha sido financiado por el Proyecto de I+D+i “ESTRATEGIAS PARA MITIGAR LOS EFECTOS DEL ESTRÉS HÍDRICO SEVERO EN LA VITICULTURA DE CLIMA CÁLIDO Y ÁRIDO DEL SURESTE DE ESPAÑA” con número de referencia AGL2014-54201-C4-4-R, subvencionado por el Ministerio de Economía y Competitividad.

*“Cada día sabemos más y entendemos menos”*

*Albert Einstein*

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis tres directores de Tesis, la Dra. Rocío Gil Muñoz, el Dr. Diego Sebastiano Intrigliolo Molina y el Dr. Ramón López Urrea, por haberme transmitido desde el primer momento su pasión por la investigación y por el trabajo bien hecho, sin prisas y cuidando siempre hasta el más mínimo detalle.

También me gustaría agradecer a todos mis compañeros del CEBAS que han sufrido conmigo y por mí culpa intensas vendimias y largos viajes a Fuente Álamo. Gracias Marga, por estar siempre tan atenta a todo y preocuparte por que todo saliera adelante. Gracias Eva, por estar siempre disponible con una sonrisa para lo que hiciera falta. Gracias José Salvador, por tus largas charlas vespertinas y por tu inestimable ayuda con el fantástico SygmaPlot. Gracias Juan Miguel, por enseñarme tantas cosas científicas y no tan científicas. Gracias José Manuel, creo que jamás poder devolverte la paciencia y sabiduría que desde el primer momento compartiste generosamente conmigo. Gracias Ignacio, por compartir todos tus conocimientos vitícolas y científicos. Gracias David, por tu sonrisa y positivismo, sin ti todo este trabajo hubiera sido sin duda, más complicado. Gracias Isa, siempre recordaré nuestra primera mañana limpiando raíces, lentos pero seguros.

Gracias a todos los compañeros de la Estación Enológica de Jumilla (I.M.I.D.A), durante estos cuatro años me habéis facilitado infinitamente el trabajo (Diego, Ana y Juan Daniel). También me gustaría agradecer de una forma especial a José Ignacio todos sus buenos consejos y recomendaciones que me ha ido regalando a lo largo de toda la Tesis. A Cayetano y David por todo el trabajo que habéis hecho en la bodega y, por ultimo, gracias a Juan Antonio, Maria y Juan por hacer más ameno las largas horas del laboratorio.

Tampoco puedo dejar de agradecer al tridente valenciano, Felipe, Toni y Diego, toda la ayuda que nos han brindado en el campo, toda la sabiduría gastronómica que han compartido con el equipo y su buena disposición para ayudar cuando y donde hiciera falta.

A toda la gente procedente del Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete y de la Universidad de Catilla-La Mancha que ha pasado durante estos tres años por la finca para echar una mano siempre que lo hemos necesitado, en especial a Pachi y Laura.

A los doctores Pierre Louis Teissedre y Michael Jourdes, investigadores del Instituto de las Ciencias de la Vid y el Vino (ISVV) que me permitieran realizar una estancia en su departamento de Enología durante tres meses, acogiéndome y haciéndome sentir uno más del laboratorio. Sin olvidar la estimable ayuda de Reyes, Natalia, Zuriñe, Josep y Ruth.

También me gustaría agradecer al profesor Gonzaga Santesteban por permitirme realizar una estancia corta en el departamento de la Universidad Pública de Navarra (UPNA). Al profesor Jaume Flexas, por hospedarme durante la estancia corta en su laboratorio, en la Universidad de las Islas Baleares (UIB).

A Don Vicente Martínez, gracias por las incontables horas que has tenido que sufrir escuchando y resolviendo mis dudas.

A José María Vicente, director técnico de Bodegas Casa Castillo, por abrirme las puertas de su casa y acogerme como si fuera de la familia. Gracias por tu sencillez y por compartir conmigo hasta el último detalle de tu experiencia vitivinícola.

Y por supuesto, agradecer a mis padres todos los esfuerzos y sacrificios que han hecho por mi y mis hermanos, siempre han luchado por darnos la mejor educación que han podido para que llegáramos donde estamos. Y no quisiera olvidarme de Inmaculada, mi mujer, gracias por tus increíbles sacrificios para que pudiera realizar mi estancia en el extranjero y tu apoyo incondicional para finalizar esta Tesis Doctoral. La mezcla Covid-19, niños y Tesis Doctoral nunca fue fácil.

¡Muchas gracias a todos!

*Alejandro Martínez Moreno*



*A mis padres,  
Inmaculada, Miguel y Cristina*



## INDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	9
<b>1.1 Cultivo de la vid</b> .....	10
1.1.1 Importancia del sector vitivinícola .....	10
1.1.2 Material vegetal .....	13
1.1.3 Cultivo de la vid en el Mediterráneo y su fenología.....	15
1.1.3.1 Fenología de la vid.....	15
1.1.3.2 Necesidades hídricas de la vid.....	17
<b>1.2 Cambio climático y estreses abióticos</b> .....	19
1.2.1 Cambio climático .....	20
1.2.2 Estreses abióticos .....	24
1.2.2.1 Estrés hídrico .....	25
1.2.2.2 Estrés salino.....	26
<b>1.3 Estrés hídrico y salinidad en viticultura</b> .....	28
1.3.1 Estrés hídrico en la vid .....	28
1.3.1.1 Respuestas fisiológicas de la vid frente al estrés hídrico .....	28
1.3.1.2 Respuesta agronómica e importancia del portainjerto .....	29
1.3.1.3 Manejo en la gestión del agua en el suelo .....	32
1.3.2 Estrés salino en la vid .....	34
1.3.2.1 Acumulación de sales en el suelo y sistema de riego .....	34
1.3.2.2 Efectos de la salinidad y respuesta fisiológica de la vid .....	35
1.3.2.3 Respuesta agronómica de la vid y tolerancia a la salinidad .....	38
<b>1.4 Calidad de la uva y composición del vino. Conceptos generales</b> .....	41
1.4.1 Compuestos fenólicos. ....	43
1.4.1.1 Antocianos.....	45
1.4.1.2 Taninos .....	46
1.4.1.3 Estilbenos .....	48
<b>1.5 Efecto del estrés hídrico y salinidad en la calidad de la uva y el vino</b> .....	49
1.5.1 Estrés hídrico y calidad de la uva y del vino .....	49
1.5.2 Salinidad y su efecto sobre la calidad de la uva y el vino.....	54
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	59
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	63
<b>3.1 Descripción de la parcela experimental</b> .....	64
3.1.1 Localización .....	64
3.1.2 Características vitícolas .....	64

3.1.3 Climatología.....	65
3.1.4 Características del suelo.....	68
3.1.5 Manejo del viñedo.....	69
<b>3.2 Diseño experimental .....</b>	<b>70</b>
<b>3.3 Tratamientos realizados y programación del riego.....</b>	<b>71</b>
3.3.1 Tratamientos realizados.....	71
3.3.2 Programación del riego .....	74
<b>3.4 Determinaciones realizadas en campo .....</b>	<b>75</b>
3.4.1 Muestras de suelo.....	75
3.4.2 Muestras en planta .....	77
3.4.2.1 Diámetro de tronco.....	77
3.4.2.2 Muestreo foliar.....	77
3.4.2.3 Estado hídrico del viñedo.....	77
3.4.2.4 Intercambio gaseoso .....	79
3.4.2.5 Parámetros de producción y desarrollo vegetativo del vigor.....	79
<b>3.5 Analíticas de laboratorio .....</b>	<b>81</b>
3.5.1 Analíticas de suelo.....	81
3.5.1.1 Procesado de muestras de suelo .....	81
3.5.1.2 pH .....	82
3.5.1.3 Conductividad eléctrica.....	82
3.5.2 Material vegetal .....	82
3.5.2.1 Procesado del material foliar .....	82
3.5.2.2 Determinación de elementos totales.....	83
3.5.2.3 Determinación de aniones .....	84
3.5.2.4 Madurez tecnológica de la uva .....	85
3.5.2.5 Determinación de compuestos fenólicos en uva por HPLC .....	85
<b>3.6 Elaboración y determinaciones en vino.....</b>	<b>89</b>
3.6.1 Determinaciones espectrofotométricas en vino.....	89
3.6.2 Determinaciones de compuestos fenólicos por HPLC .....	92
3.6.3 Análisis sensorial .....	93
<b>3.7 Análisis estadístico .....</b>	<b>93</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>95</b>
<b>4.1 Condiciones edafo-climáticas, tratamientos y composición del agua de riego .....</b>	<b>96</b>
4.1.1 Influencia del riego salino en la acumulación de sales en el suelo .....	100
<b>4.2 Resultados fisiológicos y agronómicos .....</b>	<b>102</b>
4.2.1 Estado hídrico del viñedo e intercambio gaseoso.....	102

4.2.2 Rendimiento, componentes de la producción y del racimo .....	110
4.2.3 Crecimiento vegetativo, peso de poda e índice de Ravaz.....	116
4.2.4 Estado nutricional y acumulación de sodio en tronco.....	120
<b>4.3 Resultados enológicos</b> .....	<b>123</b>
4.3.1 Composición fisicoquímica del mosto.....	123
4.3.2 Composición fenólica en la uva.....	125
4.3.2.1 Antocianos.....	125
4.3.2.2 Taninos .....	129
4.3.2.3 Estilbenos .....	135
4.3.3 Composición fenólica en el vino.....	137
4.3.3.1 Parámetros cromáticos en el vino.....	137
4.3.3.2 Antocianos.....	141
4.3.3.3 Taninos .....	144
4.3.3.4 Estilbenos .....	147
4.3.4 Análisis sensorial .....	148
<b>4.4 Relaciones entre diferentes indicadores agronómicos y enológicos.....</b>	<b>152</b>
<b>5. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS</b> .....	<b>158</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>164</b>



## RESUMEN

El clima mediterráneo se caracteriza por la escasez de lluvias y una alta demanda evaporativa durante el verano, coincidiendo con la época de máximas necesidades hídricas de la vid. Por lo tanto, en ocasiones, los viticultores se ven obligados a la utilización de aguas de mala calidad con altas concentraciones de sales, principalmente sulfatos y cloruros. Esta Tesis Doctoral se realizó con el objetivo de estudiar los efectos del estrés hídrico severo y el riego deficitario con aguas salinas (conductividad eléctrica de 5 dS/m) sobre el rendimiento y la composición de las uvas y del vino de la variedad Monastrell, cultivada en un viñedo dentro de la Denominación de Origen Jumilla en la provincia de Albacete (sureste de España).

El ensayo se llevó a cabo durante tres campañas en un viñedo comercial, con un diseño experimental de 4 bloques al azar y seis tratamientos; de los cuales, el primero fue un secano y en el resto de tratamientos se combinaron diferentes tipos de sal (sulfatos y cloruros) con diferentes momentos de inicio del riego (antes y después del envero). Se estudió la acumulación de sal en el suelo, los efectos del estrés hídrico y salino sobre los componentes de la producción, el desarrollo vegetativo, el intercambio gaseoso y el estado nutricional del viñedo. Asimismo, se estudió el impacto del estrés hídrico y la salinidad sobre la calidad de la uva y el vino, así como su composición fenólica y características sensoriales.

Los tratamientos regados con aguas salinas, incrementaron la concentración de sales en el suelo durante el periodo vegetativo de la vid. Sin embargo, debido a las lluvias, esta concentración de sales se vio reducida considerablemente durante el período de parada vegetativa. El no aporte de riego y los tratamientos regados con agua salina redujeron la producción en comparación con el riego con agua de buena calidad en un 36 y un 15%, respectivamente; aunque dicha reducción solo fue estadísticamente significativa en el tratamiento secano. El secano y el riego con aguas salinas tuvieron un efecto negativo sobre el crecimiento vegetativo, reduciendo el área foliar. Respecto a los parámetros enológicos, se observó una gran variabilidad en la composición fisicoquímica del mosto durante los tres años de estudio. El tratamiento secano obtuvo la mayor concentración de antocianos y taninos. Aunque el riego salino no tuvo efecto en la concentración de antocianos, sí incrementó ligeramente la concentración de taninos en uva, en comparación con el tratamiento control. Los tratamientos que se comenzaron a regar en post-envero y el tratamiento secano mejoraron notablemente las características cromáticas de los vinos. Por último, no se observó un efecto de los tratamientos en la concentración de estilbenos, tanto en la uva como en el vino. El análisis sensorial, mostró cierta concordancia con los valores cromáticos y de composición fenólica, siendo el tratamiento secano el que obtuvo la mejor valoración para el atributo visual y

valoración global; en cambio el tratamiento con el riego con cloruros obtuvo la peor puntuación para el atributo olfativo.

Por lo tanto, la no aplicación de riego y el riego deficitario aplicado después del envero, reducen la producción, pero mejoran significativamente la composición de la uva en comparación con el tratamiento control regado durante todo el ciclo fenológico de la vid con agua de buena calidad. Ante la falta de disponibilidad de aguas de buena calidad para el riego de la vid, la utilización de aguas salinas de alta conductividad eléctrica (5 dS/m), es recomendada para viticultores cuyo objetivo sea maximizar la producción y la concentración de azúcares de las bayas, sin priorizar la composición final de los vinos.

## ABSTRACT

The Mediterranean climate is characterized by rain scarcity and a high evaporative demand during the summer, coinciding with the maximum grapevine water requirements. Therefore, winegrowers are in occasions forced to use low-quality irrigation water from aquifers and wells containing high concentrations of salts, mainly sulfates and chlorides. This Doctoral Thesis was carried out with the aim of studying the effects of severe water stress and deficit saline irrigation on the yield and grape and wine composition in the Monastrell variety within the Denominación de Origen Jumilla in Albacete (southeastern Spain).

This trial was carried out during three seasons in a commercial vineyard, with an experimental design with four random blocks and six treatments; one treatment was a rainfed and the others combined different types of salt applied in the irrigation water (sulfates and chlorides) with different timings of irrigation (starting either; before veraison or after it). The accumulation of salt in the soil, the effects of water and salt stress on yield, vegetative growth, leaf gas exchange and vine nutrient status were studied. Likewise, the impact of water stress and salinity on grape and wine quality was determined, as well as the wine phenolic composition and sensory characteristics.

During the vine vegetative period, the treatments irrigated with saline water increased the concentration of salts in the soil. However, due to the autumn and winter rains, the soil salts concentration was considerably reduced during the dormancy period of the vine. The rainfed and the irrigated treatments with saline water reduced yield by 36% and 15% in comparison with the control treatment, respectively. However, this reduction was only statistically significant in the rainfed treatment. Irrigation with saline water had a negative effect on vegetative growth, reducing the vine leaf area. Regarding the oenological parameters, a great variability in the physicochemical must composition was observed during the three years of the study. Grapes from the rainfed treatment had the highest concentration of anthocyanins and proanthocyanidins. Although saline irrigation had no effect on the concentration of anthocyanins, it slightly increased the concentration of proanthocyanidins in grapes, compared to the control treatment. The treatments that started to be watered by post-veraison and the rainfed one, notably improved the color characteristics of the wines. Finally, no effect of the treatments was observed on the concentration of stilbenes, both in grapes and wine. Wine sensory analysis results were in agreement with the chromatic and phenolic composition values with the rainfed wines having the best assessment for the visual attribute and overall assessment. On the other hand, the treatment irrigated with chlorides salty water obtained the worst score for the olfactory attribute.

The rainfed and deficit irrigation applied after veraison strategies reduced yield, but significantly improved grape composition in comparisons with the control treatment. Given the lack of availability of good quality water for grapevine irrigation, the use of saline water with high electrical conductivity (5 dS/m), is recommended for vinegrowers whose objective is to maximize vine performance and grape sugar concentration, without prioritizing the final wine composition.

## **Lista de abreviaturas y símbolos**

%Gal: porcentaje de Galloilación

ABA: ácido abscísico

AC%: antocianos copigmentados

AL%: antocianos libres

$A_M$ : fotosíntesis neta

ANOVA: análisis de la varianza

AT: antocianos totales

C: croma

CatE: (+) - catequina de extensión

Cat-T(+) - catequina terminal

CE: conductividad eléctrica

CE<sub>s</sub>: conductividad eléctrica del extracto saturado del suelo

Di-OH: antocianos dihidroxilados

E: transpiración

EC3OG-E: (-)- epicatequina 3-O- galato de extensión

EC3OG-T (-)- epicatequina 3-O-galato terminal

EGC-E: (-): Epigalocatequina de extensión

Epi E: (-)- epicatequina de extensión

Epi T: (-) – epicatequina terminal

ET<sub>c</sub>: evapotranspiración del cultivo

ET<sub>o</sub>: evapotranspiración de referencia

EUA<sub>i</sub>: eficiencia del uso del agua intrínseca

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FCA: fracción de color debida a antocianos copigmentados

FFA: fracción de color debida a antocianos libres

FPP: fracción de color del vino debido a pigmentos poliméricos

GMP: grado medio de polimerización

g<sub>s</sub>: conductancia estomática

H: Hue

IC: intensidad de color

ICP-OES: plasma de acoplamiento inductivo acoplado a espectrofotómetro de emisión óptico

IPT: índice de polifenoles totales

$K_c$ : coeficiente de cultivo

L: luminosidad

MAPAMA: Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente

MPa: megapascales

Nh: necesidades de agua de riego

OIV: Organización Internacional de la Viña y el Vino

$P_e$ : precipitación efectiva

PP% antocianos polimerizados

r: coeficiente de correlación de Pearson

RAS: relación de absorción de sodio

ROS: especies reactivas al oxígeno

RWC: contenido relativo en agua

SAR: relación de adsorción de sodio

SST: solidos solubles totales

$S_\psi$ : integral de estrés hídrico

T: tono

Tri-OH: antocianos trihidroxilados

UE: unidad experimental

USDA: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos

$\delta^{13}C$ : ratio isotópico del carbono

$\Psi_p$ : potencial de turgor

$\Psi_s$ : potencial osmótico

$\Psi_t$ : potencial hídrico de tallo a medio día solar

$\Psi_w$ : potencial hídrico



# ***1. INTRODUCCIÓN***

## 1.1 Cultivo de la vid

Desde hace más de 8,000 años, la historia de la humanidad ha estado ligada al cultivo de la vid (*Vitis vinífera*) y a la elaboración del vino; ninguna otra actividad agrícola ha generado a lo largo de la historia tanta cultura y riqueza como el cultivo de la vid. Si entendemos la elaboración del vino como una actividad humana intencional y planificada, se podría decir que fue en el Neolítico cuando se dieron las condiciones necesarias para su comienzo, entre el año 8,000 y el 6,000 a. C., en una vasta zona comprendida entre el mar Negro y el mar Caspio delimitada por las actuales Turquía, Siria, Irak, Irán y Rusia (Fondo Vitivinícola, 2019).

### 1.1.1 Importancia del sector vitivinícola

Actualmente se cultivan 7.5 millones de hectáreas de viñedo en el mundo, que producen un total de 73.3 millones de toneladas de uva, dando lugar a unos 280 millones de hectolitros de vino, cuyas ventas generan un valor de facturación de 30,525 millones de € según los últimos datos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2019). España es el primer país del mundo en superficie de viñedo con 969,000 hectáreas (13% de la superficie mundial), seguido por China y Francia (Tabla 1). Sin embargo, España es el 5º productor mundial con un total de 5 millones de toneladas, muy por detrás de las 13.7 millones de toneladas que produjo China, situándose como primer productor mundial (Tabla 2). Del total de la uva producida a nivel global el 42% está destinado a uva de mesa, el 7% a uvas pasas y el 52% a uva para vinificación, estos porcentajes son algo diferentes en España siendo el 6% para uva de mesa y el 94% de la producción total para vinificación.

Tabla 1. Evolución de la superficie mundial de viñedo por países en miles de hectáreas.

	2013	2014	2015	2016	2017
España	973	975	974	975	969
China	757	813	847	864	870
Francia	793	789	785	786	786
Italia	705	690	682	693	699
Turquía	504	502	497	468	448
EEUU	453	450	446	441	441
Irán	219	216	217	223	223
Argentina	224	228	225	224	222
Chile	206	213	214	214	215
Portugal	229	224	204	195	194

Datos obtenidos de la OIV (2018)

Tabla 2. Evolución de la producción mundial de uva por países en miles de toneladas.

	2013	2014	2015	2016	2017	destino de la uva año 2017 (%)		
						mesa	pasas	vino
China	11.6	12.5	13.7	13.7	13.7	83%	6%	11%
Italia	8.0	6.9	8.4	8.4	6.9	15%	0%	85%
EEUU	7.8	7.1	7.0	7.0	6.7	22%	15%	63%
Francia	5.5	6.2	6.0	6.0	5.5	1%	0%	99%
España	7.4	6.1	6.3	6.3	5.0	6%	0%	94%
Turquía	4.0	4.2	4.0	4.0	4.2	57%	40%	2%
India	2.5	2.6	2.6	2.6	2.6	95%	4%	1%
Australia	2.0	1.8	2.0	2.0	2.2	9%	2%	89%
Sur África	2.0	1.9	2.0	2.0	2.1	14%	12%	74%
Argentina	2.9	2.7	1.9	1.9	2.1	1%	8%	91%

Datos obtenidos de la OIV, (2018)

La importancia del sector vitivinícola en España es de extraordinaria relevancia, no solo desde el punto de vista económico o medioambiental, sino también desde el punto de vista social y cultural, siendo el vino parte fundamental en la cultura mediterránea. Del total de la superficie plantada a nivel nacional, el 85% corresponde a zonas potencialmente aptas para la elaboración de vinos con denominación de origen protegida (DOP) y el 8% a zonas con indicación geográfica protegida (IGP). Las variedades tintas representan el 54% del total de la superficie de viñedo de uva para vinificación en nuestro país (MAPAMA, 2018). El cultivo de la vid en España se extiende en todas las comunidades autónomas, siendo Castilla-La Mancha con 443,347 ha la comunidad con mayor extensión de viñedo, suponiendo el 47.1% de la superficie nacional y el 7% de la superficie de viñedo a nivel mundial (Tecnovino, 2019).

La producción de vino y mosto en España se caracteriza por su gran variabilidad de unas campañas a otras, debido a la fuerte dependencia del cultivo a las condiciones meteorológicas. La media de producción de las cinco últimas campañas (2013-2018) alcanzó los 38.8 millones de hectolitros.

Aunque la parcela de estudio utilizada para la realización de esta Tesis Doctoral se encuentra situada en la provincia de Albacete (Castilla-La Mancha), queda amparada bajo la Denominación de Origen (D.O.) Jumilla. Dicha D.O. tiene una larga tradición vitícola, habiéndose hallado restos de *Vitis vinífera* datados del año 3,000 a. C. Pero fue a mediados del siglo XIX, con la llegada de la plaga de la filoxera a Europa, lo que motivó el aumento de las plantaciones de vid y un incremento significativo de las exportaciones a Francia, lo que se tradujo en una mejora del sector vitícola jumillano. En 1966 se constituyó la D.O. Jumilla siendo en la actualidad una de las más antiguas de España (Vinos de Jumilla, 2018).

La D.O. Jumilla se encuentra situada en el sureste español a una altitud de entre 400 y 800 m.s.n.m., está formada por valles, planicies y montañas siendo una zona de transición entre la costa levantina y la meseta castellano-manchega (Figura 1). Los suelos característicos son pardos y pardo-calizos, con una textura franca y franco-arenosa. Estas características edafológicas confieren a los suelos una buena capacidad de almacenamiento de agua y bajos niveles de materia orgánica, presentando en líneas generales buenas aptitudes para el cultivo de la vid. El clima es característico mediterráneo con más de 3,000 horas de sol anuales y escasas precipitaciones con alrededor de 300 mm anuales. La temperatura media anual es de 16 °C con inviernos fríos siendo habituales días con temperaturas inferiores a 0 °C y veranos calurosos con temperaturas que superan los 40 °C.

La D.O. Jumilla cuenta con una superficie de 20,000 ha, de las cuales el 60% se encuentran en la provincia del Albacete y el 40% restante en Murcia. La D.O. Jumilla agrupa a unos 2,000 viticultores y tiene 45 bodegas registradas, alcanzando una producción de 77,617 t de uva en la campaña de 2018 (Vinos de jumilla, 2018).

Las características descritas con anterioridad hacen de este territorio un lugar óptimo para el cultivo de la vid donde los agricultores han aprendido a superar las adversidades climáticas de la zona, siendo el cultivo de la variedad Monastrell conducida en vaso y secano, el más extendido en esta D.O.



Figura 1. Denominación de Origen Jumilla. Fuente (Vinos de Jumilla, 2018).

En los últimos años, el aumento de las temperaturas y el cambio en la dinámica de precipitaciones a nivel global, ha puesto de relieve la necesidad de la investigación vitícola para hacer frente a los nuevos desafíos climáticos en zonas semiáridas (Schultz y Jones, 2010). La zona de estudio sobre la que se ha realizado esta Tesis Doctoral, se enmarca dentro de la Confederación Hidrográfica del Segura siendo especialmente sensible a todos estos cambios climáticos, ya que se encuentra en una zona de alto riesgo de desertificación, con una evidente sobreexplotación de los acuíferos existentes en la zona (Senent y García, 2014).

### 1.1.2 Material vegetal

La vid (*Vitis vinifera* L.) es una planta de hoja caduca perteneciente a la subdivisión de las angiospermas, de la clase dicotiledónea y de la familia de las *Vitaceae* compuesta por casi mil especies agrupadas en 17 géneros (Martínez de Toda, 1991). Los umbrales térmicos en los que puede crecer la vid son amplios, y varían desde temperaturas medias de 10 a 40 °C, con un nivel óptimo de crecimiento alrededor de 22-25 °C. Debido a este amplio rango de temperaturas en los que puede sobrevivir la vid, las regiones vitivinícolas están extendidas ampliamente en todos los climas templados, principalmente comprendido en dos franjas, entre las latitudes 30 ° y 50 ° N y 30 ° y 40 ° S (Schultz y Jones, 2010). A pesar de lo mencionado anteriormente, debido a los cambios que está experimentando el clima a nivel mundial, el cultivo de la vid se está extendiendo a zonas más frías, en las que anteriormente este cultivo no era rentable. El rango de temperatura diurna, que está relacionado con la altitud, controla la fenología y favorece la acumulación de compuestos como los azúcares dentro de los tejidos (Gladstones, 2011). De hecho, la temperatura juega un papel fundamental en la fisiología de la vid e influye de forma directa en la maduración de la uva, fundamentalmente en la composición aromática y en la coloración de la baya (Coombe, 1987; Jackson y Lombard, 1993).

Normalmente, la especie *Vitis vinifera* es injertada en patrones de otras especies del género *Vitis*, generalmente en *Vitis rupestris*, *Vitis riparia* y *Vitis berlandieri* de origen americano y resistentes a la filoxera. Estos portainjertos confieren otras características adicionales deseables, como por ejemplo tolerancia a altos niveles de caliza activa, frecuentes en los suelos de las zonas vitícolas mediterráneas. Los portainjertos suelen ser variedades híbridas desarrolladas al cruzar las especies *Vitis berlandieri*, *Vitis riparia* y *Vitis rupestris*. No obstante, los cultivares y variedades de viñas destinadas a la producción de vinos más comunes pertenecen a la especie *Vitis vinifera*.

La mayoría de los historiadores del vino y ampelógrafos están de acuerdo en que la variedad de uva Monastrell tiene un origen español, aunque es difícil determinar el lugar exacto

con precisión. Probablemente, la variedad fue introducida en Cataluña por los fenicios en torno al 500 a. C, aunque también se piensa que puede proceder de Sagunto (Valencia) de donde se tienen abundantes referencias históricas (Favá, 2001).

A nivel mundial, la variedad Monastrell ocupa el puesto número once en cuanto a superficie de cultivo a nivel mundial, siendo en España la sexta variedad más plantada (OIV, 2018), representando en la D.O. Jumilla casi el 90% de su superficie de cultivo. Esta variedad también es conocida por otros nombres como Moratel, Garrut, Alcayata, Ros, Reina, Veremeta, Gallata, Churret, Mataró, Negrelejo, Vereda y por último en Francia, es conocida como Mourvedre (Pardo, 1996).

Ampelográficamente hablando, la Monastrell es una variedad de porte erguido, con sarmientos gruesos, de longitud media y con pocos brotes secundarios. Las yemas son algodonosas y blancas con el eje veloso, las hojas adultas son de tamaño mediano a pequeño, siendo el limbo pentagonal con tres lóbulos marcados y con una pigmentación antociánica en el haz débil. Los racimos son de dimensión mediana o pequeña, bastantes compactos con una longitud de pedúnculo corta (Figura 2).



Figura 2. Hoja y racimo característico de la variedad Monastrell.

Se trata de una variedad de gran rusticidad y elevada resistencia a la sequía, necesitando un elevado número de horas de sol para conseguir una buena maduración de la uva. Tiene una fertilidad media con cierta tendencia a la vecería; la alta compacidad de sus racimos la hace sensible al ataque de los hongos y a la polilla del racimo o hilandero. Es una variedad que se

caracteriza por sus bajos rendimientos en la zona mediterránea (Chomé, 2003), seguramente debido al déficit hídrico severo al que suele estar sometida en esa región. Por otra parte, desde un punto de vista enológico, la Monastrell se caracteriza por producir mostos de elevado grado alcohólico con una acidez media-baja, ricos en oxidasas y con una intensidad aromática media-alta.

### 1.1.3 Cultivo de la vid en el Mediterráneo y su fenología

El rendimiento productivo de la vid y la composición de la uva en el clima mediterráneo, están fundamentalmente determinados por una alta disponibilidad de radiación solar y un déficit en la reserva de agua en el suelo debido a la escasez e irregularidad de las precipitaciones. El agua es el factor más limitante para el crecimiento y producción de la vid en la región mediterránea, caracterizada por ser un área propensa a la sequía. Habiéndose demostrado que en la viticultura mediterránea la respuesta agronómica de la vid está más condicionada por el estado hídrico de las cepas que por las relaciones fuente sumidero (Mirás-Avalos e Intrigliolo, 2017).

En general, el clima mediterráneo es templado, caracterizado por veranos cálidos o muy cálidos y secos, e inviernos suaves y relativamente húmedos. Las variaciones de temperatura entre el verano y el invierno son moderadas debido al efecto amortiguador de la proximidad de grandes masas de agua. La precipitación anual varía de 200 a 1,400 mm, de los cuales al menos el 65% ocurre durante el invierno (Köppen, 1936). La temporada de verano se caracteriza por una sequía estacional, debido a que la evapotranspiración de referencia ( $ET_0$ ) es mucho más elevada que la precipitación. Este período de déficit hídrico coincide con la época de crecimiento de la vid.

#### 1.1.3.1 Fenología de la vid

La fenología es la ciencia que estudia la relación entre los ciclos de las plantas y los factores climáticos. La fenología estudia cómo ocurre el desarrollo y crecimiento de los órganos vegetativos y fructíferos, así como su relación con las condiciones climáticas y culturales (Jones et al., 2005). Aunque existan diferentes escalas para definir la fenología de la vid, las más clásicas y utilizadas son la escala de Baggiolini (1952) y la codificación BBCH (Lorenz et al., 1994).

La fenología de la vid está directamente relacionada con la temperatura (Parker et al., 2011), por lo que un aumento de temperatura debido al cambio climático puede repercutir sobre los estados fenológicos de la vid y sus tiempos de desarrollo (Cook y Wolkovich, 2016). De hecho, ya existen observaciones a nivel global de un acortamiento entre la brotación y la vendimia (Duchêne y Schneider, 2005; Moriondo et al., 2011; Xu et al., 2012). En las zonas de

clima mediterráneo, el principal efecto de los cambios en la fenología de la vid tiene su reflejo en la etapa de maduración, produciéndose ésta bajo condiciones ambientales mucho más cálidas.



Figura 3. Diferentes estados del ciclo vegetativo de la vid. Fuente: Urbina blog, 2019.

El ciclo reproductivo de la vid (Figura 3) es un proceso muy complejo, el cual está muy influenciado por las condiciones medioambientales y técnicas culturales a las que se ve sometido el viñedo durante dos años consecutivos. Pueden definirse cuatro etapas clave en la formación y desarrollo de la flor: inducción, iniciación y diferenciación (primer año); y diferenciación y brotación (segundo año).

Inducción y diferenciación de inflorescencias: durante el primer año tiene lugar la inducción, que consiste en la formación de un primordio reproductor (May, 2004). Una vez que se han diferenciado los primordios de las inflorescencias, zarcillos y pámpanos, empiezan a desarrollarse los meristemas, que se convertirán en flores en el segundo año. Entre los principales factores que afectan a la fertilidad de las yemas se incluyen la exposición a la luz, la temperatura y la disponibilidad de carbohidratos (Petrie y Clingeleffer, 2005).

Floración y cuajado: la formación y distinción de las diferentes partes de la flor comienza tras la brotación, en el segundo año del ciclo reproductor. Al igual que en los procesos de inducción, iniciación y diferenciación del primer año; la luz, la temperatura y la disponibilidad de carbohidratos son fundamentales en la floración (May, 2004). La transformación de flor en fruto (cuajado), es muy variable en función de la variedad, el clon y las condiciones medioambientales

(Keller, 2015). Durante esta etapa, cualquier incidencia que provoque una disminución de la disponibilidad de azúcares, como una reducción de la superficie foliar (Poni et al., 2008), puede favorecer el corrimiento (fallos en el cuajado) y, por lo tanto, una disminución de la tasa de cuajado, o lo que es lo mismo una disminución del número de flores que pasaran a ser frutos (Intrigliolo et al., 2018).

Crecimiento de las bayas: terminado el cuajado, comienza la fase de desarrollo del fruto; primeramente, con una multiplicación celular que durará aproximadamente 2-3 semanas. Transcurrido ese tiempo, la multiplicación celular cesa, dando lugar a una segunda etapa de ensanchamiento celular durante las siguientes 4-5 semanas, en la cual las bayas comenzarán a acumular azúcares y compuestos fenólicos hasta la fecha de vendimia (Keller, 2015).

#### *1.1.3.2 Necesidades hídricas de la vid*

La gestión y el manejo eficiente del agua en viñedos de clima árido o semiárido, como el mediterráneo, es esencial para la sostenibilidad y producción de uva (Feres y Evans, 2006; Romero et al., 2010). Más concretamente, en la uva para vinificación, el manejo del agua tiene una importancia adicional, ya que se considera una herramienta fundamental para controlar el crecimiento vegetativo, el rendimiento productivo y la composición de la uva (Feres y Evans, 2006; Chaves et al., 2010; Romero et al., 2010; Munitz et al., 2017).

Diversos autores han confirmado que un adecuado manejo del riego produciendo un ligero estrés hídrico en determinados momentos del ciclo vegetativo puede mejorar la calidad del vino, sin apenas reducir la producción (Girona et al., 2009; Intrigliolo y Castel, 2010; Romero et al., 2013; Munitz et al., 2017). Por el contrario, una mala gestión del riego en un estado fenológico muy sensible a la falta de agua, puede inducir a un estrés hídrico severo, reduciendo significativamente la producción, incluso en casos extremos llegando a afectar negativamente a la calidad de las bayas (Bravdo et al., 1985; Medrano et al., 2003; Chaves et al., 2010; Munitz et al., 2017). Si se mantiene un estrés hídrico severo continuado, puede verse afectado el crecimiento vegetativo e incluso a largo plazo puede verse reducida la vida de las cepas. En caso contrario, una estrategia de riego en la que no se aplique un ligero estrés hídrico o se aplique un exceso de agua, también puede resultar problemático, ya que puede causar un crecimiento vegetativo muy vigoroso lo que conlleva un mayor sombreado, una menor insolación y una menor aireación de los racimos. Todo ello puede inducir a la aparición de pudriciones e infecciones fúngicas. Además, el riego excesivo puede suponer un coste elevado para la explotación, principalmente en aquellas zonas con recursos hídricos subterráneos donde el coste energético para bombear el agua es muy elevado (Morrison y Noble, 1990; Chorti et al., 2010).

Un modelo de riego óptimo y preciso debe tener en cuenta los recursos hídricos disponibles y los objetivos productivos y enológicos del viticultor, en función de las condiciones edafoclimáticas y la superficie vegetal activa (Netzer et al., 2009). Los requerimientos hídricos de la vid son muy variables y dependen de diversos factores entre los que destacan las condiciones climáticas, el tipo de poda, la forma de conducción de la vegetación y la cantidad de uva producida (Williams y Ayars 2005).

Las necesidades hídricas de un viñedo quedan definidas por el agua transpirada por las cepas y la evaporada desde el suelo. Cuando existen cubiertas vegetales, hay que tener en cuenta además el agua transpirada por las mismas. Al conjunto del agua transpirada y evaporada se le conoce como evapotranspiración del cultivo ( $ET_c$ ) (Allen et al., 1998). Los principales factores que afectan a la evapotranspiración del cultivo son: la superficie foliar total, la arquitectura del dosel vegetal, la  $ET_o$ , que representa la demanda evaporativa de la atmosfera, la conductancia estomática de las hojas y la carga productiva, entre otros factores.

En zonas de producción de vinos con escasos recursos hídricos como en el sureste español, el conocimiento de las necesidades hídricas potenciales del viñedo es un primer paso importante para la determinación de los volúmenes de riego apropiados a los objetivos de producción y calidad. Para determinar la evapotranspiración de cultivo ( $ET_c$ ), el procedimiento estándar es multiplicar la  $ET_o$  por un coeficiente de cultivo ( $K_c$ ). La  $ET_o$  se calcula utilizando la ecuación de Penman-Monteith de la FAO (Doorenbos y Pruitt, 1977; Allen et al., 1998). El cultivo de referencia es un cultivo hipotético de 12 cm de altura, con una resistencia de superficie de  $70 \text{ m s}^{-1}$  y un albedo de 0.23, muy parecido a una superficie extensa de hierba verde, de altura uniforme, con crecimiento activo y bien regado (Allen et al., 1998). La obtención de la  $ET_c$  y su relación con la  $ET_o$  es el procedimiento estándar para la determinación del coeficiente de cultivo ( $K_c$ ), utilizado para un manejo del riego adecuado (Allen et al., 1998; Netzer et al., 2009). El  $K_c$  varía a lo largo de la temporada de crecimiento del cultivo dependiendo de: la radiación solar interceptada, el índice de área foliar y la etapa fenológica en la que se encuentra el cultivo (Peacock et al., 1987; Jagtap y Jones, 1989; Allen et al., 1998; Netzer et al., 2009). Más concretamente en el viñedo, el  $K_c$  puede variar según las prácticas de cultivo y el sistema de conducción del dosel vegetal (Williams y Fidelibus, 2016).

Diferentes métodos y técnicas se han empleado para la medida y estimación de la  $ET_c$  del viñedo, como son: métodos micrometeorológicos (Yunusa et al., 2004; Carrasco-Benavides et al., 2012), el modelo de balance de agua en el suelo usando medidas del contenido de humedad del mismo (Prior y Grieve, 1987), sensores de flujo de savia (Dragoni et al., 2006; Intrigliolo et al., 2009), un modelo simplificado del balance de energía de dos fuentes (Sánchez

et al. 2019) y técnicas de teledetección (Campos et al. 2010; Carrasco-Benavides et al., 2012; Vanino et al., 2015; Rozenstein et al., 2018). La técnica estándar de referencia más precisa para conocer los consumos de agua por la vid es el lisímetro de pesada (Howell et al., 1995; Allen et al., 2011), los cuales se han utilizado para medir el uso del agua en diferentes variedades, bajo condiciones climáticas y tipos de suelo distintos (Williams et al., 2005; López-Urrea et al., 2012; Picón et al., 2012). Para el cálculo de las dosis de riego en nuestro ensayo se utilizaron como punto de partida, los coeficientes de cultivos obtenidos por López-Urrea et al. (2012) en un viñedo de la variedad Tempranillo para la producción de vino sin limitaciones de agua, durante 3 campañas consecutivas en la provincia de Albacete.

Una vez conocidas las necesidades hídricas de la vid, se pueden calcular las dosis óptimas de riego para el viñedo, sin embargo, hay que tener en cuenta que el cambio climático podría afectar de forma diferente a la evapotranspiración de los cultivos ( $ET_c$ ). Aunque no está muy claro de qué forma afectará, ya que mientras que el aumento de la temperatura incrementará la  $ET_c$ , el aumento de la humedad y la concentración de  $CO_2$  podría contrarrestar el efecto de la temperatura sobre la  $ET_c$  (Snyder et al., 2011).

Las necesidades hídricas totales de la viña pueden variar entre 300 y 700 mm por año, dependiendo de la disponibilidad de agua, la variedad y la interacción de la planta con el medio ambiente (Martorell et al., 2015; Medrano et al., 2015; Hochberg et al., 2017). Generalmente, estas necesidades hídricas suelen ser bastantes mayores que el agua disponible en el suelo, especialmente en climas mediterráneos. Bajo los posibles escenarios de cambio climático, la escasez de agua será posiblemente, en un futuro no muy lejano, un factor aún más limitante para el cultivo de la vid, ya que los viticultores no sólo deberán aplicar agua para reducir el estrés hídrico, sino que será importante mejorar el estado hídrico de la vid para contrarrestar el posible estrés producido por eventos de calor extremo (Myers, 1988). Además, a largo plazo, un aumento del uso de agua de baja calidad para el riego del viñedo, podría provocar una paulatina salinización de los suelos afectando al desarrollo vegetativo y a la producción de las plantas.

## 1.2 Cambio climático y estreses abióticos

La población actual es de 7,700 millones de personas y continúa creciendo a un ritmo del 1.10%. Según el informe poblacional de las Naciones Unidas para el año 2100, habrá 11,200 millones de personas (ONU, 2017), y la sociedad tendrá el desafío de cubrir sus necesidades alimenticias. Para alimentar a toda esta población habrá que aumentar la superficie de producción agrícola por lo que se incrementará el consumo de agua de riego, que sumado a una

mayor variabilidad de las lluvias y al aumento de los periodos de sequía, hará insostenible la presión sobre los recursos hídricos en muchas partes del mundo (Hamilton et al., 2006).

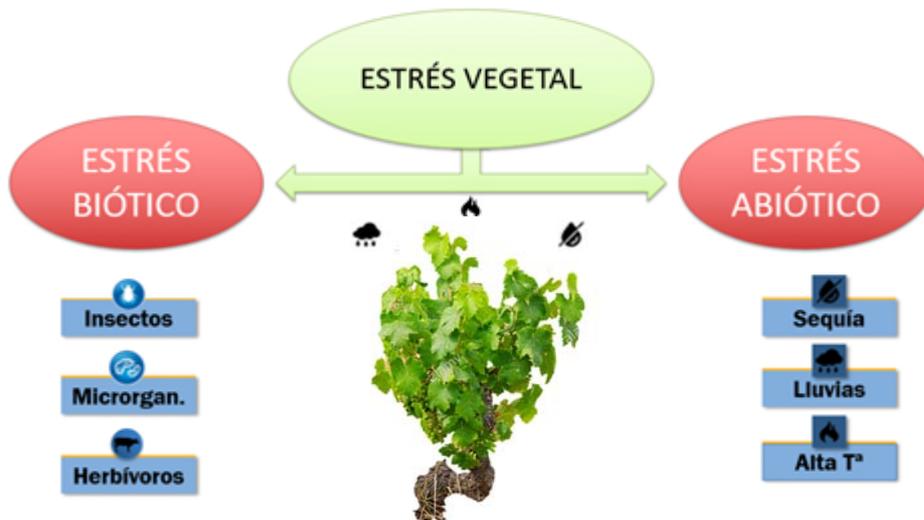


Figura 4. Cuadro resumen de estreses bióticos y abióticos en plantas de vid.

En las zonas de clima cálido como la mediterránea, se está modificando el ciclo vegetativo de la vid (debido en gran parte al aumento de la temperatura). Todo ello puede tener consecuencias negativas para la calidad de la uva, provocando un desequilibrio en la maduración tecnológica y la composición fenólica. Todo ello debido a una rápida acumulación de azúcares en la baya, en detrimento de un adecuado contenido fenólico, limitando por lo tanto la calidad de los vinos resultantes (Martínez-Moreno et al., 2019; Ollat et al., 2017). Este desequilibrio en la maduración de las bayas debido a un adelantamiento del ciclo fenológico de la vid, puede verse agravado tanto por estreses abióticos como bióticos (Figura 4); la presente Tesis Doctoral se centra en los estreses abióticos.

### 1.2.1 Cambio climático

La realidad del cambio climático es admitida por la gran parte de la comunidad científica (IPCC, 2019). Este cambio está causado fundamentalmente por las actividades humanas, en particular por la quema de combustibles fósiles y la emisión de gases de efecto invernadero. El principal cambio cuantificable es el aumento de temperatura, siendo cada uno de los tres últimos decenios más cálidos en la superficie de la Tierra que cualquier decenio anterior desde 1850 (Figura 5).

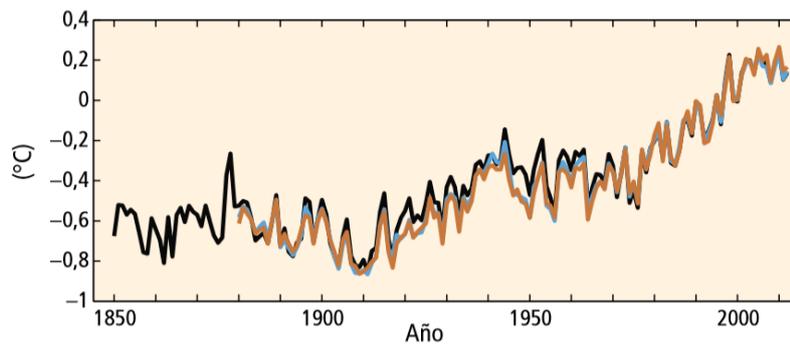


Figura 5. Anomalías del promedio anual (línea negra) y global de la temperatura de la superficie terrestre (línea marrón) y oceánica (línea azul), combinadas respecto del promedio del período de 1986 a 2005. Fuente: (IPCC, 2019).

Las recientes proyecciones realizadas por los paneles de expertos, arrojan un aumento en la frecuencia de los eventos climáticos extremos, como pueden ser: temperaturas muy frías, sequías, fuertes tormentas, olas de calor, fuertes precipitaciones e inundaciones. En las últimas décadas, el cambio climático ha causado impactos a lo largo de todo el globo terráqueo, tanto en sistemas naturales como en los humanos, pero la adaptabilidad de estos ecosistemas a este rápido cambio que se está produciendo está en duda (IPCC, 2019) (Figura 6).

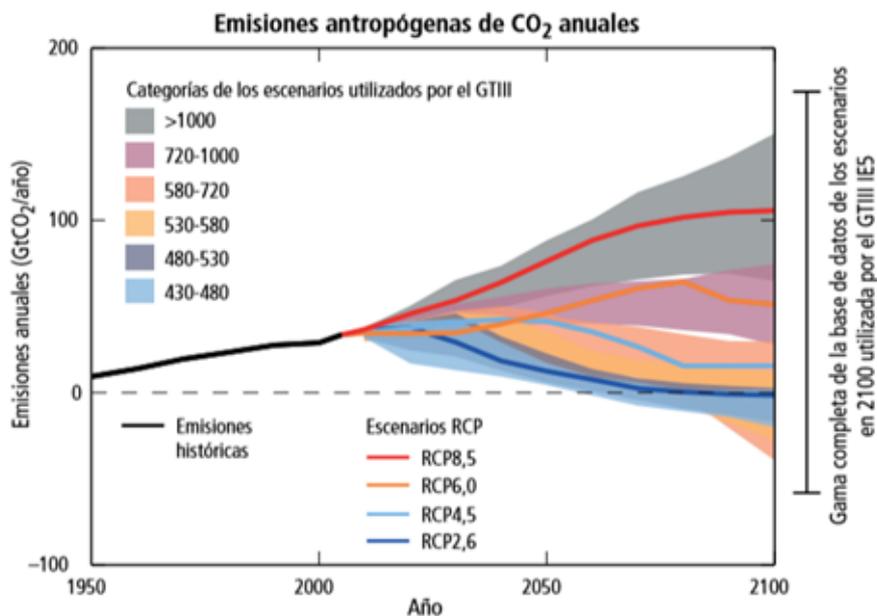


Figura 6. Escenarios posibles de emisiones de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) para el periodo 2000-2100. Fuente: (IPCC, 2019).

Las simulaciones realizadas con modelos climáticos, predicen para las próximas décadas un incremento de las temperaturas a nivel global. Además de un aumento de la precipitación, en zonas orientales de América, Europa septentrional y Asia septentrional y central (Figura 7).

Por el contrario, se estima una disminución de la precipitación en el Mediterráneo, sur de África y en ciertas partes del sur de Asia, aumentando la superficie afectada por las sequías en las últimas décadas (Dai, 2011). También se ha pronosticado un descenso de las precipitaciones en zonas subtropicales y de latitud media, donde la mayoría de estas reducciones se producen en la época estival (Bladé et al., 2012).

La mayoría de los estudios científicos están de acuerdo en un cambio en los patrones de precipitaciones en la cuenca mediterránea, aumentando la concentración de lluvias en otoño y disminuyendo en verano (Molina-Navarro et al., 2014). Además, Gates y Liess (2001) describen que debido a la erosión y deforestación se reducirá la evaporación del suelo y la transpiración de las plantas, resultando en una disminución de la precipitación en verano. En las zonas de clima mediterráneo, los patrones de precipitaciones son muy propicios a cambiar debido a un mayor número de días consecutivos sin lluvias, y a más días con lluvias torrenciales, haciendo significativo el descenso de la humedad y la retención de agua del suelo. Ante este escenario, el incremento del riesgo por sequía podría ser, si cabe, todavía más dramático en la península ibérica (Diffenbaugh y Giorgi, 2012).

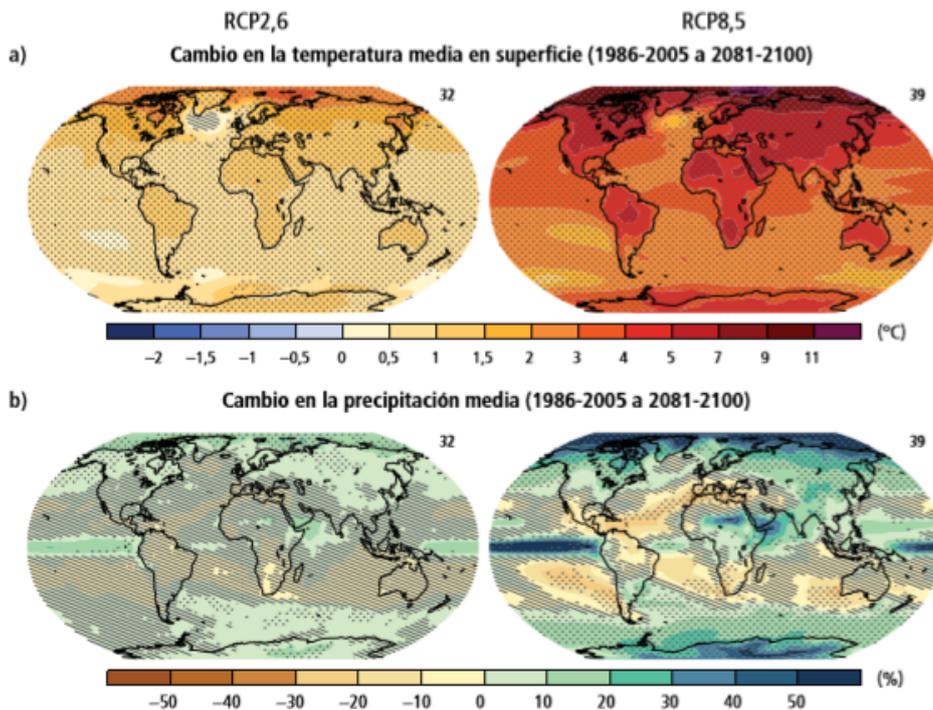


Figura 7. Cambio en la temperatura media en superficie (a) y cambio en la precipitación media (b) En la esquina superior derecha de cada mapa se indica el número de modelos utilizados para calcular la media multimodelo. Fuente: (IPCC, 2019).

Esta escasez de las precipitaciones afectará a la acumulación de agua dulce en acuíferos y pozos subterráneos, disminuyendo considerablemente la disponibilidad de agua durante los meses de verano, coincidiendo con la época de mayor demanda evaporativa y consumo de agua

por los cultivos en general y la vid en particular. Este cambio climático no solo está afectando a las reservas de agua del suelo, sino que, debido a las altas temperaturas y a la baja humedad relativa, puede incrementar también la demanda de agua en los meses más cálidos (Döll, 2012). Por otro lado, el efecto que tendrá el incremento en la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico en el consumo de agua no está del todo claro, debido a las complejas interacciones con las elevadas temperaturas y la respuesta estomática de las plantas (Martínez-Luscher, 2016). Además, otros autores, como Connor (2012), han declarado que una mayor evaporación unida a un descenso de la disponibilidad del agua provocará una salinización de los recursos hídricos disponibles. De acuerdo con el panel intergubernamental del cambio climático y sus posibles escenarios futuros, la zona mediterránea es especialmente sensible a dicho cambio. En climas mediterráneos, donde en los últimos años la maduración de las uvas, se ha llevado a cabo en condiciones climáticas más cálidas y con menores precipitaciones, el calentamiento global está afectando de forma directa a la viticultura, modificando la fenología de la vid y las condiciones de estrés, lo cual puede resultar en alteraciones de la composición final de la uva (Mira de Orduña, 2010) y por tanto del vino. Todo ello es debido a que los factores climáticos juegan un importante papel en la maduración de la fruta (Sadras, 2013).

El crecimiento de la vid se ve afectado por diversos factores ambientales como la concentración de CO<sub>2</sub> en la atmosfera, la temperatura ambiental y la disponibilidad de agua por la planta (Salazar-Parra et al., 2010). Por lo tanto, no cabe duda de que la vid es un cultivo sensible al cambio climático (Fraga et al., 2014; Kizildeniz et al., 2015). El impacto más visible que el cambio climático está produciendo en la vid a escala mundial, es el adelantamiento de la madurez de las bayas entre 4 y 8 días (Jones et al., 2005; Webb et al., 2011). Algunos autores han llegado a estimar un adelanto de hasta 50 días en la maduración de uva en Australia para el año 2050 (Webb et al., 2007), o incluso un avance de la maduración de hasta dos meses para finales de este siglo en algunas zonas de la Toscana italiana (Moriondo et al., 2011).

Otra de las consecuencias que va a tener el cambio climático en la viticultura, es la variación en la disponibilidad de agua para las plantas. En un estudio donde se realizó una simulación de la disponibilidad de agua para especies vegetales en Francia (Brisson y Levrault, 2010) se llegó a la conclusión de que es muy probable que en un futuro próximo se produzcan largos periodos sin precipitaciones y un incremento de la frecuencia de años con sequias severas. El déficit hídrico producido por la escasez de agua provoca disminuciones del rendimiento productivo: no solo de forma directa sobre el crecimiento de las bayas (Hardie y Considine, 1976; Matthews y Anderson, 1989), sino también reduciendo el potencial de rendimiento durante la temporada siguiente (Duchêne et al., 2014). En este mismo sentido, la combinación de altas temperaturas

y estrés hídrico pueden reducir el tamaño de las bayas aumentando la relación hollejo-pulpa (Bonada et al., 2015).

Pero sin duda alguna, la principal preocupación de los viticultores y enólogos ante el cambio climático son los cambios en la composición de la baya y la calidad del vino. Las altas temperaturas aceleran la degradación y combustión de los ácidos orgánicos, siendo menor esta degradación para el ácido tartárico que para el ácido málico (Buttrose et al., 1971; Kliewer, 1971). Por lo que variedades cuyas bayas contienen altas concentraciones de ácido tartárico podrían ser menos sensibles al cambio climático (Duchêne et al., 2014). El aumento de las temperaturas también puede perjudicar la acumulación de antocianinas en las bayas (Kliewer, 1970; Mori et al., 2007). También se ha observado que una mayor exposición solar puede afectar negativamente a la composición de las bayas. En este sentido, Bureau et al. (2000a, 2000b) estudiaron los efectos de la luz sobre los compuestos aromáticos comparando racimos expuestos al sol con racimos sombreados por hojas; concretamente, cuantificaron las moléculas de la familia de los terpenos (que participan en aromas de tipo moscatel). El mayor contenido de terpenol se observó en los racimos sombreados. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por Reynolds y Wardle (1993) que reflejan como las zonas de cultivo más frescas fueron más favorables a la acumulación de monoterpenos que las zonas templadas. En términos generales, puede decirse que el aumento de temperaturas en climas cálidos es generalmente desfavorable para la calidad del vino (Jones et al., 2005; Moriondo et al., 2011; Tonietto y Carbonneau, 1998, 2004).

Por todos estos motivos, adaptar la viticultura al cambio climático y sus consecuencias en la vid, es de vital importancia para el sector vitivinícola, ya que la tipicidad y la herencia vitivinícola de los últimos cientos de años está en compromiso (Moriondo et al., 2013).

### 1.2.2 Estreses abióticos

El estrés abiótico se define como el impacto negativo de factores no vivos en los organismos vivos en un entorno específico, provocando un descenso del crecimiento y de la producción por debajo de niveles óptimos.

Como consecuencia del calentamiento global, los patrones climáticos están cambiando más rápido de lo previsto. Los estreses abióticos como la sequía, la salinidad, la radiación solar, el viento, el calor, el frío, la toxicidad química, las heladas y los desequilibrios y deficiencias nutricionales (Figura 8), están siendo ampliamente estudiados, ya que reducen drásticamente el rendimiento y la calidad de las producciones obtenidas (Etesami y Jeong, 2018; Laloum et al., 2018; Stirbet et al., 2018).

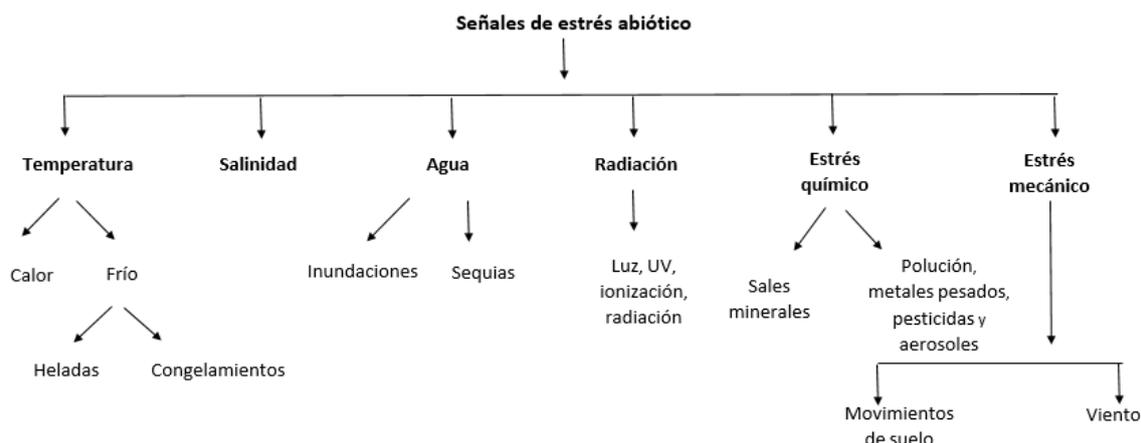


Figura 8. Diferentes tipos de impactos abióticos en el viñedo. Fuente: (Akula, 2011).

### 1.2.2.1 Estrés hídrico

La producción de alimentos y el uso de agua están relacionados de forma inseparable. El agua es el principal factor limitante en la producción agrícola, siendo un factor determinante en la distribución de especies y variedades vegetales en todos los ecosistemas y, en particular, en aquellas regiones donde las precipitaciones no son suficientes para satisfacer la demanda hídrica de los cultivos (Bradford y Hsiao, 1982). Así pues, se estima que únicamente un 10% de la superficie de la tierra arable se encuentra libre de algún tipo de estrés (Benavides, 2002). Existe un alto porcentaje de tierra cultivable que experimenta momentos de sequía cada año, especialmente en climas áridos y semiáridos como el mediterráneo.

Las plantas experimentan estrés hídrico cuando la disponibilidad de agua para las raíces es limitada o cuando la tasa de transpiración es muy alta; dicho estrés es causado fundamentalmente por el déficit de agua, es decir, por falta de agua o una alta concentración de sales en el suelo. En el caso de una alta concentración salina, puede existir agua en el suelo, pero las plantas no son capaces de absorberla, debido a la gran diferencia de potencial osmótico existente, lo que reduce la transpiración en las plantas y por lo tanto su productividad.

El estrés hídrico afecta a las plantas en varios niveles de su organización, de hecho, la sequía no solo afecta a las relaciones hídricas de la planta debido a la reducción del contenido en agua, la turgencia de las células y el agua total, sino que también limita la apertura estomática, limitando el intercambio gaseoso y reduciendo la transpiración, por lo que se reduce la tasa de asimilación de carbono (Medrano et al., 2003). También existen efectos negativos del estrés hídrico sobre la absorción y transporte de nutrientes, lo que conlleva una disminución del área foliar y una alteración en la acumulación de los asimilados en los órganos de la planta.

### 1.2.2.2 Estrés salino

El aumento de la población a nivel mundial lleva asociado un aumento de la superficie de producción agrícola para satisfacer las necesidades de consumo. Este aumento productivo obliga a incrementar el consumo de agua destinada para riego. Esto ha hecho que el sector agroalimentario centre su atención en la utilización de aguas no convencionales para el regadío y suplir así, en parte, la escasez de los recursos hídricos existentes. El concepto de aguas no convencionales hace referencia a la utilización de aguas disponibles para su uso agrícola sin que se aumente la carga sobre los recursos de agua dulce disponibles. Ejemplos de estos tipos de aguas serían: aguas desalinizadas, aguas residuales y aguas procedentes de drenajes agrícolas; muchas de las cuales tienen una gran concentración de metales pesados, patógenos y una gran demanda de oxígeno biológico (Mosse et al., 2013). Además, el contenido de sal en estas aguas recicladas, y las concentraciones de iones específicos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ), pueden afectar a la estructura del suelo y en definitiva al rendimiento de las plantas (Laurenson et al., 2012; Mosse et al., 2013; Netzer et al., 2014). En ciertas áreas, como el Mediterráneo, la reutilización del agua puede considerarse como una solución rentable para suplir la carencia de otros recursos hídricos convencionales. Si bien es cierto que los efectos beneficiosos del uso de aguas regeneradas a corto plazo son ampliamente reconocidos, los efectos perjudiciales a medio y largo plazo han de ser estudiados, ya que la acumulación de sales en el suelo procedente de estas aguas regeneradas provoca un estrés salino y un paulatino deterioro de la estructura del suelo, repercutiendo negativamente sobre el rendimiento productivo de los cultivos (Laurenson et al., 2012; Costa et al., 2016).

Cuando hay un exceso de sales solubles en el suelo, se dice que dicho suelo es salino. El crecimiento de la planta puede verse afectado si estas sales alcanzan concentraciones altas que limiten la disponibilidad de agua por la planta. Los cloruros, sulfatos y el sodio son los iones más abundantes y comunes en los suelos salinos. El exceso de minerales en los suelos puede ser un problema importante en las regiones áridas y semiáridas, debido a que las precipitaciones son insuficientes para lixiviar los iones minerales de las capas del suelo más superficiales, donde se encuentran las raíces.

En suelos salinos, si bien muchas plantas se ven afectadas adversamente por la presencia de niveles relativamente bajos de sal, otras plantas pueden sobrevivir a niveles salinos altos (plantas tolerantes a la sal) o incluso prosperar (halófitas) en tales condiciones. Los mecanismos por los cuales las plantas toleran la salinidad son complejos, e involucran síntesis molecular, inducción de enzimas y transporte de membrana (Acosta-Motos et al., 2017). En algunas especies, los minerales en exceso no son absorbidos; en otras, los minerales son

absorbidos pero excretados de la planta por las glándulas de sal asociadas con las hojas. Para prevenir la acumulación tóxica de iones minerales en el citosol, muchas plantas pueden secuestrarlos en la vacuola (Stewart y Ahmad, 1983).

El aumento de la salinización del suelo podría representar una seria amenaza para la producción de uva (Figura 9), ya que la mayoría de los viñedos con riego, especialmente bajo riego deficitario, están en riesgo de salinización debido a las sales disueltas en el agua de riego (Keller, 2010). Los efectos nocivos de la salinidad en el crecimiento de la planta son causados por un efecto osmótico, en el que el aumento de la concentración de sal soluble en la solución del suelo impone una sequía osmótica a la planta y un efecto tóxico en el que las concentraciones tisulares del cloruro y del sodio aumentan hasta niveles tóxicos (Marschner, 1986).

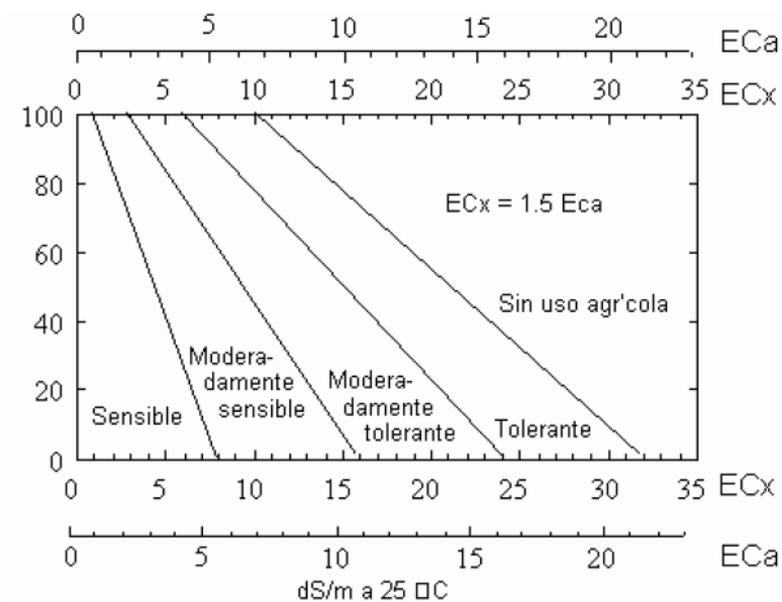


Figura 9. Relación entre conductividad eléctrica y rendimiento de los cultivos. Fuente: Nauriyal y Gupta (1967).

Una alta concentración salina en el suelo interfiere en el crecimiento y desarrollo de la planta, además puede conducir a condiciones de sequía fisiológica y toxicidad iónica (Zhu, 2007). Algunos de los efectos adversos que se producen en los cultivos sometidos a un alto estrés salino pueden ser: 1- Alteraciones en la mayoría de los aspectos fisiológicos y procesos metabólicos de las plantas causando tanto un estrés hiperiónico como hiperosmótico, que conducen a la muerte de la planta; 2- Mayor dificultad de la planta para absorber agua y nutrientes; 3- Estrés específico que altera el ratio de absorción  $K^+/Na^+$ ; 4- Acumulación de concentraciones de  $Na^+$  y  $Cl^-$  en el citosol, que en última instancia pueden ser perjudiciales para la célula.

Altas concentraciones de sodio (por encima de 100 mM) son tóxicas para el metabolismo celular y pueden inhibir la actividad de muchas enzimas esenciales, la división y expansión celular, la desorganización de la membrana y el desequilibrio osmótico, lo que finalmente puede conducir a la inhibición del crecimiento. Además, la acumulación de sodio también puede conducir a una reducción en la fotosíntesis y un aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las alteraciones en los iones  $K^+$  (debido al impacto del estrés por alta salinidad) pueden alterar el equilibrio osmótico, la función de los estomas y de algunas enzimas. La elevada salinidad también puede dañar las células en las hojas que transpiran, lo que conduce a la inhibición del crecimiento. Este efecto salino específico de las sales provoca un efecto tóxico en el interior de la planta. La sal puede concentrarse en las hojas viejas y provocarles la muerte, lo que es crucial para la supervivencia de una planta (Munns y Tester, 2008).

### 1.3 Estrés hídrico y salinidad en viticultura

#### 1.3.1 Estrés hídrico en la vid

El manejo y la gestión eficiente del agua es un factor clave para la sostenibilidad de la viticultura. La producción de uva, su calidad y viabilidad económica dependerán en gran medida de la disponibilidad de agua en el suelo y de las relaciones hídricas de las cepas (Medrano et al., 2015). Especialmente en el sur de Europa, la vid ha sido cultivada tradicionalmente en áreas semiáridas y sin aporte de riego, estando incluso prohibida esta práctica hasta el año 1996. Sin embargo, debido a la escasez de precipitaciones durante el periodo estival en la cuenca mediterránea, las vides suelen sufrir un estrés hídrico (Gaudillère et al., 2002), el cual tiene un efecto directo sobre el crecimiento vegetativo, el rendimiento productivo, el microclima del dosel vegetal y el metabolismo de las bayas (Pellegrino et al., 2005; Ezzhaouani et al., 2007). En este sentido, la respuesta de la vid al estrés hídrico es compleja e involucra diferentes aspectos, tanto agronómicos, como fisiológicos y moleculares (Lovisol et al., 2010; Chaves et al., 2011).

##### *1.3.1.1 Respuestas fisiológicas de la vid frente al estrés hídrico*

Aunque la vid muestra una tolerancia al estrés hídrico relativamente alta (Cramer et al., 2007), el efecto combinado de la sequía, la temperatura elevada del aire y la fuerte demanda evaporativa durante el verano en zonas semiáridas, provoca una reducción significativa de la fotosíntesis, limitada por el cierre de estomas; ya sea en respuesta a una disminución del potencial del agua de las hojas o a un aumento del déficit de presión de vapor del aire. Todo ello puede conducir a una reducción importante de la producción y calidad de la uva (Moutinho-Pereira et al., 2004; Chaves et al., 2007).

De todos los mecanismos fisiológicos que tiene la planta para contrarrestar el estrés hídrico, el control estomático es sin duda el más importante de ellos (Tomàs et al., 2014). Dicho control estomático está controlado en parte, por la acción de hormonas producidas durante la sequía como el ácido abscísico (ABA) (Dodd, 2005) y está influenciado por el potencial hídrico de la hoja (Brodribb y Cochard, 2009). Ante un estrés hídrico, la regulación de la apertura estomática es fundamental para la mejora de la eficiencia del uso del agua (EUA) en la vid (Escalona et al., 2012, 2013; Tomás et al., 2014).

Algunos genotipos tienen mejor regulación estomática bajo estrés hídrico que otros y han sido clasificados como isohídricos. Otros genotipos a su vez, tienen un menor control sobre la abertura estomática frente al estrés hídrico y han sido clasificados como anisohídricos (Schultz, 2003; Soar et al., 2006). Actualmente esta clasificación está bajo controversia, ya que los genotipos se comportan de manera diferente de acuerdo con las condiciones ambientales, climáticas y edáficas en las que se encuentren (Chaves et al., 2010; Lovisolo et al., 2010).

Cabe destacar el papel de las acuaporinas (proteínas de membrana encargada de transportar el agua a través de los compartimentos de las células) y su relación con el comportamiento isohídrico/anisohídrico de las vides (Vandeleur et al., 2009; Pantin et al., 2013). De hecho, se sabe que la regulación hídrica de las vides implica diferentes señales hormonales e hidráulicas que controlan la permeabilidad celular, en gran medida mediante modificaciones de la expresión y la actividad de las acuaporinas (Chaumont y Tyerman, 2014). Recientemente, estudios comparativos han investigado la relación de la transcriptómica, la metabolómica y la fisiología en respuesta al estrés hídrico (Dal Santo, 2016; Rocheta, 2016). Sin embargo, todavía no se dispone de estudios que integren datos genómicos para la identificación de los rasgos genéticos responsables de la respuesta de las diferentes variedades frente al estrés hídrico en vid. Recientemente, el uso de la biología de sistemas y uso de perfiles metabólicos han revelado respuestas metabólicas coordinadas de la vid en respuesta al estrés hídrico (Hochberg et al., 2013; Cardone et al., 2019). Por lo tanto, la mejora de la caracterización a nivel molecular de las variedades, puede contribuir a profundizar la comprensión de los mecanismos de adaptación de la vid al estrés hídrico (Vincent et al., 2007; Galmés et al., 2007; Vandeleur et al., 2009).

#### *1.3.1.2 Respuesta agronómica e importancia del portainjerto*

Ante un estrés hídrico, en las plantas de vid se pueden observar dos tipos de respuestas:

- i) a nivel de hoja, con un control instantáneo del flujo de la transpiración a través de los estomas.
- ii) a nivel de planta, y su capacidad de adaptación durante largos periodos de estrés fundamentalmente reduciendo el crecimiento vegetativo (Schulze et al., 1987).

La capacidad de las vides para adaptarse a ambientes secos es más que conocida. Las vides desarrollan diferentes estrategias frente al estrés hídrico como (i) reducción del ciclo fenológico, (ii) reducción de la transpiración y aumento de la absorción de agua, (iii) mantenimiento del crecimiento a través de mecanismos de adaptación (Tardieu, 2005; Verslues y Juenger, 2011). Desde un punto de vista agronómico, la adaptación debe definirse como la capacidad de mantener el rendimiento y la maduración de la fruta bajo la limitación del agua (Medrano et al., 2015).

En términos generales un estrés hídrico en las vides reducirá el crecimiento de los pámpanos (Matthews et al., 1987; Schultz y Matthews, 1988), el rendimiento productivo (Kliwer et al., 1983; Jackson, 1991; Chaves et al., 2010; Flexas et al., 2010) y el tamaño de la baya (Considine y Knox, 1979; Matthews et al., 1987), siendo el periodo más sensible de la vid al estrés hídrico para el desarrollo del fruto, el comprendido entre la floración y el cuajado (Hardie y Considine, 1976)

Aunque la vid es un cultivo bien adaptado a climas áridos y semiáridos (Chaves et al., 2003), es particularmente susceptible al estrés por déficit hídrico en los estados fenológicos de floración y cuajado. En dicho periodo, un estrés hídrico puede provocar una menor tasa de cuajado, lo que afecta directamente al rendimiento (Keller, 2015). Además, un déficit hídrico de las vides entre la brotación y la floración (Smart, 1974) o entre la floración y el comienzo del envero (VanZyl, 1984) da lugar a una reducción significativa del peso de la baya en comparación con vides que no han sufrido ningún estrés hídrico (Gerós et al., 2016).

Como hemos visto anteriormente, los mecanismos de adaptación de la vid al estrés hídrico son complejos y dependen en gran medida del genotipo de la vid, determinado tanto por el portainjerto como la variedad (Gerós et al., 2016). La variabilidad genética de los portainjertos de vid desempeñará sin duda un papel fundamental en la adaptación a los futuros cambios en el clima, especialmente en la escasez de agua (Walker, 1992; Serra et al., 2013). Hoy en día, más del 80% de los viñedos de todo el mundo utilizan plantas injertadas: variedades de *Vitis vinifera* injertadas en portainjertos de especies únicas de *Vitis* americanas o híbridos interespecíficos del género *Vitis*, que combinan características deseables de su parentesco (Smith, 2004). En consecuencia, la vid cultivada es una combinación de dos genomas. El genotipo del portainjerto representa el sistema radicular de la vid, es decir, el vínculo entre el entorno edáfico y la planta. Los portainjertos son responsables de la absorción de agua y minerales, y desempeñan un papel importante en el almacenamiento de sustancias de reserva. El punto de injerto define la interfaz entre la parte aérea y la raíz. En la Figura 10 se resumen las

características más importantes relacionadas con la interacción patrón injerto que pueden determinar la capacidad de adaptación al estrés hídrico.

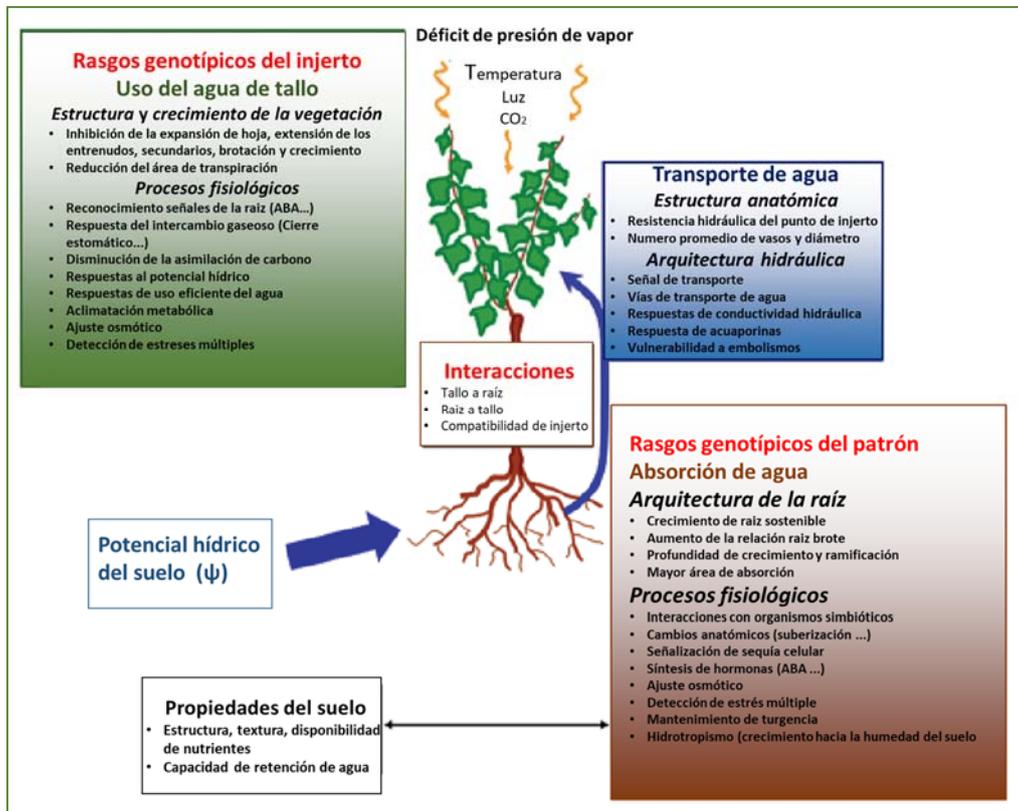


Figura 10. Representación esquemática de las complejas interacciones portainjerto-variedad que afectan a la respuesta de la vid a la sequía. Fuente: modificada a partir de Gerós et al. (2016).

Gerós et al. (2016) en una amplia revisión de las características de los portainjertos más utilizados, describió la influencia de estos en la adaptación al estrés hídrico de la planta, en nuestro caso, mencionamos el portainjerto conocido como 110 R (*V. berlandieri* Ressayre N°2 × *V. rupestris* Martin) como muy tolerante al estrés hídrico.

En cuanto a la variedad objeto de esta Tesis (Monastrell), los resultados obtenidos por Riquelme y Martínez-Cutillas (2018) parecen indicar que la variedad Monastrell presenta características óptimas de tolerancia a la sequía, que le confieren una alta capacidad de adaptación a condiciones de estrés hídrico. Algunas de estas características son: un sistema fotosintético resistente a diferentes tipos de estrés y una rápida respuesta estomática ante un estrés hídrico. Por otro lado, estos autores observaron que, ante un estrés hídrico, en la variedad Monastrell se producía un significativo incremento en la eficiencia de intercambio gaseoso, un buen ajuste osmótico, una reducción de la conductancia hidráulica de la raíz y de la planta y, por último, una reducción significativa del área foliar, con el fin de reducir el consumo de agua, así

como conseguir un aumento de la relación de biomasa raíz/parte aérea (Riquelme y Martínez-Cutillas, 2018).

#### *1.3.1.3 Manejo en la gestión del agua en el suelo*

La optimización del uso del agua en los viñedos para mitigar los posibles efectos negativos producidos por el estrés hídrico, es un tema de gran interés en la industria vitivinícola, para garantizar la sostenibilidad de las vides a largo plazo. En consecuencia, un gran número de investigaciones se han centrado en la exploración de la capacidad para optimizar el uso del agua por la vid (Chaves et al., 2010; Romero et al., 2010).

Un buen manejo del suelo puede mejorar la capacidad de éste para almacenar agua y por tanto, aumentar la disponibilidad de agua para las plantas. Esta mayor capacidad se puede conseguir mediante diferentes técnicas culturales como pueden ser: i) el aporte de materia orgánica al suelo (Medrano et al., 2015), ii) la incorporación de acolchado orgánico (Nguyen et al., 2013; López-Urrea et al., 2020), iii) la implantación de cubiertas vegetales (cabe destacar que esta técnica no es muy utilizada en ambientes semiáridos ya que las ventajas de su uso no siempre son claras ni rentables, Hartwig y Ammon, 2002), iv) el manejo de la vegetación (Prieto, 2011) y, por último, diferentes estrategias de manejo del riego (Flexas et al., 2010).

En cuanto al manejo del riego, la estrategia que más se ha desarrollado y utilizado para reducir la cantidad de agua aplicada a las vides es el riego deficitario, que se basa en aportar la cantidad mínima de agua, generando un cierto grado de estrés hídrico, que es capaz de mantener la calidad de la uva, sin grandes mermas en el rendimiento. Se han desarrollado dos variantes de esta estrategia de riego: el riego deficitario controlado y el secado parcial de la zona radicular (Kriedemann et al., 2018; Romero et al., 2019).

El riego deficitario controlado se basa en el principio de que la sensibilidad de la planta al estrés hídrico, no es constante durante todas las etapas fenológicas. Por lo tanto, el riego en cantidades menores de la  $ET_c$  durante períodos específicos puede reducir en gran medida el vigor y mejorar la calidad de la cosecha, disminuyendo también la cantidad de agua utilizada (Chalmers et al., 1981; Loveys et al., 2004; McCarthy et al., 2002). Además, esta técnica es muy versátil y se puede aplicar en diferentes etapas fenológicas de la vid, para lograr diferentes objetivos. Por ejemplo, reducir el vigor y el tamaño de las bayas (McCarthy et al., 2002) o para incrementar la concentración de antocianos en las bayas (Dry et al., 2001). Esta estrategia de riego requiere mantener el potencial hídrico de la vid en un estrecho umbral mediante la regulación del riego en función de las condiciones climáticas. Una reducción drástica de la aplicación de agua puede ocasionar pérdidas excesivas de rendimiento y calidad, y un riego

excesivo puede anular las ventajas de utilizar esta estrategia al aumentar el vigor y producir un efecto dilución en las bayas (Jones, 2004).

La aplicación del riego deficitario ha sido estudiado en la variedad Monastrell dando buenos resultados en términos de productividad, ahorro de agua, mejora de la EUA y mejora de la calidad de la uva y el vino en condiciones semáridas (De La Hera-Orts, 2004,2005; Romero et al., 2010, 2013, 2016a; Romero y Garcia, 2019). Romero et al., (2016 a,b) durante 7 años en un viñedo de Monastrell injertado en 1103P, compararon estrategias de riego deficitario (1,100 m<sup>3</sup>/ha/año) frente a un tratamiento que satisfacía ampliamente las necesidades hídricas de las vides (3,000 m<sup>3</sup>/ha/año). Los autores llegaron a las siguientes conclusiones: i) el riego deficitario reduce la producción de uva, pero aumenta la eficiencia productiva del uso del agua (kg/m<sup>3</sup>), ii) el riego deficitario mejora el microclima del racimo, debido a un menor desarrollo de área foliar, iii) el riego deficitario reduce el tamaño de las bayas, reduciendo el contenido de agua en la baya, produciendo un efecto de concentración de metabolitos e incrementado la calidad de la baya, iv) desde un punto de vista económico, el riego deficitario aumenta la eficiencia productiva (€/m<sup>3</sup> de agua de riego), v) por último, se establecieron unos umbrales óptimos de parámetros agronómicos y fisiológicos para incrementar el contenido de compuestos fenólicos y optimizar el cultivo de la variedad Monastrell en condiciones de estrés hídrico:

- Ratio producción/peso de poda: 5.0-5.5 kg/kg
- Ratio área foliar total/producción: 1.8-2.0 m<sup>2</sup>/kg
- Índice de Toda: 1.5-2.0 m<sup>2</sup>/kg/m
- Potencial hídrico de tallo a mediodía: -1.20 y -1.35 MPa

Por otro lado, el secado parcial de raíces, implica humedecer y secar aproximadamente la mitad del sistema de raíces de las plantas en ciclos de 8 a 14 días, dependiendo del tipo de suelo. Este sistema requiere una doble manguera de riego controlada por diferentes válvulas, que permiten regar la mitad del sistema radicular dejando la otra mitad secando en un ciclo, y cambiar los lados para humedecer y secar en el siguiente ciclo. El lado húmedo proporciona suficiente agua a la planta para evitar el estrés hídrico, mientras que la parte seca se relaciona con la reducción de la conductancia estomática (Zhang et al., 1987). Esta estrategia se basa en el conocimiento de que bajo un estrés hídrico las raíces producen señales hormonales, principalmente ABA, una hormona responsable del cierre del estoma e inhibición del crecimiento.

### 1.3.2 Estrés salino en la vid

Como ya se ha comentado anteriormente, el problema de la salinidad en la vid hace referencia a una alta concentración de sales solubles en el suelo o en el agua de riego (Walker et al., 2010).

En regiones áridas y semiáridas con escasez de precipitaciones, el riego de la vid va a estar determinado por la demanda hídrica de la planta. En estas circunstancias, la calidad del agua de riego adquiere un gran protagonismo, pudiendo afectar tanto a la producción como a la calidad de la uva. El riego con aguas de calidad media y baja puede conducir a una acumulación de sales en el suelo afectando negativamente al rendimiento y la composición de la uva, aunque la magnitud de estos efectos dependerá de muchos factores como son: la textura y profundidad del suelo, la variedad, el portainjerto, el momento de aplicación del agua, así como la concentración de sal en el agua de riego y la duración del estrés salino (Mirás-Avalos e Intrigliolo, 2017)

#### 1.3.2.1 Acumulación de sales en el suelo y sistema de riego

En zonas semiáridas, como la mediterránea, la utilización de aguas salinas puede considerarse una alternativa rentable para la viticultura, ya que proporciona una solución adaptativa al cambio climático (Costa et al., 2016). Aunque el uso de aguas salinas para el riego podría mitigar el estrés por sequía, los efectos perjudiciales producidos por la salinidad a medio-largo plazo deben ser cuantificados (Laurenson et al., 2012; Costa et al., 2016). El aumento de la salinización en los suelos podría representar una seria amenaza para el cultivo de la vid, ya que la mayoría de los viñedos de regadío, especialmente aquellos con riego deficitario, están en riesgo debido a las altas concentraciones de sales disueltas en el agua (Keller, 2010). Además, el uso del riego puede elevar la capa freática y, si ésta es salina, un aumento del flujo por capilaridad podría contribuir al aumento de la salinidad en la zona radicular (Keller, 2015).

Cuando la concentración de  $\text{Na}^+$  en relación con el  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en el agua de riego es alta, se puede llegar a alterar la estructura y conductividad hidráulica del suelo, llegando el suelo a convertirse en sódico, afectando negativamente a los cultivos (Hart et al., 1974). En términos generales la acumulación salina será más severa en suelos arcillosos, generalmente más pesados, que en suelos arenosos (Shainberg y Letey, 1984). Por tanto, cuando se utilizan aguas salinas para el riego de la vid, habrá que optimizar tanto el manejo del riego como las técnicas de laboreo.

El riego por aspersión con aguas salinas ha demostrado ser menos eficaz y tener una incidencia más negativa sobre la acumulación de sales tóxicas en las hojas y la madera (Francois

y Clark, 1979; Stevens et al., 2011). Sin embargo, es frecuente observar acumulación de sales en sistemas de riego por goteo de alta frecuencia (Stevens y Walker, 2002).

Cuando se dispone de agua de buena calidad y suelo adecuado, las sales pueden lavarse manejando la fracción de lixiviación de forma adecuada (Walker et al., 2005). Los suelos con un buen drenaje requerirán una fracción de lixiviación más baja para lograr conductividades eléctricas por debajo de niveles perjudiciales para la vid (Stevens, 2002).

#### *1.3.2.2 Efectos de la salinidad y respuesta fisiológica de la vid*

Existen tres aspectos que influyen negativamente en el cultivo de la vid en zonas con problemas de salinidad: la degradación de la estructura del suelo, la limitada capacidad de acceso al agua a través de la presión osmótica del suelo y el desequilibrio iónico (Conde et al., 2011)

La salinidad produce una disminución del potencial hídrico del suelo, lo cual conduce a una mayor dificultad de las plantas de vid para absorber agua, pudiendo ocasionar un déficit hídrico severo en las plantas (Downton y Loveys, 1981; Walker et al., 1981; Cramer et al., 2007). Esto es lo que se conoce como efecto osmótico de la salinidad. Si la salinidad persiste, se produce el colapso del gradiente de potencial hídrico de la vid, el cual es necesario para la expansión celular (Munns y Tester, 2008).

En algunos estudios se ha observado que el crecimiento de las raíces de las vides es más sensible a la salinidad que el crecimiento de los pámpanos o el desarrollo foliar (Hawker y Walker, 1978). Una razón para la disminución en el crecimiento de la raíz puede ser, que la disminución en el potencial osmótico del suelo limita la presión de turgor de las células de la punta de la raíz en expansión, de modo que las raíces ya no pueden abrirse paso a través del suelo (Bengough et al., 2011). El deterioro del crecimiento de las raíces, la respiración y la absorción de agua restringen aún más el crecimiento de la vid, el rendimiento y la calidad de las bayas (Shani et al., 1993; Shani y Ben-Gal, 2005).

La disminución del potencial hídrico de la hoja, en condiciones salinas, asociado al incremento de ABA procedente de la raíz, también induce al cierre de estomas, por lo que a su vez disminuye la transpiración y la fotosíntesis, teniendo consecuencias en la producción de azúcares y su exportación a otras partes de la planta (Downton et al., 1990; Shani y Ben-Gal, 2005).

Algunos estudios han demostrado que los patrones más sensibles al efecto osmótico producido por la salinidad, son aquellos que tienen una mayor capacidad para restringir la

acumulación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , lo cual se traduce en una mayor dificultad para realizar el ajuste osmótico (Downton, 1985; Stevens y Walker, 2002; Zhang et al., 2002).

El efecto específico tiene lugar cuando una alta acumulación de iones salinos (principalmente  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ ) en la solución del suelo conduce, bien a un desequilibrio nutricional, alterando la absorción de otros nutrientes esenciales (por ejemplo  $\text{K}^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) o bien a una acumulación en las hojas produciendo un efecto de toxicidad específica (Maas y Grattan, 2009). Un ejemplo de este efecto se observó claramente en un estudio realizado con esquejes enraizados de la variedad Sultanina, donde se demostró que concentraciones superiores a 150 mM de  $\text{Cl}^-$  en la laminilla media producían daños irreversibles en las hojas (Walker et al., 1981). Una alta concentración de iones salinos puede por tanto paralizar el crecimiento de los brotes secundarios y producir quemaduras (márgenes necróticos) en las hojas más viejas, continuando la progresión de los síntomas necróticos hacia el peciolo, mientras que los nervios principales de las hojas permanecen verdes (Williams y Matthews, 1990; Williams et al., 1994). Dicha lesión por sal, es el resultado de la acumulación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en las hojas que transpiran (es decir, las concentraciones de iones aumentan gradualmente a medida que la corriente de transpiración deposita iones de sal en las hojas) hasta el punto en que las vacuolas ya no pueden contener estos iones. En este caso, se produce una acumulación en el citoplasma que conduce a una inhibición enzimática (intoxicación por sal) y a una acumulación de iones en las paredes celulares, provocando la deshidratación de las células; ambas situaciones dan como resultado la muerte celular (Munns, 2002). El contenido umbral de  $\text{Cl}^-$  para la necrosis marginal parece estar alrededor del 2.5% del peso seco de la hoja (Walker et al., 1981). En la Figura 11 se observan hojas de vid con síntomas de toxicidad específica de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$ .



Figura 11. Síntomas de toxicidad de Cloruro (izq) y de sodio(dcha) en hojas de vid (Walker, 2010)

En la Figura 12 se observan vides afectadas por salinidad. Los síntomas de necrosis en las hojas, la reducción del desarrollo, y la inhibición de la maduración se han achacado a los aumentos interestacionales de la concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en las hojas (Prior et al., 1992a, 1992b) y en la madera (Stevens et al., 2011).



Figura 12. Planta de vid afectada severamente por la salinidad (Walker, 2010).

Como consecuencia de los efectos descritos anteriormente, se produce una acumulación en las hojas a nivel celular de ROS, lo que induce daño oxidativo a la membrana celular, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, conduciendo a la interrupción de los procesos metabólicos celulares que inhiben el crecimiento y desarrollo óptimo de las vides (Skopelitis et al., 2006). Otra de las consecuencias del estrés oxidativo, es un aumento de la fotorespiración producido por una sobrecarga de energía, lo cual conduce a un declive de la eficiencia fotosintética (Downton, 1977; Walker et al., 1981; Downton et al., 1990; Cramer et al., 2007). Frente a esta situación de estrés oxidativo, las vides desarrollan estrategias de defensa, impulsando sistemas antioxidantes (ciclo del glutatión y xantofila) que capturan e inactivan algunas de las ROS (Cramer et al., 2007). Las poliaminas podrían también jugar un papel importante en la protección de los aparatos fotosintéticos frente a los daños oxidativos en hojas de vid (Ikbal et al., 2014).

Las plantas han desarrollado muchos mecanismos para adaptarse y sobrevivir bajo condiciones de estrés salino, tales como la acumulación selectiva o exclusión de iones potencialmente tóxicos, la síntesis en el citoplasma de solutos compatibles, el secuestro de iones en compartimentos separados (vacuolas), la inducción de enzimas antioxidantes y la regulación

adaptativa de hormonas vegetales como el ABA, el etileno y el jasmonato (Parida y Das, 2005; Zelm et al., 2020).

En un amplio estudio con vid bajo estrés salino, se observó que la disminución de la conductancia estomática inhibió el proceso de fotosíntesis que, a su vez, redujo el potencial hídrico y el contenido relativo de agua. Además, se observó un aumento de las actividades de las enzimas antioxidantes en respuesta a los altos niveles de ROS, las cuales podrían considerarse como marcadores de predicción frente al estrés salino en vid (Haider et al., 2019). Estos mismos autores, observaron una acumulación de glicinbetaina y trehalosa (solutos compatibles) que podrían contribuir al ajuste osmótico en hojas de vid.

Entre las diferentes estrategias para mejorar la respuesta de las plantas de vid a la salinidad se podría destacar el uso de compuestos bioestimulantes y/o elicitores tales como jasmonatos (Ismail et al., 2012), ácido salicílico (Amir et al., 2014; Ekbic et al., 2020) o ABA (Degaris et al., 2017).

Por último, mencionar que a nivel molecular se ha observado una expresión diferencial de genes en dos ecotipos de *Vitis sylvestris* que presentaban diferente tolerancia a la salinidad (Askri et al., 2012). Recientes estudios se han centrado en la identificación de genes que se expresan o se silencian en plantas sometidas a estrés salino (Das y Majumder, 2019), estos incluyen genes involucrados en procesos tales como la transducción de la señalización, factores de transcripción, metabolismo antioxidante y de carbohidratos, y biosíntesis de metabolitos secundarios, indicando respuestas multigénicas frente al estrés salino.

#### *1.3.2.3 Respuesta agronómica de la vid y tolerancia a la salinidad*

La primera respuesta visual de la vid frente a la salinidad es la reducción del crecimiento vegetativo y una reducción de la superficie foliar (Walker et al., 1981). Otros autores observaron también una reducción importante en el peso de madera de poda, tanto en campo (Walker et al., 2002) como en invernadero (Downton, 1977) después de la aplicación de riego con aguas salinas. La salinidad también puede afectar a la brotación (Downton y Crompton, 1979) y al envero (Downton y Loveys, 1978). Así como, tener efecto en el número de racimos (Prior et al., 1992), el tamaño de la baya y el contenido de azúcar (Hawker y Walker, 1978). Todo ello conduce a una reducción significativa de los rendimientos de uva (Degaris et al., 2016; Maas y Hoffman, 1977; Walker et al., 2002). Si la exposición a la salinidad se prolonga podría dar lugar a la muerte de la planta (Figura 13).



Figura 13. Vides cultivadas durante 30 días in vitro. (A) sin presencia de NaCl, (B) con 20 mM de NaCl (C) y con 100 mM de NaCl (Oliveira et al., 2013).

Se han publicado estudios donde se observa una gran variabilidad en la tolerancia de la vid a la salinidad, dependiendo de múltiples factores, pudiendo destacar: la variedad, el portainjerto y las características edafo-climáticas (Maas y Hoffman, 1977, Cramer et al., 2007). Según estos autores, la vid es un cultivo clasificado como moderadamente sensible a la salinidad con un valor umbral de conductividad eléctrica en el extracto saturado del suelo ( $CE_e$ ) que ronda entre 1.8 y 4.0 dS/m, y una disminución del rendimiento entre 2.3-15.0% por cada incremento unitario en la  $CE_e$  expresada en dS/m. La vid no tolera conductividades por encima de 16 dS/m en el agua de riego (Zhang et al., 2002, Walker et al., 2002). En la Tabla 3 se muestra una clasificación de diferentes portainjertos en función de su tolerancia a la salinidad, destacando que los portainjertos SO4 y 3309C se caracterizan por ser muy sensibles a la salinidad teniendo un valor umbral inferior al 1.8 dS/m. Por otro lado, algunos de los portainjertos más tolerantes a la salinidad pueden ser el 140 Ruggeri y el 1103 Paulsen, con un valor umbral de hasta 3.3 dS/m.

Tabla 3. Clasificación de diferentes portainjertos y su tolerancia a la salinidad (Walker, 2010).

Sensibilidad del cultivo	Variedad	EC <sub>e</sub>
Muy sensible a sensible	Sus propias raíces ( <i>Vitis vinifera</i> ), K51-40, 3309C, 1202C, Kober 5BB, Teleki 5C, SO4.	1.8 (dS/m)
Moderadamente tolerante a tolerante	Ramsey, 1103 Paulsen, 140 Ruggeri, Schwarzmann, Rupestris St George.	3.3 (dS/m)

Entre los diferentes factores que pueden contribuir en mayor o menor grado a la tolerancia de la vid a la salinidad, se podrían destacar la capacidad para la exclusión de la sal y el vigor del portainjerto (Walker et al., 2002 y 2004).

La exclusión de sal se define como la capacidad de las plantas para restringir la absorción de iones como el  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$  por la raíz y el transporte desde la raíz hacia la parte aérea (Teakle y Tyerman, 2010), o a los injertos, en caso de ser vides injertadas (Walker et al., 2004). Muchos portainjertos tienen la capacidad de limitar y restringir la absorción y transporte del  $\text{Cl}^-$  desde la raíz hacia la parte aérea (Walker, 1994). Por ejemplo, Downton (1977) analizó el nivel de  $\text{Cl}^-$  del peciolo en el momento de la cosecha en diferentes especies de vid clasificándolas de acuerdo a su capacidad de exclusión de sales: *V. rupestris* < *V. berlandieri*, *V. riparia*, *V. candicans*, *V. champinii*, *V. longii* < *V. cinerea*, *V. cordifolia* < *V. vinifera*. Sin embargo, se ha observado que algunos de estos portainjertos como el Ramsey o el 1103 Paulsen pueden perder progresivamente la capacidad de exclusión de sal (Tregeagle et al., 2006).

También se ha observado que los portainjertos con poca capacidad de exclusión, por ejemplo, el genotipo K 51-40, acumulan tal cantidad de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$ , que con el paso del tiempo se producen considerables daños en las plantas, conduciendo a importantes reducciones en el crecimiento y el rendimiento y, en muchos casos, a la muerte de las plantas (Tregeagle et al., 2006). La mayor capacidad de exclusión del portainjerto 140 Ruggeri parece estar asociada con la restricción en la descarga de  $\text{Cl}^-$  al xilema y la disminución del transporte desde la raíz a la parte aérea (Tregeagle et al., 2010). En otros estudios se ha observado que los injertos sobre patrones diferentes acumularon menos cloruros en los peciolos, que aquellos injertados en sus propias raíces, demostrando que la capacidad de exclusión de  $\text{Cl}^-$  está asociada principalmente al portainjerto (Sauer, 1968; Walker et al., 2004 y 2010). Aunque en algunos casos, se ha observado un papel importante del injerto. Por ejemplo, la variedad Shiraz tiende a acumular más  $\text{Cl}^-$  que Chardonnay, independientemente del tipo de portainjertos (Walker et al., 2010), lo que indicaría una influencia de la variedad en la acumulación del  $\text{Cl}^-$  acumulado.

Aunque la capacidad de exclusión de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$  de los portainjertos se ha relacionado ampliamente con la tolerancia a la salinidad y es uno de los caracteres clave a la hora de hacer programas de mejora para portainjertos tolerantes a la salinidad (Walker y Clingeleffer, 2009), existen otros estudios en los que se observó una escasa correlación entre el rendimiento y la capacidad de exclusión de  $\text{Cl}^-$  (Walker et al., 2004). Otro de los caracteres relacionados con la tolerancia es el vigor del portainjerto. Se ha observado una relación lineal positiva entre el rendimiento y el vigor del portainjerto tanto en condiciones no salinas, como salinas (Walker et al., 2002). Generalmente, las especies de vid americanas, especialmente *V. riparia* y *V.*

*berlandieri* suelen ser más tolerantes a la salinidad que las especies europeas (Williams et al., 1994).

#### 1.4 Calidad de la uva y composición del vino. Conceptos generales

Existen pocos productos agroalimentarios donde sea tan difícil definir el concepto de “calidad” como en el vino. De hecho, es bastante frecuente encontrar contradicciones en la forma en la que se evalúa y define la calidad de un vino. Un vino puede ser analizado química y microbiológicamente, y ser declarado de una composición química excelente, pero podemos encontrarnos que ese mismo vino puede tener unas características organolépticas poco interesantes. Por otro lado, un vino con alguna debilidad en la composición química puede tener un carácter pleno y definir perfectamente su lugar de origen. Por lo que podría decirse que, aunque el análisis físico-químico de un vino puede calificarse como un método objetivo de la evaluación de la calidad, debe estar directamente relacionado con la evaluación sensorial. Así, la calidad de un vino según Robert Parker, sin duda uno de los críticos de vino más influyentes del mundo, está basada en cuatro puntos fundamentales (Parker, 2008):

- La capacidad de complacer tanto a los sentidos como al intelecto
- La capacidad de mantener el interés del catador
- La capacidad del vino de expresar una personalidad singular
- La capacidad de reflejar su lugar de origen

A pesar de todo lo mencionado anteriormente, si algo es cierto, es que la calidad de un vino está estrechamente ligada a la composición fisicoquímica de la uva con la que se elabora, siempre y cuando las vinificaciones se hayan llevado a cabo mediante buenas prácticas enológicas.

De forma general, una baya está compuesta por semillas, pulpa y piel u hollejo. La presencia y cantidad de estas tres partes, así como su composición, va a ser determinante a lo largo de la fermentación para determinar la capacidad de dicha uva para obtener un vino de calidad (Hidalgo, 2010). La pulpa representa entre el 70-90 % del peso de la baya y está considerada como el reservorio de compuestos de la misma (azúcares, polisacáridos, compuestos nitrogenados, ácidos orgánicos, vitaminas y precursores aromáticos). La piel que recubre y encierra la pulpa y las semillas se denomina comúnmente hollejo y representa entre el 5-10% del peso de la baya. El hollejo está recubierto de una capa protectora denominada pruina que protege a la baya de patógenos, inclemencias del tiempo, y retiene levaduras y microorganismos. Bajo la cutícula se encuentra la epidermis, donde se acumulan los taninos con una gran capacidad fungicida y la hipodermis con una alta concentración de antocianos, compuestos responsables del color y ciertas moléculas responsables del aroma varietal de los

vinos, como pueden ser los terpenos. Aunque los compuestos presentes en el hollejo sean minoritarios en comparación con los compuestos presentes en la pulpa de la uva, serán estos compuestos los que caracterizaran en mayor medida las características sensoriales finales del vino (Figura 14).



Figura 14. Composición química del vino. Fuente: katamaniacos (2018).

Si hacemos un pequeño repaso en la composición química del vino (Figura 14), el agua es el compuesto mayoritario de la pulpa permitiendo la solubilidad del resto de compuestos. Después del agua, los azúcares (glucosa y fructosa) son los compuestos mayoritarios del mosto de uva, estos azúcares pertenecen al grupo químico de las hexosas, y se empiezan a formar en el envero, su concentración aumenta en función de la fotosíntesis, aunque un exceso de calor y sequedad pueden obstaculizar la fotosíntesis y bloquear su formación. En la uva verde (antes del envero), la proporción de glucosa es mayor que la de fructosa, pero a medida que avanza la maduración, la fructosa va aumentando, acabando en una proporción glucosa/fructosa en torno a 0.95.

Los siguientes compuestos mayoritarios son los ácidos orgánicos. La acidez de la uva viene definida principalmente por la concentración de los ácidos mayoritarios de la uva (tartárico, málico y cítrico). El ácido tartárico es el ácido mayoritario, haciendo que el pH dependa en gran

medida de la concentración de este ácido. El segundo ácido mayoritario es el málico cuya concentración varía mucho según la variedad de uva y la temperatura a la que esté sometida la planta durante el proceso de maduración. El ácido málico es sintetizado tras la combustión de azúcares en los tejidos de clorofila siendo poco estable y catabolizado durante la maduración (Flanzy, 2003). Por último, el ácido cítrico se encuentra en mucha menor proporción que los dos anteriores, además de estos ácidos en el momento de vendimia se pueden encontrar otros ácidos tales como el ascórbico, fumárico, glicérico, oxálico, etc. La acidez total de las bayas va disminuyendo a lo largo de la maduración de la uva. En climas cálidos, de hecho, puede incluso llegar a ser necesario hacer algunas correcciones enológicas en la acidez total de los vinos (tartárico y málico) durante el proceso de vinificación.

Otro tipo de compuestos de gran importancia en la uva son los metabolitos secundarios, estos compuestos determinan su posterior concentración en el vino y la calidad final de este (Iland, 1987; Jensen et al., 2008), englobando sustancias aromáticas, y compuestos fenólicos entre otros. Cabe destacar, que la calidad del vino no sólo está determinada por la cantidad o la concentración de los compuestos fenólicos, sino también por su calidad y su capacidad de interactuar con otros compuestos (Kennedy et al., 2006; Lund et al., 2009). Del mismo modo, la composición aromática del vino estará conformada y balanceada por distintitos compuestos como terpenos, ésteres, norisoprenoides, alcoholes, aldehídos y otros tantos compuestos aromáticos, así como de los aminoácidos, presentes en la uva.

#### 1.4.1 Compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos representan un grupo de moléculas complejo que juegan un papel esencial en la enología, siendo responsables de la calidad final de los vinos, especialmente de los tintos (Ivanova et al., 2012). Estos compuestos presentes en las uvas tintas, son extraídos durante la etapa de maceración desde las bayas a la solución mosto-vino. Los compuestos fenólicos presentes en las uvas son los principales responsables de algunas de las características organolépticas del vino, como el color, el sabor, la astringencia, el amargor y su capacidad de envejecimiento (Ribéreau-Gayon et al., 2006). El consumo moderado de vino tinto y por lo tanto de compuestos fenólicos se ha asociado a posibles efectos beneficiosos sobre la salud humana (Pitsavos et al., 2005), más concretamente a la capacidad de prevenir diversas enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, incluidos algunos cánceres, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Soundararajan et al., 2008; Yamagata et al., 2015). Dicho fenómeno del consumo moderado de vino y su efecto beneficioso para la salud se conoció inicialmente como "paradoja francesa" (Renaud y de Lorgeril, 1992).

Desde un punto de vista químico, los compuestos fenólicos son compuestos orgánicos que contienen al menos un anillo aromático (benceno) unido a uno o más grupos hidroxilos. Su gran capacidad de reacción se debe al carácter ácido de la función fenólica y al carácter nucleofílico del anillo bencénico (Monagas et al., 2005). La clasificación más común de estos compuestos se basa en la distinción entre: compuestos flavonoides con un esqueleto C3-C6-C3 y compuestos no flavonoides, siendo la principal diferencia entre ambos grupos el número de anillos aromáticos que lo forman. Cada grupo se divide en varias familias (Figura 15) con características estructurales propias, que confieren al vino propiedades específicas como el color, el aroma y el sabor (Cheynier et al., 2006). De acuerdo con varios autores, la capacidad antioxidante de las bayas y los vinos proviene principalmente de estos compuestos fenólicos (Minussi et al., 2003; Fernandez-Pachon et al., 2004, 2006; Cimino et al., 2007). La concentración y composición de estos compuestos dependerá de la variedad de uva, la localización de la parcela, el clima, las prácticas de cultivo y la madurez de la uva en el momento de cosecha (Gabryeliana y Kazumya, 2018). Las uvas tienen compuestos flavonoides principalmente en la piel y en las semillas (Cosme et al., 2009) y no flavonoides principalmente en la pulpa, pero también se pueden encontrar en otras partes de las uvas (Zamora, 2003).

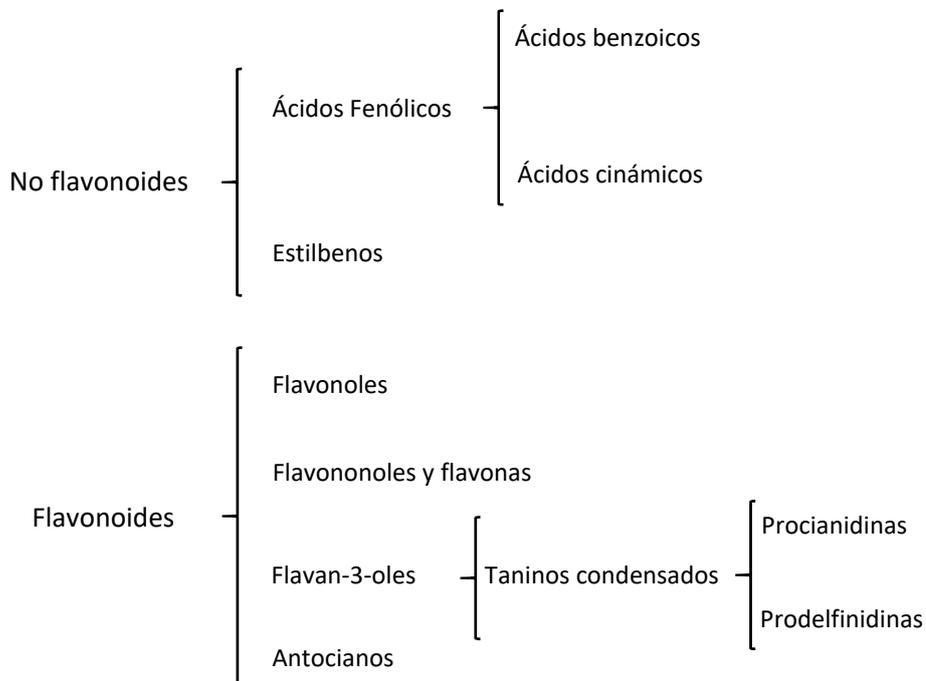


Figura 15. Clasificación de compuestos fenólicos (Zamora, 2003).

### 1.4.1.1 Antocianos

Los antocianos (del griego άνθός (anthos): ‘flor’ + κυανός (kyáneos): ‘azul’) son pigmentos hidrosolubles que se encuentran en las vacuolas de las células vegetales y otorgan el color rojo, azul o púrpura a las hojas, flores y frutos. Estos compuestos se encuentran principalmente en la piel de las uvas tintas, aunque también se pueden encontrar en la pulpa de variedades tintoreras (Bakker y Timberlake, 1985; Castillo-Muñoz et al., 2009) y son responsables del color del vino tinto (Zamora, 2003). Concretamente, estos compuestos están localizados en las células externas de la hipodermis y, a nivel subcelular, se localizan en el interior de las vacuolas donde pueden estar libres o acumulados en unas vesículas esféricas denominadas antocianoplastos (González et al., 2003). El color azulado de las uvas tintas es consecuencia de las altas concentraciones de antocianos en las vacuolas, de los efectos de la dispersión de la luz y de la presencia de clorofila en las capas epidérmicas (Moreno, 2013).

Los antocianos son compuestos fenólicos de tipo flavonoide, solubles en agua y formados por dos anillos bencénicos (A y C) unidos por un heterociclo oxigenado (B) insaturado y catiónico denominado ión flavilio (He et al., 2012). Las antocianidinas más comunes que se encuentran en las uvas son cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina, siendo un glucósido de antocianidina, la malvidina-3-glucósido, la que encontramos en mayor proporción en las variedades tintas (He et al., 2010). Existen distintos tipos de moléculas de antocianinas dependiendo del número de hidroxilos (OH) y de grupos metilo (-CH<sub>3</sub>) que actúan como sustituyentes en el anillo C (Figura 16).

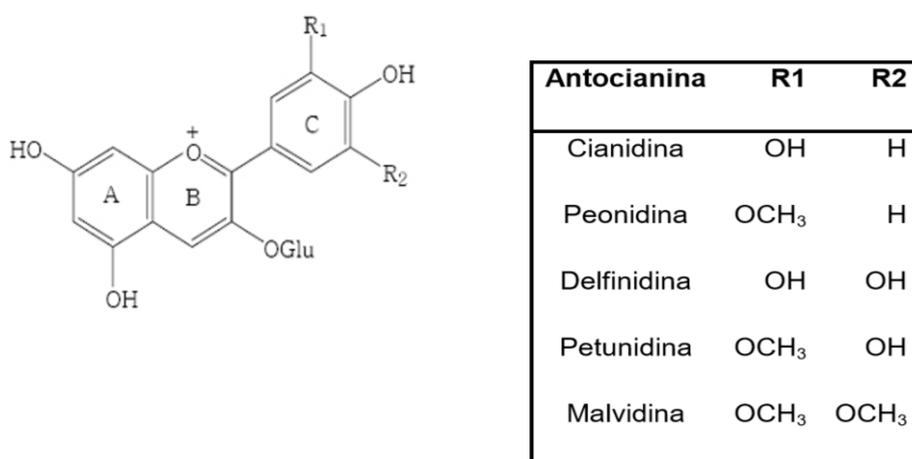


Figura 16. Estructura química de las diferentes antocianinas del vino (Moreno, 2013).

Durante la fermentación y en los primeros años de envejecimiento, las antocianinas monoméricas presentes en los vinos experimentan un gran número de reacciones y asociaciones. Los vinos tintos, durante su envejecimiento, van perdiendo la intensidad del color rojo, y la tonalidad de éste va virando del rojo-púrpura al rojo-anaranjado. Esto es debido a formación de pigmentos poliméricos, por reacción entre los antocianos monómeros y los compuestos fenólicos mayoritarios de los vinos tintos, los flavan-3-oles (Hermosín, 2007). Por otra parte, otra forma de estabilizar el color del vino, es a través de los procesos de copigmentación, que dan lugar a la formación de nuevos pigmentos. Este proceso se puede dividir según la naturaleza del copigmento implicado en (Hermosín, 2007):

- Copigmentación intermolecular: la naturaleza del copigmento es distinta al antociano monómero. Por ejemplo, puede ser un flavonol.
- Copigmentación intramolecular: el copigmento es una porción de la propia molécula de antociano monómero.
- Autoasociación: en este caso la copigmentación se produce entre dos moléculas de antocianos monómeros.

#### 1.4.1.2 Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos que se encuentran comúnmente en las plantas superiores. Los taninos se consideran metabolitos secundarios ya que no están directamente involucrados en el crecimiento, desarrollo o reproducción de las plantas (Herderich y Smith, 2005).

Los taninos condensados (no hidrolizables) procedentes de las uvas, son polímeros formados por unidades monoméricas de flavan-3-oles. Los flavan-3-oles, al igual que las antocianidinas, son compuestos tipo flavonoide formados por dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado saturado, que contiene un sustituyente hidroxilo (-OH). En la vid, los principales flavan-3-oles monómeros son: (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina (Sarneckis et al., 2006; Smith et al., 2015). No obstante, la mayor parte de los flavan-3-oles se encuentran en forma de oligómeros y de polímeros (Sánchez-Iglesias, 2007). Teniendo en cuenta estas formas, y según la hidrolización de las proantocianidinas (cianidinas o delphinidina) existen dos grupos presentes en la uva: las procianidinas, compuestas por (+) - catequina y (-) - epicatequina y las prodelphinidinas formadas por unidades de (+) - galocatequina y / o (-) - epigalocatequina (Porter et al., 1986).

En la uva, podemos encontrar los taninos tanto en variedades tintas como en variedades blancas, pero en estas últimas en mucha menor cantidad. Están localizados en el hollejo, en la

pulpa y en la semilla, siendo en esta última parte donde se encuentra la mayor concentración de taninos que, además suelen estar asociados con otras macromoléculas como proteínas y polisacáridos mediante enlaces carbono-carbono (Esteban Fernandez, 2016).

Los taninos de la piel están compuestos por largas cadenas poliméricas que varían desde 3 hasta 83 subunidades de longitud unidas por enlaces débiles (Smith et al., 2015). Suelen encontrarse en las vacuolas en forma de gránulos o conglomerados, aunque también pueden formar parte de las membranas y paredes celulares, siendo fácilmente extraíbles solo los taninos de las vacuolas. Los taninos extraídos de la piel de la uva contienen subunidades derivadas de epigallocatequina, así como pequeñas cantidades de galocatequina que no están presentes en la semilla y 3-O-galato de epigallocatequina (Smith et al., 2015).

Los taninos presentes en las semillas son polímeros de menor tamaño (de 2 a 16 subunidades de catequina y epicatequina) en comparación con los taninos procedentes del hollejo (Herderich y Smith, 2005). Estos no son extraíbles si no se disuelve el recubrimiento lipídico de las semillas, siendo más o menos solubles según el grado de polimerización. Los taninos de las semillas presentan una mayor proporción de procianidinas galoiladas y un menor grado de polimerización que los taninos de los hollejos (Busse et al., 2013). La pulpa de uva también contiene taninos, pero no se puede extraer durante la maceración debido a una fuerte asociación con los componentes de la pared celular de la propia pulpa (Bindon et al., 2014a).

La composición de las moléculas de los taninos en el vino es un factor a tener en cuenta a la hora de elaborar los vinos, ya que los taninos con una masa molecular pequeña (normalmente los taninos de las semillas) tienen mayor capacidad de amargor, por el contrario, las moléculas de los taninos con mayor tamaño (tanino del hollejo) se perciben más astringentes (Fontoin et al., 2008).

Por último, los taninos contribuyen a la textura, el color, el amargor y la capacidad de envejecimiento de los vinos tintos (Lorenzo et al., 2005). La sensación de textura provocada por el tanino en la boca se conoce como astringencia, que es una sensación de sequedad en la boca considerada como una característica deseable del vino tinto (Gawel, 1998). La percepción de la astringencia se debe a la combinación entre las proteínas de la saliva y el tanino del vino (Cheynier et al., 2006), provocando la precipitación de las proteínas y una pérdida de lubricación en la boca (Hanlin et al., 2010). El tanino también juega un papel importante en el color del vino tinto actuando como cofactor en la copigmentación y al reaccionar con antocianinas formando pigmentos estables en el tiempo (Carew et al., 2013).

### 1.4.1.3 Estilbenos

Los estilbenos son compuestos fenólicos no flavonoides presentes de forma natural en más de 25 especies de plantas diferentes, son una familia de moléculas cuya estructura química en los estados monomérico y oligomérico está constituida por un grupo difeniletileno orientado en cis- o trans-. Cuando se exponen a la luz ultravioleta, emiten fluorescencia azul intensa. Esta característica es el origen del nombre estilbeno, que deriva de la palabra griega "στίλβος" (stilbos), traducida como "brillante".

Los estilbenos (Figura 17) presentes en la uva se localizan únicamente en los hollejos (Jeandet et al., 1991). Desde un punto de vista sensorial, los estilbenos no tienen gran importancia; sin embargo, han despertado gran interés en la comunidad científica por su importancia sobre la salud humana, ya que se le atribuyen propiedades antioxidantes, anticancerígenas neuroprotectoras y cardioprotectoras (Provinciali et al., 2005; Penumathsa y Maulik, 2009; Fan et al., 2008). También se denominan fitoalexinas, es decir, metabolitos vegetales secundarios con actividad antimicrobiana que se sintetizan *de novo* por las plantas ante algún tipo de estrés biótico o abiótico, funcionando como un mecanismo de defensa natural frente a patógenos (Fumagalli et al., 2006).

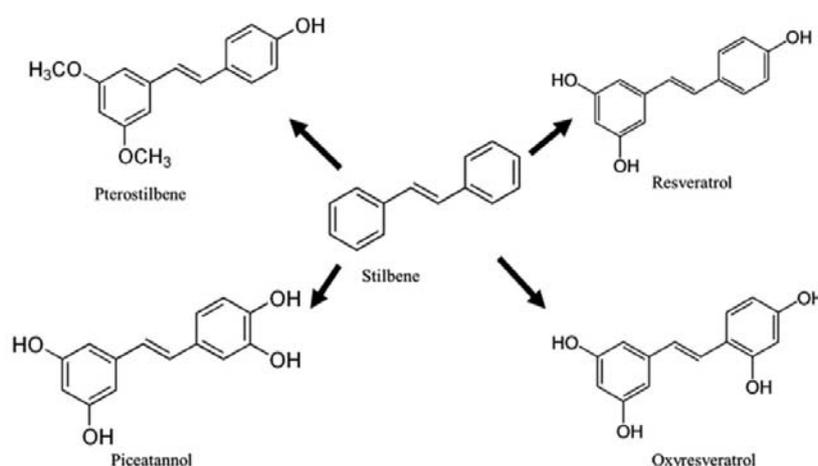


Figura 17. Estructura química del estilbeno y sus derivados.

La concentración de estilbenos en las bayas y el vino depende de muchas variables que incluyen: la variedad de uva, las condiciones de cultivo, el clima, el momento de cosecha y las técnicas de vinificación empleadas (Bavaresco et al., 2012).

El resveratrol es el estilbeno bioactivo más conocido (Espín et al., 2007) y está presente en grandes cantidades en las bayas y en el vino (Ribeiro de Lima et al., 1999; Gatto et al., 2008; Ferri et al., 2009). Además, podemos encontrar otros tipos de estilbenos como los piceidos, los cuales se forman cuando el resveratrol es glicosilado o las viniferinas, formadas cuando el

resveratrol es oxidado. A lo largo de los últimos años y debido al gran interés que han despertado en el sector, se han estudiado diferentes técnicas para incrementar el contenido de estilbenos en las uvas y vinos, siendo las más comunes las que están relacionadas con prácticas culturales (Downey et al., 2006; De la Hera Orts et al., 2007; Pérez-Lamela et al., 2007; Fanzone et al., 2011; Gatti et al., 2012).

## 1.5 Efecto del estrés hídrico y salinidad en la calidad de la uva y el vino

Como hemos visto con anterioridad, la calidad de un vino es un concepto complejo de definir, pero estrechamente relacionado con la composición química de las bayas (azúcares, ácidos, compuestos fenólicos y otros compuestos aromáticos) (Lund y Bohlmann, 2006). La composición y concentración de estos compuestos químicos, cambia durante la madurez de las bayas y pueden verse afectados tanto por factores agronómicos, como por estreses abióticos (Jackson y Lombard, 1993; Dai et al., 2011).

### 1.5.1 Estrés hídrico y calidad de la uva y del vino

Numerosos estudios han demostrado que el estrés hídrico afecta de manera importante a la composición de la uva y por tanto a la calidad del vino (Deloire et al., 2005; Downey et al., 2006; Gómez Míguez et al., 2007; van Leeuwen et al., 2009), principalmente en variedades tintas cultivadas en condiciones semiáridas (Peyrot des Gachons et al., 2005; Bindon et al., 2008; Van Leeuwen et al., 2009). El estrés hídrico impuesto en las etapas previas al envero, induce modificaciones metabólicas importantes en la baya que se pueden mantener en el tiempo, incluso después de la reanudación del riego (Shellie, 2014; Keller et al., 2016). Por el contrario, los efectos del estrés hídrico después del envero son más variables, no pudiendo generalizarse en lo que se refiere a la obtención de efectos positivos o negativos sobre las bayas (Girona et al., 2009; Intrigliolo y Castel, 2010; Munitz et al., 2017).

Los azúcares son un parámetro fundamental de calidad que está relacionado con el contenido alcohólico del vino. Además, la concentración de estos azúcares en la planta influye sobre la regulación de procesos metabólicos relacionados con la síntesis de otros compuestos responsables de características organolépticas del vino (Conde et al., 2007). La gran mayoría de estudios han observado un aumento en la concentración de azúcares en la baya como consecuencia del estrés hídrico (Romero et al., 2010; Zarrouk et al., 2016; Zufferey et al., 2017). Sin embargo, existen otros estudios donde no se han observado efectos del estrés hídrico en los parámetros básicos de la baya como el contenido en azúcar, el pH, o la acidez (Shellie, 2011; Santesteban et al., 2011; Junquera et al., 2012; Casassa et al., 2015). Probablemente, esto es debido a que, en el momento en el que la vid se somete a un estrés hídrico severo, se reduce la

capacidad de fotosíntesis, y por tanto la acumulación de azúcares (Santesteban et al., 2011) incapacitando la adecuada maduración de la fruta (Romero et al., 2010). Por otro lado, un número significativo de estudios han demostrado que un estrés hídrico moderado puede ser beneficioso para la calidad del vino, particularmente en variedades tintas (van Leeuwen et al., 2009; Zufferey et al., 2017). En este sentido, Zarrouk et al. (2016) proporcionan una compilación exhaustiva de estudios publicados entre 2009 y 2016 que evalúan el déficit de agua y su impacto en la composición de las bayas. En una completa revisión en la que se realizó un meta-análisis con más de 45 artículos publicados, Mirás-Avalos e Intrigliolo (2017) estudiaron los efectos de diferentes estreses abióticos sobre la composición de uva. Estos autores no encontraron una relación clara entre el potencial hídrico de tallo ( $\Psi_t$ ) y la concentración de sólidos solubles totales (SST) en las bayas. Sin embargo, observaron que un cierto estrés hídrico (hasta -1.3 Mpa) fue beneficioso para la acumulación de azúcares en la baya, pero una vez superado ese umbral, la concentración de SST disminuyó significativamente.

Otros compuestos a tener en cuenta en la calidad son los ácidos orgánicos de la uva, que determinarán el pH del vino y por tanto su estabilidad química y microbiana. Además, tienen un efecto directo sobre el sabor del vino. Es sabido que el estrés hídrico disminuye la acidez total de las uvas, debido a una disminución en la concentración de ácido tartárico y ácido málico (Girona et al., 2009; Intrigliolo y Castel, 2010). Una de las primeras respuestas de la vid al estrés hídrico es la disminución de la fotosíntesis lo que lleva asociado una reducción del crecimiento vegetativo, provocando un aumento de la temperatura en el microclima de los racimos, lo que a su vez incrementa la combustión del ácido málico y disminuye su concentración en las bayas (Santesteban et al., 2011). En este sentido, Cooley et al. (2017) encontraron un descenso en la acidez total y concentración de ácido málico en uvas procedentes de vides regadas deficitariamente en comparación con plantas bien regadas de la variedad Cabernet Sauvignon. Bellvert et al. (2016) también indicaron que un estrés hídrico producido por un riego deficitario anterior al invierno, afectó negativamente la acidez total y a la concentración de ácido málico en plantas de Chardonnay. Apoyando estos resultados, Romero et al. (2010) observaron que, en términos generales, un estrés hídrico moderado reduce la acidez total en uvas tintas de la variedad Monastrell, pero cuando el estrés hídrico se agrava, se sigue reduciendo la acidez total debido principalmente a una mayor combustión del ácido málico (Bucchetti et al., 2011). Por último, Mirás-Avalos e Intrigliolo (2017), en una revisión de la composición de la uva bajo estreses abióticos, afirmaron que cuanto más negativos son los valores de  $\Psi_t$  (mayor estrés hídrico), menor es la acidez de las bayas.

Como ya hemos comentado anteriormente, los compuestos fenólicos son los responsables de muchas de las características organolépticas de las uvas y vinos, y está ampliamente aceptado que el estrés hídrico afecta de manera significativa a la composición fenólica de las bayas, en concreto a la concentración de antocianos (Bindon et al., 2008, 2011; Santesteban et al., 2011; Cook et al., 2015; Hochberg et al., 2015). En una amplia revisión, Chaves et al. (2010), concluyeron que, un estrés hídrico producido por un riego deficitario, influye positivamente en la acumulación de compuestos secundarios como los antocianos en las bayas, cuando se compara con un riego cubriendo el 100% de la  $ET_c$ . Probablemente, esto es debido a la inhibición del desarrollo de la uva por un estrés hídrico antes del envero, además de un aumento de la expresión génica en la ruta biosintética de antocianos (Castellarin et al., 2007a). Por lo tanto, existe un consenso de que los efectos del estrés hídrico sobre la composición de la baya dependen del momento y duración el estrés hídrico (Koundouras et al., 2009; Romero et al., 2010; Intrigliolo et al., 2012). Esto está reflejado en los estudios realizados por Ollé et al. (2011), los cuales observaron una respuesta diferencial de la acumulación de antocianos en función de si hubo un estrés hídrico anterior o posterior al envero. Generalmente un estrés hídrico, tanto moderado como severo, incrementa los antocianos totales mejorando la calidad de la uva, siempre y cuando no se sobrepasen ciertos límites de estrés, en los cuales deja de observarse este efecto (Romero et al., 2010). Un déficit moderado de agua podría aumentar el contenido total de antocianos en las uvas entre un 30 y un 50% (Ju et al., 2019). En este sentido Roby et al. (2004) observaron que una baja dosis de riego incrementó la concentración de antocianos en un 30% en bayas de la variedad Cabernet Sauvignon injertada sobre 110R. Por otro lado, Edwards y Clingeleffer (2013) observaron un incremento significativo de la concentración de antocianos en un ensayo de estrés hídrico prolongado en cepas de la variedad Cabernet Sauvignon. Romero et al. (2016a, 2016b) compararon la aplicación de riego deficitario con un riego convencional durante siete años en la variedad Monastrell, observando un incremento de hasta el 29% en la concentración de antocianos totales en las bayas cuando se aplicaba un riego deficitario. Además, el riego deficitario aumentó en un 35% la concentración de antocianos totales en el vino, por lo que el estrés hídrico también mejoró la extractabilidad de antocianos durante la fermentación. Cabe destacar que la concentración de antocianos en la variedad Monastrell está fuertemente influenciada por las condiciones climáticas (en particular por la disponibilidad de agua), Siendo las diferencias interanuales en la concentración de antocianos en esta variedad incluso mayores que las diferencias entre variedades distintas en un mismo año (Romero-Cascales et al., 2005).

En contraste a los resultados anteriores, también se han observado efectos negativos en la concentración de antocianos en las bayas por el efecto de un estrés hídrico (Zarrouk et al., 2012; Fernandes de Oliveira y Nieddu, 2013), probablemente debido a las muchas variables que influyen en la acumulación de estos compuestos (Downey et al., 2006). Palliotti et al. (2014) en un ensayo de riego deficitario (40%ET<sub>c</sub>) en la variedad Montepuciano injertada en 1103-P, observaron como el estrés hídrico redujo significativamente la concentración de antocianos. Por otro lado, en este mismo experimento no encontró diferencias significativas para la concentración de antocianos en la variedad Sangiovese. Casassa et al. (2015) tampoco encontraron un incremento de la concentración de antocianos en cepas de Cabernet Sauvignon regadas al 25% de la ET<sub>c</sub>.

Otro grupo de compuestos fenólicos que se puede ver influenciado por los estreses abióticos son los taninos. Los monómeros flavan-3-ol se sintetizan principalmente durante la formación de la semilla y alcanzan un primer pico de acumulación antes del envero (Terrier et al., 2009). En este sentido, Ortega-Regules et al. (2006) observaron cómo los taninos alcanzaban su concentración máxima al final del envero y disminuían durante el proceso de maduración. Estos compuestos se sintetizan a través de la vía biosintética fenilo-propanoide (Chassy et al., 2012), que es modulada por factores tanto bióticos y abióticos. Entre los factores abióticos podemos destacar la disponibilidad de agua aplicada por riego (Cohen et al., 2010). Se ha demostrado que el déficit hídrico modifica la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de taninos (Genebra et al., 2014). Sin embargo, Roby et al. (2004) observaron que el aumento de la concentración de taninos en condiciones de déficit hídrico fue causado en mayor medida por un efecto de concentración debido a la reducción del crecimiento de la baya que por un aumento en la biosíntesis de taninos.

Casassa et al (2015) en un estudio de riego deficitario en el que se aplicó un estrés hídrico en distintas etapas del ciclo fenológico en vides de la variedad Cabernet Sauvignon, observaron un aumento significativo de la concentración de taninos en los hollejos cuando el estrés hídrico se produjo durante todo el periodo vegetativo. Sin embargo, este aumento no se observó cuando el estrés hídrico se produjo antes del envero, llegándose incluso a reducir la concentración de taninos en la piel cuando el estrés hídrico sucedió después del envero. En este sentido, Romero et al. (2016b) observaron cómo en vinos de Monastrell procedentes de plantas que habían sufrido un estrés hídrico, se incrementó la concentración total de taninos del hollejo en un 40% en comparación con los vinos procedentes de plantas que no habían sufrido estrés hídrico. Además, Romero et al. (2016) y Navarro et al. (2017) mediante un manejo del riego que permitía la desecación parcial de raíces observaron un aumento significativo en la concentración

total de taninos en la variedad Monastrell en comparación con un riego deficitario. Sin embargo, otros autores como Buchetti et al. (2011) en un estudio de riego deficitario llevado a cabo durante cuatro años en la variedad Merlot, no encontraron un efecto del estrés hídrico en la concentración de los taninos del hollejo. Tampoco se han encontrado efectos del efecto del riego deficitario sobre la concentración de taninos en variedades como Cabernet Sauvignon (Kennedy et al., 2002), Cabernet Franc (Matthews y Anderson, 1989) y Shiraz (Ojeda et al., 2002).

Respecto a la concentración de taninos en la semilla, según Pastor y Kennedy, (2006) la concentración de taninos en la baya dependerá del número y tamaño de las semillas por baya. Casassa et al. (2015) no encontraron ningún efecto de los riegos deficitarios aplicados sobre el contenido de taninos de la semilla, lo que sugiere que el riego deficitario no altera la biosíntesis de taninos. Por otro lado, el riego deficitario incremento la proporción de extractabilidad de los taninos procedentes de las semillas durante la vinificación. Sin embargo, no ocurrió lo mismo para la extractabilidad de los taninos de la piel. En otros estudios anteriores no se observó que un estrés hídrico afectara a la concentración de taninos en semillas de la variedad Shiraz (Roby et al., 2004) y Cabernet Sauvignon (Koundouras et al., 2009), a pesar de que sí hubo un efecto en el peso de las bayas.

Por último, los estudios realizados que abordan la influencia del estrés hídrico sobre la concentración de estilbenos en la uva son escasos, y se han centrado mucho más en el estudio de las rutas metabólicas y de síntesis de estilbenos. Entre estos escasos estudios, Savoie et al. (2017) observaron que cuando se aplicaba un estrés hídrico en la variedad Merlot (no se comenzaba a aplicar riego hasta que las plantas alcanzaban valores de  $-1.4$  MPa, manteniéndose el  $\Psi_t$  entre  $-1.0$  and  $-1.4$  MPa) se producía una regulación negativa en la expresión de genes relacionados con la síntesis de estilbenos, lo cual puede producir una disminución de su concentración. En este sentido, Laurenson et al. (2012), en un ensayo realizado en dos variedades (Chardonnay y Cabernet Sauvignon), con dos tratamientos de riego: deficitario ( $-1.25$  y  $-0.8$  MPa) y bien regado ( $-0.8$  y  $-0.6$  MPa), observaron resultados similares en la concentración de estilbenos en la variedad Chardonnay. Sin embargo, estos mismos autores observaron que en la variedad Cabernet Suavignon se produjo un aumento significativo de la biosíntesis de estilbenos (resveratrol), estos resultados fueron respaldados por el perfil de metabolitos de resveratrol y piceidos; indicando que, ante un mismo estrés hídrico, la síntesis de estilbenos podría regularse de manera distinta (a nivel transcripcional), en cada una de las variedades estudiadas. En otro estudio anterior sobre el impacto del estrés hídrico severo (estricto seco) sobre la variedad italiana Barbera, Vezzulli et al. (2007) no observaron efectos en la concentración de estilbenos en las bayas cuando se aplicó un déficit hídrico. Por último, Bavaresco et al. (2003)

observó una correlación negativa entre el aumento de la precipitación y la concentración de estilbenos en bayas. En este sentido Gil-Muñoz et al. (2017) en un ensayo realizado sobre la variedad Monastrell en el que aplicaron elicitores como herramienta para incrementar la síntesis de estilbenos, observaron que la concentración de estilbenos en las bayas aumentó los años con precipitaciones más bajas, y por tanto mayor escasez de agua. Como se ha dicho anteriormente la concentración total de estilbenos vendrá determinada en gran medida por la variedad de uva, pudiendo ser considerada la variedad Monastrell como una variedad con un alto contenido en resveratrol (Gatto et al., 2008).

En términos generales, podríamos decir que un estrés hídrico moderado reduce el peso de las bayas y la acidez total, pero aumenta los SST, la concentración de antocianos y la concentración total de polifenoles, mejorando, por tanto, la calidad de las bayas (Romero et al., 2010). Sin embargo, cuando se supera un cierto umbral de estrés hídrico, estos efectos beneficiosos sobre la composición de la uva dejan de observarse (Acevedo-Opazo et al., 2010; Medrano et al., 2015; Baeza et al., 2019). Por otro lado, se ha demostrado que la vid responde al estrés hídrico modulando varias vías metabólicas secundarias (Deluc et al., 2009; Savoie et al., 2016). Esto podría afectar a las características de composición y sabor de las uvas y el vino. Por lo tanto, un estrés hídrico moderado y bien gestionado a lo largo del ciclo vegetativo, se considera beneficioso para obtener una mejora sustancial de la calidad de las uvas, especialmente aquellas destinada a elaborar vinos de calidad (Chaves et al., 2007). Sin embargo, los cambios de composición en las uvas inducidos por el estrés hídrico no siempre se ven reflejados en los vinos, y a menudo se han obtenido resultados contradictorios entre la concentración de estos compuestos en las uvas y en el vino (Bindon et al., 2013; Kennedy et al., 2002).

#### 1.5.2 Salinidad y su efecto sobre la calidad de la uva y el vino

La utilización de aguas salinas para el riego de la vid puede afectar de manera significativa a la composición de las bayas y el vino (Laurenson et al., 2012; Mosse et al., 2013; Netzer et al., 2014). En términos generales, los efectos de la salinidad en la composición de las bayas y el vino parecen depender de la combinación entre la variedad y el portainjerto, de la concentración de sal en el agua de riego, así como el tiempo de exposición a la salinidad durante el periodo vegetativo (Mirás-Avalos e Intrigliolo, 2017). Cabe destacar que la mayoría de los estudios realizados que han comparado la respuesta de la vid a la salinidad, han tenido una duración aproximada de unos 5 o 6 años (Prior et al. 1992, Stevens et al. 1999, Walker et al. 2004, Shani y Ben-Gal 2005).

En términos generales ante una situación de estrés salino moderado se puede producir un adelantamiento del momento de envero y una mayor concentración de azúcar en las uvas (Downton y Loveys, 1978; Walker et al., 2000). Además, a medida que la salinidad se incrementa, el cuajado de flores, el tamaño de las bayas y la acumulación de azúcar y antocianinas se ven reducidos con una mayor intensidad (Hawker y Walker, 1978).

Como hemos visto, la salinidad puede afectar a la acumulación de SST en las bayas. En un ensayo que comparaba riego con aguas salinas y riego con agua de buena calidad llevado a cabo durante seis años en la variedad Colombard, no se observaron diferencias significativas en la acumulación de SST en el mosto hasta el cuarto año de ensayo. Además, no se observaron efectos consistentes en la acumulación de SST a lo largo de todo el ensayo (Stevens et al., 2011). Walker et al. (2014) en un estudio de larga duración (12 años) en el que se aplicó riego con aguas salinas a dos variedades (Chardonnay y Shiraz) injertadas sobre su propio pie y en diferentes tipos de portainjertos (10), observaron que la variedad de uva blanca Chardonnay injertada sobre si misma redujo significativamente la concentración de SST en comparación con el resto de portainjertos. Por el contrario, no se observaron diferencias significativas entre portainjertos en la concentración de SST en la variedad Shiraz. En este sentido, en un estudio donde se comparaba un tratamiento control con un tratamiento regado con aguas reutilizadas salinas, Hirzel et al. (2017) tampoco observaron diferencias significativas en la concentración total de SST en las dos variedades de estudio, Sauvignon Blanc y Cabernet Sauvignon.

En términos de acidez total, y refiriéndonos al mismo artículo citado en el párrafo anterior, Walker et al. (2014) observaron que la variedad de uva blanca Chardonnay y la variedad tinta Shiraz injertadas en su propio pie y regadas con aguas salinas, incrementaron significativamente la acidez total en comparación con el resto de portainjertos utilizados, Por lo tanto, una correcta selección de portainjertos tolerantes a la salinidad, capaces de excluir sales pueden mitigar los efectos negativos que la salinidad puede producir en la composición de la uva. En este mismo sentido, y en otro estudio realizado con anterioridad Walker et al. (2000) observó un aumento de la acidez total del mosto en condiciones de riego con aguas muy salinas en la variedad Shiraz cuando la planta estaba injertada sobre su propio pie. Contrariamente, Hawker y Walker (1978) observaron que las bayas de la variedad Cabernet Sauvignon procedentes de plantas regadas con aguas muy salinas reducían significativamente la acidez total del mosto.

En cuanto a los parámetros de color y compuestos fenólicos, se han encontrado pocos estudios en donde se haya visto la influencia de la utilización de aguas salinas sobre estos parámetros. Así, Hirzel et al. (2017), en un estudio llevado a cabo en California con aguas

reutilizadas salinas, observaron una disminución significativa del contenido de polifenoles totales en las uvas regadas con aguas salinas. En otro estudio realizado en vinos de la variedad Shiraz, procedentes de plantas que han sido cultivadas en distintos portainjertos y regados con aguas salinas, Walker et al. (2000) no encontraron diferencias significativas en la intensidad de color, el contenido total de polifenoles y los antocianos totales en los vinos procedentes de uvas regadas con aguas salinas. Sin embargo, Scacco et al. (2010) en un ensayo de riego con aguas salinas en la variedad Nero d'Avola, observaron como el aumento de la salinidad en el suelo aumentó la intensidad colorante y los tonos púrpuras del vino, además de potenciar los aromas salinos, cítricos y de fruta. Estos autores concluyeron que la variedad de vid Nero d'Avola puede ser adecuada para suelos con alta concentración salina, incluso teniendo en cuenta la pérdida de rendimiento productivo.

Como se ha indicado anteriormente no se han encontrado muchos estudios sobre el efecto de la salinidad en los compuestos fenólicos. Sin embargo, en un estudio sobre dos variedades de uva, la Razegui clasificada como genotipo tolerante a la salinidad y la Syrah europea, clasificada como sensible a la salinidad (Jellouli et al., 2008; Daldoul et al., 2010) que fueron regadas con aguas salinas (100 Mm NaCl), se observó que ambas variedades desarrollaron un importante estrés oxidativo. En consecuencia, la variedad Syrah (más sensible a la salinidad) acumuló altas concentraciones de estilbenos tales como el trans-resveratrol y sus glucósidos el trans- y cis-piceido. Por el contrario, la variedad Razegui mostró concentraciones moderadas en la acumulación de estilbenos (Souid et al., 2019)

En general, desde un punto de vista sensorial, los vinos procedentes de uvas cultivadas en terrenos salinos o regadas con aguas salinas, contienen altas concentraciones de sodio y cloruro, resultando en matices sensoriales de aromas sobremaduros y sabores no deseados catalogados como salados, planos, jabonosos y salobres (Walker et al., 2010). Estos descriptores en el vino no se consideran favorables en el análisis sensorial. Sin embargo, como hemos citado anteriormente, Scacco et al. (2010) observaron como el aumento de la salinidad del suelo potenciaba aromas cítricos y a fruta. De Loryn et al. (2014) identificaron los valores umbrales de percepción del cloruro de sodio en 2.05 g/L para vinos blancos y 1.77g/L para vinos tintos.

No debemos olvidar que algunos países contemplan límites legales en lo referido a concentración de cloruro y de sodio en los vinos, siendo en Australia el límite máximo legal de cloruro presente en los vinos de 606 mg/L (Walker, 2010), o de 303 mg/L en Turquía. No se han encontrado referencias en la legislación española ni en la OIV para la concentración máxima de cloruro en vinos. En cuanto al sodio, existe un gran número de países sin un límite impuesto para la concentración de sodio en el vino, en los países con límites, estos varían considerablemente,

por ejemplo, Canadá (500 mg/L), Argentina (230 mg/L, como "exceso" de sodio, es decir, la concentración de sodio en el vino por encima de la concentración de cloro), Sudáfrica (100 mg/L) y Suiza (60 mg/L) (Stockley y Lloyd-Davies, 2001). En cuanto a la concentración de sodio la OIV recomienda limitar la concentración máxima en vinos en 80 mg/L (OIV, 2012).

Con el fin de observar el efecto del riego salino en la acumulación de cloruros en los tejidos de las plantas y la composición de uva en un estudio de 6 años sobre vides Colombard injertadas en Ramsey, Stevens et al. (2011) observaron que el tratamiento regado con solución salina durante el ciclo de crecimiento, incrementó la concentración de sodio en el mosto durante los primeros cuatro años en comparación con el tratamiento regado con agua de buena calidad. Por otro lado, la concentración de cloruro en el mosto fue significativamente mayor durante los 6 años en el tratamiento regado con agua salina. Con el objetivo de comparar el efecto de la salinidad a largo plazo, en diferentes portainjertos de la variedad Chardonnay y Shiraz, Walker et al. (2014) observaron que las vides Chardonnay y Shiraz cuando estaban plantadas con su propio portainjerto, obtuvieron bajos rendimientos y altas concentraciones de cloruro y sodio en el mosto ( $> 500 \text{ mg / L}$ ). Sin embargo, Chardonnay en portainjertos C5 y Shiraz en C7 acumularon bajas cantidades de cloruro y sodio ( $<50 \text{ mg / L}$ ) en mostos.



## ***2. OBJETIVOS***

El objetivo general de esta Tesis ha sido estudiar los efectos del estrés hídrico y salino, sobre la producción y la composición de la uva y del vino, en la variedad Monastrell. Para ello se plantearon los siguientes objetivos específicos:

#### Agronómicos

- 1- Evaluar los efectos de los tratamientos de déficit hídrico y riego con aguas salinas en la sostenibilidad del sistema suelo-planta, el rendimiento productivo de la vid y la composición de la uva.
- 2- Evaluar los efectos del riego salino en el desarrollo vegetativo de las vides, el intercambio gaseoso y el estrés hídrico.

#### Enológicos

- 1- Estudiar los efectos que tiene el riego con aguas salinas sobre la composición fisicoquímica del mosto.
- 2- Evaluar los efectos que produce el riego con aguas salinas y el déficit hídrico en la composición fenólica de las bayas (hollejos y pepitas).
- 3- Determinar los efectos del riego con aguas salinas y el déficit hídrico sobre los parámetros cromáticos, fenólicos y sensoriales de los vinos obtenidos a partir de los tratamientos aplicados en campo.





### ***3. MATERIAL Y MÉTODOS***

### 3.1 Descripción de la parcela experimental

#### 3.1.1 Localización

Los ensayos experimentales se realizaron en un viñedo comercial (Figura 18) situado en el término municipal de Fuente Álamo, al sureste de la provincia de Albacete (38º 43' N; 1º 28' O) a una altitud de 820 m.s.n.m. La parcela se encuentra bajo el amparo de la Denominación de Origen Jumilla y asociada a una comunidad de regantes que establece un riego por turnos. Antes de comenzar las experiencias, la parcela estaba siendo manejada de forma homogénea con la aplicación de un riego deficitario con un aporte hídrico anual de unos 1,000 m<sup>3</sup>/ha, dadas las dotaciones hídricas establecidas por la Confederación Hidrográfica del Segura en la zona.



Figura 18. Vista general de la parcela experimental situada en Fuente Álamo (Albacete).

#### 3.1.2 Características vitícolas

La parcela comercial fue plantada en el año 2007 con la variedad de vid Monastrell (*Vitis vinífera* L.), injertada sobre el portainjerto 110-R. El marco de plantación es de 3 metros entre calles y 1.5 entre cepas, equivalente a una densidad de plantación de 2,222 cepas/ha. El sistema de conducción de las vides cambió a lo largo de los 3 años de ensayo, siendo el primer año un sistema en espaldera de doble cordón Royat, dejando dos yemas por pulgar y 4 pulgares por brazo. El segundo y tercer año se cambió a una poda Guyot con doble cordón, dejando 8 yemas por brazo y dos brazos por cepa. Dicho cambio fue decisión del viticultor que, siguiendo las nuevas tendencias en la zona, prefirió ejecutar la poda en Guyot. La orientación de las filas del viñedo es norte-sur, lo que confiere a los racimos una buena exposición solar este-oeste. La

parcela presenta una pendiente media del 2%, en dirección descendente hacia el embalse de riego representado en la Figura 19.



Figura 19. Vista aérea general de la parcela de Fuente Álamo (Albacete) recuadrando en amarillo la zona seleccionada para la realización del ensayo.

### 3.1.3 Climatología

Para la caracterización climática del ensayo se emplearon datos recogidos en la estación meteorológica de Ontur (AB06), gestionada por el Servicio Integral de Asesoramiento al Regante (SIAR) de Castilla-La Mancha (Ortega et al., 2005). La estación agroclimática está situada a 10 km en línea recta de la finca experimental. Esta estación meteorológica se encuentra localizada en el término municipal de Ontur. Sus coordenadas UTM son 630946 X y 4276000 Y, a una altitud de 682 m (coordenadas geográficas: 38° 37' 22.3" N, 1° 29' 44.8" O). En la página web del SIAR (<http://eportal.mapa.gob.es/websiar/Inicio.aspx>), se pueden descargar los registros climáticos obtenidos para todo el periodo de ensayo (SIAR, 2020).

Respecto a los índices bioclimáticos para la zona de estudio, la integral térmica anual es de 4,233 °C; el índice de Winkler-Amerine es 2,345 °C; el índice de Huglin es 2,577 °C y el índice de frescura de las noches es 13.9 °C. Según la clasificación propuesta por Tonietto y Carbonneau (2004), esta zona es cálida, seca y con noches frescas. En la Figura 20 se muestra el diagrama ombrotérmico mensual medio del período 2001-2018 para esta localización.

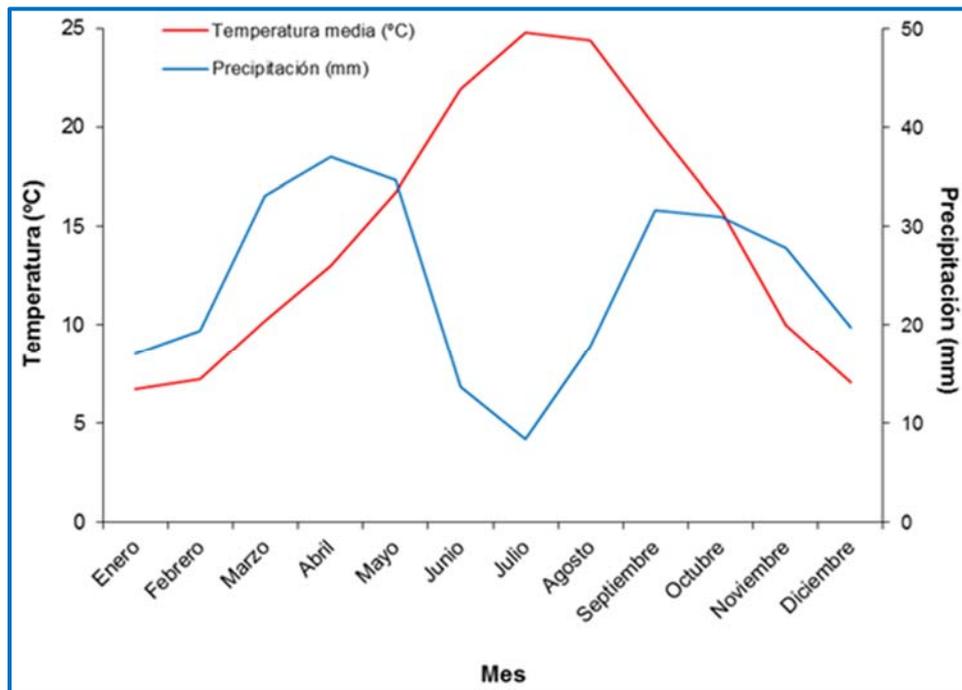


Figura 20. Diagrama ombrotérmico para la estación meteorológica de Ontur (2001-2018).

Según los datos registrados en esta estación durante el período (2001-2018), la precipitación anual media es de 291.3 mm, la evapotranspiración de referencia ( $ET_0$ ) media anual es de 1,279 mm y la temperatura media anual es de 14.8 °C (Tabla 4).

Tabla 4. Resumen mensual de los datos meteorológicos medios históricos (2001-2018).

Mes	Tm (°C)	TMA (°C)	tma (°C)	Hr (%)	RS (MJ/m <sup>2</sup> /día)	Vm (m/s)	VMA (m/s)	HS (horas)	P (mm)	ET <sub>o</sub> (mm/día)
<b>Enero</b>	6.7	11.8	2.1	68.9	9.5	2.8	8.3	235.6	17.0	1.6
<b>Febrero</b>	7.2	12.6	2.0	65.4	11.3	2.7	8.3	242.1	19.3	1.9
<b>Marzo</b>	10.2	16.1	4.5	61.8	16.3	2.5	7.7	292.3	33.1	2.9
<b>Abril</b>	13.0	19.4	6.8	60.5	21.2	2.1	7.1	337.0	36.9	3.8
<b>Mayo</b>	16.7	23.7	9.7	55.7	25.1	1.8	6.5	375.9	34.6	4.9
<b>Junio</b>	21.9	29.8	13.0	48.9	26.5	1.6	6.0	372.9	13.6	5.7
<b>Julio</b>	24.8	33.2	16.9	47.3	28.9	1.5	6.1	398.2	8.4	6.6
<b>Agosto</b>	24.3	32.4	17.2	51.8	25.0	1.5	6.0	370.8	17.7	5.8
<b>Septiembre</b>	20.0	27.0	13.9	62.4	18.9	1.4	5.7	318.2	31.6	3.9
<b>Octubre</b>	15.8	22.0	10.4	67.8	14.2	1.5	5.7	286.2	30.9	2.6
<b>Noviembre</b>	9.9	15.1	5.4	70.2	9.7	2.3	7.1	234.4	27.8	1.7
<b>Diciembre</b>	7.0	12.0	2.5	72.0	8.2	2.4	7.5	221.0	19.7	1.3
<b>Año</b>	14.8	21.2	8.7	61.1	17.9	2.0	6.8	3684.9	291.3	3.5

Tm: Temperatura media, TMA: Temperatura máxima, tma: temperatura mínima, Hr: Humedad relativa media, RS: Radiación solar global, Vm: velocidad media del viento, VMA: Racha máxima de viento, HS: Horas de sol acumuladas, P: Precipitación total, ET<sub>o</sub>: Evapotranspiración de referencia.

### 3.1.4 Características del suelo

Para llevar a cabo una caracterización del suelo de la parcela antes del inicio del ensayo, se cogieron 54 muestras; 18 puntos de muestreo a tres profundidades diferentes (30, 60 y 90 cm), y las muestras de suelo se tomaron entre cepas. Estas muestras presentaron las siguientes características en promedio: un pH alto de 8.86, una densidad aparente de  $1.17 \text{ g cm}^{-3}$  (Tabla 5), y unos porcentajes de arena, limo y arcilla de 55.6%, 27.7% y 16.6%, respectivamente (Figura 21). Por lo tanto, según la clasificación taxonómica de suelos descrita por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) (Soil Survey Staff, 2010), el suelo de la parcela se considera franco arenoso, con un pH alto y ligeramente alcalino. Más adelante se describe en profundidad la metodología para el análisis de muestras de suelo (apartado 3.5).

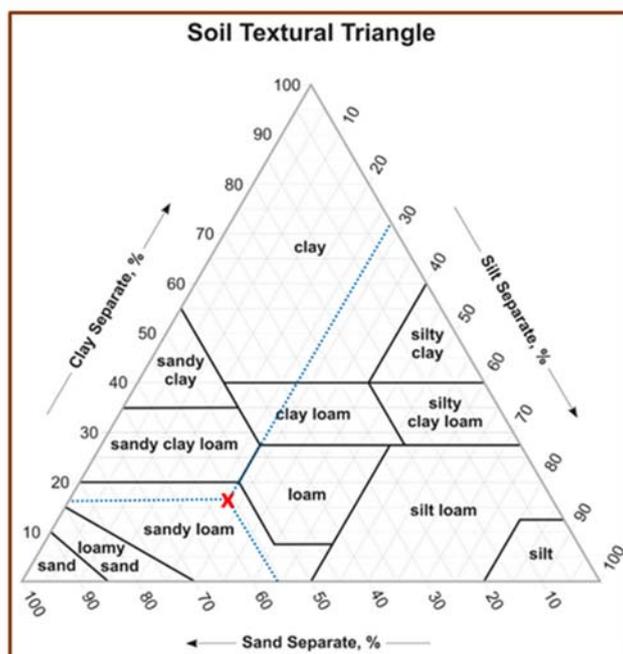


Figura 21. Triángulo de texturas del suelo, la textura de nuestro suelo viene marcada por una cruz roja. Fuente: Soil Survey Staff (2010).

Tabla 5. Características edáficas de la parcela estudiada (cationes solubles)

Muestras	Na (mg/L)	Ca (mg/L)	Mg (mg/L)	K (mg/L)	Cl <sup>-</sup> (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	SAR
1	23.34	20.44	2.87	4.11	23.63	18.15	4.99
2	31.79	18.22	2.89	3.97	26.34	22.97	7.17
3	23.43	16.12	2.42	2.42	18.63	16.04	5.63
4	22.41	12.58	3.14	1.95	16.84	20.64	5.96
5	30.40	10.73	2.91	4.27	25.18	13.35	8.71
6	47.78	13.51	3.47	7.53	39.93	26.65	12.24
7	21.82	20.14	3.23	3.75	18.36	27.96	4.68
8	17.14	18.18	2.82	3.40	13.68	20.33	3.87
9	34.20	24.84	4.06	4.74	32.21	41.97	6.60
10	27.74	20.50	2.84	2.06	21.35	30.82	5.92
11	21.35	18.14	2.45	2.72	15.68	15.28	4.85
12	35.60	13.77	2.47	3.78	28.42	11.53	9.19
13	32.57	20.66	3.86	3.79	25.34	34.51	6.85
14	25.24	23.74	4.40	2.96	20.15	37.41	4.96
15	24.47	19.38	2.95	2.25	20.32	22.93	5.36
16	28.02	18.65	3.17	2.89	22.48	25.36	6.23
17	23.56	18.83	2.03	2.13	19.19	17.24	5.29
18	34.67	21.20	4.05	3.72	28.94	30.72	7.19
<b>Promedio</b>	<b>28.08</b>	<b>18.31</b>	<b>3.11</b>	<b>3.72</b>	<b>23.15</b>	<b>24.10</b>	<b>6.43</b>
	<b>pH</b>	<b>C.E.<sup>a</sup> 1:5 (dSm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Densidad aparente (g cm<sup>-3</sup>)</b>	<b>Arena (%)</b>	<b>Limo (%)</b>	<b>Arcilla (%)</b>	
Parcela	8.86	0.28	1.17	56	28	16	

CE: Conductividad eléctrica, SAR: Relación de adsorción de sodio.

### 3.1.5 Manejo del viñedo

Todas las calles y líneas bajo las cepas se mantuvieron libres de vegetación durante los 3 años del ensayo (Figura 22), utilizando para ello un arado de vertederas. La poda invernal y la poda en verde fue la misma para todos los tratamientos, y fueron ejecutadas por una cuadrilla calificada. La fertirrigación, aplicación de fitosanitarios, laboreo y algunas tareas menores de mantenimiento fueron realizadas por el dueño de la parcela según su criterio, pero siempre de la misma forma en todos los tratamientos y durante todos los años del experimento.



Figura 22. Detalle de las viñas situadas en la parcela en el momento de riego.

### 3.2 Diseño experimental

A partir de la información obtenida con los muestreos de suelo llevados a cabo se decidió realizar un diseño experimental de 4 bloques al azar, con todos los tratamientos distribuidos de forma aleatoria dentro de cada bloque.

Cada una de las repeticiones denominadas unidades experimentales, (UE) estuvo formada por 4 hileras de cepas contiguas con doce cepas en cada hilera, todas las cepas exteriores fueron consideradas como cepas guarda, quedándose como cepas objeto de estudio las 20 cepas de las dos filas interiores. Para algunas determinaciones, principalmente relacionadas con el crecimiento vegetativo, del total de las 20 cepas experimentales se seleccionaron 3 cepas representativas en cada fila (6 cepas en total por UE), a las que se realizaban un mayor seguimiento. Los tratamientos se repartieron aleatoriamente quedando distribuidos según se detalla en la Figura 23.

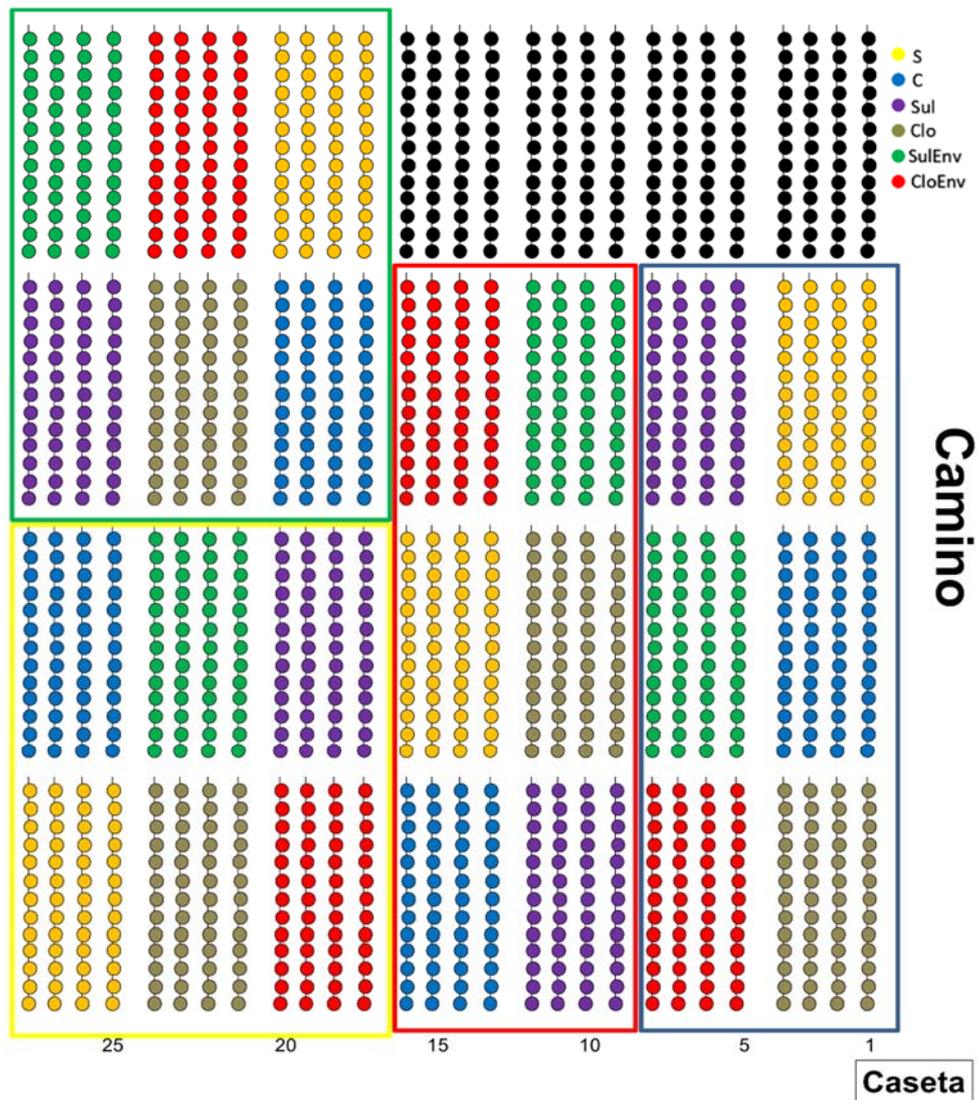


Figura 23. Situación gráfica de la distribución espacial de los tratamientos dentro de la parcela. Cada círculo corresponde a una cepa experimental. Cada color corresponde a cada uno de los tratamientos empleados. Los círculos negros son cepas que no se han utilizado en nuestro ensayo. Los números inferiores hacen referencia al número de fila, comenzando por la derecha. La figura no está a escala y la descripción de los tratamientos se especifica en el apartado 3.3.

### 3.3 Tratamientos realizados y programación del riego

#### 3.3.1 Tratamientos realizados

Los mismos tratamientos de riego se llevaron a cabo durante los tres años que duró el ensayo. En los tratamientos con riego salino, se disponían de dos cubas para cloruros y dos cubas para sulfatos donde se almacenaba la solución salina, la cual se inyectaba en el sistema de riego para alcanzar la concentración salina deseada. Los tratamientos llevados a cabo se describen a continuación y se resumen en la Tabla 6.

1. Secano (S). No se realizó aportación de agua de riego a lo largo de los tres años de duración del experimento.
2. Riego agua control (C). Este tratamiento se regó con la misma agua que usan los viticultores de la zona. La conductividad eléctrica media de esta agua a lo largo del período de riego oscilaba entre 1.5 y 2 dS/m. La cantidad de riego aplicada anualmente era aproximadamente el 30% de la evapotranspiración del cultivo ( $ET_c$ ), unos 100 mm anuales. El riego daba comienzo cuando se alcanzaban valores de potencial hídrico de tallo ( $\Psi_t$ ) menores de -0.8 MPa.
3. Riego con agua control más la adición de sulfatos (Sul). Al agua de riego se le añadió sulfato sódico ( $Na_2SO_4$ ) y sulfato magnésico ( $MgSO_4$ ) concentrados, para que la conductividad eléctrica (CE) del agua de riego alcanzara valores en torno a 5 dS/m. La dosis de riego aplicada fue la misma que la del tratamiento control, comenzando también el riego cuando se alcanzaban valores de  $\Psi_t$  menores de -0.8 MPa.
4. Riego con agua control más la adición de cloruros (Clo). En este tratamiento al agua de riego se le añadió cloruro sódico ( $NaCl$ ) concentrado, para que la CE del agua de riego estuviera en torno a 5 dS/m. La dosis de riego aplicada fue la misma que la del tratamiento control. El riego comenzaba cuando se alcanzaban valores de  $\Psi_t$  menores de -0.8 MPa.
5. Riego con agua control más la adición de sulfatos (SulEnv). En este tratamiento al agua de riego se le añadió sulfato sódico ( $Na_2SO_4$ ) y sulfato magnésico ( $MgSO_4$ ) concentrados, para que la CE del agua de riego estuviera en torno a 5 dS/m. La dosis de riego aplicada pretendía ser la misma que la del tratamiento control, pero en este caso el riego daba comienzo a partir del enero.
6. Riego con agua control más la adición de cloruros (CloEnv). En este tratamiento al agua de riego se le añadió cloruro sódico ( $NaCl$ ) concentrado, para que la CE del agua de riego estuviera en torno a 5 dS/m. La dosis de riego aplicada pretendía ser la misma que la del tratamiento control, pero en este caso el riego daba comienzo a partir del enero.

Tabla 6. Resumen de los tratamientos y riego aplicado en mm a cada tratamiento en pre-enero (PreEnv), post-enero (PosEnv) y el total a lo largo de cada año experimental.

Tratamientos	Inicio del riego	Sales	CE (dS/m)	2016			2017 (mm)			2018		
				PreEnv	PosEnv	Total	PreEnv	PosEnv	Total	PreEnv	PosEnv	Total
S	Sin riego	Sin sales añadidas	0.0	0	0	<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0	<b>0</b>
C	$\Psi_t < -0.8$ MPa	Sin sales añadidas	1.8	83	33	<b>116</b>	74	31	<b>104</b>	69	34	<b>104</b>
Sul	$\Psi_t < -0.8$ MPa	Sulfatos (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + MgSO <sub>4</sub> )	5.0	88	39	<b>128</b>	73	33	<b>106</b>	71	31	<b>102</b>
Clo	$\Psi_t < -0.8$ MPa	Cloruros (NaCl)	5.0	89	35	<b>124</b>	70	32	<b>102</b>	67	35	<b>102</b>
SulEnv	Envero	Sulfatos (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + MgSO <sub>4</sub> )	5.0	3	93	<b>95</b>	2	106	<b>108</b>	5	98	<b>103</b>
CloEnv	Envero	Cloruros (NaCl)	5.0	3	87	<b>90</b>	4	98	<b>102</b>	5	89	<b>94</b>

CE: Conductividad eléctrica. Los valores de las columnas 2016-2018 son los volúmenes de riego anuales aportados en cada tratamiento expresados en mm.

### 3.3.2 Programación del riego

La programación del riego se realizó semanalmente mediante el método del balance de agua en el suelo propuesto por la FAO en su última revisión metodológica (Allen et al., 1998). La  $ET_c$  se calculó mediante la siguiente ecuación:  $ET_c = ET_o \times K_c$ , siendo  $ET_o$  la evapotranspiración de referencia calculada diariamente con la ecuación de Penman-Monteith FAO56 (Allen et al., 1998), utilizándose los datos climáticos proporcionados por la estación meteorológica más cercana (Estación meteorológica de Ontur, AB06), y  $K_c$  es el coeficiente de cultivo.

Para el cálculo de las necesidades hídricas de la vid en nuestro ensayo, se utilizaron los valores de  $K_c$  obtenidos por López-Urrea et al. (2012) en un viñedo de la variedad Tempranillo, regado al 100% de la  $ET_c$  (sin estrés hídrico), para la producción de vino en la provincia de Albacete (Tabla 7). Estos valores de  $K_c$  se redujeron para ajustar los riegos anuales a los 100 mm disponibles en la zona de estudio. Para el cálculo final de las necesidades de agua de riego ( $N_h$ ) se utilizó la siguiente ecuación:  $N_h = ET_c - P_e$ , siendo  $P_e$  la precipitación efectiva, que se consideró como el 70% de la precipitación total (Villalobos y Ferreres, 2017).

Tabla 7. Componentes del balance hídrico teórico del viñedo (2016-2018).

Año	Fenología	Fecha	$ET_o$ (mm)	$K_c$	$ET_c$ (mm)
2016	Brotación-Floración	(25/4-15/6)	259.5	0.15	38.9
	Floración-Cuajado	(15/6-15/7)	186.4	0.21	39.1
	Cuajado-Envero	(15/7-25/8)	232.6	0.27	62.8
	Envero-Vendimia	(25/8-10/10)	191.2	0.25/0.55*	45.8/105.1*
2017	Brotación-Floración	(20/4-5/6)	204.4	0.14	28.6
	Floración-Cuajado	(5/6-20/6)	102.9	0.16	16.4
	Cuajado-Envero	(20/6-20/8)	349.9	0.25	87.4
	Envero-Vendimia	(20/8-26/9)	146.6	0.24/0.55*	35.1/81.0*
2018	Brotación-Floración	(5/-15/6)	181.9	0.14	25.4
	Floración-Cuajado	(15/6-26/6)	61.9	0.17	10.5
	Cuajado-Envero	(26/6-1/9)	333.1	0.25	83.2
	Envero-Vendimia	(1/9-10/10)	113.9	0.24/0.55*	34.5/80.0*

Resumen de los componentes del balance hídrico de los tratamientos control, sulfatos y cloruros. (\*) coeficientes de cultivo para los tratamientos sulfatos envero (SulEnv) y cloruros envero (CloEnv).  $ET_o$ , evapotranspiración de referencia calculada con la ecuación de Penman-Monteith FAO56;  $K_c$ , coeficiente del cultivo;  $ET_c$ , evapotranspiración del cultivo.

El agua se aplicó mediante un sistema de riego por goteo, que fue el mismo para todos los tratamientos, con un emisor por cada metro lineal de tubería y una sola tubería portagoteros por línea de plantas. Los emisores empleados tenían un caudal nominal de 3.8 L/h. A los tratamientos en los que el inicio del riego fue anterior al envero (C, Sul y Clo), se les aplicó de forma general dos riegos semanales de unos 2.9 mm cada riego, realizándose un total de 20-25 riegos anuales. Los tratamientos que comenzaron a regarse después del envero (SulEnv y CloEnv) se les aplicó de forma general tres riegos semanales de unos 3.9 mm por riego, efectuándose un total de 12-15 riegos anuales. Una vez realizada la vendimia, se aplicó a todos los tratamientos un riego de apoyo de 5 mm.

### 3.4 Determinaciones realizadas en campo

#### 3.4.1 Muestreos de suelo

Se realizaron 2 tipos de muestreos de suelo:

- a) Antes de comenzar el ensayo, para determinar la variabilidad de las condiciones edáficas de la parcela. Se realizó un muestreo tomando muestras al inicio, en el centro y al final de las filas (Figura 24). Las muestras se tomaron en la fila de cepas (entre cepa y cepa). Además, se recogieron 6 muestras en cilindros inalterados para estimar la densidad aparente del suelo y el contenido gravimétrico de agua. Estas muestras se recogieron en medio de la fila en tres puntos diferentes, tomándose dos muestras diferentes por punto.
  
- b) Muestreos estacionales, se realizaron con el objetivo de estudiar la movilidad de sales en el suelo. Para ello se recogieron muestras en tres momentos a lo largo del año: 1) antes del comienzo del riego, 2) en envero, 3) después de vendimia. Se efectuaron los sondeos en dos puntos elegidos al azar en las filas interiores de cada UE y bajo la línea de goteros, a una profundidad de 30 y 60 cm (en total 4 muestras por UE y 16 muestras por tratamiento). Las muestras se recogieron empleando una barrena helicoidal, acoplada a un ahoyador mecánico (Stihl BT131, Waiblingen, Alemania) (Figura 25).

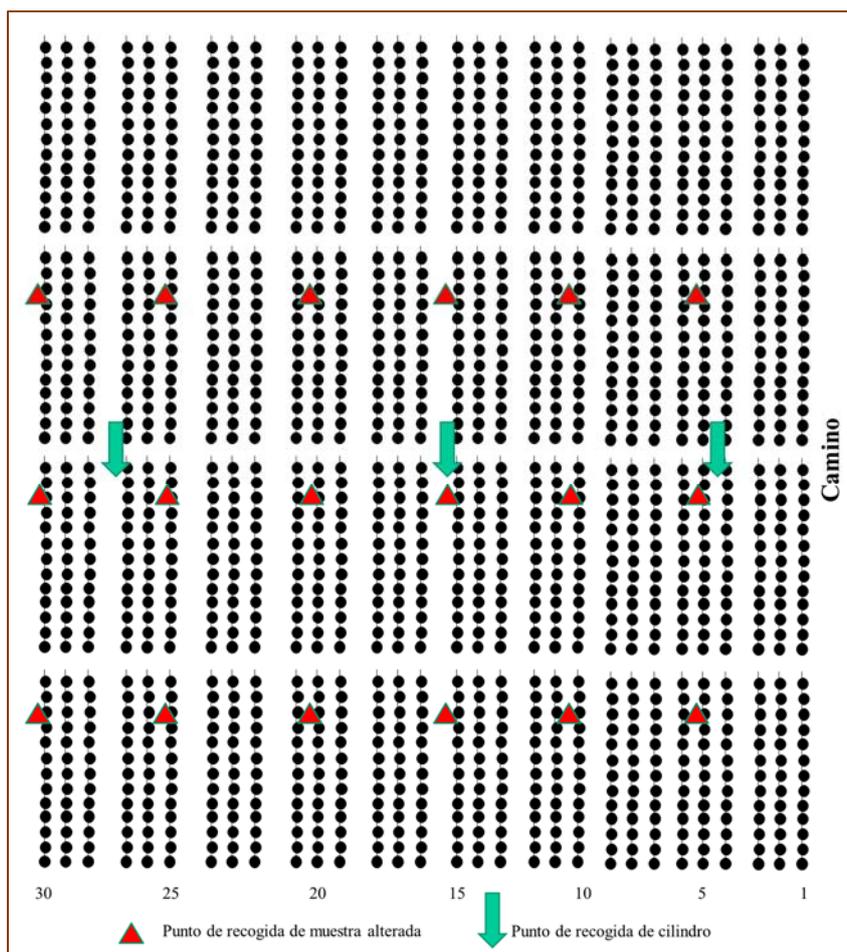


Figura 24. Esquema con los puntos de recogida de muestras de suelo en la parcela experimental. Cada círculo corresponde a una cepa experimental. Figura no a escala.



Figura 25. Muestreo de suelo a diferentes profundidades con ahoyador mecánico.

### 3.4.2 Muestreos en planta

#### 3.4.2.1 *Diámetro de tronco*

Antes de comenzar el ensayo, se realizó una medida del diámetro de tronco de las cepas para determinar de forma sencilla y rápida la variabilidad de la parcela en cuanto al vigor vegetativo de las cepas y establecer así los bloques experimentales. Para ello se utilizó una cinta métrica de 1.5 metros, esta medida se realizó 15 cm por debajo de la bifurcación de ambos brazos.

#### 3.4.2.2 *Muestreo foliar*

Para la determinación del estado nutricional de las plantas se analizaron las concentraciones de macronutrientes y micronutrientes presentes en los tejidos foliares. El contenido de estos elementos puede ser muy variable a lo largo del ciclo vegetativo de la planta (Christensen, 1984; Delas, 2000; García-Escudero et al., 2002a, 2002b; Robinson, 2005; Peuke, 2009). En nuestro caso, siguiendo las recomendaciones de García-Escudero et al. (2002a), se decidió tomar las muestras foliares en el estado fenológico de envero.

En 2018 (único año del que se muestran los resultados), el muestreo foliar se realizó tomando 10-15 hojas completas por muestra (sin síntomas aparentes de deficiencias nutricionales, virosis u hongos) en cada una de las repeticiones, tomándose por lo tanto 4 muestras independientes por tratamiento. Siempre se cogieron las hojas opuestas al segundo racimo de pámpanos fructíferos y vigor medio, según la metodología descrita por Romero et al. (2010). El muestreo se realizó cogiendo hojas procedentes de ambas orientaciones de la espaldera.

#### 3.4.2.3 *Estado hídrico del viñedo*

El estado hídrico del viñedo se determinó quincenalmente mediante la medición del  $\Psi_t$ . Para ello se seleccionó una hoja por planta de tres cepas en cada UE. Las hojas seleccionadas estaban en buen estado y completas, y procedían de la parte media del dosel vegetal. Dos horas antes de realizar la determinación, las hojas se tapaban con una bolsa opaca de plástico reflectante (para evitar que alcanzara altas temperaturas). En el momento de medir, se cortó el peciolo con un cúter y se llevó la hoja lo más rápido posible a la cámara de presión tipo Scholander (Model 600, PMS Instrument Company, Albany, OR, EEUU) (Figura 26), donde se efectuaba la medida del potencial hídrico. A partir de las determinaciones del  $\Psi_t$ , también se calculó la integral de estrés hídrico ( $S_w$ ) (Ecuación 1). Este indicador expresa la severidad del estrés hídrico durante el ciclo vegetativo y se obtiene mediante la fórmula propuesta por Myers (1988). Para el cálculo se utilizaron los valores de  $\Psi_t$  obtenidos durante todo el periodo

vegetativo, estableciéndose como umbral, el máximo potencial hídrico medido (-0.39 MPa) durante el periodo estudiado.

$$S_{\Psi} = \left| \sum_{i=0}^{i=t} (\bar{\psi}_{i,i+1} - c) n \right| \quad (1)$$

Siendo  $\Psi$  el potencial hídrico,  $c$  el valor máximo de  $\Psi$  medido durante el ensayo,  $n$  el número de días. (Myers, 1988)



Figura 26. Cámara de presión utilizada para realizar las medidas de potencial hídrico de tallo a medio día solar.

También se determinó el estado hídrico del viñedo mediante la determinación del ratio isotópico del carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) (OIV, 2001). Dicha determinación se analizó únicamente en el año 2016, tomando 12 muestras por cada tratamiento (tres muestras por UE). Una vez vendimiada la uva, se extrajo el mosto de forma manual y tras el estrujado se recogieron 40 mililitros por repetición. El mosto se depositó en cápsulas de estaño y se introdujeron en una estufa a 50 °C durante 24 horas. Durante el manejo de las cápsulas, se tuvo la precaución de no tocarlas con las manos, llevando a cabo todo el proceso con pinzas, ya que el contacto con la piel puede alterar la relación de  $\text{C}^{13}/\text{C}^{12}$ . Una vez preparadas las muestras, se procedió a la determinación del  $\delta^{13}\text{C}$  mediante la combustión de las muestras de mosto (previamente desecadas) en un analizador elemental EA 1108/CHNS-O (Carlo Erba Instruments, Egelsbach, Germany) (Figura 27), donde se obtuvo la concentración de carbono 13 expresado en partes por mil (‰).

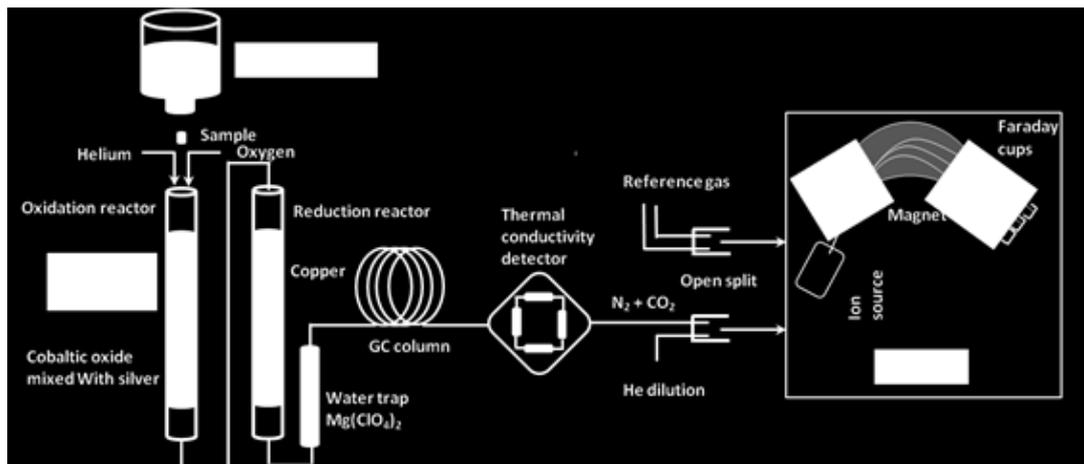


Figura 27. Esquema del analizador elemental acoplado al espectrómetro de masas. Fuente: Martínez-Moreno et al. (2018)

#### 3.4.2.4 Intercambio gaseoso

Los parámetros de intercambio gaseoso foliar (fotosíntesis neta [A] y conductancia estomática [gs]) se determinaron en días claros y en hojas adultas, completamente expandidas y del segmento medio de cada cepa. Para esta determinación se midió una hoja por cepa, en tres cepas diferentes por UE, lo que hace un total de 12 hojas por tratamiento. Para tal fin, se empleó un equipo portátil de fotosíntesis analizador IRGA (Modelo Lc-pro T, ADC BioScientific Ltd. Hoddesdon, UK). Las medidas fueron realizadas con las condiciones ambientales (concentración de CO<sub>2</sub>, intensidad de luz, temperatura y humedad relativa) del momento de medida. La eficiencia intrínseca del uso del agua (EUAi) se calculó como el ratio A/gs de acuerdo con Iacono et al. (1998). Las mediciones se realizaron en hojas expuestas a la luz solar entre las 8:00-10:00 hora solar, dependiendo de la época del año, dado que en dicho intervalo es cuando la gs alcanza los valores más elevados y, además, se evitan temperaturas altas y la baja humedad relativa que pueden provocar un cierto cierre estomático, de forma general, en todos los tratamientos de riego.

#### 3.4.2.5 Parámetros de producción y desarrollo vegetativo del vigor

Durante el ciclo fenológico de la vid se realizaron diversas medidas para estimar el desarrollo vegetativo y el vigor de las cepas: peso de la madera de poda, peso medio del sarmiento, índice de Ravaz (obtenido como el ratio entre la producción y el peso de poda), área foliar y longitud de sarmientos.

El peso de madera de poda se obtuvo una vez podadas todas las cepas seleccionadas de cada repetición, recogiendo el material vegetal podado de las 6 cepas seleccionadas por UE (24 cepas por tratamiento), que se agrupó en forma de gravilla y se pesó en la propia parcela empleando una balanza electrónica portátil (CH-15 K 20, KERN, Balingen, Germany).

Para la determinación del área foliar se utilizaron ecuaciones alométricas obtenidas de la relación entre la longitud del sarmiento y el área foliar. Estas ecuaciones solo se obtuvieron el primer año de estudio, utilizando en años posteriores esas mismas ecuaciones. Para la obtención de las relaciones alométricas se tomaron 9 pámpanos (3 grandes, 3 medianos y 3 pequeños) con todos sus secundarios de 2 cepas no experimentales en cada repetición, lo que hacía un total de 144 pámpanos. Por cada pámpano seleccionado se separaron los secundarios, se determinó la longitud principal del mismo, el número de secundarios y la longitud de los secundarios. Por último, se midió el área foliar de las hojas del pámpano por un lado y las hojas de los secundarios por otro, utilizando para ello un medidor de área foliar Licor (LI-3100C, LICOR Biosciences, Nebraska, EEUU). Las relaciones alométricas obtenidas se emplearon para determinar la superficie foliar total por cepa se calculó como la suma de las superficies foliares del pámpano principal y de los secundarios midiendo en campo la longitud de todos los sarmientos de una cepa en las 6 cepas seleccionadas por UE.

Para la determinación de la producción, se vendimiaron manualmente la totalidad de las 20 cepas experimentales de todas las UE (80 cepas por tratamiento), pesando la producción de cada cepa con una balanza electrónica portátil (CH-15 K 20, KERN, Balingen, Germany). Una vez pesada se colocaba la uva en cajas de 15 kg, para una mejor conservación de la uva en el traslado a la Estación Enológica de Jumilla. Las vendimias se realizaron los días: 10 de octubre de 2016, 26 de septiembre de 2017 y 10 de octubre de 2018 (Figura 28).



Figura 28. Imagen de una calle el día de vendimia.

A partir de los datos de producción se obtuvo el índice de Ravaz que permite evaluar el equilibrio existente entre la producción y el desarrollo vegetativo de cada viñedo como ratio entre la producción y el peso de la madera de poda (kilogramos de madera por cepa) obtenidos en cada cepa. En el año 2016, no se pudieron obtener los datos del peso de la madera poda ni del Índice de Ravaz debido a una pre-poda temprana efectuada por el agricultor sin que se pudieran tomar los pesos de la madera de poda.

Además de la producción unitaria por cepa, durante la vendimia se determinó el número de racimos por cepa. Una vez trasladada toda la vendimia a la Estación Enológica de Jumilla, se tomaron muestras de 5 racimos por UE para obtener los componentes del rendimiento del racimo: peso medio de racimo, número de bayas por racimo, peso de 100 bayas y peso del raquis.

### 3.5 Analíticas de laboratorio

#### 3.5.1 Analíticas de suelo

##### 3.5.1.1 *Procesado de muestras de suelo*

El procesamiento de las muestras de suelo fue similar para los tres tipos de muestreos; una vez recogida las muestras en el campo se transportaron hasta el laboratorio donde se metieron en una estufa un mínimo de 48 horas a 60 °C.

Una vez secas, las muestras de suelo fueron tamizadas mediante un tamiz de malla metálica de 250 mm de diámetro por 90 mm de alto (UNE-EN ISO 9001, Filtra), y se obtuvo la fracción menor a 2 mm de diámetro de partícula (Figura 29).



Figura 29. Tamiz utilizado para el tamizado de muestras de suelo.

Para conocer la textura se realizó un primer tamizado en el que se separó las partículas más gruesas hasta 2 mm de paso de luz y se determinó el contenido en arcilla (tamaño de partícula < 0.002 mm), limo (0.05-0.002 mm) y arena (2-0.05 mm), de acuerdo con la escala establecida por el USDA.

La determinación de la textura se realizó por difracción láser mediante un analizador de partículas, LS 13-320 (Becman Coulter Inc., Brea, CA, EEUU). Cada una de las fracciones de arena, limo y arcilla se expresó en porcentaje (%).

Una vez obtenido la fracción de suelo menor de 2 mm de diámetro, se determinaron: la conductividad eléctrica, el pH, la relación carbono/nitrógeno orgánico, aniones, cationes, elementos totales y la materia orgánica.

#### *3.5.1.2 pH*

El pH de la solución agua: suelo expresa la concentración de iones de hidrogeno que se encuentra en el mismo. Se realizó una solución de 10 g de suelo en 25 mL de agua destilada agitándose la muestra durante 30 minutos y posteriormente midiendo el pH potenciométricamente con electrodo de vidrio en un valorador (Eutech Instruments, Bench PC2700, Nijkerk, Netherlands).

#### *3.5.1.3 Conductividad eléctrica*

Es la capacidad que tiene una solución para conducir la corriente eléctrica a través de ella, es proporcional a la concentración de sales disueltas en la misma. Para medir la conductividad eléctrica, se mezclaron 20 g de suelo con 100 mL de agua destilada, se agitaron las muestras durante 120 minutos y se dejaron decantar durante 30 minutos, separando la parte sólida de la líquida. Finalmente se midió la CE potenciométricamente con un valorador (Bench PC2700, Eutech Instruments, Nijkerk, Netherlands).

### 3.5.2 Material vegetal

#### *3.5.2.1 Procesado del material foliar*

Una vez recogidas todas las muestras de hoja en la parcela, se introdujeron en una nevera refrigerada y se transportaron al laboratorio, donde se procedió a la separación de limbos y hojas. Para evitar alteraciones de los resultados por cualquier tipo de residuo procedente del campo, se lavaron las hojas 3 veces con agua corriente y a continuación dos veces con agua destilada. Una vez las hojas estaban limpias, se introdujo el material vegetal en una estufa a 60 °C durante al menos 48 horas.

Una vez secas, las muestras se trituraron utilizando un molino (molino lote, A 10 basic, IKA, Staufen, Germany) y se tamizaron (tamiz de malla de 1 mm de paso de luz), para la eliminación de los pelillos característicos de las hojas de la variedad Monastrell que pueden dificultar el correcto análisis mineral.

El material foliar fue analizado en el servicio de Ionómica, perteneciente a los servicios generales de apoyo del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEBAS-CSIC) en Murcia, donde se determinaron los siguientes elementos mediante un analizador de plasma de acoplamiento inductivo unido a un espectrofotómetro de emisión óptico (ICP-OES): sodio, potasio, calcio, magnesio, fósforo, boro, aluminio, antimonio, arsénico, berilio, bismuto, cadmio, cromo, cobalto, cobre, hierro, plomo, litio, manganeso, azufre, molibdeno, níquel, selenio, estroncio, talio, titanio, vanadio, rubidio, lantano, silicio y zinc.

#### *3.5.2.2 Determinación de elementos totales*

Este procedimiento describe el método para la determinación de elementos totales en muestras sólidas y líquidas tras una digestión ácida mediante espectrometría de emisión por plasma, ICP-OES (iCAP 7200, ICP-OES, Thermo-Fisher Scientific, MA, EE UU) (Figura 30). Se pesó 0.1 g de la muestra sólida (si es líquida se pesa 1 g) a analizar, se añadió a un tubo de digestión de 25 mL. Se pusieron los tubos en el reactor del microondas con la siguiente rampa de temperatura y presiones: empezando con una presión de 40 bar y subiendo la presión a 10 bar/minuto durante 30 minutos, hasta alcanzar los 220 °C, manteniendo esa temperatura durante 20 minutos. Posteriormente, se enfrió y despresurizó el reactor poco a poco. Una vez enfriado el reactor y liberada toda la presión, se sacaron los tubos y se enrasaron en un tubo de doble aforo de 25 mL con agua Milli-Q. Los tubos se homogeneizaron y se dejaron reposar durante 5 minutos, seguidamente se analizaron en el ICP-OES. Junto a las muestras analizadas se realizó un blanco y muestras de control con agua Milli-Q.



Figura 30. Plasma de acoplamiento inductivo acoplado a un espectrofotómetro de emisión óptica (ICP-OES).

### 3.5.2.3 Determinación de aniones

Para la determinación de los diferentes aniones (fluoruros, cloruros, nitritos, bromuros, nitratos, fosfatos y sulfatos) se utilizó la cromatografía iónica. Este procedimiento está basado en la técnica de separación de sustancias por su diferente migración en una columna de intercambio iónico, haciendo pasar una fase móvil a través de la columna cromatográfica, la cual contiene la fase estacionaria, donde quedan retenidos los solutos. El equipo utilizado para esta medida fue el Cromatógrafo Iónico (850 Profesional, IC Metrohm AG, Herisau, Suiza) (Figura31).



Figura 31. Cromatógrafo Iónico 850 Profesional IC Metrohm AG.

Para llevar a cabo las determinaciones de los diferentes aniones, se pesaron 0.1 g de muestra y se añadieron 40 mL de agua Milli-Q, se agitó durante 30 minutos mediante agitador y posteriormente se centrifugó. Por último, se filtró a través de un filtro de nylon de 0.45 micras. Se recogió el filtrado en un vial para su medida directa en el cromatógrafo. En caso necesario se realizó una dilución de la muestra.

#### *3.5.2.4 Madurez tecnológica de la uva*

Para las determinaciones de la madurez tecnológica de la uva se extrajo el mosto tras un periodo de encubado de 24 horas a 4 °C. Las determinaciones de sólidos solubles totales, la acidez total, pH, ácido málico y ácido tartárico se llevaron a cabo tomando una muestra por cada UE (4 repeticiones por tratamiento) obtenidas de unos 80 kg de uva por muestra.

En la determinación de los sólidos solubles totales, se utilizó un refractómetro digital (modelo PR-101, Atago CO., LTD. Washington, EEUU) con sensor de temperatura para la medida del grado Brix, realizando un ajuste previo del cero con agua destilada. La medida de pH se realizó con un valorador automático (modelo 686, Metrohm, Suiza), según la metodología oficial de la OIV (OIV, 2019). El valor de acidez total se obtuvo por medida potenciométrica con un valorador automático (modelo 686, Metrohm, Suiza), según el método oficial de la OIV (OIV, 2019). Los resultados se expresaron en g/L de ácido tartárico en el mosto. La concentración de ácido málico se determinó con un analizador automático CeTlab (modelo 600, Tecnología difusión ibérica TDI, España), utilizando un test enzimático y siguiendo el método oficial de la OIV (OIV, 2019). Los resultados se expresaron en g/L de ácido málico en el mosto. Por último, se determinó el ácido tartárico, con un analizador automático CeTlab (modelo 600, Tecnología difusión ibérica TDI, España) siguiendo el método colorimétrico Rebelein modificado (García-Barceló, 1990). Los resultados se expresaron en g/L de ácido tartárico en el mosto.

#### *3.5.2.5 Determinación de compuestos fenólicos en uva por HPLC*

##### *3.5.2.5.1 Determinación de antocianos y flavonoles en el hollejo por HPLC*

En el momento de recepción de la uva en la bodega, se seleccionó una muestra representativa de 20 bayas por cada UE y se congelaron a -20 °C para su posterior análisis. Dichas uvas se pelaron con un bisturí colocando los hollejos sobre un papel absorbente eliminando el exceso de humedad. Los hollejos fueron triturados en un molinillo (Vibratory Ball Mill Pulverisette 0, Cryo-box, FRITSCH, Alemania) con ayuda de nitrógeno líquido. Se pesaron 2 gramos del hollejo triturado y se realizó una extracción con 40 mL de metanol (HPLC gradiente, PAI-ACS, Panreac) durante 4 horas, con agitación (Labotron, INFORS, Suiza) a 150 rpm y 25 °C.

El extracto metanólico obtenido se pasó por un filtro de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  (Albet LabScience, Dassel) y se analizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

La separación de los compuestos se realizó en un cromatógrafo líquido Waters 2960 (Waters, PA, EEUU), equipado con un detector diodo-array Waters 996. Se utilizó una columna C-18 de fase reversa de 25 x 0.4 cm, 100 Å (Primisep B2 SIELC Technologies, IL EEUU) de 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula. El análisis se llevó a cabo a una temperatura de 25 °C y el volumen de muestra inyectada fue de 20  $\mu\text{L}$ . La separación se realizó en gradiente, utilizando como fases móviles una mezcla de ácido fórmico (4.5%) y acetonitrilo, con un flujo de 0.8 mL/min.

La identificación de los compuestos se llevó a cabo mediante la comparación de sus espectros con los indicados en la bibliografía (Hebrero et al., 1998; Revilla et al., 1999, Castillo-Muñoz et al., 2009). La identificación se confirmó mediante HPLC-masas, en un cromatógrafo líquido acoplado a un detector de masas LC-MSD-trap VL-01036 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania), equipado con un sistema de ionización por electrospray (ESI).

Los antocianos se cuantificaron a 520 nm utilizando como patrón externo el cloruro de malvidina-3-glucósido (Extrasynthèse, Genay, Francia) (Bautista-Ortín et al., 2005). Los resultados se expresaron en mg de malvidina por kg de uva, para cada uno de los antocianos monoglucósidos y de sus correspondientes derivados acilados.

#### *3.5.2.5.2 Determinación de taninos en el hollejo y en las semillas por HPLC*

Para la determinación de taninos se utilizó el método descrito por Kennedy y Jones (2001) basado en la reacción de floroglucinólisis por la que se produce la ruptura de las cadenas de los taninos poliméricos. El procedimiento experimental, descrito por Hernández-Jiménez et al. (2012), fue el siguiente: se seleccionaron 10 bayas, las semillas y hollejos de las uvas se separaron de la pulpa mediante un bisturí y fueron congeladas a -20 °C para su posterior análisis por separado. La extracción de los taninos se realizó con 10 mL de acetona/agua 2:1 en un agitador automático de vaivén (Labotron, INFORS, Suiza) a 200 rpm durante 24 horas. El extracto se concentró a vacío a 35°C usando un concentrador Centrivap (Labconco, EEUU) y se volvió a disolver posteriormente en 2 mL de metanol.

Una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  de este extracto metanólico se hizo reaccionar con 100  $\mu\text{L}$  de reactivo de floroglucinol (solución con HCL 0.2N en metanol, 100 g/L de floroglucinol y 20 g/L de ácido ascórbico), siguiendo el procedimiento descrito por Kennedy y Taylor (2003). La reacción se llevó a cabo en un baño de agua templada (Selecta, Unitronic OR) a 45 °C durante 25 minutos, posteriormente se añadieron 200  $\mu\text{L}$  de acetato sódico 200 mM para detener la reacción de

floroglucinolisis. Finalmente, se centrifugó la muestra a 13,000 rpm durante 5 min y la muestra obtenida se analizó por cromatografía líquida de alta resolución

Los productos obtenidos de la floroglucinólisis se separaron para su cuantificación mediante un cromatógrafo líquido (Modelo Waters 2960, Philadelphia, EEUU), equipado con un detector diodo-array Waters 996. Se utilizó una columna en fase reversa Atlantis dC18 (Waters, PA, EEUU) 4.6 mm x 250 mm de 5.0  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula, dotada de una precolumna Atlantis dC18 (Waters, PA, EEUU), 2.1 mm x 10 mm, 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula. Para la separación se utilizó un gradiente binario de ácido fórmico al 2 % (A) y acetonitrilo/agua/ácido fórmico (80:18:2) (B) con un flujo de 1 mL/min. Los picos eluidos se monitorizaron e identificaron a 280 nm. Los flavan-3-oles monómeros (-)-epicatequina, (+)-catequina y (-)-epicatequina-3-O-galato se identificaron por comparación de sus espectros UV-Vis con los de los patrones puros (Sigma-Aldrich, MO, EEUU). El resto de compuestos se identificó por comparación de sus espectros con los indicados en la bibliografía (Kennedy et al., 2001).

Para determinar los monómeros presentes de forma natural, el extracto metanólico se analizó sin realizar la reacción de floroglucinólisis. Los productos de ruptura se estimaron usando sus factores de respuesta relativos a la catequina que se usó como patrón de cuantificación (Sigma-Aldrich, MO, EEUU).

Para calcular el grado medio de polimerización (GMP) se utilizó la ecuación:

$$GMP = \frac{\sum \text{moles monómeros} + \text{moles aductos}}{\sum \text{moles monómeros}} \quad (2)$$

Para el porcentaje total de monómeros se dividió la suma de las subunidades (monómeros y aductos de la floroglucinólisis) por la suma de todos los monómeros (en moles). El porcentaje de cada monómero se calculó respecto a la suma en moles de todos los monómeros según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ monómero} = \left( \frac{\text{moles monómero}}{\sum \text{moles monómeros totales}} \right) \times 100 \quad (3)$$

El porcentaje de galoilación (%G) se obtuvo sumando el porcentaje de epicatequina-3-O-galato (monómero terminal) más el porcentaje del aducto epicatequina-3-O-galato-floroglucinol (monómero de extensión). Según la siguiente ecuación:

$$\%G = \% \text{ Epicatequina 3-O-galato.floroglucinol} + \% \text{ Epicatequina.3-O-galato} \quad (4)$$

Para expresar la masa de cada monómero, la conversión de mol a gramos se hizo sin tener en cuenta la fracción correspondiente al floroglucinol en los aductos de la floroglucinólisis. La cuantificación final de cada monómero se expresó en  $\mu\text{g/g}$  hollejo o  $\mu\text{g/g}$  semilla y en  $\text{mg/kg}$  uva.

#### *3.5.2.5.3 Determinación de estilbenos en el hollejo por HPLC*

El método de extracción de los estilbenos del hollejo fue el descrito por Bavaresco et al. (2001) con ciertas modificaciones. Mediante un pelado de las uvas con bisturí se obtuvieron los hollejos procedentes de 20 granos de uva manteniéndolos en congelación a una temperatura de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , posteriormente se liofilizaron en un liofilizador (Cryodos, Telstar, Madrid, España). Se extrajeron 0.25 g de hollejos liofilizados dos veces con 5 mL de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (5 %) y 5 mL de acetato de etilo ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ). La mezcla se homogenizó en un equipo Ultraturrax T-25 (Jankel adn Kunkel, IKA-Labortechnik, Alemania) a 20,000 rpm durante 3 minutos. Las muestras se dejaron en agitación orbital durante 20 minutos (Labotron, INFORS, Suiza), luego se centrifugaron (centrífuga Eppendorf 5810R) a 5,000 rpm durante 5 min y a una temperatura de  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La centrifugación provocó la separación de una fase orgánica que se llevó a un concentrador Centrivap (Labconco, EEUU) hasta sequedad, redisolviéndose posteriormente en 2 mL de metanol. Las muestras se filtraron utilizando filtros de nylon de  $0.45\text{ }\mu\text{m}$ , (Albet LabScience, Dassel) y se guardaron en viales de color ámbar hasta su posterior análisis y cuantificación mediante cromatografía líquida. Las extracciones se realizaron en condiciones de baja temperatura y oscuridad para evitar posibles oxidaciones e isomerizaciones.

El método para identificar y cuantificar los estilbenos es el descrito por Guerrero et al. (2010) con algunas modificaciones. El análisis por cromatografía líquida fue realizado en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) Waters 2960 (Waters, PA, EEUU), equipado con un detector diodo-array Waters 996. Se utilizó una columna C18 de fase reversa de  $25 \times 0.4\text{ cm}$ , LiChrospher® 100 RP –C18 (Merk, Darmstadt, Alemania) de  $5\text{ }\mu\text{m}$  de tamaño de partícula. El análisis se llevó a cabo a una temperatura de  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  y el volumen de muestra inyectada fue de  $20\text{ }\mu\text{L}$ . La separación se realizó en gradiente, utilizando como fases móviles una mezcla de ácido fórmico (5%) y acetonitrilo, con un flujo de  $1\text{ mL/min}$ .

Los estilbenos se cuantificaron a  $306\text{ nm}$  utilizando como patrones externos el trans-veratrol, y el trans-piceido (Sigma-Aldrich, MO, EEUU). Los isómeros cis- se obtuvieron por isomerización con luz UV. Los resultados se expresaron en mg del correspondiente estilbeno por kg de uva.

### 3.6 Elaboración y determinaciones en vino

Los vinos fueron elaborados en la Estación Enológica de Jumilla, perteneciente al Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario (IMIDA), siguiendo un método de elaboración tradicional.

La vendimia fue transportada en cajas a la Bodega Experimental de la Estación Enológica de Jumilla, dichas cajas se colocaron en cámaras frigoríficas a una temperatura de 10 °C durante 24 horas. La técnica de vinificación realizada fue la misma para todos los tratamientos. Se elaboró un vino por cada repetición experimental de campo (un total de 4 vinos por tratamiento).

La uva fue despallada, estrujada, sulfatada (8 g de SO<sub>2</sub>/100 por kg de uva) e introducida en pequeñas lecheras de 100 L, donde se realizó una maceración prefermentativa en frío durante 24 horas. Una vez terminada la maceración prefermentativa se obtuvieron muestras de mosto para la realización de analíticas de entrada a bodega (sólidos solubles totales, pH, alcohol probable, acidez total, ácido tartárico y ácido málico). Cuando fue necesario se corrigió la acidez total de los depósitos añadiendo ácido tartárico hasta 6 g/L. Para cada depósito se realizó un pie de cuba de 10 g levadura seca (Laffort, DSM, Servian, Francia) por 100 kg uva. La temperatura de fermentación se controló entre 23 y 28 °C, realizándose medidas de temperatura y densidad del mosto dos veces al día, hasta que el °Baumé llegó a cero. Se llevaron a cabo dos removidos diarios del sombrero para homogeneizar la fermentación que tuvo una duración aproximada de 10 días. Una vez consumido todo el azúcar por las levaduras se prensaron todos los depósitos individualmente utilizando una prensa de membrana a 1.5 bares de presión, alcanzando rendimientos del 65%. Finalizada la fermentación alcohólica, se controló la temperatura para que ésta no fuera menor de 18 °C y se almacenó el vino en bag-in-box de 25 litros donde se realizó la fermentación maloláctica con bacterias comerciales (Lactoenos B16 Standard, Laffort). Además, se realizaron entre 1 y 3 trasiegos, con el fin de evitar la formación de sulfhídrico (SH<sub>2</sub>), manteniendo siempre el espacio de cabeza con CO<sub>2</sub> para evitar posibles oxidaciones en el vino. Concluida la fermentación maloláctica, los vinos se trasegaron una última vez y se adicionó SO<sub>2</sub> (50 mg/L), a continuación, se procedió a la estabilización del vino a -3 °C. Tras este proceso, los vinos fueron embotellados y conservados en el sótano de la Bodega Experimental a una temperatura constante de 15 °C.

#### 3.6.1 Determinaciones espectrofotométricas en vino

Estas determinaciones se realizaron en el vino procedente de los depósitos tras la fermentación alcohólica de los mismos. El vino se centrifugó y se sonicó (aplicación de

ultrasonidos) con el fin de extraer todo el CO<sub>2</sub>. Se analizaron los siguientes parámetros: intensidad de color, tono, parámetros CIELab, antocianos totales, compuestos fenólicos totales y parámetros de copigmentación. Las medidas se realizaron en un espectrofotómetro Shimadzu 1600-UV (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) y los resultados se refirieron a celdas de 1 cm de paso óptico (Figura 32).



Figura 32. Espectrofotómetro en el que se realizaron las medidas de los parámetros cromáticos

### 3.6.1.1 Intensidad de color y tono

El valor de la intensidad de color (IC) se determinó mediante la suma de las absorbancias a 620 nm ( $A_{620}$ , componente azul), 520 nm ( $A_{520}$ , componente roja) y 420 nm ( $A_{420}$ , componente amarilla) del vino sin diluir (Ecuación 5), utilizando cubetas de 0.1 cm de paso óptico (Glories, 1984):

$$IC = A_{620} + A_{520} + A_{420} \quad (5)$$

Mediante el cociente entre las absorbancias a 420 nm y a 520 nm se calculó el valor del tono (Sudraub, 1958):

$$Tono = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad (6)$$

### 3.6.1.2 Parámetros CIELab

Se obtuvieron a partir de las medidas de absorbancia realizadas en el rango de longitudes de onda comprendidas entre 380 nm y 780 nm, con cubetas de 1 mm de espesor y referidas a un observador de 10° y un iluminante D65. Para ello el espectrofotómetro estaba conectado a un ordenador con un programa específico de color (color-uvpc Color Measurement Softwares, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) que realizó el cálculo directo de los parámetros CIELab: L\*, a\*, b\*, C\* y H\*.

### 3.6.1.3 Índice de polifenoles totales (IPT)

Se obtuvo por lectura de la absorbancia a 280 nm ( $A_{280}$ ) con cubetas de 1 cm de paso óptico del vino diluido 100 veces con agua destilada (Ecuación 7):

$$IPT = A_{280} \times 100 \quad (7)$$

### 3.6.1.4 Parámetros de copigmentación

El cálculo de los parámetros de copigmentación se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Levengood y Boulton (2004). Antes de comenzar con las determinaciones, el vino es ajustado previamente a un pH de 3.6. Para la obtención de estos valores de copigmentación (Ecuaciones 8, 9 y 10) es necesaria la determinación de varias medidas espectrofotométricas:

**A<sub>acet</sub>**: Se adicionaron 20 µL de acetaldehído al 10% a 2 mL de la muestra a analizar, agitándose inmediatamente. Después de 45 minutos se midió la absorbancia a 520 nm en cubetas de 1 mm de paso óptico. La medida se expresó referida a cubetas de 1 cm de espesor.

**A<sub>520</sub>**: En un tubo de ensayo de 10 mL se mezclaron 200 µL de la muestra a analizar y 3.8 mL de vino sintético (24 mL de etanol absoluto, 176 mL de agua destilada y 0.5 g de bitartrato potásico ajustando el pH a 3.6). Se agitó y a los 10 minutos se midió la absorbancia a 520 nm en cubetas de 1 cm de paso óptico.

**A<sub>SO2</sub>**: 160 µL de SO<sub>2</sub> al 5% se añadieron a 2 mL de la muestra a analizar. Se agitó y tras 1 minuto se leyó la absorbancia a 520 nm en cubetas de 0.2 cm de paso óptico. La medida se expresó referida a cubetas de 1 cm de espesor.

Con los resultados de estas medidas se obtuvieron las fracciones de color debidas a: antocianos copigmentados (FCA), antocianos libres (FFA) y pigmentos poliméricos (FPP), según las siguientes ecuaciones:

$$FCA = \frac{(A_{acet} - A_{20})}{A_{acet}} \quad (8)$$

$$FFA = \frac{(A_{20} - A_{SO2})}{A_{acet}} \quad (9)$$

$$FPP = \frac{A_{SO2}}{A_{acet}} \quad (10)$$

### 3.6.2 Determinaciones de compuestos fenólicos por HPLC

#### 3.6.2.1 Determinación de antocianos

La determinación de antocianos, se realizó por inyección directa de la muestra (vino), previamente filtrada (filtro de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$ , Albet LabScience, Dassel), en un cromatógrafo líquido Waters 2690 (Waters, PA, EEUU), equipado con un detector diodo-array Waters 996. La columna utilizada fue una CORTECS® Shield RP18 (Crawford Scientific, Strathaven, Reino Unido), de 150 x 0,46 mm, y 2,7  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula. El volumen de la muestra inyectada fue de 20  $\mu\text{L}$  y la muestra fue analizada a temperatura ambiente. Las fases móviles utilizadas fueron: ácido fórmico al 4.5% (A) y acetonitrilo (B), con un flujo de 0.90 mL/min. La identificación y cuantificación de los compuestos fueron las descritas en la determinación de antocianos en el hollejo de la uva (3.4.2.5.1).

#### 3.6.2.2 Determinación de taninos

Al igual que en la uva, se utilizó el método descrito por Kennedy y Jones (2001) basado en la reacción de floroglucinólisis para la ruptura de las cadenas de los taninos poliméricos. Para la preparación de las muestras de vino, se utilizó el método propuesto por Pastor del Río y Kennedy et al. (2006), con ciertas modificaciones. El procedimiento experimental fue el siguiente: se evaporaron 5 mL de vino en un concentrador Centrivap (Labconco, EEUU). El extracto seco se redisolvió en 3 mL de agua y se pasó por un cartucho SEP-PAK C18 (Vac 6  $\text{cm}^3$  1g) (Waters, Mildford, EEUU), el cartucho había sido previamente activado con 10 mL de metanol seguidos de 10 mL de agua. Posteriormente, éste se lavó con 20 mL de agua, y después se eluyeron los compuestos de interés con 10 mL de metanol. El extracto obtenido se volvió a evaporar en el concentrador, para finalmente redissolver el residuo obtenido del evaporador en 1 mL de metanol. A partir de este momento, la extracción, separación, identificación y

cuantificación de los diferentes compuestos en el extracto metanólico se llevó a cabo como en el análisis de taninos descrito para la uva (3.4.2.5.2).

### 3.6.2.3 Determinación de estilbenos

Para la determinación y cuantificación de estilbenos en vino se utilizó la misma metodología descrita en el apartado 3.4.2.5.3, con la diferencia de que para las muestras de vino se partió de 5 mL de muestra en vez de 0.25 g de hollejo liofilizado.

### 3.6.3 Análisis sensorial

Con los vinos elaborados de las campañas 2016 y 2018, se llevó a cabo una prueba descriptiva con un panel de catadores no cualificado (consumidores finales), en la que se dio a catar 6 vinos, uno por cada tratamiento. Las diferentes repeticiones obtenidas para cada tratamiento se mezclaron obteniendo un solo vino por tratamiento. En el análisis realizado se evaluaron cada uno de los atributos con valores que iban de 0 a 10, siendo 10 muy positivo y 0 muy negativo. Estas características se dividieron en 4 grupos que hacen referencia al color, aroma, gusto y a una valoración global del vino. Los vinos elaborados en el año 2017 no pudieron ser evaluados sensorialmente, debido a que un gran número de vinos no alcanzaron unos valores mínimos de calidad para poder realizar el análisis sensorial con normalidad.

## 3.7 Análisis estadístico

Los parámetros medidos durante el ensayo fueron analizados por separado cada año mediante un análisis de la varianza (ANOVA) siguiendo el modelo lineal general (Steel et al., 1997) y utilizando el programa estadístico SPSS (SPSS v 26.0, Chicago, EEUU). Para la separación de medias se empleó el Test del rango múltiple de Duncan. El grado de significación se ha expresado como: ns no significativo, (\*)  $0.01 \leq p \leq 0.05$ , (\*\*)  $0.001 \leq p \leq 0.01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.001$ . Diferentes letras entre tratamientos indican diferencias significativas con  $p \leq 0.05$  dentro de un mismo año, cuando la diferencia no fue significativa no se incluyeron letras a los tratamientos. Las correlaciones bivariadas entre las diferentes variables se obtuvieron mediante el programa de análisis estadístico SPSS (SPSS v 26.0, Chicago, EEUU).

Por otra parte, a los diferentes atributos de análisis sensorial de los vinos elaborados de cada tratamiento, se le aplicó un análisis de la varianza univariante con no menos de 40 repeticiones (catadores) por tratamiento y año. Cuando el análisis de la varianza fue significativo, se realizó el test de separación de medias mediante el test de rango múltiple de Duncan con el fin de establecer diferencias significativas entre los tratamientos experimentales.



## ***4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

#### 4.1 Condiciones edafo-climáticas, tratamientos y composición del agua de riego

En la Tabla 8 se muestran las temperaturas mensuales que tuvieron lugar durante el periodo experimental (2016-2018). Las temperaturas medias anuales fueron idénticas en los años 2016 y 2017, siendo el año 2018 ligeramente más fresco que los años anteriores. Las temperaturas medias de los 3 años de estudio, fueron similares a la media de los últimos 20 años (14.8 °C).

Tabla 8. Valores de temperaturas medias mensuales obtenidas en la estación meteorológica de Ontur durante los años de estudio (2016-2018).

<b>2016</b>													
<b>Mes</b>	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	<b>Anual</b>
Tm (°C)	8.7	8.9	9.4	12.7	15.6	22.1	24.6	23.5	20.7	16.4	10.0	7.8	<b>15.0</b>
TMA (°C)	14.1	14.1	15.1	18.9	22.4	30.4	33.1	31.6	28.7	23.1	15.2	12.3	<b>21.6</b>
tma (°C)	3.6	3.9	3.7	6.8	9.0	13.5	16.0	15.9	13.6	10.9	5.0	4.1	<b>8.8</b>
<b>2017</b>													
Tm (°C)	5.6	8.7	10.9	12.8	17.8	23.4	25.1	23.8	19.6	16.4	9.4	6.4	<b>15.0</b>
TMA (°C)	10.6	14.3	17.7	20.0	25.9	31.7	33.7	31.7	27.2	24.5	16.7	12.0	<b>22.2</b>
tma (°C)	0.8	3.6	4.19	5.9	9.4	15.0	16.5	16.8	13.0	9.9	3.2	1.2	<b>8.33</b>
<b>2018</b>													
Tm (°C)	7.3	5.8	9.6	12.7	15.8	20.5	23.6	24.1	20.4	15.4	10.1	8.5	<b>14.5</b>
TMA (°C)	12.8	11.3	14.9	19.0	23.0	27.6	33.8	32.5	28.1	21.9	15.1	15.5	<b>21.4</b>
tma (°C)	2.5	1.03	4.4	6.6	9.3	13.3	15.7	17.4	15.1	9.2	4.8	3.4	<b>8.6</b>

Tm: Temperatura media, TMA: Temperatura máxima absoluta, tma: temperatura mínima absoluta.

Durante los 3 años de estudio, las principales diferencias climáticas se han producido debido a las precipitaciones y su distribución temporal a lo largo de los diferentes meses, siendo 2017 el año más seco de los tres (Figura 33). Por otro lado, 2018 fue el año con mayor precipitación con un total de 404 mm, siendo más intensas las lluvias al inicio del verano y más repartidas durante el otoño. Se puede considerar, por tanto, el año 2018 como excepcionalmente lluvioso si comparamos la precipitación ocurrida (404 mm) con la media anual registrada para los últimos 20 años, la cual es de 290 mm.

Los valores de evapotranspiración de referencia ( $ET_o$ ) de los 3 años de estudio (Figura 33) fueron similares a las medias anuales registradas en los últimos 20 años ( $ET_o$ : 1,270 mm). Sin embargo, la precipitación media durante el periodo de estudio (330 mm) fue superior a la media de los últimos 20 años (290 mm).

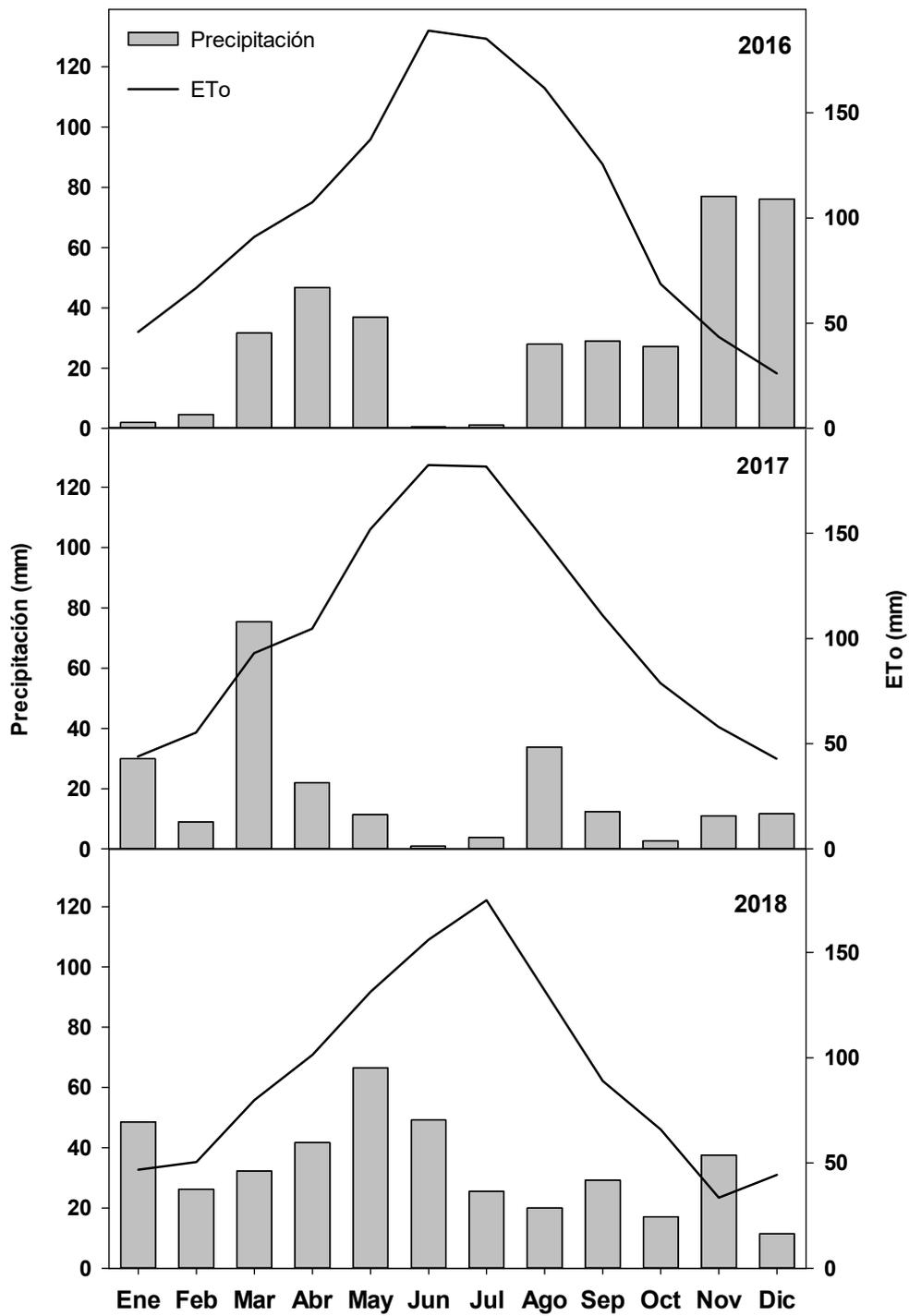


Figura 33. Precipitación y evapotranspiración de referencia (ET<sub>o</sub>) acumulada mensual durante los 3 años de estudio, determinadas por la estación meteorológica de Ontur.

En la Tabla 9 se muestra la composición del agua de riego durante los 3 años de estudio (agua utilizada para el tratamiento control y como agua base para la obtención de los tratamientos salinos). La CE del agua indica el total de sales disueltas en el agua de riego y puede servir como un indicador simple de la calidad general del agua de riego empleada (Bhattacharya et al., 2012). Sin embargo, según Singh et al. (1996) es necesario tener en cuenta otros factores que pueden determinar la respuesta final de los cultivos frente a la salinidad del agua de riego como son: la textura del suelo, la precipitación y la tolerancia de los cultivos a la salinidad. Se podría por lo tanto considerar aguas aptas para el riego, las que tienen valores máximos de 1000 ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) para un contenido de arcilla alto ( $>30\%$ ), en cultivos sensibles a la salinidad y una precipitación anual menor de 350 mm/año. Otros autores como Lingaswamy y Saxena (2015) utilizaron criterios diferentes, considerando aguas para el riego por debajo de 250  $\mu\text{S}/\text{cm}$  excelentes, aguas entre 750-2250  $\mu\text{S}/\text{cm}$  aceptables y aguas con una CE superior a 5000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  no aceptables. Por otro lado, la FAO (1985) hace una clasificación muy generalista y establece que aguas con  $\text{CE} < 750 \mu\text{S}/\text{cm}$  no tienen una restricción para su uso en el riego, aguas con  $\text{CE} > 3000 \mu\text{S}/\text{cm}$  tiene un grado de restricción severo y aguas con CE entre estos dos valores tienen una restricción moderada.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, a tenor de los valores mostrados en la Tabla 9, se puede afirmar que, con un valor de CE promedio de 1980  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , el agua control disponible para el ensayo puede considerarse como aceptable para el riego, aunque es ligeramente alcalina dado que tiene un pH promedio de 8.07 (Tabla 9). En este sentido, hay que tener en cuenta que valores elevados de pH pueden provocar una pérdida estructural de los suelos y reducir el crecimiento vegetativo. Esta pérdida de vigor se produce como consecuencia de la baja solubilidad de los nutrientes a valores de pH altos, y más concretamente del fósforo y la mayoría de micronutrientes (Arzola et al., 2013). En cuanto a la relación de absorción de sodio (RAS), el agua de riego empleada en este ensayo tiene un valor promedio de 5.6 que según los criterios de calidad del agua establecidos por Cánovas (1986) y Richards (1954), correspondería a un agua de una calidad excelente y con bajo riesgo de sodicidad. Cabe señalar, que los suelos sódicos no sólo tienen una alta degradación fisicoquímica, sino que también tienen una baja carga de microorganismos heterotróficos (Gupta, 2006). En cuanto al contenido iónico total, destacar que las concentraciones obtenidas de magnesio son superiores a los valores normales (Tabla 9). Esto podría ser debido en gran medida a la sobreexplotación y salinización de los acuíferos de donde se obtiene el agua para el riego. La concentración del resto de iones puede considerarse que están dentro de la normalidad para un agua de riego estándar.

Tabla 9. Composición química del agua utilizada en el tratamiento control y como agua base para el resto de tratamientos salinos en cada año de ensayo.

	2016	2017	2018	Valores normales
CE ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	2160	1910	1880	750 - 2000
pH	8.37	7.86	7.98	6 - 8.5
RAS	6.4	4.46	6.03	0 - 15
$\text{Ca}^{+2}$	9.36	13.29	10.65	0-20
$\text{K}^{++}$	0.22	0.26	0.20	0 - 2
$\text{Mg}^{+2}$	8.97	7.85	7.48	0 - 5
$\text{Na}^{+}$	4.33	3.43	4.22	0 - 20
$\text{Cl}^{-}$	5.11	3.33	4.95	0 - 20
$\text{NO}_3^{-}$	<1	<1	<1	0 - 5
$\text{PO}_4^{-3}$	<1	<1	<1	0 - 2
$\text{SO}_4^{-2}$	10.80	12.93	17.28	0 - 20

Todos los valores exceptuando CE, pH y RAS están expresados en  $\text{meq L}^{-1}$ . Valores normales obtenidos de Medifer (2018).

En la Tabla 10 se presentan los valores promedio obtenidos en las analíticas de agua realizados en los tratamientos Control y los tratamientos de riego a los que se le añadieron sales.

i) Control, ii) Agua control más la adición de cloruro sódico, iii) Agua control más la adición de los sulfatos sódico y magnésico.

Tabla 10. Composición química del agua utilizada para riego en los diferentes tratamientos.

	Agua Control	Agua Control + Cloruros	Agua Control + Sulfatos
CE ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	1980	4950	4980
B	0.01	0.01	0.01
$\text{Ca}^{+2}$	13.29	12.31	12.60
$\text{K}^{+}$	0.26	0.41	0.41
$\text{Mg}^{+2}$	7.85	10.07	25.67
$\text{Na}^{+}$	3.43	26.20	17.26
$\text{SO}_4^{-2}$	20.58	28.54	71.5
$\text{Cl}^{-}$	4.33	27.79	5.16

Los valores expuestos, son los valores promedio de los tres años de estudio. Todos los valores exceptuando CE están expresados en  $\text{meq L}^{-1}$ .

En la Tabla 6 (sección 3.3.1 de Materiales y métodos) ya se han descrito los 6 tratamientos que se han aplicado durante este ensayo, especificando el momento de inicio de riego, la conductividad eléctrica del agua y la cantidad de agua aplicada para cada uno de los tratamientos. El momento de inicio del riego, para los tratamientos control (C), sulfato (Sul) y cloruros (Clo), vino determinado por el estado hídrico de las cepas, estableciéndose el comienzo del riego para un umbral de  $\Psi_t$  de -0.8 MPa. Para los tratamientos SulEnv y CloEnv, el inicio del riego se estableció justo después del envero de las bayas (Env).

En el año 2016, los tratamientos C, Sul y Clo tuvieron una aplicación de riego superior a los 100 mm, no así los tratamientos SulEnv y CloEnv. A pesar de que se pretendía poder aplicar el mismo volumen de agua de riego en todos los tratamientos, independientemente de que el inicio del riego fuera temprano o después de enero, esta diferencia fue provocada por las lluvias acontecidas durante los meses de septiembre y octubre. Todo ello, evidentemente, influyó en el cálculo de las necesidades hídricas de las vides y por tanto en la programación del riego a aplicar, como se ha descrito en el apartado de Material y métodos (apartado 3.3.2). En el año 2017, todos los tratamientos se regaron por encima de los 100 mm, siendo las diferencias de riego aplicado entre tratamientos mucho menores que las registradas en 2016. Por último, en el 2018, todos los tratamientos, excepto el CloEnv, se regaron por encima de los 100 mm con valores muy similares entre ellos.

#### 4.1.1 Influencia del riego salino en la acumulación de sales en el suelo

En un ensayo en el que se están utilizando aguas salinas para el riego, es importante conocer qué ocurre con las sales que se están aportando al suelo. Para ello, se estudió la conductividad eléctrica del extracto saturado del suelo ( $CE_s$ ) durante el periodo de estudio (2017-2018). En la Figura 34 se presentan los datos obtenidos durante un año completo (desde el 06/10/2017 hasta el 09/10/2018).

El tratamiento S, dado que no recibió aportes de sales al no regarse, apenas presentó variación en la evolución de la  $CE_s$  a lo largo del año. Por otra parte, los tratamientos que se regaron durante el ciclo completo C, Sul y Clo presentaron en noviembre un valor promedio de 630 ( $\mu S/cm$ ), siendo el tratamiento C, el que obtuvo un valor de  $CE_s$  inferior a los tratamientos Sul y Clo. Tras el invierno, etapa en la cual no se aplicó riego, pero se produjeron precipitaciones por un total de 457 mm, los valores de  $CE_s$  de los tratamientos descendieron hasta 270 ( $\mu S/cm$ ) en promedio. Como era de esperar, los valores de CE volvieron a aumentar en la medida realizada en agosto después del comienzo del riego con aguas salinas, destacando el tratamiento Sul que presentó  $CE_s$  muy superiores a los tratamientos Clo y C. A partir de ese momento, las  $CE_s$  se mantuvieron constantes hasta la última medida realizada en noviembre de 2018.

Por otro lado, en noviembre de 2017 la  $CE_s$  de los tratamientos regados en post-enero (SulEnv y CloEnv) alcanzaron un valor promedio de 661 ( $\mu S/cm$ ), valor similar al alcanzado por los tratamientos C, Sul y Clo para esta fecha. De forma similar al resto de tratamientos, los valores de las  $CE_s$  de los tratamientos que se comenzaron a regar después del enero se redujeron hasta 318 ( $\mu S/cm$ ) en mayo de 2018, manteniéndose constantes hasta agosto con valores de 290 ( $\mu S/cm$ ), momento en el cual comenzó el riego de los tratamientos SulEnv y

CloEnv. Al iniciarse de nuevo el aporte de aguas salinas mediante el riego, los valores de  $CE_s$  volvieron a incrementarse significativamente en noviembre hasta un valor promedio de 645  $\mu S/cm$ .

Este descenso de los valores de  $CE_s$  ocurrido durante el invierno en todos los tratamientos regados, fue debido, por un lado, a las precipitaciones ocurridas durante los meses de invierno, lo cual es característico del clima mediterráneo, y por otro, al alto contenido en arena del suelo, lo que facilita el lavado de las sales hacia zonas más profundas del suelo. Otros autores como Caliandro (1999); Dasberg et al. (1991) y Kumar et al. (2008) obtuvieron resultados similares, observando un adecuado lavado de sales debido a las precipitaciones invernales.

Aunque los valores de  $CE_s$  medidos a lo largo de todo el ensayo nunca superaron en ninguno de los tratamientos 1,200  $\mu S/cm$ , cabe recordar que la vid está clasificada como moderadamente sensible a salinidad, con un valor umbral de  $CE_s$  de 1,500  $\mu S/cm$ , y un descenso del rendimiento del 9.6% por cada incremento unidad de  $CE_s$  por encima de dicho umbral (Nauriyal y Gupta, 1967; Taha et al., 1972; Groot-Obbink y Alexander, 1973). Por lo tanto, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, la  $CE_s$  alcanzada en el suelo de los tratamientos regados con aguas salinas se encontraría por debajo de los valores mínimos de salinidad para llegar a afectar al rendimiento productivo de la vid.

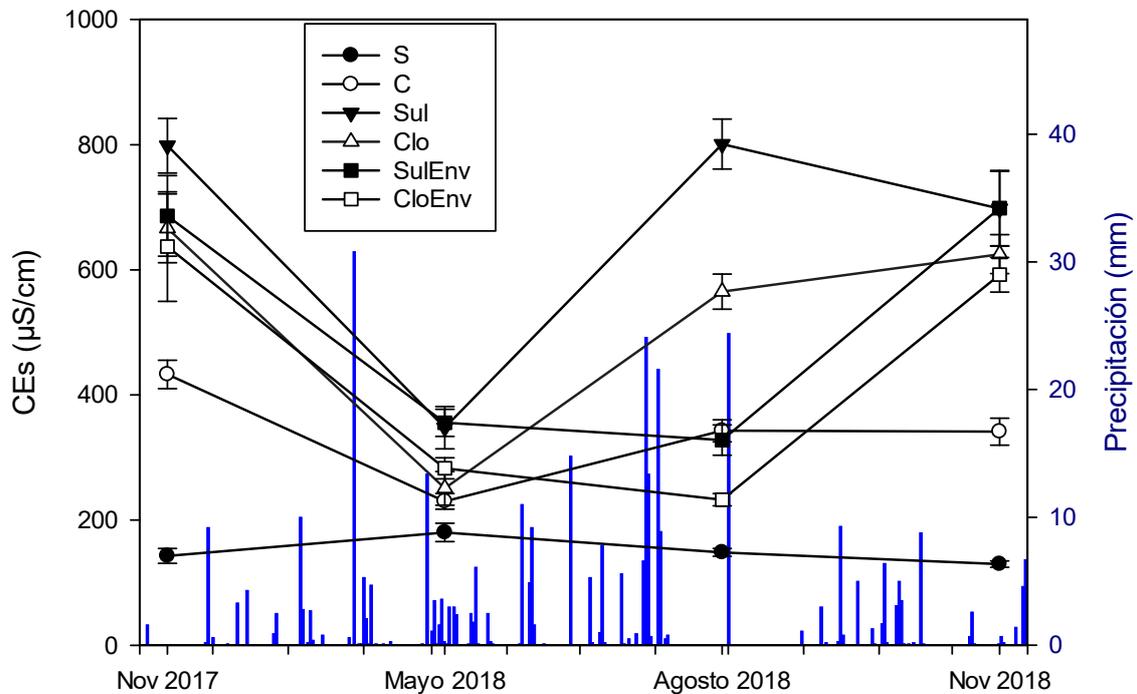


Figura 34. Evolución de la conductividad eléctrica del extracto saturado de suelo ( $CE_s$ ) durante un año completo ( $n=16$ ). Las barras representan el error estándar de las medias. Las barras azules representan la precipitación diaria durante el mismo periodo de tiempo.

## 4.2 Resultados fisiológicos y agronómicos

En viticultura, una buena gestión del riego es fundamental para obtener vinos de calidad, ya que la composición de las bayas y del vino dependen en gran medida del estado hídrico al que ha estado sometido la planta a lo largo de todo el ciclo fenológico (Keller, 2015). Para un manejo óptimo y eficiente del viñedo, el viticultor ha de conocer las necesidades hídricas del viñedo y gestionar con acierto los recursos hídricos disponibles, para obtener la mayor producción de uva con la máxima calidad posible. Existen numerosos indicadores para determinar el estado hídrico del viñedo como: el potencial hídrico de hoja (Schultz, 2003), la temperatura de la hoja (Tanner, 1963), el flujo de savia (Lascano et al., 1992) y la reflectancia de la cubierta vegetal (Peñuelas y Filella, 1998), entre otros. En esta Tesis Doctoral, se seleccionó el potencial hídrico de tallo ( $\Psi_t$ ). Este potencial se suele medir en dos momentos: al alba antes de que haya salido el sol, habiendo un equilibrio entre el estado hídrico del suelo y de la planta (Ritchie y Hinckley, 1975) y a medio día solar, indicando la capacidad de la vid para conducir el agua desde el suelo a la atmósfera. En nuestro estudio se seleccionó este último, dado que un meta-análisis realizado recientemente concluyó que, el  $\Psi_t$  es un indicador robusto de la disponibilidad de agua en el suelo para la planta (Santesteban et al., 2019).

### 4.2.1 Estado hídrico del viñedo e intercambio gaseoso

Se realizó un seguimiento al estado hídrico del viñedo, midiendo el potencial hídrico de tallo, cada 15 días a medio día solar ( $\Psi_t$ ) durante los tres años de estudio (Figura 35). Como consecuencia de las condiciones climáticas y probablemente del contenido de agua en el suelo (no determinado), se observó en todos los tratamientos un descenso paulatino de los valores de  $\Psi_t$  a medida que avanzaba el año (cambiando la tendencia en el momento en el que comenzaba el riego). Los valores más negativos de  $\Psi_t$  durante los 3 años de estudio se registraron en el tratamiento S, con valores de -1.53 MPa en el año 2016, -1.15 MPa en 2017 y -1.49 MPa en el año 2018, lo que indica un estrés hídrico severo para los años 2016 y 2018 y un estrés hídrico moderado para el año 2017 (Van Leeuwen et al., 2009).

En el año 2016 (Figura 35a), no se observaron diferencias de  $\Psi_t$  entre tratamientos al comienzo de las medidas, pero se observó un aumento pronunciado del  $\Psi_t$  cuando comenzó el riego de los tratamientos C, Sul y Clo, llegando a alcanzar valores de -0.80, -0.84 y -0.78 MPa, respectivamente. Por otro lado, el  $\Psi_t$  de los tratamientos S, SulEnv y CloEnv continuó disminuyendo hasta que comenzó el riego post-enero. Después del inicio del riego post-enero, incrementó (menos negativo) el  $\Psi_t$  de los tratamientos SulEnv y CloEnv hasta valores incluso mayores que los de los tratamientos regados durante todo el ciclo (C, Sul y Clo). Finalmente, en

la última medida realizada antes de vendimia, se observaron diferencias considerables entre los tratamientos en función del momento de inicio de riego, siendo las plantas de los tratamientos SulEnv y CloEnv las que presentaban un mejor estado hídrico, dado que su régimen de riego en ese periodo final del ciclo de cultivo era mayor que el de los tratamientos C, Sul y Clo. En términos generales, se puede afirmar que las plantas de los tratamientos regados con sulfatos (Sul y SulEnv) presentaron un mejor estado hídrico que las regadas con cloruros (Clo y CloEnv) durante todo el año de estudio.

Durante el año 2017 (Figura 35b), los tratamientos no alcanzaron valores de  $\Psi_t$  tan bajos como en los años 2016 y 2018, obteniéndose el valor más bajo de  $\Psi_t$  en el tratamiento seco (-1.15 MPa). Además, se observaron diferencias entre los tratamientos regados durante todo el ciclo (C, Sul y Clo) y los regados a partir de enero (SulEnv y CloEnv). Desde enero (segunda semana de agosto) a vendimia, se observaron diferencias pronunciadas del  $\Psi_t$  entre el tratamiento seco y el resto de tratamientos.

Por último, en el año 2018 (Figura 35c), el tratamiento seco vuelve a destacar por sus valores más bajos de  $\Psi_t$ , existiendo diferencias considerables durante el mes de agosto entre los tratamientos regados a partir de enero y los regados durante todo el ciclo vegetativo. Estas diferencias entre los  $\Psi_t$  dejan de existir cuando se comienzan a regar los tratamientos de riego post-enero, mejorando significativamente el estado hídrico de las plantas de los tratamientos SulEnv y CloEnv.

Como se puede observar durante todo el periodo experimental, el  $\Psi_t$  resultó más sensible al déficit hídrico (tratamiento seco) que a la salinidad del agua de riego. Por otra parte, la variación del  $\Psi_t$  a lo largo del ciclo vegetativo estuvo determinada en mayor medida por el momento de inicio de riego y no tanto por el tipo de sal aplicada. Romero et al. (2016, 2018), en dos estudios de riego deficitario controlado en la variedad Monastrell, observaron valores de  $\Psi_t$  similares a los obtenidos en esta Tesis Doctoral, en la que, en términos generales, la evolución del potencial hídrico de tallo está fuertemente relacionada con la aplicación de riego, siendo los tratamientos con un mayor aporte de agua, los que obtuvieron mayores valores de potencial hídrico de tallo medido a medio día solar.

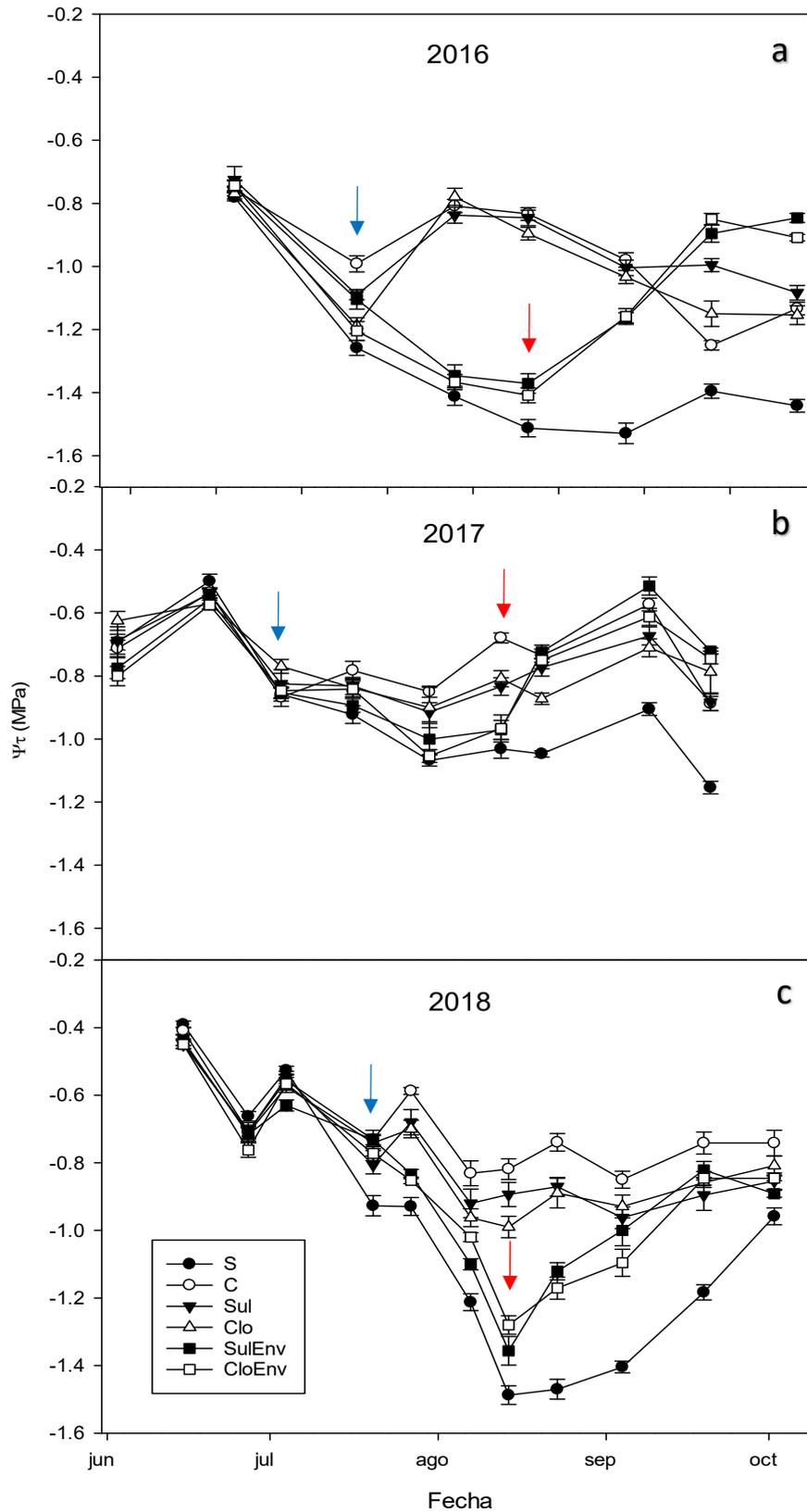


Figura 35. Evolución del potencial hídrico de tallo medido a medio día solar ( $n=12$ ) en los distintos tratamientos aplicados durante los 3 años de estudios. Las barras representan el error estándar de las medias. Flechas azules indican el inicio de riego antes de envero y flechas rojas el comienzo de riego después de envero.

En la Tabla 11 se presentan los valores obtenidos para la  $S_{\psi}$  durante los tres años de estudio. Como era de esperar, el tratamiento S alcanzó los mayores valores de  $S_{\psi}$  en comparación con el resto de tratamientos en los tres años estudiados. En las campañas 2016 y 2018, los tratamientos regados después de envero (SulEn y CloEnv) obtuvieron mayores valores que los tratamientos regados durante todo el ciclo vegetativo (C, Sul y Clo). Comparando los tratamientos que tuvieron el mismo momento de inicio de riego, en los tratamientos salinos (Sul y Clo) se alcanzaron mayores valores que en el tratamiento C. De lo que se deduce que la salinidad del agua de riego incrementó ligeramente el estrés hídrico al que fueron sometidas las plantas.

Tabla 11. Integral de estrés hídrico (MPa\*día) calculada para cada tratamiento y año.

	S	C	Sul	Clo	SulEnv	CloEnv
2016	120	74	77	85	91	94
2017	76	51	56	53	53	57
2018	76	40	50	49	58	58

S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. Resultados obtenidos mediante la ecuación de Myers (1988).

Con el fin de evaluar el estado hídrico del viñedo a lo largo de todo el ciclo vegetativo, se determinó el ratio isotópico de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) en el mosto procedente de las uvas vendimiadas en el primer año de ensayo (2016). Diferentes estudios (Wang et al., 2010; Mohammady et al., 2012; Pascual et al., 2013) han demostrado que los tejidos de plantas C3, que han sido sometidas a condiciones deficitarias de agua, muestran valores más altos de  $\delta^{13}\text{C}$  que los de las plantas que no han sufrido estrés hídrico. Otras publicaciones donde se han realizado ensayos en viñedos con distintas variedades de uva, han confirmado que la medida del  $\delta^{13}\text{C}$  es un buen indicador del estado hídrico al que ha sido sometido el viñedo durante el ciclo vegetativo (Guix-Hébrard et al., 2007; Koundouras et al., 2008; Van Leeuwen et al., 2009; Costantini et al., 2010; Santesteban et al., 2011).

Como se puede observar en la Figura 36, las plantas del tratamiento seco fueron las que sufrieron un mayor estrés hídrico a lo largo de todo el ciclo vegetativo alcanzando valores de -23.13 ‰. Para algunos autores como Van Leeuwen et al. (2009), estos valores indican que las plantas sufrieron un estrés hídrico moderado. Sin embargo, otros autores como Santesteban et al. (2015) consideran que valores superiores a -24.0 ‰ pueden considerarse un estrés hídrico severo. Los tratamientos que se comenzaron a regar cuando el  $\Psi_t$  de las cepas alcanzó valores de -0.8 MPa (C, Sul y Clo), fueron los que presentaron valores más bajos de  $\delta^{13}\text{C}$ , con un promedio de -25.3 ‰, por lo que tuvieron un estrés hídrico muy suave. Los tratamientos que se comenzaron a regar después del envero, presentaron valores significativamente más altos en comparación con los tratamientos C, Sul y Clo, pero significativamente más bajos que el

tratamiento S. Los diferentes tipos de sal aportados en el agua de riego (cloruro sódico y sulfatos magnésico y sódico) no afectaron significativamente a los valores del ratio isotópico del carbono en comparación con el tratamiento C. Por lo tanto, los resultados obtenidos del ratio isotópico del carbono, están en consonancia con los valores de potencial hídrico obtenidos. Por último, aunque en nuestro estudio no hemos encontrado efecto de la salinidad en el  $\delta^{13}\text{C}$ , Costantini et al. (2010) observaron una correlación positiva entre la concentración salina del suelo y el ratio isotópico del carbono, medido en vinos de la variedad Sangiovese.

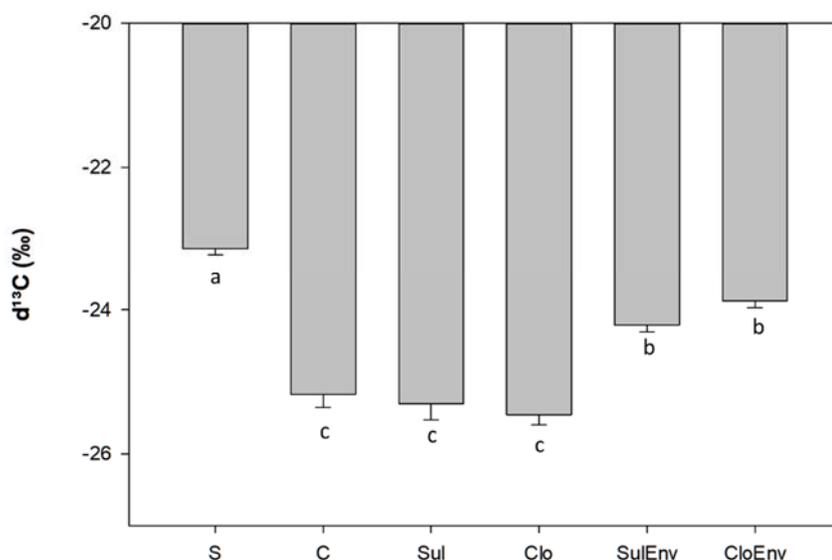


Figura 36. Valores del ratio isotópico de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) obtenido del mosto ( $n=12$ ) de los diferentes tratamientos durante la vendimia de 2016. Las barras de error representan el error estándar de las medias. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rango múltiple de Duncan.

En diferentes ocasiones, durante los años 2017 y 2018 se midió la fotosíntesis neta ( $A_N$ ), la transpiración ( $E$ ) (datos no mostrados en esta Tesis Doctoral) y la conductancia estomática ( $g_s$ ). Por diferentes motivos (valores anormales, errores de funcionamiento del equipo, etc.) en esta Tesis Doctoral solo se presentan los datos medidos el 19 de agosto de 2017 y el 23 de agosto de 2018 (Figura 37), asumiendo que puedan ser representativos del comportamiento de las plantas en el viñedo durante la época estival. Aunque una caracterización más frecuente del intercambio gaseoso de las cepas, nos hubiera proporcionado información más robusta.

En ambos días de medida, el tratamiento seco presentó los valores más bajos de  $A_N$  y  $g_s$  con unos valores promedio de  $7.22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y  $0.13 \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. El tratamiento C presentó los valores más altos de  $A_N$  en ambos años y de  $g_s$  en el año 2018, no así

en 2017 donde el tratamiento Sul obtuvo valores de  $g_s$  ligeramente superiores al tratamiento C, sin que estas diferencias llegaran a ser estadísticamente significativas.

Teniendo en cuenta los valores de conductancia estomática, en 2017, el día que se realizaron las medidas de intercambio gaseoso, los valores para todos los tratamientos fueron superiores a  $0.15 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Por otro lado, en 2018 el día de medida de las plantas, los tratamientos S, CloEnv y SulEnv, registraron valores de conductancia estomática menores a  $0.15 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  presentando una inhibición de la fotosíntesis media-alta (Medrano et al., 2002). Por tanto, si tenemos en cuenta los valores obtenidos en 2017 para este parámetro, podemos afirmar que las plantas no presentaron un alto nivel de inhibición de la fotosíntesis debido a la apertura estomática. Además, los valores de  $A_n$  obtenidos indican que el estrés hídrico no fue demasiado severo, dado que la fotosíntesis no se vio muy reducida por la ausencia de riego. Dicha reducción de la fotosíntesis observada en los tratamientos con mayor estrés hídrico, coincide con los resultados obtenidos por Romero et al. (2013) en un ensayo en el que se comparaba dos estrategias de riego deficitario con un tratamiento control sin estrés hídrico, en este caso los tratamientos con riego deficitario disminuyeron la tasa de fotosíntesis. En este mismo sentido, De la Hera-Orts et al. (2004) también observaron una reducción significativa de la fotosíntesis en plantas de Monastrell no regadas en comparación con plantas regadas deficitariamente.

El cierre estomático constituye una de las primeras respuestas de la planta frente al estrés hídrico (Hartung y Slovik, 1991; Bacon et al., 1998; Wilkinson y Davies, 2002; Roelfsema y Hedrich, 2005); sin embargo, no está tan claro como afecta la salinidad a la apertura estomática. En plantas de *P. purpurea* sometidas a tratamientos de riego salino se observó como la fotosíntesis neta y la conductancia estomática disminuían de manera proporcional (Acosta-Motos et al., 2017). Por otro lado, en plantas *E. myrtifolia* y *C. citrinus* regadas con aguas salinas, se observó un aumento significativo de la  $EUA_i$ , en respuesta a la salinidad, es decir, mantuvieron niveles altos de fotosíntesis neta a pesar de una reducción en la apertura estomática (Alvarez et al., 2014; Acosta-Motos et al., 2017). En este mismo sentido, Fernandez-Garcia et al. (2014) observaron como el aumento de la concentración salina de la solución de riego en plantas de *Lawsonia inermis*, aumentaba significativamente la  $EUA_i$ . En lo referido a la vid, Lawlor y Cornic (2002) afirmaron que, la conductividad estomática disminuye con la disminución del contenido relativo del agua en hoja, seguidamente de la reducción de la fotosíntesis. Por otro lado, la reducción de la conductividad estomática en hojas de vid se ha asociado con un alto nivel de salinidad (Ben-Asher et al., 2006). En este mismo sentido, Downtown et al. (1990) observaron como se reducía significativamente la conductancia estomática en hojas de la variedad Sultana,

según aumentaba el número de días que las plantas estaban bajo un estrés salino. Reforzando estos resultados, Hatami et al. (2010), en un estudio de salinidad sobre dos variedades de uva (Rish-Baba y Sahebi), observaron como ambas variedades respondían a un estrés salino con una disminución de la conductividad estomática. Siendo la variedad Rish-Baba, la que presentó un mayor cierre estomático frente a la salinidad. Algunos estudios han demostrado que, la conductancia estomática en la vid es más sensible a la salinidad que la transpiración. La fotosíntesis sería, por lo tanto, un buen indicador para evaluar la gravedad del estrés salino y sus efectos negativos sobre la tasa de fotosíntesis (Ben-Asher et al., 2006).

En ambos años, se observó una reducción de los valores de fotosíntesis en los tratamientos que sufrieron mayor estrés hídrico. Además, si comparamos los tratamientos que se comenzaron a regar al mismo tiempo (C, Sul y Clo), se observa cómo los tratamientos salinos, obtuvieron valores de fotosíntesis ligeramente menores que el tratamiento C. En concordancia con la disminución de la fotosíntesis en los tratamientos regados con aguas salinas (Clo y Sul). Otros autores como Downton (1997), observaron como la tasa fotosintética disminuye según aumenta la concentración de  $Cl^-$  en hoja, incluso bastante antes de observar cualquier tipo de síntoma visual en la planta. Por otro lado, Fisarakis et al. (2001) observaron que la tasa de fotosíntesis en la variedad Sultana se redujo significativamente bajo un estrés salino, afirmando que el efecto producido por la sal en la tasa fotosintética, fue consecuencia de la reducción de la conductividad estomática.

La relación entre el nivel de fotosíntesis neta y la apertura estomática se conoce como eficiencia del uso del agua intrínseca (Chaves et al., 2004). En 2017, se observó que los tratamientos S y CloEnv tuvieron mayor  $EUA_i$  en comparación con el resto tratamientos. En 2018, los valores de la  $EUA_i$  de todos los tratamientos fueron más altos que en 2017. En el año 2018 el tratamiento que presentó una  $EUA_i$  significativamente mayor, en comparación con otros tratamientos, fue el CloEnv. En 2017 se observó una tendencia hacia un aumento de la  $EUA_i$  de los tratamientos regados con cloruros, en comparación con los tratamientos regados con sulfatos para ambos momentos de inicio del riego, esto podría hacer pensar que, bajo un mismo estrés salino, con diferentes tipos sales (sulfatos o cloruros), la planta no responderá igual. Debemos señalar que debido al escaso número de determinaciones realizadas del intercambio gaseoso impiden que se puedan obtener conclusiones robustas al respecto. Diferentes estudios han demostrado que tratamientos de riego deficitario mejoran la  $EUA_i$  en comparación con tratamientos sin restricciones de agua (De Sousa et al., 2005; Chaves et al., 2007; Koundouras et al., 2008). De hecho, en nuestro ensayo, el tratamiento tuvo una mejor  $EUA_i$  en comparación

al tratamiento C. Podemos indicar, que un riego deficitario temprano en combinación con un estrés salino (Cl<sup>-</sup>) mejora significativamente la EUA<sub>i</sub>

Los valores de intercambio gaseoso obtenidos en los dos días de medición, son acordes a los esperados teniendo en cuenta los potenciales hídricos registrados, ya que un estrés hídrico en la planta provoca en las hojas una pérdida de turgencia celular que, junto al incremento de la síntesis de ácido abscísico (ABA) en las raíces (Loveys, 1984; Li et al., 2011; Speirs et al., 2013), y su desplazamiento hasta las hojas son responsables del cierre estomático (Medrano y Gulias, 2008). De esta forma, el ABA actúa de mensajero desde las raíces a las hojas en respuesta a un estrés hídrico cuando disminuye el agua disponible en el suelo (Keller, 2015). Con este cierre estomático se reduce la entrada de CO<sub>2</sub> y disminuye la tasa de fotosíntesis, lo que provoca, a corto y medio plazo, una limitación del crecimiento y de producción, como se describe más adelante en los resultados de crecimiento vegetativo y producción.

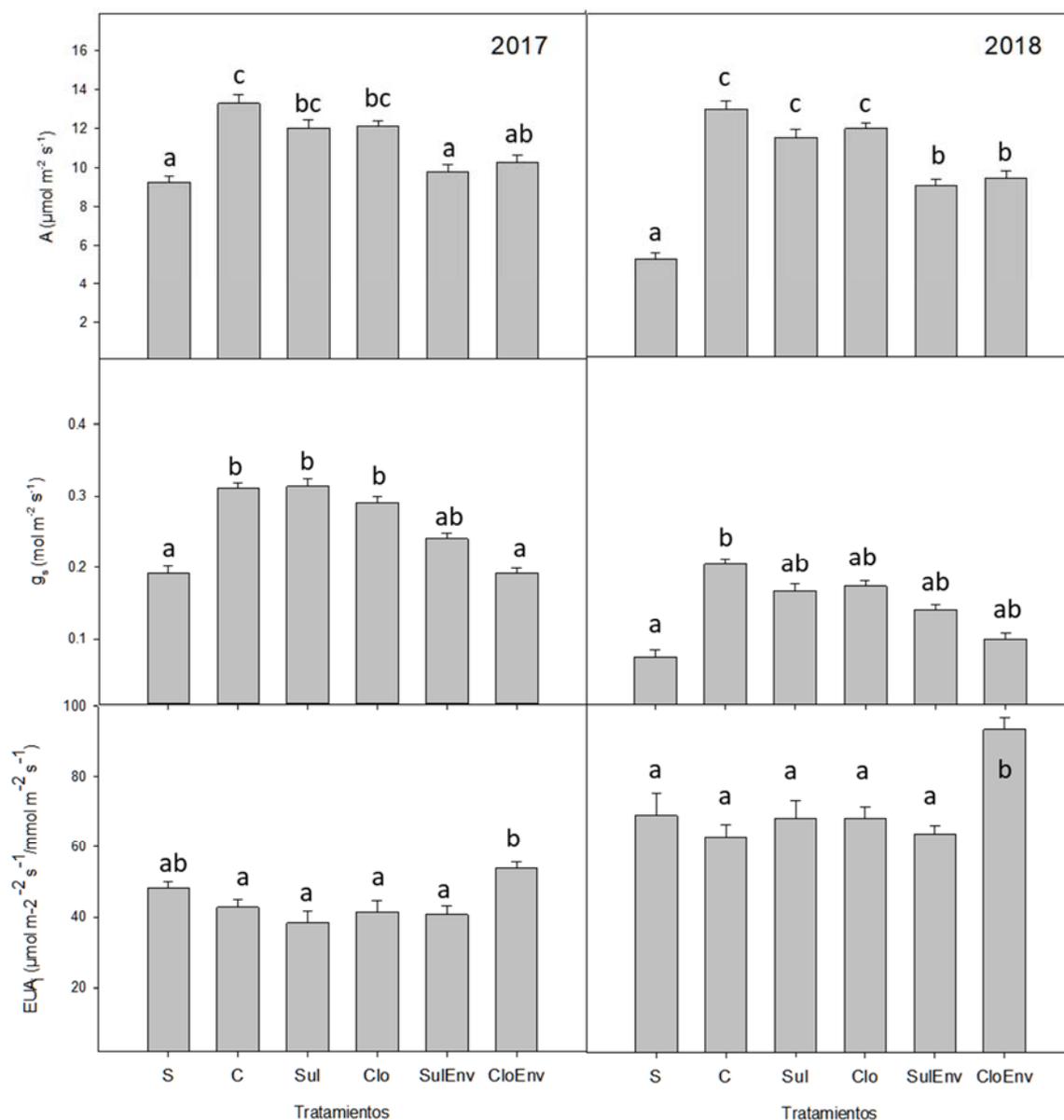


Figura 37. Valores promedio ( $n=12$ ) de los días 19 de agosto de 2017 y el 23 de agosto de 2018 para fotosíntesis ( $A_N$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ) y eficiencia del uso del agua intrínseca ( $EUA_i$ ). Las barras de error representan el error estándar de las medias. Medidas realizadas el 19 de agosto de 2017 y el 23 de agosto de 2018. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.2.2 Rendimiento, componentes de la producción y del racimo

En la Tabla 12 se muestran los resultados de rendimiento (t/ha) y componentes del racimo obtenidos para cada uno de los tratamientos durante los 3 años de ensayo (2016-2018). Cabe indicar que, en 2017, las precipitaciones previas a la vendimia junto con altas temperaturas, una mala ejecución de la poda invernal y una intensa plaga de *Lobesia Botrana*, provocaron un alto porcentaje de pudrición y una merma productiva general debido al hongo *Botrytis cinérea*. Como se ha mencionado anteriormente, durante el segundo año de ensayo, hubo un cambio de poda de doble cordón Royat a doble guyot. El primer año tras el cambio de

criterio de poda, la poda de doble guyot no se hizo correctamente al ser realizada por personal no cualificado (lo que derivó en importantes pérdidas productivas y de calidad de uva), en el tercer y último año de estudio (segundo año de poda de doble guyot), la poda fue realizada por podadores profesionales ejecutándose correctamente, lo que explicaría el aumento significativo del rendimiento en todos los tratamientos.

Durante todos los años de estudio, el tratamiento S obtuvo los rendimientos más bajos comparado con el resto de tratamientos y siendo esta diferencia significativa los años 2017 y 2018. Contrariamente, el tratamiento C obtuvo el mayor rendimiento productivo, siendo significativamente mayor que los tratamientos S, SulEnv y CloEnv. Además, en los años 2016 y 2018, el tratamiento C tuvo una producción significativamente mayor que los tratamientos salinos (Sul y Clo) que iniciaron el riego al mismo tiempo que el tratamiento C. Señalar que, en 2017, aunque el efecto no fue estadísticamente significativo, el tratamiento C también obtuvo mayor producción que los tratamientos (Sul y Clo). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos que se habían regado con la misma cantidad de agua (Clo-Sul y CloEnv-SulEnv), pero tenían diferentes tipos de sal, afectando por igual los dos tipos de sales utilizadas (sulfatos o cloruros) al rendimiento productivo. Aunque todavía queda mucho por investigar en los aspectos fisiológicos y agronómicos responsables del rendimiento y el tamaño de baya, distintos autores han publicado como el déficit hídrico influye de forma más directa y en mayor proporción que otros factores, sobre el rendimiento y el tamaño final de baya (Harris et al., 1968; Lavee y Nir, 1986; Coombe, 1992; Hardie et al., 1996), comprobando además, como la respuesta fisiológica depende del momento en el que acontece el estrés hídrico y la intensidad del mismo (Mirás-Avalos e Intrigliolo, 2017). En este sentido, Intrigliolo et al. (2012) demostraron que la aplicación de un déficit hídrico al inicio del ciclo vegetativo tiene un mayor efecto, que un déficit post-verano en la reducción del rendimiento productivo. Esto es debido a que la planta responde ante situaciones de estrés, aumentando la síntesis del ABA, lo que está relacionado con la reducción de la multiplicación celular y la capacidad de extensibilidad futura de las células en la pulpa de las bayas (Martínez de Toda, 2014). Por otro lado, se ha demostrado que el crecimiento de los órganos reproductores es menos sensible al estrés hídrico que el crecimiento vegetativo (Williams et al., 1994), sin olvidar, que un estrés hídrico severo puede llegar a afectar a la producción final. En un estudio de estrés hídrico con riego localizado en la variedad Tempranillo en el que se compararon dos parcelas, una en secano y otra en regadío, García-Escudero et al. (1997) encontraron un aumento significativo de la producción entre la parcela regada y la que no estaba regada llegando a ser este aumento del 65%. En esta misma línea, Intrigliolo y Castel (2010), observaron diferencias productivas de hasta el 22%, también en la variedad Tempranillo.

Como hemos dicho anteriormente, en nuestro estudio se observó como el tratamiento S disminuyó significativamente el rendimiento productivo en comparación con el tratamiento C, llegando a ser esta disminución de hasta el 66% en 2018. Otros autores han obtenido resultados similares a los nuestros, cuando han aplicado algún tipo de riego deficitario (riego deficitario controlado o secado parcial de raíces) generando un estrés hídrico en plantas de la variedad Monastrell en climas mediterráneos (Romero et al., 2005, 2010, 2013, 2015, 2016,). Similares resultados han sido descritos utilizando otras variedades como: Syrah (Ojeda et al., 2001), Moscatel (Chaves et al., 2007), Tempranillo (Girona et al., 2009; Santesteban et al., 2011), Cabernet Sauvignon (Junquera et al., 2012), Moscatel de Alejandría (Buesa et al., 2017), Pinot Noir (Zufferey et al., 2017).

Aunque en el año 2018, el tratamiento C obtuvo un rendimiento mayor en comparación con los tratamientos regados con aguas salinas, no hay un efecto claro de la salinidad sobre el rendimiento y los componentes de la producción. Dag et al. (2015) realizaron un estudio de riego con aguas salinas con una CE de 4.2 dS/m durante 5 años en vid sin obtener diferencias significativas en términos de rendimiento; si bien es cierto que se observó una ligera tendencia de reducción del rendimiento con el aumento de la salinidad. En otro ensayo realizado por Netzer et al. (2014) se aplicaron riegos con aguas regeneradas con alta concentración de sodio durante 6 años, observándose diferencias significativas entre tratamientos en la concentración de  $\text{Na}^+$  en el suelo, en las hojas y en el xilema. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en el rendimiento productivo.

Respecto a los componentes del racimo, en los tres años de nuestro estudio, el número de racimos por cepa, el peso medio del racimo y el peso medio de baya fueron menores en las vides del tratamiento S (Tabla 12). En 2016, el número de racimos por cepa fue mayor en el tratamiento C. En 2017 el mayor número de racimos se registró en los tratamientos C, Sul y Clo y, por último, en 2018 el tratamiento con mayor número de racimos fue el C. Los resultados observados en 2016, donde el tratamiento C obtuvo mayor número de racimos que los tratamientos que se comenzaron a regar al mismo tiempo con aguas salinas (Clo y Sul), no se volvieron a repetir en años posteriores, por lo que no se aprecia un efecto consistente del riego salino en el número de racimos por planta. Sin embargo, durante los tres años de estudio, las vides que experimentaron un mayor estrés hídrico (tratamientos S, SulEnv y CloEnv) entre los estados fenológicos de floración y envero, disminuyeron el número de racimos en comparación con las plantas del tratamiento C. Este efecto del estrés hídrico temprano sobre futuras cosechas ya había sido observado por otros autores (Vaadia y Kasimatis, 1961; Antonacci, 1987; Matthews y Anderson, 1989; Keller et al., 2008). Por el contrario, otros autores como Hernández (2007) y

Reynolds y Naylor (1994), no observaron diferencias significativas en el número de racimos con la aplicación de riegos deficitarios en las variedades Cabernet Sauvignon y Pinot Noir. En este sentido, Acevedo-Opazo et al. (2010) tampoco encontraron diferencias significativas en el número de racimos en un estudio de riego deficitario con tres tratamientos en los que se aplicó diferentes dosis de riego (2000, 1000 y 400 mm) en Cabernet Sauvignon. Según Díaz et al. (2016), el número de racimos por planta y el número de bayas por racimo parecen no estar afectados por el estrés hídrico, al menos por el estrés producido en el mismo periodo vegetativo en el que se obtendrá la cosecha. Aunque en 2016 los tratamientos salinos (Clo y Sul), obtuvieron menor número de racimos que el tratamiento C (debido probablemente al menor número de sarmientos), esta respuesta no fue achacable a la salinidad del agua de riego. En los años posteriores, no se observó que la salinidad tuviera un efecto en la fertilidad de las cepas.

Respecto al tamaño de racimo, no se observó un efecto claro de los tratamientos, ya que en 2016 el tratamiento con mayor tamaño de racimo fue el CloEnv. En 2017, aunque el tratamiento control obtuvo el mayor peso de racimo, dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas en comparación con los tratamientos Clo, Sul y SulEnv. Por último, en 2018 fueron los tratamientos que se comenzaron a regar antes de enero (C, Su, y Clo) los que presentaron el mayor tamaño de racimo. Ninguno de los años de estudio se observaron diferencias significativas en el tamaño de racimo según el tipo de sal aplicada. Estos resultados difieren de los observados por De la Hera Orts (2004, 2005), en un estudio de riego deficitario en la variedad Monastrell. Estos autores observaron una correlación positiva entre el estrés hídrico y el tamaño de racimo. Esta misma correlación positiva fue obtenida por Romero et al. (2013) en un ensayo de 3 años en la variedad Monastrell, observando siempre un mayor tamaño de racimo en los tratamientos con mayor aporte de agua. Es posible que en nuestro ensayo no se observen tan claramente los efectos del estrés hídrico sobre el tamaño de racimo debido probablemente a un efecto combinado con la salinidad.

El peso de raspón mostró diferencias significativas entre tratamientos durante todos los años de estudio. El tratamiento S obtuvo significativamente un menor peso de raspón en las 3 campañas, en comparación con el tratamiento C. Aunque el tratamiento S obtuvo el menor peso de raspón durante los tres años de estudio en comparación con el resto de tratamientos, estas diferencias no fueron significativas. No se observó un efecto claro del estrés hídrico y salino por si solos, en el tamaño de raspón. Sin embargo, la combinación de estrés hídrico y salino produjo raperos más pequeños en comparación con el tratamiento control, durante los tres años de ensayo.

Por último, no se observaron diferencias significativas del número de bayas por racimo en los diferentes tratamientos aplicados a lo largo de todo el ensayo (Tabla 12). Poco se ha estudiado sobre las causas de la variación del número de flores por racimo, pero parece lógico que gran parte de esta variación, pueda producirse durante el periodo de diferenciación de las inflorescencias en la yema (Keller, 2015). Acevedo-Opazo et al. (2010) tampoco encontraron ningún efecto del estrés hídrico en el número de bayas por racimo en la variedad Cabernet Sauvignon. Sin embargo, en ensayos de riego deficitario en la variedad Monastrell, Romero et al. (2013) observaron diferencias en el número de bayas dos de los tres años de estudio, siendo el tratamiento con menos estrés hídrico, el que tuvo un mayor número de bayas por racimo. En esta misma variedad, De la Hera Orts et al. (2004) solo obtuvo diferencias significativas un año de estudio, teniendo mayor número de bayas el tratamiento mejor regado.

Aunque no hubo diferencias en el número de bayas por racimo, si se observaron diferencias significativas en el peso medio de baya, siendo los tratamientos C, Sul y Clo los que obtuvieron un mayor tamaño de baya en 2016, mientras que en 2017 los tratamientos con el mayor tamaño de baya fueron C, Clo, SulEnv y CloEnv. Por último, en 2018, fueron los tratamientos C y Sul los que registraron el mayor peso de baya. Por el contrario, el tratamiento S solo obtuvo el menor tamaño de baya en el año 2018. Si nos fijamos solamente en los años 2016 y 2018 podemos observar como los tratamientos S, SulEnv y CloEnv, que tuvieron un mayor estrés hídrico acumulado, tuvieron un menor peso de baya en comparación con el tratamiento C. En un ensayo de riego deficitario con las variedades Merlot y Cabernet Sauvignon, Bowen et al. (2011) observaron una reducción en el peso medio de bayas que habían sufrido mayor estrés hídrico. Resultados similares fueron obtenidos por Keller et al. (2008) en vides de Cabernet Sauvignon bajo un régimen hídrico deficitario. En estudios realizados sobre la variedad Monastrell, Romero et al. (2013) y De la Hera Orts et al. (2004, 2005) observaron cómo los tratamientos mejor regados producían las bayas más grandes. A la vista de nuestros resultados durante los años 2016 y 2018 las plantas que sufrieron un mayor estrés hídrico produjeron las bayas más pequeñas, sin embargo, este efecto del estrés hídrico sobre el tamaño de baya no se observó en 2017.

Tabla 12. Rendimiento y componentes del racimo de los 6 tratamientos aplicados durante los 3 años de estudio.

Tratamiento	Año	Rendimiento (t/ha)	Nº racimos	Peso medio de racimo (g)	Peso raspón (g)	Nº bayas	Peso medio de baya (g)
S	2016	7.6 a	17 a	213 a	4.64 a	168	1.13 a
C		12.0 c	23 c	217ab	5.99 b	140	1.57 c
Sul		8.7 ab	19 ab	218 ab	5.46 ab	143	1.37 bc
Clo		9.8 b	20 b	239 bc	6.01 b	175	1.37 bc
SulEnv		8.5 ab	18 ab	232 bc	4.96 ab	165	1.34 ab
CloEnv		9.6 b	18 ab	242 c	4.47 a	150	1.31 ab
ANOVA		***	***	*	*	ns	**
S	2017	5.3 a	14 a	173 a	8.25 a	114	1.37 a
C		8.8 c	19 c	200 c	11.30 bc	142	1.82 abc
Sul		8.4 c	20 c	195 bc	11.99 c	142	1.62 ab
Clo		8.4 c	20 c	194 bc	9.27 ab	124	2.24 c
SulEnv		7.9 b	18 bc	190 abc	8.49 a	114	1.81 abc
CloEnv		7.1 b	16 b	181 ab	9.89 abc	118	2.04 bc
ANOVA		***	***	*	*	ns	*
S	2018	14.1 a	22 a	282 a	7.34 a	223	1.10 a
C		21.3 c	27 b	356 c	10.64 b	233	1.69 c
Sul		18.9 b	25 ab	351 bc	9.81 ab	237	1.68 c
Clo		19.3 b	24 a	368 c	9.84 ab	275	1.44 b
SulEnv		17.6 b	24 a	325 b	9.71 ab	265	1.40 b
CloEnv		18.2 b	24 a	326 b	8.68 a	231	1.38 b
ANOVA		***	***	***	**	ns	***

ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CLoEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rango múltiple de Duncan.

Para finalizar este apartado, debemos recordar que son varios los factores que influyen en la eficiencia del lavado de sales en el suelo, entre los que destacan: la textura del suelo, los niveles de salinidad del agua de riego, el nivel freático del agua subterránea, los métodos de riego aplicados y el tiempo de aplicación del riego (Corwin et al., 2007; Ayars et al., 2011). En este estudio concreto, podemos afirmar que la textura franco-arenosa, característica de la parcela de estudio, ha tenido una gran influencia en el lavado de las sales del suelo. Los leves efectos producidos por la salinidad sobre el rendimiento y los componentes de la producción, vienen determinados en gran medida, por la textura franco-arenosa del suelo y la gran eficiencia de este tipo de suelos en el lavado de sales (Van Hoorn, 1981). Habría que profundizar en estudios futuros para conocer qué ocurre con la acumulación de sales en el suelo y la planta a más largo plazo.

#### 4.2.3 Crecimiento vegetativo, peso de poda e índice de Ravaz

En la Tabla 13 se muestran los resultados para los parámetros de crecimiento vegetativo, el peso de poda y el índice de Ravaz obtenidos en cada uno de los tratamientos durante los 3 años de ensayo (2016-2018).

El número de sarmientos por cepa solo fue estadísticamente distinto entre tratamientos el primer año de ensayo (2016), siendo el tratamiento CloEnv el que registró un mayor número de sarmientos. Obviamente esto fue determinado por la poda invernal del año anterior, realizada por el agricultor antes del comienzo del ensayo sin tener en cuenta el número de yemas dejadas. En los años posteriores, al no existir diferencias significativas en el número de sarmientos, garantizamos que las diferencias producidas en el rendimiento y en los componentes del racimo fueron debidas a los tratamientos aplicados y no al diferente número de pámpanos en la cepa.

En cuanto a longitud del sarmiento principal, y contrariamente a lo esperado, en 2016 el tratamiento S alcanzó la mayor longitud de sarmiento en comparación con todos los tratamientos regados. Esto podría explicarse por la ejecución de un despunte mecánico realizado por el viticultor, el cual cortó los sarmientos de mayor longitud (que posiblemente eran más numerosos) en los tratamientos regados, evitando que continuaran creciendo sin llegar a podar los pámpanos del tratamiento S, que debido al fuerte estrés hídrico que sufrían las plantas no habían crecido lo suficiente para llegar a la altura mínima de la podadora. Por lo tanto, se puede especular que, una vez realizada esta pre-poda, los pámpanos del tratamiento seco continuaron creciendo hasta alcanzar 97.5 cm, al contrario que los sarmientos de los tratamientos regados. En los años 2017 y 2018, el tratamiento S redujo significativamente la longitud de sarmiento en comparación con el tratamiento C. Aunque los tratamientos Sul y Clo obtuvieron una menor longitud de sarmiento en comparación con el tratamiento C durante los tres años de estudio, no se observó un efecto claro de la salinidad en la longitud del sarmiento principal. De forma similar a nuestros resultados, en ensayos de la variedad Monastrell con riego deficitario Romero et al. (2013) y De la Hera Orts et al. (2004) observaron cómo los tratamientos que habían sufrido mayor estrés reducían significativamente la longitud media del sarmiento. De forma contraria, otros autores como Acevedo-Opazo et al. (2010), en un estudio de riego deficitario realizado en Cabernet Sauvignon (2002-2005), no encontraron diferencias significativas entre los parámetros de crecimiento vegetativo, achacándolo a una insuficiente restricción hídrica que no llegaba a afectar a la expresión vegetativa de las cepas.

Aunque en el año 2016 no hubo diferencias significativas entre tratamientos en la superficie foliar por cepa, durante los tres años de estudio, el tratamiento C obtuvo la mayor

superficie foliar por cepa. Durante los años 2017 y 2018, el tratamiento C obtuvo una mayor superficie foliar en comparación con el resto de tratamientos. En 2017, los tratamientos S y CloEnv obtuvieron la menor superficie de área foliar ( $< 5 \text{ m}^2$ ). Por otro lado, en 2018, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, aunque fue el tratamiento CloEnv, el que obtuvo la menor superficie foliar. Durante todos los años de estudio, los tratamientos salinos Clo y Sul tuvieron menor área foliar que el tratamiento C, pero estas diferencias solo fueron significativas en 2017 y 2018. En esta línea, en un ensayo de riego deficitario sobre la variedad Monastrell, Romero et al. 2013 obtuvieron valores similares a los nuestros, siendo los tratamientos mejor regados los que obtuvieron mayor superficie foliar. De la Hera Orts et al. (2004) observaron que las vides procedentes de dos tratamientos de riego deficitario obtuvieron mayor área foliar que las vides no regadas. Sin embargo, estos autores no observaron diferencias significativas en el área foliar, entre los dos tratamientos con riego deficitario (1003 y 1622  $\text{m}^3/\text{ha}$ ). En este mismo sentido, en un ensayo donde se comparaba un tratamiento sin riego, con 6 tratamientos de riego combinando diferentes momentos de aplicación y cantidad de agua aplicada, Intrigliolo y Castel (2010), encontraron una mayor área foliar entre el tratamiento con aporte de riego y el tratamiento sin riego.

Respecto al peso de madera de poda, se observaron diferencias significativas entre tratamientos durante los dos años analizados (2017 y 2018), siendo el tratamiento S el que obtuvo los menores valores en ambos años. En el año 2017, los tratamientos C y Clo, presentaron los valores más altos para el peso de la madera de poda (1.13 kg/ cepa). En 2018, el tratamiento C (1.25 kg/cepa) obtuvo el mayor peso de madera de poda en comparación con el resto de tratamientos. Los tratamientos que sufrieron un mayor estrés hídrico presentaron de forma generalizada menores pesos de madera de poda, coincidiendo con resultados obtenidos por otros autores en diferentes variedades: Tempranillo (Santesteban et al., 2011), Moscatel de grano menudo (Buesa et al., 2017) y Pinot noir (Zufferey et al., 2017). En ensayos realizados sobre la variedad Monastrell y riego deficitario, Romero et al. (2013) y De la Hera Orts et al. (2004) obtuvieron resultados similares a los nuestros, observando que las vides que habían sufrido un mayor estrés hídrico, producían un menor peso de madera de poda. Sin embargo, Acevedo-Opazo et al. (2010) no encontraron diferencias significativas en el peso de madera de poda en la variedad Cabernet Sauvignon, en un ensayo de tres años donde se comparaba un tratamiento seco con dos tratamientos de riego deficitario. En 2017, no hubo diferencias significativas entre tratamientos para el índice de Ravaz. Sin embargo, en 2018 el tratamiento Clo obtuvo el valor más alto. Se observó una gran diferencia en los valores del índice de Ravaz

entre el año 2017 con una media de 3.49 y el año 2018 con una media de 8.20, esta diferencia fue debida en gran medida a la diferencia de rendimiento productivo entre ambos años.

Por último, hemos de destacar que el tratamiento S (tratamiento que tuvo mayor estrés hídrico durante el ciclo vegetativo en comparación con el resto de tratamientos) contrariamente a lo esperado, no obtuvo de forma consistente a lo largo de los tres años de estudio, los menores valores en los parámetros de área foliar, ni longitud de sarmiento ni longitud media de secundarios. Esto podría deberse a los despuntes mecánicos realizados por el agricultor y al sistema de conducción con una espaldera baja, en la que el crecimiento de las plantas viene limitado no solo por el estado hídrico de las plantas sino también por otros factores externos.

Tabla 13. Parámetros de crecimiento vegetativo, peso de poda e índice de Ravaz para todos los tratamientos durante los tres años de estudio (2016-2018).

Tratamientos	Año	Nº sarmientos	Longitud media sarmientos (cm)	Longitud media nietos (cm)	Área foliar cepa (m <sup>2</sup> )	Peso poda (kg/ cepa)	Índice de Ravaz
S	2016	14 a	97.5 c	10.9 a	5.70	–	–
C		15 ab	91.3 abc	16.7 b	5.63	–	–
Sul		13 a	90.5 abc	13.8 ab	5.30	–	–
Clo		13 a	94.2 bc	14.6 b	6.24	–	–
SulEnv		15 ab	87.8 ab	15.3 b	5.32	–	–
CloEnv		16 b	85.0 a	16.1 b	5.73	–	–
ANOVA		*	**	*	ns		
S	2017	13	99.5 a	13.9 a	4.85 a	0.75 a	3.24
C		14	120.8 c	20.1 b	6.61 c	1.13 c	3.53
Sul		13	114.3 bc	14.4 a	5.08 ab	1.02 bc	3.68
Clo		13	115.5 bc	19.2 b	6.01 ab	1.13 c	3.31
SulEnv		14	118.4 c	17.4 ab	6.25 b	1.08 c	3.31
CloEnv		13	102.9 ab	16.1 ab	4.81 a	0.82 a	3.89
ANOVA		ns	**	*	**	***	ns
S	2018	18	87.3 a	7.2 a	4.70 a	0.88 a	7.25 a
C		19	102.1 b	10.3 b	5.82 b	1.25 c	7.70 ab
Sul		19	81.5 a	6.9 a	4.58 a	1.08 bc	7.91 ab
Clo		18	81.7 a	8.2 ab	4.49 a	0.96bc	9.07 b
SulEnv		20	85.3 a	5.7 a	4.69 a	0.92 bc	8.63 ab
CloEnv		19	83.2 a	5.5 a	4.43 a	0.95 bc	8.64 ab
ANOVA		ns	**	*	**	*	*

ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rango múltiple de Duncan.

El equilibrio vegetativo de la vid es un concepto clave en viticultura y está estrechamente relacionado con el manejo de la poda. Para calcular este equilibrio se relaciona el rendimiento productivo y el rendimiento vegetativo dando lugar a lo que se conoce como “la carga de

cultivo". La expresión más extendida para obtener la carga de cultivo es el Índice de Ravaz (Ravaz, 1903). Para obtener el Índice de Ravaz (kg de fruta / kg de madera de poda), se relaciona la producción de vid en vendimia con el peso de la poda latente obtenido durante el invierno siguiente. Este índice indica el equilibrio en el que se encuentran las plantas del viñedo. Valores "óptimos" de entre 5 y 10 kg de fruta/kg de peso de poda reflejan un buen balance entre rendimiento y vegetación, sugiriendo que las cepas pueden ser capaces de producir fruta de alta calidad; valores mayores de 10 indican una sobreproducción, mientras que valores menores de 5 kg de fruta/kg de peso de poda reflejan un exceso en el crecimiento vegetativo para un determinado nivel productivo (Bravdo et al., 1985; Smart et al., 1990). En 2017, no se observaron diferencias significativas y todos los valores fueron inferiores a 5 kg de fruta/kg de peso de poda en todos los tratamientos, por lo que nos encontramos ante una viña descompensada en términos de equilibrio vegetativo, produciendo mucha menos fruta de la que la superficie foliar podría soportar. Estos bajos valores obtenidos, indican que podríamos aumentar el rendimiento productivo de nuestro viñedo gracias al respaldo de un buen crecimiento vegetativo. Por el contrario, en el año 2018 este índice de Ravaz aumentó significativamente respecto al de 2017, situándonos en valores cercanos a 10, por lo que, aunque estemos dentro del rango de valores "óptimos" para un buen equilibrio entre rendimiento y crecimiento vegetativo, se debería vigilar el rendimiento para el año siguiente. Durante este año el tratamiento que más estrés hídrico sufrió (S), presentó los valores más bajos de kg fruta/kg de madera de poda. En concordancia con nuestros resultados, Romero et al. (2013) obtuvieron resultados similares en estudios realizados sobre la variedad Monastrell en un clima similar al de la zona de estudio.

Otros autores como Kliewer y Dokoozlian (2005), proponen la utilización de otro índice para el cálculo del equilibrio vegetativo en el viñedo. Este índice relaciona el área foliar con los kg de fruta obtenidos. Valores óptimos oscilan entre 0.7 y 1.7 m<sup>2</sup> de área foliar/kg de fruta. Aunque en esta Tesis Doctoral no se muestren los resultados, la media de la relación área foliar/kg de fruta fue de 1.35, 1.64 y 0.58 en los años 2016, 2017 y 2018, respectivamente. Por lo que, durante los dos primeros años, la relación área foliar/kg de fruta obtuvo valores altos dentro del umbral de valores óptimos propuestos, lo que no fue perjudicial para la calidad de las bayas o el vino ya que existía suficiente dosel vegetal para madurar toda la carga de fruta. Sin embargo, en el año 2018, una relación baja del área foliar/kg de fruta (0.58) a consecuencia de un alto rendimiento productivo, pudo limitar una adecuada maduración de la uva afectando a la composición y calidad del vino, como veremos posteriormente.

#### 4.2.4 Estado nutricional y acumulación de sodio en tronco.

La fertirrigación es una técnica agrícola que permite aplicar de forma simultánea agua y fertilizantes a través del sistema de riego. Esta técnica permite modificar el estado nutricional de la planta, en busca del equilibrio correcto entre superficie foliar activa y rendimiento productivo. Sin embargo, una aplicación inadecuada de fertilizantes puede desequilibrar la disponibilidad de nutrientes para la planta, afectando negativamente al estado nutricional de las plantas y a la calidad final del vino (Dominguez et al., 2015). Por todo lo mencionado anteriormente, es importante conocer cuál es el estado nutricional del viñedo, para desarrollar una buena estrategia de fertirriego, así como detectar carencias o desequilibrios nutricionales en el viñedo.

Es necesario recordar que, para un viñedo determinado, la caracterización del estado nutricional dependerá en gran medida del tejido foliar analizado (limbo o peciolo), del estado fenológico de las plantas (floración, envero, vendimia) y de la posición en la que se encuentren las hojas muestreadas, encontrando grandes diferencias entre la concentración de nutrientes en respuesta a cada una de las combinaciones comentadas anteriormente (García-Escudero et al., 2001, 2002a, 2002b; Romero et al., 2010, 2013). Por ello es importante mantener una constancia en el tiempo y en el tipo de muestreo, y comparar esos resultados con otros valores de referencia obtenidos en condiciones similares. En nuestro caso, al haber realizado los muestreos de manera diferente cada año (2016: Muestreo de limbos en vendimia; 2017: Muestreo de limbos en envero; 2018: Muestreo de peciolo en envero) solo se presentan los valores del análisis foliar de peciolo realizado en envero durante el año 2018. Al no encontrar valores de referencia para análisis nutricional de tejidos foliares en Monastrell, se han utilizado los valores de referencia descritos por García-Escudero et al. (2013) para la variedad Tempranillo injertada sobre 110-R en la Denominación de Origen Calificada Rioja, obtenidos después de analizar durante once años material foliar procedente de 166 viñedos diferentes.

En la Tabla 14 se muestran los valores del estado nutricional de la vid (macronutrientes y micronutrientes) obtenidos del análisis foliar de peciolo en envero durante el año 2018. Los resultados obtenidos se expresan en porcentaje de nutriente sobre materia seca y en miligramos de nutrientes por kilogramo de materia seca. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para la concentración de los macronutrientes obtenidos. Las concentraciones de N, P y Ca obtenidas del análisis nutricional de los peciolo fueron similares a los establecidos por García-Escudero et al. (2013), situándose los valores en los rangos óptimos. Aunque los valores de K fueron más bajos y los valores de Mg más altos en comparación con los valores óptimos de referencia para la variedad Tempranillo. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre

tratamientos para los micronutrientes, estando el Fe y el Cu, por debajo de los valores de referencia óptimos y el Zn por encima de estos valores (García-Escudero et al., 2013).

Tabla 14. Macro y micronutrientes presentes en el tejido foliar de la vid (peciolo) para cada tratamiento, en el año 2018.

	% peso seco					mg/kg m.s.				
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
S	0.52	0.08	0.64	2.43	1.27	13.31	135.48	31.73	1.97	35.61
C	0.49	0.11	0.83	2.37	1.16	16.10	129.94	37.31	2.34	30.92
Sul	0.53	0.11	0.65	2.04	1.32	12.94	138.04	35.83	2.22	33.01
Clo	0.50	0.11	0.85	2.26	1.21	12.90	124.62	41.79	2.20	30.15
SulEnv	0.52	0.08	0.54	2.09	1.19	14.18	129.46	35.47	2.17	33.85
CloEnv	0.50	0.09	0.36	1.96	1.13	11.74	126.58	33.14	1.76	27.91
ANOVA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ).

En la Figura 38 se muestran los resultados obtenidos para la concentración de cloruros y sulfatos en el peciolo en el momento de envero (expresados en mg/kg de materia seca). La concentración máxima de cloruros obtenida en los análisis foliares en envero fue de 12,715 mg/kg m.s. y 9,190 mg/kg en los tratamientos Clo y CloEnv, respectivamente, llegando a triplicar el valor del resto de tratamientos. De estos dos valores, la concentración del tratamiento CloEnv (9,190 mg/kg) está por debajo de los valores límite (10,000-15,000 mg/kg), establecidos como valores tóxicos para la concentración de cloruros en vid (Nagarajah, 1992; Reuter y Robinson, 1997; Prior et al., 1992). Por otro lado, el tratamiento Clo obtuvo concentraciones de cloruro de 12,715 mg/kg, que, según los rangos de toxicidad establecidos previamente, sí serían tóxicas.

Esta alta concentración de cloruros en el tratamiento Clo era de esperar, ya que es el tratamiento que más aporte de agua salina con cloruros ha recibido durante la época de crecimiento, ya que el momento de inicio de riego comienza cuando las plantas alcanzan un potencial hídrico de tallo superior a 8 bares (-0.8 MPa). El tratamiento CloEnv, también registró una alta concentración de cloruros pese a que solo había recibido 22 mm de riego cuando se realizó el muestreo. Esto puede ser debido a que la concentración de cloruros en las hojas que nacen cada primavera proceden, por un lado, de la solución del suelo durante la temporada de crecimiento y, por otro lado, de los cloruros almacenados en los tejidos permanentes de la vid (Netzer et al., 2014). En un estudio sobre el efecto del riego con aguas tratadas aplicadas en un viñedo de uva de mesa de la variedad Sugraone injertada sobre 1103 Paulsen, Netzer et al. (2014) obtuvieron concentraciones de cloruro máximas en el tejido foliar recogido en vendimia de 9,131 mg/kg. Estos valores son similares a los obtenidos en nuestro ensayo para los tratamientos regados con aguas salinas ricas en cloruro sódico.

Respecto a la concentración de sulfatos en los peciolo, aun observándose ciertas diferencias entre los tratamientos, no se observó ningún efecto claro de los tratamientos respecto a la acumulación de sulfatos. Los valores de sulfatos fueron similares en los tratamientos S, C y SulEnv y superiores en comparación con el resto de tratamientos Sul, Clo y CloEnv. Los tratamientos regados con sulfatos mostraron una acumulación de sulfatos mayor a la de los cloruros independientemente del momento de inicio de riego.

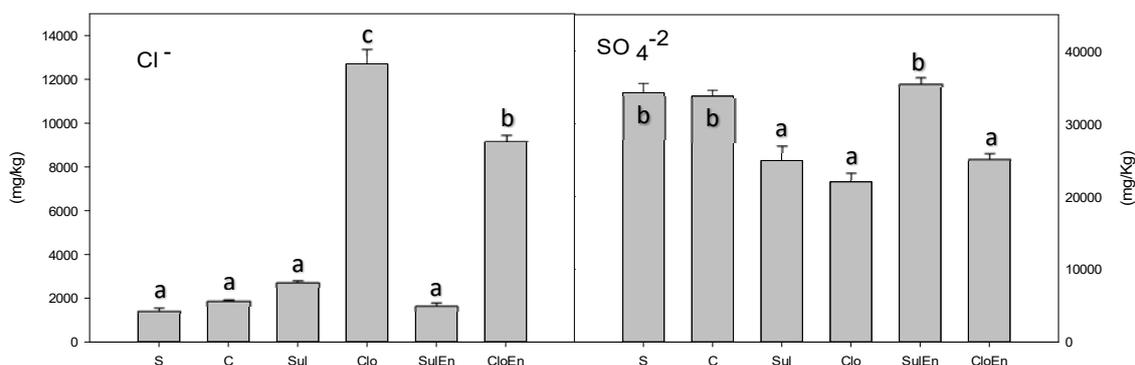


Figura 38. Acumulación de cloruros y sulfatos en los peciolo de las hojas (n=12). Las barras de error representan el error estándar de las medias.

En la Tabla 15 se presenta la composición mineral obtenida del muestreo realizado sobre la madera de tronco en el último año de estudio, con el fin de estudiar la acumulación de cationes en el tronco después de la aplicación de diferentes riegos deficitarios con aguas salinas. En ninguno de los elementos analizados, excepto el sodio, se registraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Los tratamientos S y C presentaron una acumulación de Na<sup>+</sup> en tronco significativamente menor que el resto de los tratamientos. Por un lado, hubo diferencias significativas entre los 2 tratamientos con agua salina que se comenzaron a regar al mismo tiempo (Sul y Clo) y el tratamiento C, existiendo una mayor acumulación de sodio en el tronco en el tratamiento Clo (167.1 mg/Kg), seguido del tratamiento Sul (115.6 mg/Kg) y por último en el tratamiento C (49.1 mg/Kg). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos que se comenzaron a regar después de enero con diferentes tipos de sal. Por lo tanto, después de tres años de riego con agua salinas, se observó una clara acumulación de sodio en los tratamientos regados con aguas salinas, independientemente del momento de comienzo del riego y del tipo de sal aplicada. Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral concuerdan con los resultados obtenidos por Netzer et al. (2014) y Dag et al. (2015). Estos autores observaron una acumulación de sodio en la madera y el xilema del tronco, en los tratamientos regados con aguas salinas.

Tabla 15. Composición mineral del tronco tras 3 años de estudio.

	Concentración (mg/100g)				Concentración (mg/kg)					
	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B	Na
S	0.02	0.22	0.19	0.06	33.65	6.49	6.77	1.77	2.61	67.8 ab
C	0.02	0.21	0.19	0.06	33.61	7.88	11.50	1.99	2.05	49.1 a
Sul	0.02	0.24	1.08	0.07	29.15	13.03	9.40	2.35	1.99	115.6 bc
Clo	0.02	0.22	0.18	0.06	27.15	7.35	9.83	2.83	1.02	167.1 c
SulEnv	0.02	0.21	0.17	0.06	27.06	6.80	6.38	1.98	1.14	152.2 bc
CloEnv	0.02	0.22	0.15	0.05	19.66	6.20	7.87	1.99	0.94	127.4 bc
ANOVA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*

ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*: indica diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ , ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rango múltiple de Duncan.

### 4.3 Resultados enológicos

#### 4.3.1 Composición fisicoquímica del mosto

En la Tabla 16 se recogen los resultados obtenidos al analizar la composición fisicoquímica del mosto de la uva Monastrell en el momento de la vendimia. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para los parámetros de pH y ácido tartárico en los tres años de estudio, pero si las hubo en el parámetro del ácido málico. Respecto a la concentración de SST y acidez total solo hubo diferencias significativas entre tratamientos en el año 2016.

Es sabido que la acumulación de azúcares en la baya depende de la capacidad de fotosíntesis de la planta. Las bayas acumulan azúcares procedentes de las hojas más próximas y, en un porcentaje menor, de los tejidos con acumulación de reservas (Ruffner, 1982; Jackson, 1986; Lavee y Nir, 1986; Coombe, 1992; Martínez et al., 2010). En los resultados obtenidos en el año 2016, los tratamientos que se comenzaron a regar después de envero (SulEnv y CloEnv) y el tratamiento S presentaron una menor concentración de SST. Esto podría deberse a que un estrés hídrico considerable puede reducir la tasa de asimilación neta, y por tanto la acumulación de azúcares durante el período de maduración (Matthews y Anderson, 1988; McCarthy, 1997; Sipiora y Gutiérrez, 1998; Santesteban et al., 2011). En 2017, las bayas presentaron una mayor concentración de SST en comparación con las otras dos campañas, pero no hubo diferencias significativas entre tratamientos, probablemente debido a una homogeneización del mosto en los depósitos, por el mal estado sanitario de la uva debido a la presencia de la plaga de *Lobesia botrana* que afectó al viñedo. Esta plaga afectó considerablemente poco antes de vendimia, produciendo un alto porcentaje de pudrición y desecación de bayas. Todo ello derivó en un efecto de concentración de azúcares en el mosto provocado por la desecación y deshidratación

de la uva. En 2018 se obtuvieron los valores más bajos de SST en el mosto en comparación con los dos años anteriores, debido a que este año la uva se vendimió con un bajo grado de madurez tecnológica, probablemente debido al gran rendimiento obtenido, no habiendo este año tampoco diferencias significativas entre tratamientos.

Como hemos dicho anteriormente, solo se observaron diferencias significativas entre tratamientos para la acidez total en el año 2016, siendo los tratamientos S, SulEnv y CloEnv los que presentaron valores más bajos de acidez. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Santesteban et al. (2011), que observaron una reducción de la acidez total del mosto cuando se redujo la dosis de riego, aumentando el estrés hídrico de las plantas. En este sentido otros estudios observaron una reducción de la acidez total del mosto en tratamientos con riego deficitario cuando se comparaba con plantas que tenían satisfechas sus necesidades hídricas (Sheltie, 2006; Santos et al., 2007a). Tampoco se observó ningún efecto de la salinidad en la acidez total ya que los valores de los tratamientos Clo y Sul fueron similares a los del tratamiento C. Durante los años 2017 y 2018 no solo no se han observado diferencias significativas entre tratamientos, sino que tampoco se observó ninguna tendencia en el incremento o descenso de la acidez total entre tratamientos del mosto. En este sentido Acevedo-Opazo et al. (2010) tampoco observaron diferencias significativas en la acidez total del mosto en un estudio de 3 años de riego deficitario en Cabernet Sauvignon. Al igual que ocurrió con los SST, también se observó una gran variabilidad de los valores de acidez total entre los diferentes años de estudio, oscilando los valores entre un mínimo de 4.37 g/L para el tratamiento S en 2016 y valores máximos de 9.81 g/L para el tratamiento C en 2017. Un ejemplo de esta gran variabilidad se puede observar en el año 2018 donde no se produjeron diferencias significativas entre tratamientos, siendo el valor de la acidez total del tratamiento S de 4.79 y de 6.59 g/L en el tratamiento SulEnv. El mosto procedente de uvas maduras suele contener entre 5 y 10 g/L de ácidos orgánicos (Keller, 2015), aunque valores comprendidos entre 6.5 g/L y 8.5 g/L se consideran óptimos para la elaboración de vinos equilibrados (Conde et al., 2007). Por lo tanto, y aunque la mayoría de los resultados obtenidos durante los 3 años quedarían englobados dentro del rango de valores mostrados por Keller (2015), cabe destacar que estarían fuera del rango óptimo de valores de acidez total para elaborar vinos equilibrados según Conde et al. (2007).

En cuanto a la concentración de ácido málico, se observaron diferencias significativas entre tratamientos durante los tres años de ensayo, siendo el tratamiento S y los tratamientos regados después de envero (SulEnv y CloEnv) los que presentaron las menores concentraciones de este compuesto durante las tres campañas. Como en nuestro ensayo, en otros muchos otros

estudios realizados en variedades tintas en diferentes regiones, se ha observado que vides con un mejor estado hídrico producían uvas con mayor concentración de ácido málico (Souza et al 2005; Santos et al; 2007b; Zufferey et al., 2017, Santesteban et al., 2011) y más concretamente en estudios de la variedad Monastrell (Romero et al., 2010, 2013, 2015). Esto puede explicarse por el efecto que tiene la aplicación de una mayor cantidad de riego en el aumento de la superficie foliar, y por tanto, una reducción significativa de la temperatura del microclima del racimo (Gamero et al., 2014). Al generarse un microclima más fresco en el racimo, debido a una mayor área sombreada inducida por una mayor superficie de hoja, se produce una menor combustión del ácido málico durante la maduración (Escalona et al., 2012).

Tabla 16. Características fisicoquímicas del mosto procedente de uva de la variedad Monastrell.

Tratamiento	Año	SST (°Brix)	pH	Ac. Total	Ac. Tartárico	Ac. Málico
S	2016	25.5 a	3.59	4.37 a	4.48	1.53 a
C		27.6 b	3.44	6.65 b	4.37	2.11 c
Sul		28.1 b	3.53	6.60 b	4.32	2.05 bc
Clo		28.9 b	3.44	6.73 b	4.27	2.35 c
SulEnv		25.6 a	3.48	5.08 ab	4.53	1.67 ab
CloEnv		25.6 a	3.51	4.67 a	4.72	1.58 a
ANOVA		***	ns	*	ns	**
S	2017	30.2	3.25	9.06	5.08	2.79 a
C		30.7	3.20	9.81	4.90	3.86 c
Sul		28.1	3.20	9.66	4.77	3.57 c
Clo		28.1	3.22	9.32	5.00	3.41 bc
SulEnv		28.1	3.23	8.44	5.39	2.83 ab
CloEnv		29.4	3.13	9.81	5.29	2.89 ab
ANOVA		ns	ns	ns	ns	**
S	2018	19.3	3.34	4.79	5.38	1.41 a
C		19.3	3.36	5.60	4.80	2.23 bc
Sul		20.5	4.05	6.57	4.35	2.29 c
Clo		19.9	3.75	6.47	4.75	1.99 bc
SulEnv		20.5	3.57	6.59	4.64	1.81 ab
CloEnv		19.6	3.78	6.56	5.02	1.48 a
ANOVA		ns	ns	ns	ns	**

La acidez total, ácido tartárico y ácido málico están expresados en g/L (acidez total g/L de ácido tartárico). ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.3.2 Composición fenólica en la uva

##### 4.3.2.1 Antocianos

Los antocianos son los principales compuestos responsables del color en los vinos tintos, y juegan un papel fundamental tanto en la estabilización del color, como en su capacidad antioxidante (Li, 2006). En la mayoría de las variedades de *Vitis vinifera* se han identificado

antocianinas monoglucósidas (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina) y antocianinas monoglucósidas aciladas, siendo la proporción de unas y otras diferente entre variedades (Cheynier, 2005; Muñoz et al., 2014; Keller, 2015).

En la Tabla 17 se muestran los resultados de la composición antocianídica de la uva para los diferentes tratamientos de riego y salinidad aplicados en nuestro ensayo. Durante los tres años de estudio la mayor concentración de antocianos se observó en el tratamiento S. En 2016 no se observaron diferencias significativas entre el resto de tratamientos. En 2017, en los tratamientos regados durante más tiempo (C, Sul y Clo) se observó una tendencia positiva a una mayor acumulación de antocianos en comparación con los tratamientos regados después de enero. Contrariamente, en 2018 fueron los tratamientos que se comenzaron a regar después de enero, los que obtuvieron una mayor concentración de antocianos totales. Durante los 3 años de estudio, no se observó ninguna diferencia significativa entre los tratamientos salinos (Sul y Clo) y el tratamiento C en la concentración de antocianos totales. Tampoco se observaron diferencias significativas en los tratamientos en los que el inicio de riego fue el mismo, pero con diferente tipo de sal añadida (Sul-Clo y SulEnv-CloEnv).

Aunque todos los tratamientos (excepto S) fueron regados deficitariamente, no se observó un incremento claro en la concentración de antocianos totales en los tratamientos regados que sufrieron un mayor estrés hídrico (SulEnv y CloEnv). En cambio, otros autores han observado que la aplicación de riegos deficitarios controlados e incluso la no aplicación de riego, produce un incremento de la síntesis de antocianos (Ferrandino y Lovisolo, 2014; Fortes et al., 2015; Pilati et al., 2017). Por otro lado, Yan-lun Jua et al. (2019) observaron, en un ensayo de riego deficitario sobre la variedad Cabernet Sauvignon, que el tratamiento con el menor volumen de riego (60% ET<sub>c</sub>) obtuvo la mayor concentración de antocianos tanto en uva como en vino. Romero et al. (2013) en un ensayo de riego deficitario en la variedad Monastrell observaron que las uvas procedentes de plantas que había tenido mayor estrés hídrico a lo largo del periodo vegetativo, incrementaron significativamente el contenido en antocianos llegando a acumular hasta un 25% más de antocianos que las bayas que habían tenido menor estrés hídrico. Por último, nuestros resultados van en concordancia con los resultados obtenidos por De la Hera Orts et al. (2005), que en un ensayo realizado en la variedad Monastrell, en Jumilla (misma zona geográfica donde se ha realizado esa Tesis Doctoral), donde se comparaba varios tratamientos de riego deficitario (brotación-cujado, cujado-enero y enero-vendimia) con un tratamiento control no regado. En ambos años, estos autores observaron que el tratamiento no regado alcanzó las mayores concentraciones de antocianos en uva, siendo el tratamiento regado

deficitariamente desde cuajado a envero el que presentó la menor concentración de antocianos en uva.

La concentración de antocianos no acilados durante los tres años de estudio siempre fue mayor que la concentración de antocianos acilados en todos los tratamientos, siendo el tratamiento S el que presentó una mayor concentración de antocianos acilados y no acilados durante los 3 años. Esta mayor concentración de antocianos no acilados es característico de la variedad Monastrell (Van-Leeuwen y Seguin, 1994; García-Beneytez et al., 2003). Así, Van-Leeuwen y Seguin (1994), en un estudio del perfil antocianico de esta variedad, observaron que el porcentaje de antocianos no acilados es muy superior al de acilados, llegando a ser hasta un 89% más alto. Esto es de gran importancia, ya que el hecho de que la variedad Monastrell tenga una menor concentración de compuestos acilados repercute directamente en la calidad del vino final. Esto se debe a que los antocianos acilados contribuyen a una mayor estabilidad del color en el tiempo, puesto que pueden participar en reacciones de copigmentación intramolecular (Gil-Muñoz et al., 2010), estabilizando y aumentando el color del vino (Hernández-Jiménez et al., 2007). También, durante los 3 años de estudio, todos los tratamientos mostraron una concentración de antocianos trihidroxilados muy superior a la de los antocianos dihidroxilados, estos resultados son similares los obtenidos por Gil-Muñoz et al. (2010) en un estudio del perfil antocianico de la variedad Monastrell en la misma zona de cultivo (Jumilla). Otros autores como Castellarin y Gaspero (2007) encontraron la misma tendencia para otras variedades de uva como Tempranillo y Pinot Noir.

Tabla 17. Composición antocianídica de la uva (mg/kg uva) por HPLC durante las campañas 2016-2018.

Tratamiento	Año	Acilados	Acetatos	Cumaratos	No Acilados	Tri-OH	Di-OH	Sumatorio
S	2016	260.8 c	54.3 b	198.3 c	1229.8 b	938.5 b	291.2 b	1490.7 b
C		108.2 a	25.2 a	79.10 a	526.7 a	405.7 a	120.9 a	634.9 a
Sul		133.4 ab	32.3 a	96.9 a	625.6 a	479.7 a	146.3 a	759.0 a
Clo		117.7 a	27.5 a	86.9 a	548.4 a	379.0 a	169.4 a	666.1 a
SulEnv		200.7 bc	39.5 a	154.5 bc	766.4 a	587.9 a	178.4 ab	967.1 a
CloEnv		164.8 ab	32.7 a	127.2 ab	638.4 a	501.3 a	137.1 a	803.3 a
ANOVA			***	***	***	***	***	**
S	2017	114.5	21.1	89.6	574.9 c	405.3 c	169.5 c	689.4 c
C		94.15	18.9	70.84	408.3ab	295.3 ab	112.8 ab	502.5 ab
Sul		101.60	21.0	76.61	482.80 b	359.6 bc	123.1 b	584.4 b
Clo		98.70	19.08	75.65	417.47 ab	310.1 ab	107.3 ab	516.1 ab
SulEnv		97.23	19.1	74.14	384.42 a	291.3 ab	93.0 ab	481.6 a
CloEnv		98.87	17.7	77.38	364.64 a	282.2 a	82.3 a	463.5 a
ANOVA			ns	ns	ns	***	**	**
S	2018	191.9 b	23.2	153.4 b	566.8 c	477.9 c	88.9	758.7 c
C		104.0 a	14.9	80.6 a	230.3 ab	187.1 ab	43.1	334.3 ab
Sul		121.4 a	17.7	94.6 a	294.7 ab	228.9 ab	65.7	416.1 ab
Clo		98.3 a	15.3	75.9 a	204.1 a	155.8 a	48.2	302.4 a
SulEnv		130.9 a	19.9	100.5 a	343.8 b	265.1 b	78.7	474.7 b
CloEnv		131.3 a	18.0	102.4 a	330.5 ab	259.2 b	71.3	461.8 b
ANOVA			***	ns	**	***	***	ns

Tri-OH: antocianos trihidroxilados; Di-OH: antocianos dihidroxilados. ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.3.2.2 *Taninos*

Las taninos o taninos condensados junto con los antocianos, son las moléculas responsables de la mayoría de las características sensoriales y organolépticas de los vinos tintos. En concreto, los taninos son las responsables de la estabilización del color y de las características sensoriales de los vinos debido a su astringencia y amargor (Chira et al., 2009).

En la Tabla 18 se muestra la concentración de taninos en las pieles de Monastrell obtenidas durante las tres campañas estudiadas (2016-2018). Teniendo en cuenta el tamaño de la baya (mg/kg uva), durante todos los años el tratamiento S obtuvo la mayor concentración de taninos totales expresados como mg/kg de uva. Solamente en los años 2016 y 2017 los tratamientos regados post-envero (SulEnv y CloEnv) mostraron una concentración ligeramente superior de taninos en comparación con los tratamientos regados durante todo el ciclo (C, Sul y Clo). Tampoco hubo diferencias significativas en la concentración total de taninos entre el resto de tratamientos en 2018.

En 2016 Los tratamientos regados con cloruros (Cl y CloEnv) obtuvieron una concentración ligeramente superior, pero no significativa, de taninos en comparación con los tratamientos regados con sulfatos (Sul y SulEnv), estos resultados no se repitieron en los dos años siguientes.

Se ha demostrado que las rutas biosintéticas de síntesis de compuestos fenólicos tales como los taninos no responden a la aplicación de riegos deficitarios antes o después del envero (Castellarin et al., 2007b). Por lo tanto, la aplicación de déficit hídrico a las vides ya sea pre- o post-envero, suele producir una respuesta nula o muy débil en términos de concentración de taninos en la piel de la uva (Kennedy et al., 2002; Peterlunger et al., 2005; Koundouras et al., 2009). Esta afirmación concuerda con los resultados obtenidos en nuestro estudio, donde no se aprecia una tendencia clara en el incremento de los taninos totales en los tratamientos que sufrieron un mayor déficit hídrico. Solamente el tratamiento de secano incrementó significativamente la concentración de taninos totales, pudiendo deberse más a una restricción en el crecimiento del mesocarpio y exocarpio, que a una alteración en la biosíntesis de taninos (Roby et al., 2004).

Por otro lado, el grado medio de polimerización hace referencia a lo polimerizado que están los taninos, es decir a la capacidad de reacción y combinación de las moléculas fenólicas para combinarse entre ellas, dando lugar a la formación de estos compuestos. El grado de polimerización depende del número de moléculas fenólicas que se condensan entre sí, que puede variar desde dos o tres moléculas hasta incluso diez moléculas (Martinez de Toda, 2014). Los taninos de los hollejos se distinguen de los de las semillas por un grado medio de polimerización más elevado, la presencia de unidades de epigallocatequina y una menor

proporción de unidades galoiladas (Cheynier et al., 2006). En nuestro ensayo, el grado medio de polimerización de los taninos en hollejo, fue similar en los tres años de estudio, obteniéndose valores acordes a la bibliografía (Cosme et al., 2009; Gouot et al., 2019; Rousserie et al., 2020). Sin embargo, hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos durante el primer año de estudio (2016), siendo los tratamientos SulEnv y CloEnv aquellos que presentaron un menor grado de polimerización, aportando por tanto un mayor grado de amargor al vino resultante. Kyrleou et al. (2016) en un estudio de riego deficitario sobre la variedad Syrah, no encontraron diferencias significativas en el grado medio de polimerización de los taninos en los hollejos, entre los diferentes tratamientos de riego aplicados. Las bayas acumulan cantidades significativas de taninos condensados, que son polímeros fenólicos compuestos principalmente por subunidades de flavan-3-ol, epicatequina como unidad de extensión y catequina como subunidad terminal. En términos generales se ha demostrado que la expresión génica para la biosíntesis de flavan-3-oles, precursores de proantocianidinas está activa hasta el momento de envero y se regula a la baja por el efecto del ácido abscísico (Bogs et al., 2005; Lacampagne et al., 2010). En concordancia con estas observaciones, diferentes estudios han mostrado que el contenido de taninos en los hollejos de las uvas se reduce durante la etapa final de maduración (Hanlin y Downey, 2009; Lacampagne et al., 2010).

La polimerización de los taninos, la cual se piensa que puede ser un mecanismo antioxidante (Keller, 2015), se incrementa significativamente en el envero y puede, o no, aumentar durante la maduración de la uva. Kennedy et al. (2001) en un estudio sobre la composición de las proantocianidinas del hollejo en una variedad tinta, observó que los taninos condensados de los hollejos presentaban un mayor grado de polimerización según aumentaba el grado de madurez. Estas observaciones no coinciden con nuestros resultados, ya que en 2018 las bayas obtuvieron una menor concentración de SST y un menor grado de madurez que en 2016, pero un mayor grado de polimerización que en el año 2016. Por otro lado, resultados obtenidos por diferentes autores sobre el grado de polimerización de los taninos en la piel muestran gran variabilidad, observándose incrementos o descensos durante la maduración en respuesta a factores ambientales (Kennedy et al., 2001, 2002; Downey et al., 2003).

Chira et al. (2012) y Quijada-Morin et al. (2014) encontraron que además de la concentración total de taninos, el grado medio de polimerización estaba estrechamente relacionado con la astringencia, jugando un papel fundamental en la composición final del vino y su percepción por el consumidor. Además, Ribéreau-Gayon et al. (2006), también demostraron que el grado medio de polimerización puede influir, además de en la astringencia, en el color y el sabor afrutado de los vinos.

Por último, para el % de galoilación no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos durante los dos primeros años de ensayo, sin embargo, en 2018 los tratamientos regados (C, Sul, SulEnv y CloEnv) presentaron el mayor porcentaje de galoilación, y por lo tanto mayor sensación de amargor y astringencia. En cuanto a la concentración de epigallocatequina (subunidad que solo está presente en las pieles de la uva), no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en los tres años de estudio y tampoco se observó ninguna tendencia clara en la concentración de la misma, por lo que no parece que los dos factores estudiados, riego y salinidad, tengan mucha influencia en la concentración total de esta subunidad. Por lo tanto, la concentración total de epigallocatequina en el hollejo de las bayas, podría estar más condicionada por otros factores como la variedad. Cabe destacar que en los hollejos de uva Monastrell no se detectó, o se detectó en muy baja concentración la (-)-epicatequina-3-O-galato. Estos resultados coinciden con los presentados por otros autores (Hanlin y Downey, 2009), que tampoco detectaron (-)-epicatequina-3-O-galato en estudios realizados sobre Cabernet Sauvignon y Syrah.

Tabla 18. Taninos en hollejos de la variedad Monastrell durante las campañas 2016-2018.

Tratamiento	Año	Gpm	% Gal	EGC-E	CAT-E	EPI-E	CAT-T	EC3OG-E	EPI-T	EC3OG-T	µg/g hollejo	µg/baya	mg/kg
S	2016	16.5 b	1.49	221.2	12.73	505.8	31.1	18.9	16.7 a	nd	7948	806	634 d
C		16.6 b	1.11	240.4	10.53	485.7	29.7	22.1	19.3 a	nd	5047	808	394 a
Sul		14.8 b	2.00	205.9	10.97	441.4	30.1	30.7	18.8 a	nd	5988	738	455 ab
Clo		14.7 b	1.91	228.0	12.55	494.7	30.7	28.8	24.3 a	0.14	6803	819	487 bc
SulEnv		10.7 a	1.99	255.1	12.77	550.1	32.8	27.3	53.0 b	3.26	6753	935	552 bc
CloEnv		10.2 a	2.10	240.6	13.45	525.4	34.2	27.1	54.0 b	nd	7429	894	626 d
ANOVA		**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns	ns
S	2017	15.9	0.98	194.4	9.76	518.9	36.9	11.3	10.8	0.28	7646	782	608 c
C		14.1	0.86	172.8	6.83	481.9	38.0	9.18	11.8	0.18	4583	720	349 a
Sul		14.3	1.05	170.0	7.22	485.6	38.5	10.3	12.3	1.20	6036	725	452 ab
Clo		15.1	1.05	176.4	7.68	464.7	33.9	10.5	11.4	0.51	5782	705	414 ab
SulEnv		16.3	1.16	227.5	9.11	523.2	37.2	14.2	13.3	0.16	5958	824	498 abc
CloEnv		15.4	1.08	207.3	7.89	496.4	39.0	12.3	10.6	0.08	6518	773	550 bc
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	2018	14.5	1.64 a	318.1	17.46	696.3	44.2	26.5	32.0 b	0.13	11399 b	1135	981 b
C		15.0	2.38 b	214.4	13.13	518.5	33.5	29.7	20.4 a	nd	5746 a	829	396 a
Sul		14.9	2.78 b	223.0	12.64	498.6	32.4	30.3	19.2 a	3.21	6675 a	819	441 a
Clo		14.9	2.26 ab	283.0	17.05	575.1	38.1	30.8	24.8 ab	1.57	6849 a	970	552 a
SulEnv		14.8	2.25 ab	224.9	14.08	500.7	33.0	25.6	19.1 a	2.07	6835 a	874	553 a
CloEnv		13.2	1.66 a	241.7	13.35	523.2	38.4	20.6	26.3 ab	nd	6345 a	871	495 a
ANOVA		ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	**	ns

Abreviaciones: Gpm: grado medio de polimerización; %Gal: porcentaje de galoilación; EGC-E: (-) epigallocatequina de extensión; CAT-T (+) catequina terminal; EPI-T: (-) epicatequina terminal; EC3OG-T (-) epicatequina 3-O-galato terminal; CAT-E (+) catequina de extensión; EPI-E: (-) epicatequina de extensión; EC3OG-E: (-) epicatequina 3-O-galato de extensión. ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rango múltiple de Duncan.

En la Tabla 19 se muestran la concentración de taninos en las semillas procedentes de uva Monastrell. Durante los tres años de ensayo no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para la concentración total de taninos ( $\mu\text{g/g}$  hollejo,  $\mu\text{g/baya}$  y  $\text{mg/kg}$ ), grado medio de polimerización y % de galoilación en semillas. En concordancia con nuestros resultados, otros autores como Roby et al. (2004) en la variedad Shiraz y Koundouras et al. (2009) en la variedad Cabernet Sauvignon, no observaron que un déficit hídrico impuesto a las plantas tuviera un efecto en la concentración total de taninos en las semillas, a pesar del efecto que dicho estrés hídrico provocaba en el tamaño de baya. Cabe recordar, que la concentración de taninos en las bayas vendrá determinada por el peso de las semillas y el número de semillas por baya (Pastor y Kennedy, 2006). Por otro lado, Casassa et al. (2015), en un estudio de riego deficitario en la variedad Cabernet Sauvignon, observaron cómo los tratamientos sometidos a un mayor estrés hídrico, obtuvieron un incremento del 6% en la concentración de taninos en las semillas. Aunque existe cierta controversia en bibliografía (Buchetti et al. 2011; Ojeda et al., 2002; Romero et al. 2016b), para este ensayo concreto, podríamos considerar que la síntesis de taninos de las semillas, al igual que los taninos de la piel de las uvas, se ven muy poco afectados por el efecto de la salinidad y el déficit hídrico impuesto a las vides.

Los valores obtenidos para en el grado medio de polimerización y % de galoilación están dentro de los rangos obtenidos por Prieur et al. (1994), quienes establecieron dichos valores entre 13-29% para el % de galoilación y de 2-15% para el grado medio de polimerización.

Al contrario que los resultados mostrados en los taninos del hollejo, en la concentración de taninos en semillas (Tabla 19) no encontramos epigalocatequina ya que los taninos de semilla no la contienen (Adams, 2006). Si comparamos los valores de taninos obtenidos por las semillas y por los hollejos (Tablas 18 y 19), la concentración de taninos totales ( $\mu\text{g/g}$  hollejo,  $\mu\text{g/baya}$  y  $\text{mg/kg}$ ) y el % de galoilación es significativamente mayor en las semillas, este mayor porcentaje de galoilación en las semillas en comparación con las pieles también fue observado por Kyraleou et al. (2016) en un estudio de riego deficitario. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos por Chira et al. (2015) y Rinaldi et al. (2014) respecto al % de galoilación de las semillas y los hollejos.

El grado medio de polimerización en las semillas es significativamente menor que el de las pieles. Al igual que ocurría con los hollejos, en las semillas la epicatequina de extensión es el constituyente principal de las subunidades terminales, y la epigalocatequina el compuesto de menor concentración, estos resultados fueron similares a los observados por Downey et al. (2003) en la variedad Syrah.

Tabla 19. Taninos en semillas de la variedad Monastrell durante las campañas 2016-2018.

Tratamiento	Año	Gpm	% Gal	CAT-E	EPI-E	CAT-T	EC3OG-E	EPI-T	EC3OG-T	µg/g hollejo	µg/baya	mg/kg
S	2016	7.63	14.9	162.7 ab	1259	105.6	363.7	111.1	86.54	33784	2090	1607
C		6.42	15.9	203.5 b	1615	135.0	478.0	169.0	103.9	35519	2741	1303
Sul		6.56	16.3	179.1 ab	1326	116.6	398.2	122.9	121.6	38256	2264	1387
Clo		6.57	15.8	211.8 b	1508	133.5	450.3	147.4	123.5	33821	2575	1526
SulEnv		6.68	16.9	179.9 ab	1332	113.9	418.2	122.3	123.6	33287	2290	1343
CloEnv		7.92	16.6	148.2 a	1165	90.6	346.8	107.8	103.9	32013	1940	1379
ANOVA		ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	2017	7.96	13.7	238.7	1901	147.9	501.9	155.3	87.6	49515	3033	2341
C		7.39	13.6	296.8	2346	178.5	618.9	235.0	102.4	49045	3778	1844
Sul		7.89	14.1	274.2	2237	164.3	609.0	204.5	121.1	61972	3610	2259
Clo		7.37	14.1	247.4	2002	160.7	517.6	159.1	128.0	42560	3227	1916
SulEnv		7.54	14.8	239.6	1918	142.4	530.3	1714.8	124.7	46528	3114	1866
CloEnv		6.94	14.4	279.4	2288	182.4	609.0	218.7	152.9	61141	3731	2649
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	2018	6.97	15.2	209.9	1803	130.3	523.9	208.2	122.3	46223	2997	2633
C		7.42	15.4	185.3	1517	100.8	442.5	159.6	104.8	31559	2510	1190
Sul		7.42	16.0	195.7	1574	111.2	481.6	160.9	111.6	24766	2635	1443
Clo		6.70	16.0	193.1	1823	129.9	562.4	203.8	127.5	38664	3040	1730
SulEnv		7.10	15.9	199.5	1744	132.4	562.8	201.0	124.9	55305	2995	1868
CloEnv		6.77	15.5	211.3	1821	129.1	539.6	203.7	142.3	34921	2922	1732
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Abreviaciones: Gpm: grado medio de polimerización; %Gal: porcentaje de galloilación; CAT-T (+)- catequina terminal; EPI-T: (-) – epicatequina terminal; EC3OG-T: I (-)- epicatequina 3-O-galato terminal; CAT-E: (+) – catequina de extensión; EPI-E: (-)- epicatequina de extensión; EC3OG-E: (-)- epicatequina 3-O- galato de extensión. ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.3.2.3 Estilbenos

Los estilbenos pertenecen a la clase de compuestos fenólicos no flavonoides. En general, los estilbenos se consideran fitoalexinas y su formación se ha correlacionado con la resistencia a enfermedades (Chaves et al., 2010). En los últimos años, han despertado un gran interés en la comunidad científica gracias a sus efectos positivos sobre la salud humana. La síntesis de estilbenos en la uva está fuertemente determinada por la variedad (Golberg et al., 1996; Sato et al., 1997; Eder et al., 2001; Bavaresco, 2003), pudiendo observarse diferencias en las concentraciones de estos compuestos en diferentes variedades de una misma especie (Cantos et al., 2002; Guerrero et al., 2010). De todos los estilbenos descritos en las vides hasta el momento, el resveratrol es el estilbeno más bioactivo (Bavaresco et al., 2008).

En la Tabla 20 se muestran las concentraciones de estilbenos procedentes de uvas de la variedad Monastrell durante las tres campañas estudiadas. Como se puede observar, no se encontraron diferencias significativas en la concentración total de estilbenos entre los tratamientos en ningún año de estudio. En 2016, los tratamientos obtuvieron en promedio la mayor concentración de estilbenos (3.56 mg/kg), en cambio, fue durante el año 2018 cuando se obtuvo la menor concentración de estos compuestos (0.59 mg/kg). Los estilbenos de forma piceida fueron los que mayor concentración obtuvieron en comparación con el resveratrol durante los años 2016 y 2017, aunque no ocurrió lo mismo en el año 2018 donde no se encontraron diferencias entre la concentración de piceidos y resveratrol. Esa mayor concentración de piceidos es debida a que la variedad Monastrell acumula preferentemente estilbenos de forma glucosilada como son los piceidos en altas concentraciones (Ruiz-García et al., 2013). Otros autores como Gil-Muñoz et al. (2017), en un ensayo con elicitores en la variedad Monastrell, también obtuvieron mayores concentraciones de componentes piceidos. Como se ha dicho anteriormente, la síntesis de estilbenos está determinada en mayor medida por la variedad de uva, además de este factor hay otros que tienen una gran influencia como el grado de madurez de la uva, existiendo una correlación negativa entre el grado de madurez de la uva y la capacidad de inducción de síntesis de resveratrol (Jeandet et al., 1991). La concentración de estilbenos aumenta desde el envero hasta la maduración (Gatto, 2008), esto queda perfectamente reflejado en los datos obtenidos, ya que en el año 2018 la uva no llegó a alcanzar una maduración óptima, lo cual se refleja en la baja concentración de estilbenos totales obtenidos. Por otro lado, Bavaresco (2003) observó que bajas precipitaciones se han asociado con una mayor concentración de estilbenos. Sin embargo, en nuestros resultados no se observó que los tratamientos con un mayor déficit hídrico obtuvieran una mayor concentración de estilbenos.

El motivo por el que no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos experimentales se debe a la gran variabilidad obtenida en la concentración de estilbenos, incluso dentro de la misma variedad de uva. Esta variabilidad se explica por dos motivos: las bajas concentraciones en la que se encuentran los estilbenos en los hollejos y el alto número de factores de los que depende su síntesis (Gatto et al., 2008; Flamini et al., 2013; Bavaresco et al., 2016). Gatto et al. (2008) propusieron una clasificación de variedades de uva según su concentración de estilbenos en uva, siendo variedades de alta síntesis de estilbenos aquella que presentaran una concentración superior a 2.3 mg/kg en bayas de uva y variedades de baja síntesis de estilbenos aquellas que su concentración de estilbenos se encontrara entre 0.2 y 1.8 mg/Kg en las bayas. La variedad Monastrell utilizada en nuestros ensayos presentó valores superiores a 2.3 mg/kg en las bayas en el año 2016 y valores inferiores en los años 2017 y 2018, siendo por tanto éste, un parámetro influido también por la añada.

Tabla 20. Estilbenos medidos en uva (mg/kg uva) en la variedad Monastrell durante las campañas 2016-2018.

Tratamiento	Año	T-Piceido	C-Piceido	T-Resveratrol	C-Resveratrol	Sumatorio
S	2016	2.18	0.89	0.51	1.17	3.68
C		1.70	1.08	0.21	1.00	3.73
Sul		1.90	0.88	0.41	0.27	3.48
Clo		1.92	1.10	0.39	0.29	3.68
SulEnv		1.57	0.98	0.22	0.24	2.93
CloEnv		1.99	1.09	0.31	0.50	3.90
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns
S	2017	0.90	0.85	0.11	0.11	1.83
C		0.71	0.90	0.26	0.15	2.00
Sul		0.76	1.06	0.29	0.26	2.30
Clo		0.77	1.03	0.20	0.17	2.12
SulEnv		0.87	1.11	0.55	0.14	2.54
CloEnv		0.81	0.91	0.11	0.36	2.17
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns
S	2018	0.03	0.19	0.07	0.13	0.44
C		0.02	0.26	0.14	0.13	0.56
Sul		0.03	0.25	0.15	0.18	0.62
Clo		0.02	0.23	0.34	0.12	0.73
SulEnv		0.03	0.20	0.17	0.15	0.55
CloEnv		0.04	0.24	0.15	0.20	0.64
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns

ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ).

### 4.3.3 Composición fenólica en el vino

La concentración de compuestos fenólicos presentes en el vino vendrá determinada por distintos factores como pueden ser, la concentración de los compuestos fenólicos presentes en las pieles y en las semillas de la uva y su capacidad de extracción durante el proceso de vinificación. La facilidad de los compuestos fenólicos para ser extraídos se denomina “extractabilidad” y de ella depende en gran medida la composición fenólica de los vinos. Por lo tanto, la extracción en el mosto-vino de los compuestos fenólicos dependerá también del grado de maduración de la uva, de la concentración de compuestos en la misma y de la estructura de sus paredes celulares. Además de estos tres factores, también hay que tener en cuenta que las diferentes técnicas de vinificación influirán en la degradación de los tejidos celulares (Saint-Cricq et al., 1998)

#### 4.3.3.1 Parámetros cromáticos en el vino

De todos los atributos que se pueden percibir en un vino, el aspecto visual es la primera sensación que percibimos en una copa de vino. Su transparencia, su brillo y sobre todo su color son algunos de los atributos más determinantes de la calidad, pudiendo ser indicadores de otros aspectos relacionados con su aroma y sabor (Glories, 1984). Así, por el color de un vino se puede deducir la edad, el cuerpo, el estado de conservación, e incluso se pueden reconocer algunos defectos que después se notarán en el análisis sensorial (Zamora, 2003). En vinos jóvenes como los nuestros, con menos de 6 meses en botella, el color debido a la copigmentación puede suponer hasta un 40% del color total (Boulton, 1995). Durante el transcurso de la elaboración, taninos y antocianos se combinan mediante reacciones de condensación, además los taninos experimentan reacciones de polimerización y los antocianos pueden sufrir numerosas reacciones, como oxidaciones, hidrataciones y polimerizaciones (Aleixandre, 2012). Finalmente, la evolución del color del vino a lo largo del proceso de vinificación dependerá en mayor o menor medida de la proporción en la que se produzcan todas estas reacciones (Moreno, 2013).

En la Tabla 21 se muestran los parámetros cromáticos de los vinos de Monastrell al finalizar la fermentación alcohólica. La mayor intensidad de color (IC) fue observada durante las campañas 2016 y 2017. En el año 2016 hubo diferencias significativas entre tratamientos, siendo los tratamientos S, SulEnv y CloEnv los que obtuvieron una mayor IC. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos con el mismo momento de inicio de riego, pero diferente tipo de sal. En el año 2017, los tratamientos obtuvieron el mayor IC (16.7) en comparación con los otros dos años, debido en gran medida al efecto de concentración producido en el mosto como consecuencia de la desecación de las uvas causada por la podredumbre sufrida y el consecuente aumento de la relación superficie de hollejo/ pulpa.

Durante este año no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Por último, en 2018 se observaron diferencias significativas entre tratamientos, siendo el tratamiento S el que obtuvo una mayor IC (13.5), seguida por los dos tratamientos que se comenzaron a regar después de enero (SulEnv y CloEnv). Esta mayor coloración de los vinos, está directamente relacionada con la cantidad de antocianos totales (AT) e índice de polifenoles totales (IPT) presente en los vinos, que fue mucho mayor en las campañas de 2016 y 2017. Además de la IC, en 2018, el IPT y los AT obtuvieron una menor concentración en comparación con las otras dos campañas, debido probablemente a que la uva no llegó a alcanzar un grado óptimo de madurez como consecuencia del incremento de la producción.

En las campañas 2016 y 2017, y en términos generales, los valores de intensidad de color (IC) obtenidos en los vinos de nuestros tratamientos fueron similares a los valores obtenidos por Bautista-Ortín et al. (2007) en vinos de la variedad Monastrell cultivadas en Jumilla. Sin embargo, estos valores son superiores a los obtenidos por Romero et al. (2016) en un ensayo realizado con uvas de la variedad Monastrell en Bullas (Murcia). Una zona cercana a Jumilla, pero con una climatología más fresca, donde la variedad Monastrell tiene mayor dificultad para alcanzar un grado óptimo de maduración. En un trabajo sobre la influencia de la heterogeneidad de la madurez fenólica de la uva en la composición y calidad del vino. Kountoundakis et al. (2011) observaron diferencias significativas entre los parámetros cromáticos de vinos de diferentes añadas debido a diferencias en el grado de madurez de las uvas. Por otro lado, comparando los valores de IC de la campaña 2018 (en la cual la uva no alcanzó un grado óptimo de maduración, 19.8 ° Brix) con los obtenidos por Romero et al. (2016) se puede observar que se obtuvieron resultados similares. Por otro lado, si comparamos nuestros resultados con los obtenidos por Romero et al. (2013) son similares en términos de estrés hídrico, es decir los vinos que procedían de plantas que habían sufrido algún tipo de estrés hídrico a lo largo del ciclo vegetativo, obtenían una mayor intensidad de color. También, resultados similares del efecto del estrés hídrico en el color del vino han sido observados por otros autores en diferentes variedades como: Pinot noir (Zufferey et al., 2017), Cabernet Sauvignon (Roby et al., 2004; Chalmers et al., 2010) y Agiorgitiko (Koundouras et al., 2006). En cuanto al estrés salino, no hemos observado que tenga ningún efecto sobre la IC de nuestros vinos. Sin embargo, Scacco et al. (2010) en un ensayo con diferentes concentraciones de salinidad en suelo (EC<sub>s</sub> 0.7, 1.2 y 2.1 dS/m) observó que un aumento de la salinidad del suelo mejoró la intensidad de color de los vinos de Nero d'Avola.

Otros parámetros estudiados fueron los parámetros CIELAB, un espacio de color uniforme obtenido mediante una transformación matemática XYZ en el cual se fija un blanco de referencia. En el año 2016 fueron los tratamientos S, CloEnv y SulEnv los que presentaron los

valores más bajos para los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , lo que se traduce en vinos más oscuros, con menor luminosidad y tonalidades más violáceas. En un ensayo de riego deficitario realizado por Romero et al. (2013), los vinos procedentes de tratamientos con mayor aportación de agua obtuvieron una menor intensidad de color y un incremento de los valores de  $L^*$ ,  $C^*$ ,  $H^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Estos resultados coinciden con los obtenidos por nosotros en la campaña 2016 para los vinos procedentes de plantas regadas durante todo el ciclo.

En las campañas 2017 y 2018 no hubo diferencias significativas para los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . En el año 2018, aunque no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, obtuvimos mayores valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  en comparación con las otras dos campañas, lo que indica un desplazamiento de los tonos púrpuras y violetas hacia tonos más rojos y amarillos (Martínez et al., 2001; Casassa y Sari, 2007). Otros parámetros analizados fueron: el porcentaje de antocianos copigmentados, los antocianos libres y los antocianos polimerizados. En 2016 se observaron diferencias significativas entre tratamientos para los antocianos copigmentados y polimerizados, siendo los tratamientos S, SulEnv y CloEnv los que obtuvieron un mayor porcentaje de antocianos copigmentados y los tratamientos C, Sul y Clo, los que obtuvieron un mayor porcentaje de antocianos polimerizados. Por el contrario, en 2017 no hubo diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los porcentajes de antocianos. Por último, en 2018 solo fue significativo el porcentaje de antocianos polimerizados. En las campañas 2016 y 2018, el color del vino, estuvo determinado en gran medida por los antocianos copigmentados, los cuales tuvieron una proporción media del 49% y 58% respectivamente. Esta proporción fue muy superior a las fracciones correspondientes de antocianos libres 38% y 32%. Por el contrario, en la campaña 2017 la fracción correspondiente a los antocianos libres (51%) fue muy superior a la de antocianos copigmentados (19%), por lo que el vino procedente de esta campaña fue más susceptible de sufrir oxidaciones del color (Zamora, 2003). Por tanto, el mayor porcentaje de antocianos copigmentados observados en las campañas 2016 y 2018 produjo una mayor estabilización del color, desplazando los antocianos al ión flavilio y obteniendo una mayor intensidad del color rojo en los vinos (Zamora, 2013).

Por otro lado, a la vista de los resultados, no se observó una tendencia clara en el efecto de los diferentes tratamientos de riego salino aplicados sobre los fenómenos de degradación y estabilización de los compuestos fenólicos. Sin embargo, Romero et al. (2016) en un estudio de riego deficitario sobre la variedad Monastrell, observó que los vinos procedentes de vides sometidas a tratamientos con una mayor aportación de agua, obtuvieron un mayor porcentaje de antocianos copigmentados y libres, en comparación con los tratamientos que se les había aplicado un mayor déficit hídrico.

Tabla 21. Parámetros cromáticos de los vinos de la variedad Monastrell medidos al finalizar la fermentación alcohólica durante las campañas 2016-2018.

Tratamiento	Año	IC	T	L*	a*	b*	C*	H*	AC%	AL%	PP%	IPT	AT
S	2016	18.96c	0.42 a	10.07 a	41.43 a	17.33 a	44.95 a	22.69 a	53 c	36	10 a	51.1	729 c
C		14.16 ab	0.47 b	13.85 b	46.12 b	23.74 b	51.92 b	27.13 b	47 ab	40	12 b	48.8	598 ab
Sul		14.57 ab	0.49 bc	12.73 b	44.73 b	21.90 b	49.84 b	26.06 b	49 b	37	12 b	50.4	597 a
Clo		13.30 a	0.52 c	13.89 b	46.19 b	23.84 b	51.98 b	27.35 b	43 a	43	13 b	50.1	564 a
SulEnv		16.91 bc	0.43 a	12.13 ab	44.17 ab	20.91 ab	48.83 ab	25.23 ab	53 c	36	10 a	47.7	652 abc
CloEnv		17.97 c	0.41 a	11.70 ab	43.66 ab	20.12 ab	48.08 ab	24.78 ab	51 bc	38	9 a	47.1	687 bc
ANOVA		***	***	*	*	*	*	*	*	**	ns	**	ns
S	2017	18.92	0.57	6.02	32.91	10.37	34.58	16.93	14	55	30	72.1	519
C		18.17	0.57	6.82	35.13	11.76	37.11	18.00	20	49	30	71.9	482
Sul		16.30	0.56	8.27	38.75	14.25	41.33	19.97	20	51	28	66.9	464
Clo		15.23	0.57	9.40	40.33	16.17	43.54	21.49	21	50	28	62.6	443
SulEnv		15.09	0.54	9.76	40.99	16.81	44.31	22.27	22	51	26	61.4	461
CloEnv		16.35	0.56	8.27	38.88	14.25	41.42	20.07	18	52	29	68.9	442
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	2018	13.56 c	0.37 a	20.6	53.54	35.41	64.25 a	33.2	61	31	7 a	34.1 c	493 c
C		7.05 a	0.42 b	31.03	60.60	42.17	73.96 b	34.7	57	34	8 ab	25.5 a	284 a
Sul		7.02 a	0.42 b	31.89	61.17	42.11	74.41 b	34.5	55	34	9c	26.7 ab	290 a
Clo		7.19 a	0.40 ab	32.17	62.83	46.59	78.23 b	36.5	57	33	9 c	25.3 a	290 a
SulEnv		10.10 b	0.38 a	26.82	59.56	44.76	74.52 b	36.8	60	31	8 ab	29.7 b	382 b
CloEnv		9.72 b	0.38 ab	28.28	60.05	42.51	73.62 b	35.2	60	31	8 ab	30.2 bc	363 b
ANOVA		***	*	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	***

IC: Intensidad de color, T: Tono, L: Luminosidad, a\*, b\*, C: Cromo H: Hue, AC%: Antocianos copigmentados, AL%: Antocianos libres, PP% Antocianos polimerizados, IPT: Índice de polifenoles totales, AT: Antocianos totales (mg/L). ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.3.3.2 Antocianos

La concentración de antocianos en vinos terminados, normalmente suele ser menor a la observada en las pieles de las uvas (García-Beneytez et al., 2002). El perfil antocianico de los hollejos y los vinos también suele ser bastante diferente, estas diferencias entre las pieles de uvas y los vinos se deben a distintos ratios de extracción de los antocianos, a las reacciones de degradación y polimerización y a la distinta capacidad de adsorción de las paredes celulares de las levaduras (Revilla et al., 2001). Los antocianos monoméricos son extraídos en primer lugar en medio acuoso, alcanzando su máxima concentración durante los primeros días de la fermentación para después ir disminuyendo progresivamente conforme va desarrollándose la fermentación alcohólica (Bautista-Ortín, 2005).

La Tabla 22 muestra los valores de la concentración de antocianos obtenidos por HPLC en los vinos analizados al final de la fermentación alcohólica durante las campañas 2016-2018. Coincidiendo con los datos de antocianos totales obtenidos por el método enzimático (Tabla 21), las concentraciones de todos los antocianos analizados mediante HPLC, fueron significativamente mayores en el año 2016 en comparación con el resto de años. En el año 2017 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los antocianos analizados, ya que los resultados de este año, estuvieron condicionados por la homogeneización del mosto en todos los tratamientos debido a las malas condiciones sanitarias en las que entró la uva en bodega.

Solo se encontraron diferencias significativas de antocianos totales entre tratamientos en los años 2016 y 2018, siendo en ambos años los tratamientos S, SulEnv y CloEnv los que obtuvieron una mayor concentración de estos compuestos en comparación con el resto de tratamientos. Durante los tres años de estudio, no se observó ningún efecto en la concentración total de antocianos de los tratamientos salinos (Sul y Clo) en comparación con el tratamiento C. Los valores de antocianos totales obtenidos en 2017, no se corresponden con los valores de intensidad de color obtenidos para ese mismo año, esto podría deberse al efecto de concentración de compuestos en el mosto que se ha explicado con anterioridad. Estos resultados están en concordancia con los resultados obtenidos por De la Hera Horts et al. (2005), en un ensayo realizado en la variedad Monastrell, en Jumilla (misma zona geográfica donde se ha realizado esa Tesis Doctoral), donde se comparaba varios tratamientos de riego deficitario (brotación-cujado, cujado-envero y envero-vendimia) con un tratamiento control no regado. En ambos años, estos autores observaron que el tratamiento no regado alcanzó las mayores concentraciones de antocianos, no habiendo diferencias significativas entre los tratamientos regados, independientemente del momento de aplicación del riego deficitario. En este mismo

sentido Romero et al. (2013) también observaron un incremento de los antocianos totales en vinos de variedad Monastrell que procedían de plantas que habían sufrido estrés hídrico.

Solo se observaron diferencias significativas en la concentración de antocianos acilados en el año 2018, siendo los tratamientos S, SulEnv y CloEnv los que obtuvieron una mayor concentración. Aunque, en 2016 también se observó una ligera tendencia a un incremento de los antocianos acilados en los tratamientos con mayor estrés hídrico. En los años 2016 y 2018, la concentración de antocianos no acilados fue significativamente mayor en los tratamientos regados postenvero y el tratamiento S, no observándose que el tipo de sal utilizada tuviera algún efecto en la concentración de antocianos no acilados. Cabe destacar que, aunque no hubo diferencias significativas entre tratamientos para los antocianos dihidroxilados, si que se observaron diferencias significativas entre tratamientos para los antocianos trihidroxilados en los años 2016 y 2018, siendo los tratamientos con mayor estrés hídrico los que presentaron una mayor concentración de los mismos. Durante los tres años de estudio, la concentración de antocianos no acilados fue significativamente mayor que la de antocianos acilados, siendo esto, como ya se ha dicho anteriormente, una característica propia de la variedad Monastrell (García-Beneytez et al., 2003). No ocurre así en otras variedades tintas como Cabernet Sauvignon o Merlot, donde las concentraciones de antocianos acilados son superiores a las encontradas en la variedad Monastrell (Romero-Cascales et al., 2005).

Otros compuestos analizados fueron las vitisinas, estos compuestos son pigmentos derivados de antocianos de bajo peso molecular que se forman a partir de metabolitos secundarios de las fermentaciones alcohólica y maloláctica (Alcalde-Eon, 2008). En nuestros ensayos no se observaron diferencias significativas en la concentración de estos compuestos en los vinos durante las 3 campañas estudiadas. Aunque no hubo diferencias significativas, se observó una ligera tendencia del tratamiento seco a un incremento de la concentración de vitisinas.

Tabla 22. Antocianos (mg/L) por HPLC para vinos de Monastrell al final de la fermentación alcohólica durante las campañas (2016-2018).

Tratamiento	Año	Acilados	Acetatos	Cumaratos	No Acilados	Tri-OH	Di-OH	Vitisinas	Sumatorio
S	2016	144.5	41.4 bc	67.6	560.7 b	479.0 b	81.6	19.4	723.7 c
C		121.7	32.2 a	55.8	445.8 a	358.6 a	87.1	17.3	598.9 ab
Sul		119.1	31.5 a	50.6	445.0 a	357.8 a	87.1	17.0	582.0 a
Clo		122.2	32.8 a	52.8	424.0 a	340.2 a	83.8	17.3	566.6 a
SulEnv		132.8	36.7 ab	63.0	496.2ab	425.9 ab	70.3	14.9	635.3 abc
CloEnv		156.9	46.9 c	72.3	523.6 b	437.6 ab	85.9	17.5	688.0 bc
ANOVA		ns	*	ns	***	***	ns	ns	*
S	2017	97.7	21.3	41.6	215.4	167.0	48.3	9.3	322.4
C		96.0	17.3	40.4	196.7	149.1	47.6	9.2	302.1
Sul		81.4	15.9	34.5	218.6	170.4	48.2	7.8	308.0
Clo		81.2	13.8	34.3	233.6	183.3	50.3	8.8	323.7
SulEnv		62.2	9.6	29.2	230.1	181.4	48.6	6.4	298.8
CloEnv		77.2	14.9	33.3	169.7	132.2	37.4	8.0	255.0
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	2018	74.2 b	12.7 b	53.9 b	333.8 b	303.1 b	30.7	3.31	411.4 b
C		41.9 a	8.6 a	29.6 a	195.7 a	176.4 a	19.3	1.78	239.4 a
Sul		41.5 a	8.8 a	29.2 a	199.9 a	180.8 a	19.1	1.71	243.2 a
Clo		44.5 a	9.0 a	31.7 a	197.6 a	178.4 a	19.1	1.47	243.6 a
SulEnv		60.9 ab	11.8 ab	42.8 ab	264.4 ab	234.4 a	30.0	2.67	328.0 ab
CloEnv		57.1 ab	10.2 ab	41.5 ab	252.4 ab	225.7 a	26.7	1.85	311.5 ab
ANOVA		**	*	**	**	**	ns	ns	***

Tri-OH: antocianos trihidroxilados; Di-OH: antocianos dihidroxilados. ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*, \*\* y \*\*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ , 0.01 y 0.001, respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.3.3.3 Taninos

En la vinificación de los vinos tintos, durante la etapa de maceración, los compuestos fenólicos de la uva son cedidos al mosto-vino (Kantz y Singleton, 1991; Boulton, 1995; Klenar et al., 2004). Entre todos estos compuestos se encuentran los taninos de las pieles y de las semillas. Los taninos de las pieles comienzan a solubilizarse junto con los antocianos en medio acuoso al comienzo de la maceración. Esta disolución evoluciona más lentamente, pero se ve favorecida con la aparición del alcohol cuando arranca la fermentación (Klenar et al., 2004). Por el contrario, los taninos de las semillas son más difíciles de extraer ya que es necesario disolver el recubrimiento lipídico que las rodea (Glories y Saucier, 2000). Los taninos son poco solubles en medio acuoso y bastante más solubles en alcohol, por lo que a medida que avanza la fermentación hay una mayor extractación de los mismos (Glories y Saucier, 2000). Durante el proceso de maceración se observa un aumento en la concentración de taninos, hasta un máximo, manteniéndose constante después (Moreno, 2013). Además, los taninos procedentes de los hollejos son considerados de mayor calidad, ya que aquellos procedentes de las pepitas confieren al vino mayor verdor y astringencia, debido a su menor tamaño y su mayor capacidad de astringencia (Busse-Valverde, 2013).

En la Tabla 23 se muestran los valores de taninos presentes en el vino procedente de las uvas de Monastrell. Al igual que observamos en la concentración total de taninos en las semillas (Tabla 19), durante los tres años de estudio, no se encontraron diferencias significativas en la concentración de taninos en los vinos procedentes de los diferentes tratamientos, por lo que no se observó un efecto del estrés hídrico o salino en la concentración de taninos en los vinos. La concentración total de taninos fue mayor en promedio durante 2016 (766 mg/L), en comparación con 2017 (354 mg/L) y 2018 (331 mg/L). La mayor concentración de taninos en el año 2016 podría deberse a un grado óptimo de maduración de la uva. Bindon et al. (2014b) observaron un incremento de los taninos totales en el vino procedente de bayas maduras obtenidas en vendimias tardías. Por otro lado, Casassa y Harbetson (2016) obtuvieron una mayor extractabilidad en bayas maduras que en bayas sin una maduración óptima.

Probablemente, el poco grado de madurez obtenido por las bayas en la campaña 2018 influyó de manera directa sobre la extractabilidad de los taninos en el mosto (Joutei et al., 1994; Geny et al., 2003; Canals et al., 2005; Gagne et al., 2006; Obreque-Slier et al., 2010). Sin embargo, en 2017 la uva presentó un mayor grado de madurez, lo cual no explicaría la baja concentración de taninos obtenidos ese año en el vino. Esto podría tener relación con los resultados obtenidos por Rajha et al. (2014) en un ensayo para la optimización de extracción de compuestos fenólicos procedentes de hollejos de la uva, en el que observaron que los hollejos desecados tuvieron un

efecto negativo en la concentración y diversidad de la extracción de dichos compuestos fenólicos al vino. Esto también podría explicar la baja concentración de antocianos obtenidos en los vinos de la campaña 2017 (Tabla 22).

Otros parámetros medidos en el vino fueron el grado medio de polimerización y el % de galoilación. Los valores de estos dos parámetros, fueron mayores en el año 2016 en comparación con las dos campañas posteriores (2017 y 2018). Las dos unidades monoméricas que presentaron mayor concentración durante todos los años fueron la EPI-E y la EGC-E. Estos resultados coinciden con los hallados por Busse-Valverde et al. (2010) en vinos de Cabernet Sauvignon procedentes de la misma zona. Aunque la concentración de EC30G-T media en las semillas fue similar durante todos los años (111, 119 y 122 mg/L) y apenas representativa en el hollejo. Cabe destacar la alta concentración media de la EC30G-T en el año 2016 (47.50 mg/L) en comparación con los años 2017 (5.11) y 2018 (14.79), también como consecuencia de la falta de maduración y dificultad en la extracción de compuestos fenólicos.

Tabla 23. Composición de taninos en vino de la variedad Monastrell durante todo el ensayo (2016-2018).

Tratamiento	Año	Gpm	% Gal	EGC-E	CAT-E	EPI-E	CAT-T	EC3OG-E	EC3OG-T	EPI-T	Sumatorio
S	2016	9.12	7.09 a	117.29	37.18	438.94	32.63 d	34.59	38.67 a	16.64	715.96
C		10.80	7.97 ab	106.47	37.61	438.96	17.66 a	34.49	47.48 abc	15.17	697.87
Sul		10.20	8.29 b	121.92	47.46	510.97	21.86 abc	42.24	56.12 bc	19.21	819.81
Clo		10.08	8.38 b	128.27	49.76	541.5	20.91 ab	45.36	59.68 c	21.62	867.14
SulEnv		9.57	7.30 ab	125.90	43.85	445.69	25.37 bc	36.14	42.01 ab	20.28	739.28
CloEnv		9.65	6.98 a	126.20	51.94	454.94	28.33 cd	35.87	41.08 ab	19.54	757.94
ANOVA		ns	*	ns	ns	ns	**	ns	*	ns	ns
S	2017	5.87	5.60	25.31	18.14	109.42	24.25	9.19	4.09	14.55	304.97
C		4.76	4.16	50.69	31.95	207.89	46.62	16.76	6.58	28.55	389.06
Sul		4.90	3.40	48.68	26.45	225.59	48.13	15.55	3.53	28.55	396.51
Clo		4.14	4.67	61.60	28.97	157.75	50.16	18.78	2.61	28.81	348.69
SulEnv		4.94	4.17	60.74	33.32	207.95	45.38	18.00	4.82	29.07	399.30
CloEnv		4.37	5.19	43.64	26.15	216.14	45.68	19.64	9.03	27.41	387.71
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	2018	4.00	5.76	84.21	10.60	185.80	45.24	11.73	21.14 b	36.48	395.22
C		4.32	4.25	78.75	7.98	163.24	40.23	10.57	10.62 a	28.78	340.19
Sul		4.53	4.89	78.91	9.52	142.63	34.82	10.76	12.34 a	24.49	313.50
Clo		4.02	5.10	83.67	7.73	126.86	34.32	10.73	11.88 a	30.37	305.57
SulEnv		4.06	6.05	78.09	8.26	137.79	32.89	11.32	16.49 ab	30.74	315.61
CloEnv		4.06	6.00	84.21	8.17	142.98	33.66	11.91	16.32 ab	30.48	320.40
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns

Abreviaciones: Gpm: grado medio de polimerización; %Gal: porcentaje de Galoilación; EGC-E: (-)- Epigallocatequina terminal (+)- catequina; EPI-T: (-) – epicatequina terminal; EC3OG-T: (-)- epicatequina 3-O-galato terminal; CAT-E (+) – catequina: de extensión; EPI-E: (-)- epicatequina de extensión; EC3OG-E: (-)- epicatequina 3-O- galato de extensión. Todos los resultados exceptuando el galoilación están expresados en mg/L. ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \* y \*\*: indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$  y  $0.01$ , respectivamente, ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.3.3.4 Estilbenos

Durante la maceración, la extracción o cesión de los estilbenos desde la uva al mosto-vino vendrá determinada en mayor medida por el proceso de vinificación (Vrhovsek et al., 1997). En general, cualquier proceso que favorezca el contacto del mosto y los hollejos favorecerá la extracción de polifenoles (Gambutí et al., 2004). Además, el aumento de la concentración de etanol conforme avanza la fermentación, favorece la cesión de estilbenos al mosto (Cantos et al., 2007).

En la Tabla 24 se muestran los resultados de la concentración de estilbenos al final de la fermentación alcohólica. La concentración total de estilbenos en el vino fue menor en el año 2016, en comparación con el resto de años. Esto contrasta con la concentración de estilbenos obtenida en los hollejos, ya que precisamente el año 2016 fue el año que mayor concentración obtuvo. Esta menor concentración de estilbenos en el vino podría deberse a una menor extractabilidad de los estilbenos durante el proceso de fermentación, debido a un hipotético mayor grosor de la pared celular de la uva (Paladines-Quezada et al., 2019). Esta concentración de estilbenos en vino fue mucho menor de la esperada, pero es sabido que los estilbenos son extraídos a una velocidad muy baja durante la maceración (Sun et al., 2006). Además, este fenómeno podría verse acentuado si la uva procedente del año 2016 tuviera algunas características que limitaran, aún más si cabe, la difusión de estilbenos desde las pieles de la uva al vino. Se necesitarían más estudios en este sentido, para poder explicar con robustez estos resultados.

La mayor concentración de estilbenos totales en los años 2017 y 2018 en comparación con la campaña de 2016, fue debido a un incremento del T-resveratrol. Durante los años 2016 y 2018 no hubo diferencias significativas entre los tratamientos evaluados en las cuatro formas de estilbenos analizadas ni en el sumatorio total de estilbenos. En el año 2017 sólo hubo diferencias significativas en el compuesto C-Piceido, observándose un incremento en el tratamiento C, en comparación con el resto de tratamientos. Los resultados obtenidos para la concentración de estilbenos en los vinos procedentes de los diferentes tratamientos aplicados, concuerdan con valores obtenidos por otros autores como Gil-Muñoz et al. (2017) en vinos de la variedad Monastrell. Existen algunos estudios que relacionan un estrés hídrico con la disminución de la concentración de estilbenos (Savoi et al., 2017). Por otro lado, Laurent et al. (2011), en un estudio de déficit hídrico sobre dos variedades, observaron como el déficit hídrico afectó negativamente a la concentración de estilbenos en la variedad Chardonnay. Sin embargo, en este mismo estudio, el estrés hídrico aumento significativamente la concentración de estilbenos en la variedad Cabernet Sauvignon. Como se ha indicado anteriormente no se han

encontrado muchos estudios sobre el efecto de la salinidad en los compuestos fenólicos. Sin embargo, Souid et al., (2019) observaron cómo plantas de dos variedades tintas (Syrah y Razegui) que han sufrido un estrés por riego con aguas salinas (100 Mm NaCl), desarrollaron un importante estrés oxidativo, lo que produjo altas concentraciones de estilbenos. Aunque estos resultados no concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio donde no se observó ningún efecto del salino en la concentración de estilbenos en sus vinos.

Tabla 24. Estilbenos (mg/L) medidos en vinos después de fermentación alcohólica durante las campañas 2016-2018.

Tratamiento	Año	T-Piceido	C-Piceido	T-Resveratrol	C-Resveratrol	Sumatorio
S	2016	2.28	0.06	5.58	0.43	8.32
C		3.33	0.05	7.23	0.36	10.97
Sul		3.80	0.09	6.88	0.53	11.31
Clo		3.01	0.12	6.65	0.44	10.11
SulEnv		3.84	0.04	6.34	0.48	10.70
CloEnv		3.69	0.06	6.75	0.52	11.04
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns
S	2017	3.94	0.11 a	14.94	1.50	20.50
C		5.02	0.20 b	20.73	1.54	27.50
Sul		4.15	0.10 a	21.95	1.66	27.87
Clo		3.50	0.05 a	17.27	1.18	22.01
SulEnv		3.94	0.06 a	17.96	1.31	23.29
CloEnv		3.90	0.06 a	17.16	1.24	22.39
ANOVA		ns	*	ns	ns	ns
S	2018	4.85	0.63	12.29	1.78	19.56
C		5.68	0.65	18.83	2.01	27.18
Sul		5.30	0.55	20.91	2.17	28.94
Clo		5.10	0.47	18.49	1.88	25.95
SulEnv		5.34	0.61	18.73	2.11	26.79
CloEnv		5.24	0.52	19.15	2.06	26.98
ANOVA		ns	ns	ns	ns	ns

ANOVA: análisis de la varianza. S: Secano; C: Control; Sul: Sulfatos; Clo: cloruros; SulEnv: Sulfatos regados después de envero; CloEnv: Cloruros regados después de envero. \*: indica diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ , ns: indica efectos no significativos ( $p > 0.05$ ). Las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) según el test de rangos múltiples de Duncan.

#### 4.3.4 Análisis sensorial

El análisis fisicoquímico de los vinos nos permite conocer sus características analíticas, su composición, y su estabilidad, pero solo el análisis sensorial permite a través de los sentidos, conocer el vino en su conjunto y así poder determinar la calidad final del vino (Moreno, 2013).

Se realizó una prueba sensorial descriptiva en la cual se utilizó una terminología estandarizada. Esta prueba se dividió en tres fases: i) Visual: este examen informa del aspecto visual del vino teniendo en cuenta factores tales como la brillantez, la limpidez, el color, etc. ii)

Olfativa: esta fase es la más importante, ya que permite por primera vez detectar las cualidades o defectos presentes en el vino. Suele ser la fase más compleja, debido a la cantidad de sustancias y compuestos volátiles presentes en el vino. iii) Por último, la fase gustativa, en esta fase el vino pasa a la boca, por un lado, se completa la fase olfativa, ya que los aromas también se perciben durante la deglución por vía retronasal y, por otro lado, entran en juego las papilas gustativas y los receptores táctiles que nos ayudan a reforzar las bondades o defectos descubiertas en la fase olfativa.

En la Figura 39 se muestran los valores obtenidos del análisis sensorial realizado por consumidores finales para conocer el efecto del riego deficitario con aguas salinas en los vinos de la variedad Monastrell en los años 2016 y 2018.

En los vinos obtenidos en la campaña de 2016, los catadores no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para el atributo gustativo. Por el contrario, para los atributos olfativo, visual y para la armonía los catadores sí que fueron capaces de detectar diferencias entre tratamientos. Los catadores valoraron más positivamente y de forma significativa el aspecto visual y la calidad olfativa del tratamiento S, seguido de los tratamientos SulEnv y CloEnv; siendo el tratamiento peor valorado el C para el atributo olfativo y para el atributo visual. El tratamiento S fue el mejor valorado de forma significativa para el atributo de valoración global. Por el contrario, el tratamiento C fue el que menor puntuación obtuvo en la valoración global. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con el mismo momento de inicio de riego y con diferentes tipos de sal, por lo que podríamos afirmar que el consumidor no es capaz de diferenciar vinos que se riegan de una misma forma aplicando sales diferentes, al menos para el periodo estudiado y las muestras analizadas.

En cuanto a la campaña de 2018 los catadores no fueron capaces de encontrar diferencias significativas para el atributo gustativo. Al igual que en 2016 el tratamiento S, fue el mejor valorado significativamente para los atributos visual y de armonía, así como para la calidad aromática de los vinos. El tratamiento Clo fue el peor valorado olfativamente por los catadores, y el tratamiento C el peor valorado visualmente. Tampoco se observó ningún efecto de la salinidad en el análisis sensorial de los vinos.

En ambos años, Los catadores valoraron más positivamente el atributo olfativo en los vinos procedentes de las plantas que habían tenido un mayor estrés hídrico, estando entre estas valoraciones positivas, una mayor percepción a fruta roja. Estos resultados coinciden con los observados por Chapman et al. (2005), estos autores llegaron a la conclusión de que los déficits de agua en la vid conducen a vinos con aromas y sabores más afrutados y menos vegetales en

comparación con vides que no han sufrido ningún estrés hídrico. En este mismo sentido, Matthews y Anderson (1988) concluyeron que, vinos de Cabernet Sauvignon procedentes de vides que habían sufrido estrés hídrico, tuvieron más aromas afrutados y menos herbáceos en comparación con vinos procedentes de vides sin estrés hídrico alguno. Por otro lado, Gamero et al. (2014) en un ensayo de riego deficitario en la variedad Tempranillo observó como las vides sometidas a riego deficitario dieron lugar a vinos con aroma florales muy intensos, pero una menor persistencia en el sabor. Respecto a la salinidad y aunque en nuestros resultados no se observó ningún efecto de este parámetro en el análisis sensorial de los vinos, otros estudios que han profundizado más en el análisis sensorial, observaron que hubo diferencias estadísticamente significativas y sustanciales en sabores salados entre los vinos elaborados con Shiraz correlacionándose positivamente con la concentración de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  de los vinos (Walker et al., 2003). Además, valoraciones altas en el sabor salado de los vinos se relacionó con valoraciones relativamente bajas para la acidez, el sabor a fruta, la astringencia y persistencia de sabor a fruta en boca (Walker et al. 2003). Los vinos con sabor salado se suelen describir como jabonosos, que se define como una sensación en la boca viscosa y suave (De Loryn et al. 2014). En otro estudio realizado sobre la variedad Shiraz, los atributos salados y jabonosos se correlacionaron fuertemente y de forma opuesta al atributo de expresión de fruta (De Loryn et al. 2014).

Cabe recordar que el análisis sensorial fue realizado por consumidores finales y no por un panel de catadores expertos, añadiendo a esto la dificultad que conlleva encontrar diferencias en 6 vinos de una misma variedad que provienen de una misma parcela y que se le han realizado las mismas prácticas culturales, exceptuando el momento de inicio de riego y la aplicación o no, de sales.

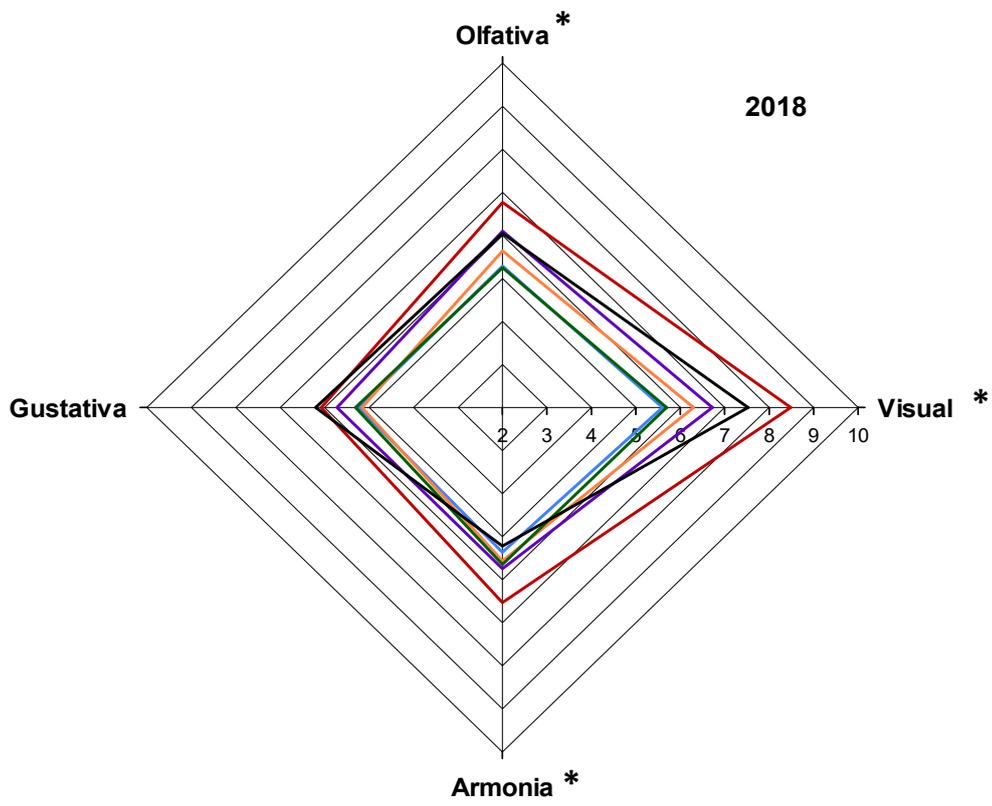
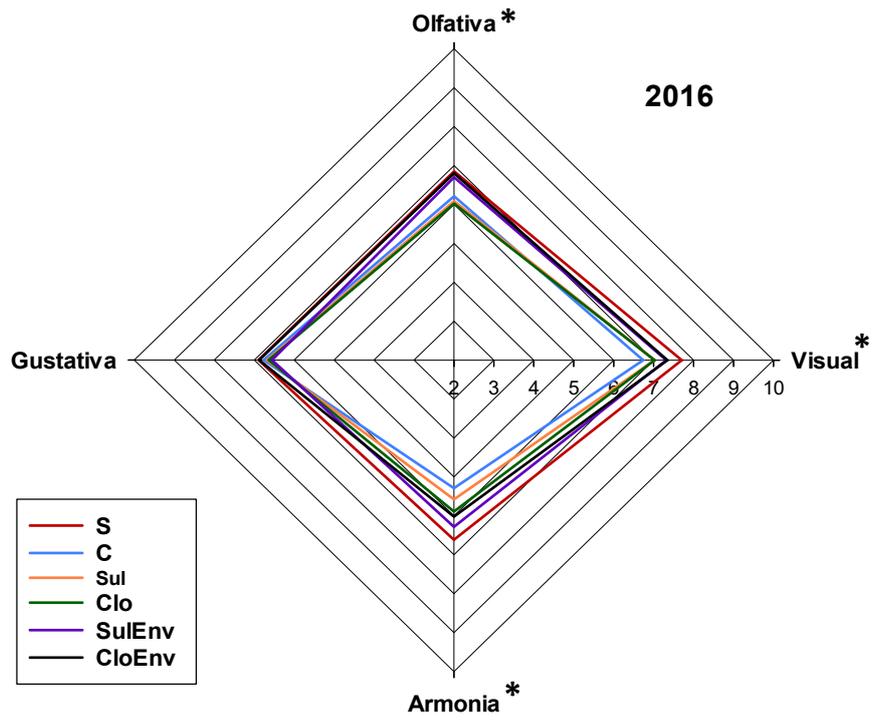


Figura 39. Análisis sensorial realizado por consumidores a los vinos de Monastrell durante las añadas 2016, n=47 y 2018 n=40. \* Muestra diferencias significativas entre tratamientos para un mismo atributo. No se incluyen letras en el gráfico para la separación de diferencias significativas

#### 4.4 Relaciones entre diferentes indicadores agronómicos y enológicos.

Por último, y con el fin de obtener una visión global de cómo se relacionan los diferentes parámetros medidos a lo largo de esta Tesis Doctoral, se han realizado una serie de correlaciones bivariadas entre diferentes indicadores, con los promedios de los valores obtenidos durante los tres años de estudio (Tabla 25).

Respecto a la integral de estrés, se observa una correlación positiva y significativa entre esta variable y las variables de producción,  $\delta^{13}\text{C}$ , antocianos uva, taninos de semilla y antocianos totales. Cabe destacar que la variable que tiene una mayor correlación positiva con la integral de estrés es la producción. En cuanto al riego aplicado, la mayoría de parámetros se correlacionen positivamente con esta variable, exceptuando, la integral de estrés, los antocianos, taninos de las semillas y el índice de polifenoles totales. En cuanto a las variables correlacionadas con la producción, la mayoría se relacionaron de forma positiva, destacando que el número de racimos está altamente correlacionado con la producción. También destacar la correlación altamente negativa entre la producción y la integral de estrés.

Tabla 25. Coeficientes de correlación de Pearson entre tres indicadores (Integral de estrés, riego aplicado y producción) y diferentes variables estudiadas en esta Tesis Doctoral (2016-2018)

VARIABLE	Integral de estrés		Riego		Producción	
	r	Sig.	r	Sig.	r	Sig.
$\delta^{13}\text{C}$	0.89	*	-0.80	ns	-0.83	*
Producción	0.96	**	0.83	*	---	---
Riego	-0.93	**	---	---	0.83	*
integral de estrés	---	---	-0.93	**	-0.96	**
Nº racimos	-0.94	**	0.78	ns	0.95	**
Pm racimo	-0.91	*	0.92	**	0.86	*
Pm raspón	-0.92	**	0.77	ns	0.89	*
Pm bayas	-0.94	**	0.92	**	0.94	**
Ácido málico	-0.83	*	0.64	ns	0.82	*
Antocianos uva	0.95	**	-0.95	**	-0.92	**
Longitud nietos	-0.78	ns	0.62	ns	0.90	*
Tanino semilla	0.92	**	-0.89	*	-0.95	**
L*	-0.93	**	0.94	**	0.84	*
a*	-0.83	*	0.94	**	0.72	ns
b*	-0.79	ns	0.89	*	0.68	ns
C*	-0.82	*	0.92	**	0.71	ns
H*	-0.71	ns	0.85	*	0.59	ns
IPT	0.73	ns	-0.86	*	-0.59	ns
AT	0.93	**	-0.91	*	-0.87	*

r: coeficiente de Pearson.  $\delta^{13}\text{C}$ : isotopo de carbono 13, IPT: índice de polifenoles totales, AT: antocianos totales en vino, Pm: Peso medio. \*\*\*: indica diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.001$ , \*\* indica diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.01$ , \* indica diferencias significativas entre tratamientos para  $p < 0.05$ , ns: no significativo.

En la Figura 40 se muestran las correlaciones más relevantes entre la integral de estrés hídrico y variables agronómicas y fisiológicas obtenidas a lo largo de esta Tesis Doctoral. Todas las variables incluidas se relacionaron negativa y significativamente con la  $S_{\psi}$ . En todas las variables se observó como, los diferentes tratamientos se agrupan principalmente según el estado hídrico de las cepas, siendo el tratamiento S el que presentó los valores más bajos en todas las variables y el tratamiento C, el que presentó los valores más altos. Para las variables de peso de poda y  $g_s$ , no se apreció un efecto claro de los distintos tipos de sal empleada. Sin embargo, en la relación existente  $A_N$  y producción podemos observar como los tratamientos regados con cloruros (Clo y CloEnv) obtuvieron valores más altos que los tratamientos regados con Sulfatos (Sul y SulEnv).

Como era de esperar, se observó una significativa correlación negativa entre  $S_{\psi}$  y las variables de  $g_s$ ,  $A_N$ , ya que, ante un aumento del estrés hídrico sufrido por las vides, estas activan sus mecanismos de defensas, cerrando estomas y reduciendo la fotosíntesis para evitar pérdidas de agua por transpiración. En concordancia con nuestros resultados, otros autores obtuvieron correlaciones similares para diferentes variedades como Tempranillo y Manto Negro (Medrano et al., 2003), Sangiovese (Poni et al., 1994) y Garnacha y Syrah (Schultz, 1998). Respecto al rendimiento productivo, cabe resaltar la fuerte correlación negativa entre la  $S_{\psi}$  y el rendimiento ( $r=0.96^{**}$ ). Resultados similares a los nuestros fueron observados por Salón et al. (2005), donde en un ensayo de riego deficitario, observaron una fuerte correlación negativa entre la  $S_{\psi}$  y el rendimiento de la variedad Bobal. En esta misma línea, otros autores observaron dichas correlaciones negativas para un ensayo de estrés hídrico post-envero en la variedad Shiraz (Ginestar et al., 1998). Autores como Baeza et al. (2007) han estudiado las relaciones entre el estrés hídrico (antes del amanecer, a media mañana y al mediodía) con otros parámetros como la fotosíntesis neta, el crecimiento de pámpanos, el peso de baya y la composición del mosto. Estos autores concluyeron, que la fotosíntesis neta estaba relacionada linealmente con las medidas de estrés hídrico, como hemos observado en esta Tesis Doctoral.

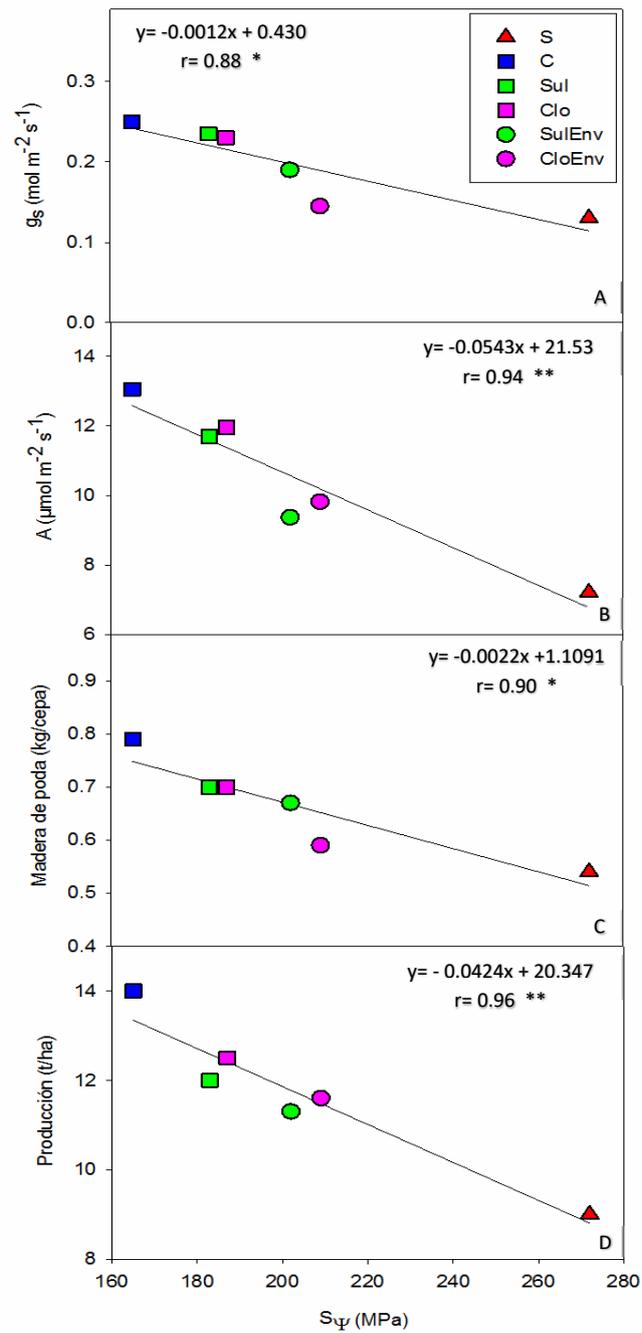


Figura 40. Relaciones entre diferentes variables agronómicas (producción y peso de madera de poda) y fisiológicas (fotosíntesis y conductancia estomática) y la integral de estrés hídrico ( $S_{\psi}$ ). Valores promedio obtenidos de los tres años de estudio ( $n=6$ ). \*, \*\*, \*\*\* significa que el ajuste lineal de la función es estadísticamente significativa para  $p < 0.05$ , 0.01, 0.001 respectivamente

Por otro lado, también se estudiaron las correlaciones entre la integral de estrés hídrico y diferentes componentes de la composición de la uva y del vino obtenidas a lo largo de esta Tesis Doctoral (Figura 41). Todas las correlaciones que se muestran fueron significativas, correlacionándose la acidez total y la concentración de estilbenos en el vino de forma negativa y los antocianos y la IC de forma positiva. Al igual que observamos anteriormente con las variables agronómicas y fisiológicas, las variables enológicas, se pueden agrupar según el estrés hídrico que han acumulado los diferentes tratamientos a lo largo de todo el ciclo vegetativo. Siendo el tratamiento S el que obtuvo los valores más altos para la IC y la concentración de antocianos en el vino, y los valores más bajos para la acidez total y la concentración de estilbenos en el vino. También cabe destacar que los efectos producidos por el tipo de sal empleada (sulfatos o cloruros) en algunas variables agronómicas y fisiológicas, no se observaron en las variables enológicas, no produciéndose ningún efecto por el tipo de sal aplicada en los resultados obtenidos en los vinos.

En nuestros resultados observamos una correlación negativa entre la integral de estrés y la acidez total. Sin embargo, otros autores como Medrano et al. (2003), en un estudio realizado en las variedades Manto negro y Tempranillo no encontraron diferencias significativas entre cepas regadas y no regadas. Por otro lado, y acorde con nuestros resultados, Salón et al. (2005) en un estudio de riego deficitario en la variedad Bobal observaron una correlación positiva entre el riego aplicado y la acidez total. Estos mismos autores observaron una correlación significativa y positiva entre la integral de estrés y la concentración de antocianos e intensidad de color, obteniendo resultados similares a los nuestros. Cabe destacar que, las correlaciones obtenidas para estas dos variables en la variedad Monastrell están más altamente correlacionadas que las obtenidas por Salón et al. (2005) en la variedad Bobal.

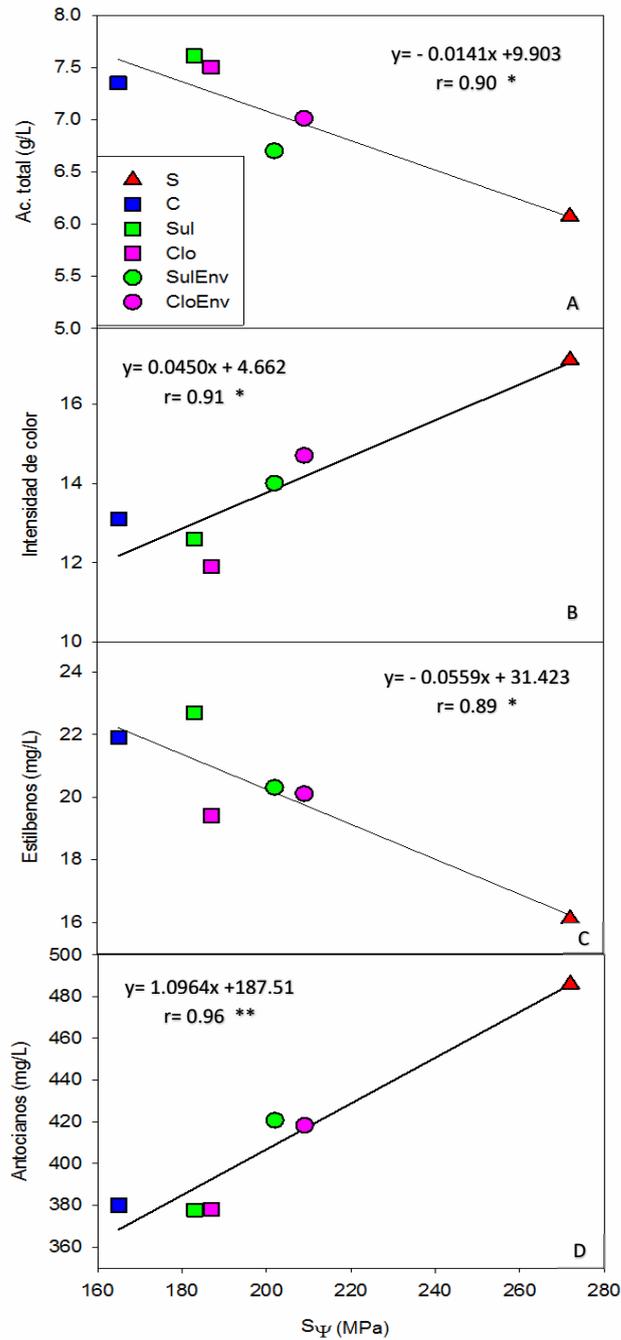


Figura 41. Relaciones entre diferentes componentes de la composición del vino (Ac. total, intensidad de color, estilbenos y antocianos) y la integral de estrés hídrico ( $S_{\psi}$ ). Valores promedio obtenidos de los tres años de estudio (n=6). \*, \*\*, \*\*\* significa que el ajuste lineal de la función es estadísticamente significativa para  $p < 0.05$ , 0.01, 0.001 respectivamente



## ***5. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS***

Esta Tesis Doctoral ha abordado el reto de identificar los efectos del estrés hídrico y el riego con aguas salinas sobre la respuesta agronómica de la vid y la composición de la uva y del vino. En estas conclusiones se comparan: 1) El régimen de secano con el riego salino, 2) El efecto específico del ion salino predominante en el agua de riego y 3) El período de aplicación del riego con agua salina.

#### **Secano *versus* riego deficitario salino.**

- El tratamiento secano redujo la producción frente al riego con agua de buena calidad en un 36%, mientras que la reducción del rendimiento de los tratamientos regados con agua salina fue de sólo un 12%.
- El riego con aguas salinas (Sul y Clo) produjo un aumento en la acumulación de sales en el suelo, incrementándose esta concentración en agosto hasta un 50% en comparación con el control. Sin embargo, debido a la textura franco arenosa del suelo, se produjo una lixiviación de sales, disminuyendo significativamente dicha acumulación durante el período invernal. Por lo tanto, no debería haber problemas de salinización del suelo en el medio-largo plazo.
- La aplicación de riego con aguas salinas permitió obtener incrementos productivos frente al secano de hasta un 31% pudiendo recomendarse su aplicación en caso de escasez de otros recursos hídricos de mejor calidad. Sin embargo, es imperativo estudiar los efectos del riego con aguas salinas a largo plazo, dado que se ha observado una acumulación de iones fitotóxicos en los tejidos permanentes de las cepas.
- El tratamiento secano mejoró notablemente las características cromáticas de los vinos y la concentración de antocianos y taninos del hollejo, en comparación con el tratamiento control y el riego con aguas salinas. Aunque la no aplicación de riego haya reducido significativamente el rendimiento, mejoró la composición fenólica del vino. La aplicación de aguas salinas no tuvo impacto en los parámetros cromáticos del vino. El tratamiento secano fue el mejor valorado sensorialmente por los consumidores.

#### **Efecto específico del ion salino predominante en el agua de riego**

- Todos los tratamientos regados con aguas salinas incrementaron significativamente la concentración de sodio en el tronco en comparación con el tratamiento control. La concentración de cloruros en el tejido foliar aumentó significativamente en las plantas de los tratamientos regados con NaCl. Aunque la mayor concentración de sulfatos en los tejidos vegetales se observó en el tratamiento SulEnv, no se observaron diferencias significativas entre este tratamiento y los tratamientos secano y control.

- En términos generales, los tratamientos con el mismo momento de riego y distinto tipo de sal (Sul-Clo y SulEnv-CloEnv) no han tenido efectos significativos en la mayoría de los parámetros analizados (tanto agronómicos como enológicos). Si bien es cierto, que el vino procedente del tratamiento con cloruros fue el peor valorado olfativamente por los consumidores.

#### **Período fenológico de la aplicación del riego con aguas salinas**

- En todos los tratamientos con riego, la variación del estado hídrico del viñedo durante el ciclo vegetativo, estuvo más determinada por el momento de inicio de riego y no tanto por el tipo de sal aplicada.
- Los tratamientos que se comenzaron a regar antes del envero (C, Sul y Clo), obtuvieron mayor superficie foliar, longitud media del sarmiento y peso de la madera de poda que el tratamiento seco y los tratamientos regados después de envero. Por lo que un momento de inicio de riego temprano, incrementa el vigor vegetativo de las plantas.
- Para una dosis de riego muy similar, los tratamientos que recibieron el riego con agua salina después del envero, tuvieron una producción un 12% menor que cuando el riego se aplicó durante todo el ciclo fenológico.
- Por otro lado, los tratamientos que se comenzaron a regar en post-envero mejoraron las características cromáticas e incrementaron la concentración de antocianos en comparación con los tratamientos que se comenzaron a regar antes. Por lo tanto, un estrés hídrico controlado en pre-envero puede mejorar algunos parámetros relacionados con la calidad del vino en comparación a un riego deficitario aplicado durante toda la campaña.

En definitiva, se puede concluir que la no aplicación de riego y el riego deficitario aplicado después del envero reducen la producción, pero mejoran significativamente la composición de la uva en comparación con el tratamiento control. Ante la falta de disponibilidad de aguas de buena calidad para el riego de la vid, la utilización de aguas salinas de alta conductividad eléctrica (5 dS/m), es recomendada para viticultores cuyo objetivo sea maximizar la producción y la concentración de azúcares, sin priorizar la composición final de los vinos. Todo ello siempre y cuando el suelo del viñedo tenga una textura que favorezca el lavado de sales, evitando la acumulación de las mismas a corto medio plazo.

This Doctoral Thesis has focused on identifying the effect of water stress and irrigation with saline waters on the agronomic response and grape and wine composition. In these conclusions, it is compared: 1) The rainfed with saline irrigation, 2) The specific effect of the predominant saline ion in irrigation water and 3) The period of application of irrigation with saline water.

#### **Rainfed *versus* saline deficit irrigation**

- The rainfed treatment reduced yield compared to irrigation with good quality water by 36%, while grape yield reduction in treatment with saline water due to the addition of NaCl was only of 11%.
- Irrigation with saline waters (Sul and Clo) resulted in an increase in the accumulation of salts in the soil, this concentration increasing in August up to 50% compared to the control. However, due to the sandy loam texture of the soil, salts leaching occurred significantly decreasing soil salts concentration during the winter period. Therefore, in the mid-term, there should be no soil salinization problems
- The application of irrigation with saline waters allows obtaining yield increments against rainfed of up to 31%, and its application can be recommended in case of a shortage of other water resources of better quality. However, it is imperative to study the effects of irrigation with saline waters in the long term, since an accumulation of phytotoxic ions has been observed in the permanent vine tissues.
- The rainfed treatment significantly improved the color characteristics and the grape concentration of anthocyanins and proanthocyanidins, compared to the control treatment and irrigation with saline waters. Although the rainfed treatment significantly reduced the yield, it improved wine phenolic composition. The application of saline waters had no impact on the wine color parameters. Wines from the rainfed treatment were the best sensory valued by consumers.

#### **Specific effect of the predominant salt ion in irrigation**

- All the treatments irrigated with saline waters significantly increased the sodium concentration in the trunk compared to the control treatment. The concentration of chlorides in the trunk was significantly increased in the plants of the treatments irrigated with NaCl. Although the highest concentration of sulfates in plant tissues was observed in the SulEnv treatment, no significant differences were observed between this treatment and the rainfed and control treatments.

- In general terms, it was not observed that the treatments with the same irrigation time and different type of salt (Sul-Clo and SulEnv-CloEnv) had significant effects on most of the parameters analysed. However, the treatment with chlorides was the lowest rated olfactory by consumers.

#### **Phenological period of the application of irrigation with saline waters**

- In all irrigation treatments, vine water status variations during the vegetative cycle, was more determined by the start of irrigation and not by the type of salt applied. The treatments that started irrigated before veraison (C, Sul and Clo), obtained greater leaf area, mean shoot length and pruning weight than the rainfed and the treatments irrigated after veraison. Therefore, an early watering starting time increases the vigour of the plants.
- For a similar amount of irrigation water, the treatments with saline water irrigation after the veraison had a 12% lower production than treatments with irrigation applied throughout the phenological cycle.
- The treatments that began to be irrigated post-veraison improved wine color characteristics and increased the concentration of anthocyanins compared to the treatments that began to be irrigated before. Therefore, controlled water stress can improve some parameters related to wine quality.

It can be concluded that the non-application of irrigation and the deficit irrigation applied after veraison reduce yield, but significantly improved the composition of the grape compared to the control treatment. Due to the lack of availability of good quality water for vineyard irrigation in certain arid and semiarid environments, the use of saline waters with high electrical conductivity (5 dS/m) it is recommended, as long as the vineyard soil has a texture that favours leaching, avoiding the accumulation of salts in the short to medium term. This recommendation is specific for wine growers whose objective is to maximize the production and concentration of sugars, without prioritize in the final composition of the wines.



## **6. BIBLIOGRAFÍA**

- Acevedo-Opazo, C., Ortega-Farias, S., Fuentes, S. (2010). Effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: An irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 97, 956-964.
- Acosta-Motos, J.R., Ortuño, M.F., Bernal-Vicente, A., Díaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M.J., Hernandez, J.A. (2017). Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy-Basel*. 7, 38-43.
- Adams, D. (2006). Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 249-256.
- Akula, R. y Gokare, R. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants, *Plant Signaling & Behavior*. 6, 1720-1731.
- Alcalde-Eon, C. (2008). Anthocyanin-derived pigments originated during wine making and aging, and their contribution to wine colour. Ph. D. Thesis, University of Salamanca, Spain.
- Aleixandre, J.L. (2012). Efecto de la adición de copigmentos sobre la composición fenólica de vinos tintos de tempranillo elaborados con diferentes técnicas de vinificación. Tesis Doctoral. Universidad Politecnica de Valencia.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., Smith, M. (1998). Crop evapotranspiration. Guidelines for computing crop water requirements. FAO irrigation and drainage paper nº. 56. Edn. Rome.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Howell, T.A., Jensen, M.E. (2011). Evapotranspiration information reporting: I. Factors governing measurement accuracy. *Agricultural Water Management*. 98, 899–920.
- Álvarez, S., Sánchez-Blanco, M.J. (2014). Long-term effect of salinity on plant quality, water relations, photosynthetic parameters and ion distribution in *Callistemon citrinus*. *Plant Biology*. 16, 757–764.
- Amir, J., Eshghi, S., Tafazoli, E., Kholdebarin, B., Abbaspour, N. (2014). Ameliorative effects of salicylic acid on mineral concentrations in roots and leaves of two grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars under salt stress. *Vitis - Journal of Grapevine Research*. 53, 181–188.
- Antonacci, D. (1987). Influenza della non-cultura e della disponibilità idrica sulla produzione della vite nell'ambiente caldo-arido. *Vignevini*. 6, 31–39.
- Arzola, N.C., Fundora, O., De Mello, R. (2013). Manejo de suelos para una agricultura sostenible. Jaboticabal: FCAV/UNESP. 509 p.
- Askri H., Daldoul, S., Ammar, A.B., Rejeb, S., Jardak, R., Nejib, M., Rejeb, Mliki, A., Ghorbe, A. (2012). Short-term response of wild grapevines (*Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris*) to NaCl salinity exposure: Changes of some physiological and molecular characteristics. *Acta Physiology Plant*. 34, 957–968.
- Ayars, J.E., Hoffman, G.J., Corwin, D.L. (2011). Leaching and rootzone salinity control. Chapter 12. In: Wallender W.W., Tanji K.K. (eds.): *Agricultural Salinity Assessment and Management*. 2nd Ed., Reston, ASCE: 371–403.
- Bacon, M.A., Wilkinson, S., Davies, W.J. (1998). pH-regulated leaf cell expansion in droughted plants is abscisic acid dependent. *Plant Physiology*. 118, 1507-1515.
- Baeza, P., Junquera, P., Peiro, E., Lissarrague, J.R., Uriarte, D., Vilanova, M. (2019). Effects of vine water status on yield components, vegetative response and must and wine composition, en: Morata, A. (Ed.), *Advances in grape and wine biotechnology*, IntechOpen Limited, London, pp. 311-374.

- Baeza, P., Lissarrague, J.R., Sánchez de Miguel, P. (2007). Fundamentos, Aplicaciones y Consecuencias del Riego en la vid, Editorial Agrícola Española S.A.
- Baggiolini, M. (1952). Les stades repérés dans le développement de la vigne et leur utilisation pratique, Station Féd. Essais Agricultrual., Lausanne.
- Bakker, J. y Timberlake, C.F. (1985). The distribution of anthocyanins in grape skin extracts of port wine cultivars as determined by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 36, 1315-1324.
- Bautista-Ortín, A.B., Fernandez-Fernandez, J.I., Lopez-Roca, J.M., Gomez-Plaza, E. (2007). The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20, 546-552.
- Bautista Ortín, B. (2005). Técnicas enológicas para la obtención de vinos de Monastrell de alto contenido polifenólico. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Bavaresco, L., Pezzutto, S., Ragga, A., Ferrari, F., Trevisan, M. (2001). Effect of nitrogen supply on trans-resveratrol concentration in berries of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Vitis*. 40, 229-230.
- Bavaresco, L. (2003). Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. *Drugs under Experimental and Clinical Research*. 29, 181–187.
- Bavaresco L., Luigi L., Busconi M., Flamini, R., De Rosso, M. (2016). Wine resveratrol: from the ground up. *Nutrients. Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 8, 222-228.
- Bavaresco, L., Vezzuli, S., Civardi, S. (2008). Effect of lime-induced leaf chlorosis on ochratoxin A, trans-resveratrol, and 1-Viniferin production in grapevine (*Vitis vinifera* L.) berries infected by *Aspergillus carbonarius*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56, 2085–2089.
- Bavaresco, L., Mattivi, F., De Rosso, M., Flamini, R. (2012). Effects of elicitors, viticultural factors, and enological practices on resveratrol and stilbenes in grapevine and wine. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 12, 1366–1381.
- Bellvert, J., Marsal, J., Mata, M., Girona, J. (2016). Yield, must composition, and wine quality responses to preveraison water deficits in sparkling base wines of chardonnay. *American Journal of Enology and Viticulture*. 67,1 64-83.
- Benavides, M.A. (2002). Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas. Tesis Doctoral. Departamento de horticultura. Universidad autonoma agrarian Antonio Narro BuenaVista. Mexico.
- Ben-Asher, J., Tsuyuki, I., Bravdo, B.A., Sagih, M. (2006). Irrigation of grapevines with saline water, leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. *Agricultural Water Management*. 83, 13–21.
- Bengough, G.A., McKenzie, B.M., Hallett, P.D., Valentine, T.A. (2011). Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. *Journal of Experimental Botany*. 62, 59-68.
- Bhattacharya, T., Chakraborty, S., Neha, T. (2012). Physico-chemical characterization of ground water of Anand district, Gujarat, India. *International Research Journal of Environment Sciences*. 1, 28-33.
- Bindon, K., Dry, P., Loveys, B. (2008). Influence of partial rootzone drying on the composition and accumulation of anthocyanins in grape berries (*Vitis vinifera* c. Cabernet Sauvignon). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 14, 91–103.

- Bindon, K., Myburgh, P., Oberholster, A., Roux, K., Du Toit, C. (2011). Response of grape and wine phenolic composition in *Vitis vinifera* L. cv. Merlot to variation in grapevine water status. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 32, 71–88.
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Helen, H., Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Grape and wine chemistry. Food Chemistry*. 138, 1696–1705.
- Bindon, K., Madani, S.H., Pendleton, P., Smith, P.A., Kennedy, J.A. (2014a). Factors affecting skin tannin extractability in ripening grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62, 1130-1141.
- Bindon, K., Kassara, S., Cynkar, W.U., Robinson, E.M.C., Scrimgeour, N., Smith, P.A. (2014b). Comparison of extraction protocols to determine differences in wine-extractable tannin and anthocyanin in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz and Cabernet Sauvignon Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62, 4558-4570.
- Bladé, I., Liebmann, B., Fortuny, D., Van Oldenborgh, G. J. (2012). Observed and simulated impacts of the summer NAO in Europe: implications for projected drying in the Mediterranean region. *Climate Dynamics*. 39, 709-727.
- BOE. Ley 24/2003, de 10 de julio, de la Viña y del Vino. Jefatura del Estado. BOE núm. 165, de 11 de julio de 2003. Ref: BOE-A-2003-13864.
- Bonada, M., Jeffery, D., Petrie, P., Moran, M., Sadras, V. (2015). Impact of elevated temperature and water deficit on the chemical and sensory profiles of Barossa Shiraz grapes and wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 21, 240–253.
- Bogs, J., Downey, M. O., Harvey, J. S., Ashton, A. R., Tanner, G. J., Robinson, S. P. (2005). Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves. *Plant Physiology*. 139, 652–663.
- Boulton, R. (1995). Red wines. En: *Fermented beverage production*, Lea, A. and Piggott, J. (Eds.), Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall, London, pp. 121-158.
- Bowen, P., Bogdanoff, C., Usher, K., Estergard, B., Watson, M. (2011). Effects of irrigation and crop load on leaf gas exchange and fruit composition in red wine grapes grown on a loamy sand. *American Journal of Enology and Viticulture*. 62, 9-22.
- Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S., Tabacman, H. (1985). Effect of crop level and crop load on growth, yield, must and wine composition and quality of Cabernet-Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture*. 36, 125-131.
- Bradford, KJ. y Hsiao, T.C. (1982). Physiological responses to moderate water stress. *Physiological Plant Ecology II*. Springer, Berlin/Heidelberg. pp. 263–324.
- Brisson, N. y Levrault, F. (2010). *Changement Climatique, Agriculture et Forêt en France: Simulations d'Impacts sur les Principales Espèces. Le Livre Vert du Projet CLIMATOR (2007-2010)*. ADEME Editions, Angers.
- Brodribb, T.J. y Cochard, H. (2009). Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology*. 149, 575–584.
- Buesa, I., Perez, D., Castel, J., Intrigliolo, D.S., Castel, J.R. (2017). Effect of deficit irrigation on vine performance and grape composition of *Vitis vinifera* L. cv. Muscat of Alexandria. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 23, 251-259.

- Buchetti, B., Mark A. Matthew, S., Falginella, L., Peterlungera, E., Castellarin, S. (2011). Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons. *Scientia Horticulturae*. 128, 297–305.
- Bureau, S.M., Baumes, R.L., Razungles, A.J. (2000a). Effects of vine or bunch shading on the glycosylated flavor precursors in grapes of *Vitis vinifera* L. Cv. Syrah. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 1290–1297.
- Bureau, S.M., Razungles, A.J., Baumes, R.L. (2000b). The aroma of Muscat of Frontignan grapes: effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80, 2012-2020.
- Busse-Valverde, N. (2013). Proantocianidinas de las uvas y vinos de las variedades Monastrell, Cabernet Sauvignon y Syrah. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Buttrose, M.S., Hale, C.R., Kliewer, W.M. (1971). Effect of temperature on the composition of Cabernet Sauvignon berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 22, 71-75.
- Caliandro, A. (1999). Qualità delle acque e tecniche irrigue. In: Tarantino, E. ed. *Le acque salmastre come risorsa idrica: limiti e prospettive*. Foggia, Istituto di produzioni e preparazioni alimentan, Facoltà di Agraria di Foggia. pp. 23-36.
- Campos, I., Neale, C.M.U., Calera, A., Balbontín, C., González-Piqueras, J. (2010). Assessing satellite-based basal crop coefficients for irrigated grapes (*Vitis vinifera* L.). *Agricultural Water Management*. 98, 45–54.
- Canals, R., Llaudy, M. C., Valls, J., Canals, J. M., Zamora, F. (2005). Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53, 4019–4025.
- Cánovas, J. (1986). *Calidad agronómica de las aguas de riego*. Ed. Ministerio de Agricultura, pesca y Alimentación. Madrid.
- Cantos, E., Guerrero, R., Puertas, B., Jimenez, M. J., Jurado, M. (2007). Tratamientos postcosecha de uva de vinificación con radiación UVC para obtención de vinos enriquecidos con resveratrol. *Revista iberoamericana de Postcosecha*. 8, 112-120.
- Cantos, E., Espín, J.C., Tomás-Barberan, F.A. (2002). Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UVC irradiation pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 6322-6329.
- Cardone, M.F., Perniola, R., Catacchio, C.R., Alagna, F., Rotunno, S., Crupi, P., Antonacci, D., Velasco, R., Ventura M., Bergamini C. (2019). Grapevine adaptation to drought: New candidate genes for the genotype-dependent response. *BIO Web of Conference*. 15, 1-16.
- Carew, A.L., Smith, P., Close, D.C., Curtin, C., Dambergs, R.G. (2013). Yeast effects on pinot noir wine phenolics, color, and tannin composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61, 9892-9898.
- Carrasco-Benavides, M., Ortega-Farías, S., Lagos, L.O., Kleissl, J., Morales, L., Poblete-Echeverría, C., Allen, R.G. (2012). Crop coefficients and actual evapotranspiration of a drip-irrigated Merlot vineyard using multispectral satellite images. *Irrigation Science*. 30, 485–497.
- Casassa, F. y Sari, S. (2007). Aplicación del sistema CieLab a los vinos tintos. Correlación con algunos parámetros tradicionales. *Revista Enología*. 5, 1-15.
- Casassa, F. y Harbertson, J. (2016). Balancing tannin maturity and extraction. *Practical Winery and Vineyard*. [www.inesvinesanalytcs.com](http://www.inesvinesanalytcs.com).

- Casassa, L.F., Keller, M., Harbertson, J.F. (2015). Regulated Deficit Irrigation alters anthocyanins, tannins and sensory properties of Cabernet Sauvignon grapes and wines. *Molecules*. 20, 7820-7844.
- Castellarin, S.D. y Gaspero, G. (2007). Transcriptional control of anthocyanin biosynthetic genes in extreme phenotypes for berry pigmentation of naturally occurring grapevines. *BMC Plant Biology*. 7, 1–10.
- Castellarin, S.D., Matthews, M.A., Di Gaspero, G., Gambetta, G.A. (2007a). Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta*. 227, 101-112.
- Castellarin, S.D., Pfeiffer, A., Sivilotti, P., Degan, M., Peterlunger, E., Di Gaspero, G. (2007b). Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant Cell Environment*. 30, 1381–1399.
- Castillo-Muñoz, N., Gomez-Alonso, S., Garcia-Romero, E., Gomez, M.V., Velders, A.H., Hermosin-Gutierrez, I. (2009). Flavonol 3-O-Glycosides series of *Vitis vinifera* Cv. Petit Verdot red wine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 209-219.
- Chalmers, D.J., Mitchell, P.D., Van Heek, L. (1981). Control of peach tree growth and productivity by regulated water supply, tree density and summer pruning. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 106, 307–312.
- Chalmers, Y.M., Downey, M.O., Krstic, M.P., Loveys, B.R., Dry, P.R. (2010). Influence of sustained deficit irrigation on colour parameters of Cabernet Sauvignon and Shiraz microscale wine fermentations. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16, 298-316.
- Chassy, A.W., Douglas, O., Adams, V., Laurie, F., Waterhouse, A. (2012). Tracing phenolic biosynthesis in *Vitis vinifera* via in situ C-13 labeling and liquid chromatography–diode-array detector–mass spectrometer/mass spectrometer detection. *Analytica Chimica Acta*. 17, 51-57.
- Chaumont, F. y Tyerman, S.D. (2014). Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. *Plant Physiology*. 164, 1600–18.
- Chapman, D.M., Roby, G., Ebeler, S.E., Guinard, J.X., Matthews, M.A. (2005). Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different water status. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 339–347.
- Chaves, M.M., Osorio, J., Pereira, J.S. (2004). Water use efficiency and photosynthesis. In *Water use efficiency in Plant Biology*. Bacon, M., Ed. Blackwell Publishing: Oxford, UK. pp. 42–74.
- Chaves, M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J., Santos, T., Regalado, A., Rodrigues, M., Lopes, C. (2010). Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*. 105, 661–676.
- Chaves, M.M., Santos, T.P., Souza, C.R., Ortuno, M.F., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S. (2007). Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology*. 150, 237–252.
- Chaves, M.M., Miguel-Costa, J., Madeira-Saibo, N.J. (2011). Recent advances in photosynthesis under drought and salinity. Chapter 3: *Advances in Botanical Research*. 57, 49–104.
- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J. (2003). Understanding plant response to drought from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*. 30, 239–264.
- Cheyrier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81, 223-229.

- Cheyrier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni-Manchado, P., Fulcrand, H. (2006). Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 298-305.
- Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S., Teissedre, P. L. (2009). Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for two consecutive vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 545–553.
- Chira, K., Jourdes, M., Teissedre, P. L. (2012). Cabernet Sauvignon red wine astringency quality control by tannin characterization and polymerization during storage. *European Food Research and Technology*. 234, 253–261.
- Chira, K., Zeng, L., Le Floch, A., Pechamat, L., Jourdes, M., Teissedre, P. L. (2015). Compositional and sensory characterization of grape proanthocyanidins and oak wood ellagitannin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 71, 2999–3006.
- Chomé, P.M. (2003). *Variedades de vid. Registro de variedades comerciales*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Chorti, E., Guidoni, S., Ferrandino, A., 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, 23–30.
- Christensen, P. (1984). Nutrient level comparisons of leaf petioles and blades in twenty-six grape cultivars over three years (1979 through 1981). *American Journal of Enology and Viticulture*. 35, 124–133.
- Cimino, F., Sulfaro, V., Trombetta, D., Saija, A., Tomaino, A. (2007). Radical scavenging capacity of several Italian red wines. *Food Chemistry*. 103, 75–81.
- Cohen, Y., Alchanatis, V., Meron, M., Saranga, Y., Tsipris, J. (2010). Estimation of leaf water potential by thermal imagery and spatial analysis. *Journal of Experimental Botany*. 56, 1843–1852.
- Conde, C., Silva, P., Fontes, N., Dias, A.C.P., Tavares, R.M., Sousa, M.J. (2007). Biochemical changes throughout grape berry development, fruit and wine quality. *Global Science Books*. 1, 1-22.
- Conde, A., Chaves, M.M., Gerós, H. (2011). Membrane transport, sensing and signaling in plant adaptation to environmental stress. *Plant Cell Physiology*. 52, 1583–1602.
- Considine, J.A. y Knox, R.B. (1979). Development and histochemistry of the pistil of the grape, *Vitis vinifera*. *Annals. of Botany*. 43, 11-22.
- Coombe, B. (1987). Influence of temperature on composition and quality of grapes. *Symposium on Grapevine Canopy and Vigor Management, XXII IHC* 206.1.
- Cook, M.G., Zhang, Y., Nelson, C.J., Gambetta, G., Kennedy, J.A., Kurtural, S.K. (2015). Anthocyanin composition of Merlot is ameliorated by light microclimate and irrigation in Central California. *American Journal of Enology and Viticulture*. 66, 266–278.
- Cook, B.I. y Wolkovich, E.M. (2016). Climate change decouples drought from early wine grape harvest in France. *Nature Climate Change*. 6, 715-716.
- Cooley, N.M., Clingeleffer, P.R., Walker, R.R. (2017). Effect of water deficits and season on berry development and composition of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grown in a hot climate. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 23, 260-272.

- Coombe, B. G. (1992). Research on development and ripening of the grape berry. *American Journal of Enology and Viticulture*. 43, 101-110.
- Connor, J.D., Schwabe, K., King, D. (2012). Irrigated agriculture and climate change: The influence of water supply variability and salinity on adaptation. *Ecological Economics*. 77, 149-157.
- Corwin, D.L., Rhoades, J.D., Simunek, J. (2007). Leaching requirement for soil salinity control: Steady-state versus transient models. *Agricultural Water Management*. 90, 165–180.
- Cosme, F., Ricardo-Da-Silva, J.M., Laureano, O. (2009). Tannin profiles of *Vitis vinifera* L. cv. red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines. *Food Chemistry*. 112, 197-204.
- Costa, J. M., Vaz, M., Escalona, J., Egipto, R., Lopes, C., Medrano, H. (2016). Modern viticulture in southern Europe: vulnerabilities and strategies for adaptation to water scarcity. *Agricultural Water Management*. 164, 5–18.
- Costantini, E.A.C., Pellegrini, S., Bucelli, P., Barbetti, R., Campagnolo, S., Storchi, P., Magini, S., Perria, R. (2010). Mapping suitability for Sangiovese wine by means of  $\delta^{13}C$  and geophysical sensors in soils with moderate salinity. *European Journal of Agronomy*. 33, 208–217.
- Cramer, G.R., Ergui, A., Grimplet, J., Tillett, R.L., Tattersall, E.A.R., Bohlman, M.C. (2007). Water and salinity stress in grapevines: Early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Functional Integrative Genomics*. 7, 111-134.
- Galmes, J., Pou, A., Alsina, M.M., Tomas, M., Medrano, H., Flexas, J. (2007). Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status. *Planta*. 226, 671–681.
- Dag, A., Ben-Gal, A., Goldberger, S., Yermiyahu, U., Zipori, I., Or, E., David, I., Netzer, Y., Kerem, Z. (2015). Sodium and chloride distribution in grapevines as a function of rootstock and irrigation water salinity. *American Journal of Enology and Viticulture*. 66, 80-84.
- Dai, A. (2011). Drought under global warming: a review. *Climate Change*. 2, 45-65.
- Dai Z.W., Ollat N., Gomès E., Decroocq S., Tandonnet J. P., Bordenave L. (2011). Ecophysiological, genetic, and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 62, 413–425.
- Daldoul, S., Guillaumie, S., Reustle, G.M Krczal, G., Ghorbel, A., Delrot, S., Mliki, A., Michael, U. (2010). Isolation and expression analysis of salt induced genes from contrasting grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Plant Science*. 5, 489-498.
- Dal Santo, S. (2016). Distinct transcriptome responses to water limitation in isohydric and anisohydric grapevine cultivars. *Genomics*. 17, 810-815.
- Das, P. y Majumder, A. L. (2019). Transcriptome analysis of grapevine under salinity and identification of key genes responsible for salt tolerance. *Functional and Integrative Genomics*. 19, 61–73.
- Dasberg, S., Bielorai, H., Haimowitz, A., Erner, Y. (1991). The effect of saline irrigation water on Shamouti orange trees. *Irrigation Science*. 12, 205-211.
- Degaris, K. A., Walker, R. R., Loveys, B. R., Tyerman, S. D. (2016). Comparative effects of deficit and partial root-zone drying irrigation techniques using moderately saline water on ion partitioning in Shiraz and Grenache grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 22, 296–306.

- Degaris, K. A., Walker, R. R., Loveys, B. R., Tyerman, S. D. (2017). Exogenous application of abscisic acid to root systems of grapevines with or without salinity influences water relations and ion allocation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 23, 66–76.
- Delas, J. (2000). *Fertilisation de la Vigne*. Bordeaux. Editions Féret, France.
- De la Hera Orts, M.L., Martínez-Cutillas, A., López Roca, J.M., Pérez-Prieto, I.J., Gómez Plaza, E. (2005). Effect of deficit irrigation on anthocyanin content of monastrell grapes and wines. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 39, 47-55.
- De la Hera Orts, M.L., Martínez-Cutillas, A., López Roca, J.M., Gómez Plaza, E. (2004). Effects of moderate irrigation on vegetative growth and productive parameters of Monastrell vines grown in semiarid conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2, 273-281.
- De la Hera Orts, M.L., Romero, P., Gómez-Plaza, E., Martinez, A. (2007). Is partial root-zone drying an effective irrigation technique to improve water use efficiency and fruit quality in field-grown wine grapes under semiarid conditions? *Agricultural Water Management*. 87, 261–274.
- Deloire, A., Vaudour, E., Carey, V., Bonnardot, V., Van Leeuwen, C. (2005). Grapevine responses to terroir: a global approach. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 39, 149–162.
- De Loryn, L.C., Petrie, P.R., Hasted, A.M., Johnson, T.E., Collins, C., Bastian, S.E. (2014). Evaluation of sensory thresholds and perception of sodium chloride in grape juice and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 65, 124–133.
- Deluc, L.G., Quilici, D.R., Decendit, A., Grimplet, J., Wheatley, M.D., Schlauch, K.A. (2009). Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *BMC Genomics*. 10, 212-238.
- De Sousa, J.P., Maroco, T.P., dos Santos, M.L., Rodrigues, C., Lopes, J.S., Pereira, A., Chaves, M. (2005). Control of stomatal aperture and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars. *Agricultural Ecosystems and Environment*. 106, 261-274.
- Díaz, K., Arias, J., Rodríguez, M., Arata, A., Aguilar, M. (2016). Estrés hídrico versus componentes del rendimiento y calidad del mosto de vid (*Vitis vinífera* L.) cv. Moscatel. *Agroindustrial Science*. 6,132-146.
- Diffenbaugh, N. S. y Giorgi, F. (2012). Climate change hotspots in the CMIP5 global climate model ensemble. *Climatic Change*. 114, 813-822.
- Dodd, I.C. (2005). Root-to-shoot signaling: Assessing the roles of “up” in the up and down world of long-distance signalling in plants. *Plant Soil Journal*. 274, 251–270.
- Döll, P. (2002). Impact of climate change and variability on irrigation requirements: A global perspective. *Climatic Change*. 54, 269-293.
- Dominguez, N., Garcia-Escudero, E., Romero, I., Benito, A., Martin, I. (2015). Leaf blade and petiole nutritional evolution and variability throughout the crop season for *Vitis vinifera* L. cv. Graciano. *Spanish Journal Agriculture Research*. 13, 17-22.
- Doorenbos, J. y Pruitt, W. (1977). Guidelines for predicting crop water requirements. *FAO Irrigation and Drainage*. Paper. 24, 144.
- Downey, M., Harvey, J., Robinson, S. (2003). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 9, 15-27.

- Downey, M.O., Dokoozlian, N.K., Krstic, M.P. (2006). Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 257-268.
- Downton, W.J.S. (1977). Photosynthesis in salt-stressed grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology*. 4, 183-192.
- Downton, W.J.S. y Loveys, B.R. (1978). Compositional changes during grape berry development in relation to abscisic acid and salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*. 5, 415-423.
- Downton, W.J.S. y Crompton, A.W. (1979). Budburst in sultana grapevine as influenced by salinity and rootstock. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 19, 749-752.
- Downton, W.J.S. y Loveys, B.R. (1981). Abscisic acid content and osmotic relations of salt-stressed grapevine leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*. 8, 443-452.
- Downton, W.J.S. (1985). Growth and mineral composition of the Sultana grapevine as influenced by salinity and rootstock. *Australian Journal of Plant Physiology*. 36, 425-434.
- Downton, W.J.S., Loveys, B.R., Grant, W.J.R. (1990). Salinity effects on the stomatal behaviour of grapevine. *New Phytology*. 116, 499-503.
- Dragoni, D., Lakso, A.N., Piccioni, R.M., Tarara, J.M. (2006). Transpiration of grapevines in the humid northeastern United States. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 460-467.
- Dry, P.R., Loveys, B.R., McCarthy, M.G., Stoll, M. (2001). Strategic irrigation management in Australian vineyards 1. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 35, 129-139.
- Duchêne, E. y Schneider, C. (2005). Grapevine and climatic changes: a glance at the situation in Alsace. *Agronomy for Sustainable Development*. 25, 93-99.
- Duchêne, E., Huard, F., Pieri, P. (2014). Grapevine and climate change: what adaptations of plant material and training systems should we anticipate? *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 3, 61-69.
- Eder, R., Wendelin, S., Vrhovsek, U. (2001). Resveratrol contents of grapes and red wines in dependency on vintage year and harvest date, *Mitteulungen Klosterneuburg*. 51, 64-78.
- Edwards, E.J. y Clingeleffer, P.R. (2013). Interseasonal effects of regulated deficit irrigation on growth, yield, water use, berry composition and wine attributes of Cabernet Sauvignon grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 19, 261-276.
- Ekbic, H.B., Ozcan, N., Erdem, H. (2020). Impacts of salicylic acid treatments on salt resistance of some American grapevine rootstocks. *Fresenius Environmental Bulletin*. 29, 685-692.
- Escalona, J.M., Tomas, M., Martorell, S., Medrano, H., Ribas-Carbo, M., Flexas, J. (2012). Carbon balance in grapevines under different soil water supply: Importance of whole plant respiration. *Australian Journal of Grape Wine Research*. 18, 308-318.
- Escalona, J.M., Fuentes, S., Tomas, M., Martorell, S., Flexas, J., Medrano, H. (2013). Responses of leaf night transpiration to drought stress in *Vitis vinifera* L. *Agricultural Water Management*. 118, 50-58.
- Esteban-Fernández, A., Rocha-Alcubilla, N., Muñoz-González, C., Moreno-Arribas, M. V., Pozo-Bayón, M. Á. (2016). Intra-oral adsorption and release of aroma compounds following in-mouth wine exposure. *Food Chemistry*. 205, 280-288.
- Espín, J. C., García-Conesa, M. T., Tomás-Barberán, F. A. (2007). Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry*. 68, 2986-3008.

- Etesami, H. y Jeong, B.R. (2018). Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 147, 881-896.
- Ezzhaouani, A., Valancogne, C., Pieri, P., Amalak, T., Gaudillère, J. P. (2007). Water economy by Italia grapevines under different irrigation treatments in a Mediterranean climate. *Journal International Des Sciences De La Vigne et du Vin*. 41, 131–39.
- Fan, E.G., Zhang, L.J., Jiang, S., Bai, Y.H. (2008). Beneficial effects of resveratrol on atherosclerosis. *Journal of Medicinal Food*. 11, 610-614.
- Fanzone, M., Zamora, F., Jofré, V., Assof, M., Peña-Neira, A. (2011). Phenolic composition of Malbec grape skins and seeds from Valle de Uco (Mendoza, Argentina) during ripening: Effect of cluster thinning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6120–6136.
- FAO. (1985). Water quality for agriculture. Ayers R.R., Westcot D.W. (Eds.), FAO Irrigation and Drainage Paper nº 29 (Rev. 1), Rome, 174 pp.
- Favá, X. (2001). Diccionari dels noms de ceps i raïms. L'Ampelonimia catalana. Institut d'Estudis Catalans.
- Fereres, E. y Evans, R.G. (2006). Irrigation of fruit trees and vines: An introduction. *Irrigation Science*. 24, 55–57.
- Fernandes de Oliveira, A. y Nieddu, G. (2013). Deficit irrigation strategies in *Vitis vinifera* L. cv. Cannonau under Mediterranean climate. Cluster microclimate and anthocyanin accumulation patterns. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 34, 184–195.
- Fernandez-Garcia, N., Olmos, E., Bardisi, E., Garcia-De la Garma, J., Lopez-Berenguer, C., Rubio-Asensio, J.S. (2014). Intrinsic water use efficiency controls the adaptation to high salinity in a semi-arid adapted plant, henna (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of Plant Physiology*. 171, 64-75.
- Fernandez-Pachon, M. S., Villano, D., Garcia-Parrilla, M. C., Troncoso, A. M. (2004). Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*. 513, 113–118.
- Fernandez-Pachon, M. S., Villano, D., Troncoso, A. M., Garcia-Parrilla, M. C. (2006). Determination of the phenolic composition of sherry and table white wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity. *Analytica Chimica Acta*. 563, 101–108.
- Ferrandino, A. y Lovisolo, C. (2014). Abiotic stress effects on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Focus on abscisic acid – mediated consequences on metabolism and berry quality. *Environmental and Experimental Botany*. 103, 138–147.
- Ferri, M., D'Errico, A. L., Vacchi-Suzzi, C., Franceschetti, M., Righetti, L., Bagni, N. (2009). Use of rifampicin for resveratrol production in *Vitis vinifera* cell suspensions. P. Jeandet, C. Clément y A. Conreux. Ed. *Macromolecules and secondary metabolites of grapevine and wine*. Paris: Lavoisier.
- Fisarakis, I., Chertzoulakis, K., Stavarakas, D. (2001). Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management*. 51, 13–27.
- Flanzy, C. (2003). *Enología Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. Ed. AMV y Mundi-Prensa, Madrid.

- Flamini, R., Mattivi, F., De Rosso, M., Arapitsa, P., Bavaresco, L. (2013). Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. *International Journal of Molecular Sciences*. 14, 19651-19669.
- Flexas, J., Galmés, J., Gallé, A., Gulias, J., Pou, A., Ribas-Carbo, M., Tomàs, M., Medrano, H. (2010). Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16, 106–121.
- Fondo vitivinicola. (2019). [www.fondovitivinicola.com](http://www.fondovitivinicola.com).
- Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P.L., Glories, Y. (2008). Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference*. 19, 286-291.
- Fortes, A.M., Teixeira, R.T., Agudelo-Romero, P. (2015). Complex interplay of hormonal signals during grape berry ripening. *Molecules*. 20, 9326–9343.
- Fumagalli, F., Rossoni, M., Iriti, M., Di Gennaro, A., Faoro, F., Borroni, E., Borgo, M., Scienza, A., Sala, A., Folco, G. (2006). From field to health: a simple way to increase the nutraceutical content of grape as shown by NO-dependent vascular relaxation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 5344-5349.
- Fraga, H., Malheiro, A.C., Moutinho-Pereira, J., Jones, G.V., Alves, F., Pinto, J.G., Santos, J.A. (2014). Very high resolution bioclimatic zoning of Portuguese wine regions: present and future scenarios. *Regional Environmental Change*. 14, 295–306.
- Francois, L.E. y Clark, R.A. (1979). Boron tolerance of twenty-five ornamental shrub species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 104, 319–322.
- Gabrielyana, A. y Kazumya, K. (2018). The investigation of phenolic compounds and anthocyanins of wines made of the grape variety karmrahyu. *Annals of Agrarian Science*. 35, 160-162
- Gagne, S., Saucier, C., Geny, L. (2006). Composition and cellular localization of tannins in Cabernet Sauvignon skins during growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 9465–9471.
- Gambutì, A., Stollo, D., Ugliano, M., Lecce, L., Moio, L. (2004). Trans-resveratrol, quercetin, catechin, and epicatechin content in south Italian monovarietal wines: Relationship with maceration time and marc pressing during winemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18, 47-51.
- Gamero, E., Moreno, D., Talaverano, I., Prieto, M.H., Guerra, M.T., Valdes, M.E. (2014). Effects of irrigation and cluster thinning on Tempranillo grape and wine composition. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 35, 196-204.
- García-Barceló, J. (1990). *Técnicas analíticas para vinos*. Ed. GAB. Barcelona. España
- García-Beneytez, E., Cabello, F., Revilla, E. (2003). Analysis of grape and wine anthocyanins by HPLC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 5622–5629.
- García-Escudero, E., López, R., Santamaría, P., Zaballa, O. (1997). Ensayos de riego localizado en viñedos productivos de cv. Tempranillo. *Viticultura y Enología Profesional*. 50, 35-47.
- García-Escudero, E., Zaballa, O., Lahoz, I., Arroyo, M.C. (2001). Influencia de la variedad en la composición mineral de las hojas de vid (*Vitis vinífera* L.) y en la calidad del vino. En *Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*. pp. 1701-1708. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, Cáceres, España.

- García-Escudero, E., Romero, I., Benito, A., Domínguez, N., Martín I. (2002a). Evaluación del estado nutricional de la variedad Tempranillo en el ámbito de la DOCa Rioja. *Vida Rural*. 342, 24-29.
- García-Escudero, E., Zaballa, O., González, G., Villar, M. T., Arroyo, M. C. (2002b). Variación de la composición mineral de hojas de cv. Tempranillo según el órgano analizado y la época de muestreo. In *Proceedings of the III Foro Mundial del Vino. Rioja III Milenio*. Albelda La Rioja, Spain: Gobierno de La Rioja.
- García-Escudero, E., Romero, I., Benito, A., Domínguez, N., Martín, I. (2013). Reference levels for leaf nutrient diagnosis of cv. Tempranillo grapevine in the Rioja Appellation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 44, 645-654.
- Gaudillère, J.P., Van Leeuwen, C., Ollat, N. (2002). Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status. *Journal of Experimental Botany*. 53, 757–763.
- Gates, L. D. y Liess, S. (2001). Impacts of deforestation and afforestation in the Mediterranean region as simulated by the MPI atmospheric GCM. *Global and Planetary Change*. 30, 309-328.
- Gatti, M., Bernizzoni, F., Civardi, S., Poni, S. (2012). Effects of cluster thinning and preflowering leaf removal on growth and grape composition in cv. Sangiovese. *American Journal of Enology and Viticulture*. 63, 325–332.
- Gatto, P., Vrhovsek, U., Muth, J., Segala, C., Romualdi, C., Fontana, P., Pruefer, D., Stefanini, M., Moser, C., Mattivi, F., Velasco, R. (2008). Ripening and genotype control stilbene accumulation in healthy grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 773-785.
- Gawel, R. (1998). Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 4, 74-95.
- Genebra, T., Santos, R.R., Francisco, R., Pinto-Marijuan, M., Brossa, R., Serra, A.T., Duarte, C.M.M., Chaves, M.M., Zarrouk, O. (2014). Proanthocyanidin Accumulation and biosynthesis are modulated by the irrigation regime in tempranillo seeds. *International Journal of Molecular Sciences*. 15, 11862-11877.
- Geny, L., Saucier, C., Bracco, S., Daviaud, F., Glories, Y. (2003). Composition and cellular localization of tannins in grape seeds during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 8051–8054.
- Gil-Muñoz, R., Fernández-Fernández, J.I., Crespo-Villegas, O., Garde-Cerdán, T. (2017). Elicitors used as a tool to increase stilbenes in grapes and wines. *Food Research International*. 98, 34-39.
- Gil-Muñoz, R., Fernández-Fernández, J.I., Vila-Lopez, R., Martínez-Cutillas, A. (2010). Anthocyanin profile in Monastrell grapes in six different areas from Denomination of Origin Jumilla during ripening stage. *International Journal of Food Science and Technology*. 45, 1870-1877.
- Ginestar, C., Eastham, J., Gray, S., Iland, P. (1998). Use of sap flow sensors to schedule vineyard irrigation. I. Effects of postveraison water deficits on water relations, vine growth and yield of Shiraz grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49, 413-420.
- Girona, J., Marsal, J., Mata, M., Del Campo, J., Basile, B. (2009). Phenological sensitivity of Berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 15, 268–277.

- Gladstones, J. S. (2011). *Wine, terroir and climate change*. Kent Town, South Australia, Wakefield Press.
- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2<sup>ème</sup> partie. Mesure, origine et interpretation. *Connaissance Vigne Vin*. 18, 253-271.
- Glories, Y. y Saucier, C. (2000). Tannin evolution from grape to wine. Effects on wine taste. The ASEV 50th Anniversary Annual Meeting, Rautz, J. Ed. ASEV, Davis, CA.
- Golberg, D.M., Tsang, E., Karumanchiri, A., Diamandis, E.P., Soleas, E. G., Ning, E. G. (1996). Method to assay the concentrations of phenolics constituents of biological interest in wines. *Analytical Chemistry*. 68, 1688-1694.
- Gómez-Míguez, M.J., Gómez-Míguez, M., Vicario, I.M., Heredia, F.J. (2007). Assessment of colour and aroma in white wines vinifications: effects of grape maturity and soil type. *Journal of Food Engineering*. 79, 758–764.
- González, G., Ferrer, M., Carbonneau, A., Moutounet, M. (2003). Adaptación de la vinificación en tinto en función del potencial fenólico de los vinos. *Agrociencia*. 2, 59-67.
- Gouot, J.C., Smith, J.P., Holzapfel, B.P., Barril, C. (2019). Impact of short temperature exposure of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grapevine bunches on berry development, primary metabolism and tannin accumulation. *Environmental and Experimental Botany*. 168, 78-91.
- Groot-Obbink, J. y Alexander, D.E. (1973). Response of six grapevine cultivars to a range of chloride concentrations. *American Journal of Enology and Viticulture*. 24, 65-68.
- Guerrero, R.F., Puertas, B., Fernández, M.I., Palma, M., Cantos-Villar, E. (2010). Induction of stilbenes in grapes by UV-C: Comparison of different subspecies of *Vitis*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11, 231-238.
- Guix-Hébrard, N., Voltz, M., Trambouze, W., Garnier, F., Gaudillère, J.P., Lagacherie, P. (2007). Influence of watertable depths on the variation of grapevine water status at the landscape scale. *European Journal of Agronomy*. 27, 187–196.
- Gupta, B.R. (2006). Efficacy of organic amendments integrated with gypsum on amelioration and crop productivity of sodic land. 18th World Congress of Soil Science. Philadelphia, USA.
- Haider, M. S., Jogaiah, S., Pervaiz, T., Yanxue, Z., Khan, N., Fang, J. (2019). Physiological and transcriptional variations inducing complex adaptive mechanisms in grapevine by salt stress. *Environmental and Experimental Botany*. 162, 455–467.
- Hamilton, A.J., Stagnitti, F., Versace, V.L., Li, P., Yin, W., Maher, P., Hermon, K., Premier, R.R., Ierodiaconou, D. (2006). Balancing environmental impacts and benefits of wastewater reuse. *WSEAS Environmental Development*. 2, 117–129.
- Hanlin, R. L. y Downey, M. O. (2009). Condensed tannin accumulation and composition in skin of Shiraz and Cabernet Sauvignon grapes during berry development. *American Journal of Enology and Viticulture*. 60, 13–23.
- Hanlin, R.L., Hrmova, M., Harbertson, J.F., Downey, M.O. (2010). Review: Condensed tannin and grape cell wall interactions and their impact on tannin extractability into wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16, 173-188.
- Hardie, J. y Considine, J. (1976). Response of grapes to water-deficit stress in particular stages of development. *American Journal of Enology and Viticulture*. 27, 55-61.

- Hardie, W., O'Brien, T., Jaudzems, V. (1996). Morphology, anatomy, and development of the pericarp after anthesis in grape, *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2, 97-142.
- Harris, J., Kriedemann, P., Posingham, J. (1968). Anatomical aspects of grape berry development. *Vitis*. 7, 106-119.
- Hart, A. (1974). A compilation of Australian water quality criteria. Australian Water Research. Paper Nº 7, Australian. Government. Publishing Service, Canberra.
- Hartwig, N.L. y Ammon, H.U. (2002). Cover crops and living mulches. *Weed Science*. 50, 688–699.
- Hartung, W. y Slovik, S. (1991). Physicochemical properties of plant growth regulators and plant tissues determine their distribution and redistribution: stomatal regulation by abscisic acid in leaves. *New Phytology*. 119, 361-382.
- Hatami, E., Mahmood, E., Javadi, T. (2010). Effect of salinity on some gas exchange characteristics of grape (*Vitis vinifera*) cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*. 12, 201-220.
- Hawker, J.S. y Walker, R.R. (1978). The effect of sodium chloride on the growth and fruiting of Cabernet Sauvignon vines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 29, 172-176.
- He, F., Liang, N. N., Mu, L., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J., Duan, C. Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*. 17, 1571-1601.
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Duan, C. Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*. 15, 9057-9091.
- Hebrero, E., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. (1988). High performance liquid chromatography -diode array spectroscopy identification of anthocyanins of *Vitis vinifera* variety Tempranillo. *American Journal of Enology and Viticulture*. 39, 227-233.
- Herderich, M.J. y Smith, P.A. (2005). Analysis of grape and wine tannins: Methods, applications and challenges. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 205-214.
- Hermosín, I. (2007). Copigmentación y piranoantocianos: el papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos en el color del vino tinto. *ACE. Revista de enología*. 4, 56-68.
- Hernández-Jimenez, A., Kennedy, J., Bautista-Ortin, A.B., Gomez Plaza, E. (2012). Effect of ethanol on grape seed proanthocyanin extraction. *American Journal of Enology and Viticulture*. 63, 57-63.
- Hernández, C.B.E. (2007). Evaluación del Cultivar Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) sometido a diferentes regímenes hídricos. Memoria para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Chilán, Chile. Universidad de Concepción. Facultad de Agronomía. 36 p.
- Hidalgo, J. (2010). Tratado de enología I. Ed. Mundi-Prensa Libros S.A. Madrid, España.
- Hirzel, D.R., Steenwerth, K., Parikh, S.J., Oberholster, A. (2017). Impact of winery wastewater irrigation on soil, grape and wine composition *Agricultural Water Management*. 31, 178-189.
- Hochberg, U., Degu, A., Fait, A., Rachmilevitch, S. (2013). Near isohydric grapevine cultivar displays higher photosynthetic efficiency and photorespiration rates under drought stress as compared with near anisohydric grapevine cultivar. *Physiology of Plants*. 147, 443–452.
- Hochberg, U., Degu, A., Cramer, G. R., Rachmilevitch, S., Fait, A. (2015). Cultivar specific metabolic changes in grapevines berry skins in relation to deficit irrigation and hydraulic behavior. *Plant Physiology Biochemistry*. 88, 42–52.

- Hochberg, U., Rockwell, F. E., Holbrook N. M., Cochard, H. (2017). Iso/Anisohydry: A Plant–Environment Interaction Rather Than a Simple Hydraulic Trait. *Trends in Plant Science*. 23, 112-120.
- Howell, T.A., Steiner, J.L., Schneider, A.D., Evett, S.R. (1995). Evapotranspiration of irrigated winter wheat: Southern high plains. *Transactions of the ASAE*. 38, 745–759.
- Iacono, F., Bucella, A., Peterlunger, E. (1998). Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Scientia Horticulturae*. 75, 27–39.
- Iland, P.G. (1987). Predicting red wine colour from grape analysis. *The Australian Grape Grower and Winemaker*. 29, 285-296.
- Intrigliolo, D.S., Lakso, A.N., Piccioni, R.M. (2009). Grapevine cv. Riesling water use in the northeastern United States. *Irrigation Science*. 27, 253–262.
- Intrigliolo, D. S. y Castel, J. R. (2010). Response of grapevine cv. Tempranillo to timing and amount of irrigation: Water relations, vine growth, yield and berry and wine composition. *Irrigation Science*. 28, 113–125.
- Intrigliolo, D. S., Pérez, D., Risco, D., Yeves, A., Castel, J. R. (2012). Yield components and grape composition responses to seasonal water deficits in Tempranillo grapevines. *Irrigation Science*. 30, 339–349.
- Intrigliolo, D.S., Mirás, J.M., Lakso, A.N. (2018). Effects of post-bloom low light and girdling on fruit set of “*Vitis vinifera*” (L.) cv. ‘Riesling’ and “*Vitis labruscana*” (L.) cv. Concord. *Oeno one. International journal of vine and wine sciences*. 52, 123-146.
- IPCC (International Panel on Climate Change). (2019). *Climate Change 2019: Impacts, Adaptation, and Vulnerability*. <http://ipcc-wg2.gov/AR5/report/final-drafts>.
- Ismail, A., Riemann, M., Nick, P. (2012). The jasmonate pathway mediates salt tolerance in grapevines. *Journal of Experimental Botany*. 63, 2127–2139.
- Ivanova, V., Vojnoski, B., Stefova, M. (2012). Effect of winemaking treatment and wine aging on phenolic content in Vranec wines. *Journal of Food Science and Technology*. 49, 161–172.
- Jackson, D. I. (1986). Factors affecting soluble solids, acid, pH, and color in grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 37, 179-183.
- Jackson, D. I. y Lombard, P. B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*. 44, 409–430.
- Jagtap, S. y Jones, J. (1989). Stability of crop coefficients under different climate and irrigation management practices. *Irrigation Science*. 10, 231–244.
- JeanDET, P., Bessis, R., Gautheron, B. (1991). The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *American Journal of Enology and Viticulture*. 42, 41-46.
- Jellouli, N., Ben Jouira, H., Skouri, H., Ghorbel, A., Gourgouri, A., Mliki, A. (2008). Proteomic analysis of Tunisian grapevine cultivar Razegui under salt stress. *Journal of Plant Physiology*. 165, 471–481.
- Jensen, J.S., Demiray, S., Egebo, M., Meyer, A.S. (2008). Prediction of wine color attributes from the phenolic profiles of red grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 1105-1115.
- Jones, H.G. (2004). Irrigation scheduling: advantages and pitfalls of plant based methods. *Journal of Experimental Botany*. 55, 2427–2436.

- Jones, G.V., White, M.A., Cooper, O.R., Storchmann, K. (2005). Climate change and global wine quality. *Climate Change*. 73, 319–343.
- Joutei, K. A. y Glories, Y. (1994). Étude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 28, 303–317.
- Ju, Y.L., Yanga, B., Ting-yao, S., Zhuo, T., Yu-lin, M., Fanga, X.Y. (2019). Anthocyanin accumulation and biosynthesis are modulated by regulated deficit irrigation in Cabernet Sauvignon (*Vitis Vinifera* L.) grapes and wines. *Plant Physiology and Biochemistry*. 135, 469-479.
- Junquera, P., Lissarrague, J.R., Jimenez, L., Linares, R., Baeza, P. (2012). Long-term effects of different irrigation strategies on yield components, vine vigour, and grape composition in cv. Cabernet-Sauvignon (*Vitis vinifera* L.). *Irrigation Science*. 30, 351-361.
- Kantz, K. y Singleton, V. L. (1991). Isolation and determination of polymeric polyphenols in wines using Sephadex LH-20. *American Journal of Enology and Viticulture*. 42, 309-316.
- Katamaniacos. (2018). <https://katamaniacos.com/>.
- Keller, M., Romero, P., Gohil, H., Smithyman, R. P., Riley, W. R., Casassa, L. F. (2016). Deficit irrigation alters grapevine growth, physiology, and fruit microclimate. *American Journal of Enology and Viticulture*. 67, 426–435.
- Keller, M. (2010). *The science of grapevines*. Ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Keller, M. (2015). *The science of Grapevines, Anatomy and Physiology*. Second edition. Ed. Elsevier. San Diego, CA.
- Kennedy, J. A. y Jones, G. P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 1740–1746.
- Kennedy, J. A., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E. J., Jones, G. P. (2001). Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of Berry development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 5348–5355.
- Kennedy, J.A., Matthews, M.A., Waterhouse, A.L. (2002). Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53, 268-274.
- Kennedy, J.A. y Taylor, A.W. (2003). A nalysis of proanthocyanidins by high-performance gel permeation chromatography. *Journal of Chromatography*. 995, 99-107.
- Kennedy, J.A., Saucier, C., Glories, Y. (2006). Grape and wine phenolics: History and perspective. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 239-248.
- Kizildeniz, T., Mekni, I., Santesteban, H., Pascual, I., Morales, F., Irigoyen, J.J. (2015). Effects of climate change including elevated CO2 concentration, temperature and water deficit on growth water status, and yield quality of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivators. *Agricultural Water Management*. 159, 155–164.
- Kliewer, W.M. (1970). Effect of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* L. grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 95, 693-697.
- Kliewer, W.M. (1971). Effect of day temperature and light intensity on concentration of malic and tartaric acids in *Vitis vinifera* L. grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 96, 372-377.

- Kliewer, W.M. y 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, 170–181.
- Klenar, I., Berovic, M., Wondra, M. (2004). Phenolic compounds from the fermentation of cultivars Cabernet Sauvignon and Merlot from the Slovenian Coastal region. *Food Technology and Biochnology*. 42, 11-17.
- Köppen, W. y Geiger, R. (1936). *Das geographische System der Klimate – (Eds): Handbuch der Klimatologie–Gebrüder Bornträger, Berlin*. 1, 1–44, part C.
- Koundouras, S., Marinos, V., Gkoulioti, A., Kotseridis, Y., Van Leeuwen, C. (2006). Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 5077-5086.
- Koundouras, S., Hatzidimitriou, E., Karamolegkou, M., Dimopoulou, E., Kallithraka, S., Tsialtas, J.T., Zioziou, E., Nikolaou, N., Kotseridis, Y. (2009). Irrigation and rootstock effects on the phenolic concentration and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 7805-7813.
- Koundouras, S., Tsialtas, I.T., Zioziou, E., Nikolaou, N. (2008). Rootstock effects on the adaptive strategies of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet- Sauvignon) under contrasting water status: leaf physiological and structural responses. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 128, 86–96.
- Kountoundakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J.M., De Freitas, V., Zamora, F. (2011). Influence of the heterogeneity of grape phenolic maturity on wine composition and quality. *Food Chemistry*. 124, 767-774.
- Kriedemann, P., Sturt, C., Goodwin, I. (2018). Regulated deficit irrigation and partial rootzone drying. *Land & Water Australia*. Canberra, Australia.
- Kumar, T., Bourne, J., McCarthy, M., Rengasamy, P. (2008). Sustainable salinity management in your vineyard. Technical Report Department of Agriculture and Grape and Wine Research and Development. 3, 124-141.
- Kyraleou, M., Kotseridis, Y., Koundouras, S., Chira, K., Teissedre, P.L., Kallithraka, S. (2016). Effect of irrigation regime on perceived astringency and proanthocyanidin composition of skins and seeds of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah grapes under semiarid conditions. *Food Chemistry*. 203, 292-300.
- Lacampagne, S., Gagne, S., Geny, L. (2010). Involvement of abscisic acid in controlling the proanthocyanidin biosynthesis pathway in grape skin: new elements regarding the regulation of tannin composition and leucoanthocyanidin reductase (LAR) and anthocyanidin reductase (ANR) activities and expression. *Journal of Plant Growth Regulation*. 29, 81–90.
- Laloum, T., Martin, G., Duque, P. (2018). Alternative splicing control of abiotic stress responses. *Trends in Plant Science*. 23, 140-150.
- Lascano, R.J., Baumhardt, R.L., Lipe, W.N. (1992). Measurement of water flow in young grapevines using the stem heat balance method. *American Journal of Enology and Viticulture*. 43, 159-165.
- Laurenson, S., Bolan, N.S., Smith, E., McCarthy, M. (2012). Review: Use of recycled wastewater for irrigating grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 18, 1-10.

- Laurent, G., Alain, D., Yorgos, P., Cushman, J., Cramer, G. (2011). Water deficit increases stilbene metabolism in cabernet sauvignon berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59, 289–297.
- Lavee, S. y Nir, G. (1986). Grape, en: Monselise, S.P. Ed. *CRC Handbook of fruit set and development*. CRC Press, Boca Ratón, Fl.
- Lawlor, D.W. y Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficit in higher plants. *Plant Cell Environment*. 25, 255–294.
- Levengood, J. y Boulton, R. (2004). The variation in the color due to copigmentation in young Cabernet Sauvignon wines. In: *Red wine color. Revealing the mysteries*. Ed. American Chemical Society, Washington DC.
- Li, B., Feng, Z., Xie, M., Sun, M., Zhao, Y., Liang, L. (2011). Modulation of the root-sourced ABA signal along its way to the shoot in *Vitis riparia* and *Vitis lambrusca* under water deficit. *Journal Experimental Botany*. 62, 1731-1741.
- Li, H. (2006). *Wine Chemistry*. Ed. China Science Press. Beijing, China.
- Lingaswamy, M. y Saxena, P.R. (2015). Water quality of fox sagar lake, hyderabad, telangana state, india, its suitability for irrigation purpose. *International Journal of Advanced Research in Science. Technol.* 4, 490-494.
- López-Urrea, R., Montoro, a., Mañas, F., López-Fuster, P., Fereres, E. (2012). Evapotranspiration and crop coefficients from lysimeter measurements of mature Tempranillo wine grapes. *Agricultural Water Management*. 112, 13–20.
- López-Urrea, R., Sánchez, J.M., Montoro, A., Mañas, F., Intrigliolo, D.S. (2020). Effect of using pruning waste as an organic mulching on a drip-irrigated vineyard evapotranspiration under a semi-arid climate. *Agricultural and Forest Meteorology*. 291, 108064.
- Lorenz, D. H., Eichhorn, K. W., Blei-holder, H., Klose, R., Meier, U., Weber, E. (1994). Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). *Viticultural Enology Science*. 49, 66-70.
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G.L., Salinas, M.R. (2005). Effect of red grapes co-winemaking in polyphenols and color of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 7609-7616.
- Loveys, B.R. (1984). Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field-grown *Vitis vinifera* cultivars. III. The influence of xylem-derived abscisic acid on leaf gas exchange. *New Phytology*. 98, 563-573.
- Loveys, B.R., Stoll, M., Davies, W.J. (2004). Physiological approaches to enhance water use efficiency in agriculture: Exploiting plant signalling in novel irrigation practice. Ed. *Water use efficiency in plant biology*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Lovisol, C., Perrone, I., Carra, A., Ferrandino, A., Flexas, J., Medrano, H., Schubert, A. (2010). Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: A physiological and molecular update. *Function Plant Biology*. 37, 98–116.
- Lund S. T. y Bohlmann J. (2006). The molecular basis for wine grape quality, a volatile subject. *Science*. 311, 804–805.
- Lund, C.M., Nicolau, L., Gardner, R.C., Kilmartin, P.A. (2009). Effect of polyphenols on the perception of key aroma compounds from Sauvignon Blanc wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 15, 18-26.

- Maas, E.V. y Hoffman, G.J. (1977). Crop salt tolerance-current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division*. 103, 115-134.
- Maas, E.V. y Grattan, S.R. (2009). Crop yields as affected by salinity. *American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America*. 38, 55–108.
- MAPAMA. (2018). Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente de España. <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos>.
- Marschner, H. (1986). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press. London.UK.
- Martínez, D., Miranda, B., Núñez, J. H. (2010). Efecto del potasio y calcio en la calidad y producción de vid (*Vitis vinífera* L.) cv Flame Seedless, en la Costa de Hermosillo, Sonora. *Biotecnia*. 12, 55-62.
- Martínez, J.A., Melgosa, M., Pérez, M., Hita, E., Negeruela, A. (2001). Note: Visual and instrumental color evaluation in red wines. *Food Science and Technology International*. 7, 439-444.
- Martínez de Toda, F. (1991). *Biología de la Vid. Fundamentos Biológicos de la Viticultura*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Martínez de Toda, F. (2014). *Claves de la viticultura de calidad, nuevas técnicas de estimulación y control de la calidad de la uva en el viñedo*. Ediciones Mundi-Prensa. 2ª Edición. Madrid, España
- Martínez-Moreno, A., Sanz, F., Yeves, A., Gil-Munoz, R., Martínez, V., Intrigliolo, D.S., Buesa, I. (2019). Forcing bud growth by double-pruning as a technique to improve grape composition of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo in a semi-arid Mediterranean climate. *Scientia Horticulturae*. 256, 108614.
- Martínez-Moreno, A., Galarza, R., Intrigliolo, D.S., Marín, D., Santesteban, L.G. (2018). El ratio isotópico de carbono en viticultura: fundamentos de la técnica y utilidades. [www.acenologia.com](http://www.acenologia.com).
- Martínez-Lüscher, J., Kizildeniz, T., Vučetić, V., Dai, Z., Luedeling, E., van Leeuwen, C., Gomès, E., Pascual, I., Irigoyen, J. J., Morales F., Delrot S. (2016). Sensitivity of grapevine phenology to water availability, temperature and CO2 concentration. *Frontiers in Environmental Science*. 4, 48-61.
- Martorell, S., Diaz-Espejo, A., Tomàs, M., Pou, A., El Aou-ouad, H., Escalona, J. M., Vadell, J., Ribas-Carbó, M., Flexas J., Medrano, H. (2015). Differences in water-use-efficiency between two *Vitis vinifera* cultivars (Grenache and Tempranillo) explained by the combined response of stomata to hydraulic and chemical signals during water stress. *Agricultural Water Management*. 156, 1-9.
- Matthews, M.A., Anderson, M.M., Schultz, H.R. (1987). Phenologic and growth responses to early and late season water deficits in Cabernet franc. *Vitis*. 26, 147-160.
- Matthews, M.A., Anderson M.M. (1988). Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: responses to seasonal water déficits. *American Journal of Enology and Viticulture*. 39, 313-320.
- Matthews, M.A., y Anderson, M.M. (1989). Reproductive development in grape (*Vitis vinifera* L.): responses to seasonal water deficits. *American Journal of Enology and Viticulture*. 40, 52–60.
- May, P. (2004). Development after fertilisation in “Flowering and Fruitset in Grapevines”. Ed. Lythrum Press, Adelaide, AUS.

- McCarthy, M.G. (1997). The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 3, 2-8.
- McCarthy, M.G., Loveys, B.R., Dry, P.R. (2002). Regulated deficit irrigation and partial rootzone drying as irrigation management techniques for grapevines. In: FAO (Ed.) *Deficit irrigation practices*. Water reports publication n. 22. FAO, Rome, pp 79–87.
- Medifer. (2018). *Salinidad, Interpretación de análisis de aguas de riego*. I jornada interpretacion analisis de agua y salinidad (Archena).
- Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J., Flexas, J. (2002). Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*. 89, 895–905.
- Medrano, H. y Gulias, J. (2008). Eficiencia en el uso del agua en ambientes mediterráneos. Grupo de Biología de las plantas en condiciones mediterráneas. <http://plantmed.uib.es/papers/2007/2007MedranoSIRASA.pdf> Departamento de Biología. (UIB).
- Medrano, H., Escalona, J.M., Cifre, J., Bota, J., Flexas, J. (2003). A ten-year study on the physiology of two Spanish grapevine cultivars under field conditions: Effects of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. *Functional Plant Biology*. 30, 607–619.
- Medrano, H., Tomás, M., Martorell, S., Escalona, J.M., Pou, A., Fuentes, S., Flexas, J., Bota, J. (2015). Improving water use efficiency of vineyards in semi-arid regions. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 35, 499-517.
- Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. M. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*. 82, 409–416.
- Mirás-Avalos, J.M., Intrigliolo, D.S. (2017). Grape Composition under abiotic constrains: Water Stress and Salinity. *Frontiers in Plant Science*. 8, 851-872.
- Mira de Orduña, R. (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*. 43, 1844–1855.
- Myers, B.J. (1988). Water stress integral: A link between short-term stress and long-term growth. *Tree Physiology*. 4, 315-323.
- Mohammady, S., Aminian, R., Hoshmand, S., Khodombashi, M. (2012). Genomic analysis of carbon isotope discrimination, photosynthesis rate, stomatal conductance, and grain yield in wheat (*Triticum aestivum* L.) under water-stressed conditions. *Crop & Pasture Science*. 63, 513–519.
- Molina-Navarro, E., Trolle, D., Martínez-Pérez, S., Sastre-Merlín, A., Jeppesen, E. (2014). Hydrological and water quality impact assessment of a Mediterranean limno reservoir under climate change and land use management scenarios. *Journal of Hydrology*. 509, 354-366.
- Monagas, M., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. (2005). Updated Knowledge About the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45, 85-118.
- Moutinho-Pereira, J.M., Correia, C.M., Goncalves, B.M., Bacelar, E.A., Torres-Pereira, J.M. (2004). Leaf gas Exchange and water relations of grapevines grown in three different conditions. *Photosynthetica*. 42, 81–86.

- Moreno, A. (2013). Técnicas enológicas de frío y enzimáticas aplicadas a la extractabilidad de Syrah, Cabernet Sauvignon y Monastrell. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., Hashizume, K. (2007). Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany*. 58, 1935-1945.
- Moriondo, M., Bindi, M., Fagarazzi, C., Ferrise, R., Trombi, G. (2011). Framework for high-resolution climate change impact assessment on grapevines at a regional scale. *Regional Environmental Change*. 11, 553-567.
- Moriondo, M., Jones, G.V., Bois, B., Dibari, C., Ferrise, R., Tromb, I. G., Bindi, M. (2013). Projected shifts of wine regions in response to climate change. *Climatic Change*. 119, 825-839.
- Morrison, J.C., Noble, A.C. (1990). The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes and on fruit and wine sensory properties. *American Journal of Enology and Viticulture*. 41, 193-200.
- Mosse, K.P.M., Lee, J., Leachman, B.T., Parikh, S.J., Cavagnaro, T.R., Patti, A.F. (2013). Irrigation of an established vineyard with winery cleaning agent solution (simulated winery wastewater): Vine growth, berry quality, and soil chemistry. *Agricultural Water Management*. 123, 93-102.
- Munitz, S., Netzer, Y., Schwartz, A. (2017). Sustained and regulated deficit irrigation of field-grown Merlot grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 23, 87-94.
- Munns, R. y Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59, 651-681.
- Muñoz, C., Gomez-Talquenca, S., Chialva, C., Ibáñez, J., Martínez-Zapater, J.M., Peña-Neira, A. (2014). Relationships among gene expression and anthocyanin composition of Malbec grapevine clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62, 6716-6725.
- Nagarajah, S. (1992). Soil toxicity in Sunrasia vineyards. *Australian Grape growers Winemaker*. 334, 11-14.
- Nauriyal, J.P. y Gupta, O.P. (1967). Studies on salt tolerance of grape. Effect of total salt concentration. *Journal of grape Research*. 4,197-205.
- Navarro, J.M., Fernández-Fernández, J.I., Pérez-Pérez, J.G., Arques, E., Romero, P. (2017). Calidad de la uva Monastrell cultivada sobre diferentes portainjertos en el sureste español. VIII Congreso ibérico de Ciencias Hortícolas 7-9 junio 2017, Coimbra, Portugal. Libro de Resúmenes, pp 113-134.
- Netzer, Y., Yao, C., Shenker, M., Bravdo, B.-A., Schwartz, A. (2009). Water use and the development of seasonal crop coefficients for superior seedless grapevines trained to an open-gable trellis system. *Irrigation Science*. 27, 109-120.
- Netzer, Y., Shenker, M., Schwartz, A. (2014). Effects of irrigation using treated wastewater on table grape vineyards: dynamics of sodium accumulation in soil and plant. *Irrigation Science*. 32, 283-294.
- Nguyen, T.T., Fuentes, S., Marschener, P. (2013). Effect of incorporated or mulched compost on leaf nutrient concentrations and performance for *Vitis vinifera* cv. Merlot. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13, 485-497.
- Obreque-Slier, E., Pena-Neira, A., Lopez-Solis, R., Zamora- Marin, F., Ricardo-da-Silva, J. M., Laureano, O. (2010). Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carmenere and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 3591-3599.

- OIV, Organización Internacional de la viña y el vino. (2001). Código Internacional de Prácticas Enológicas.
- OIV, Organización internacional de la viña y el vino. (2012) Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos. Edición 2012. Volumen II. Anexo C, (OIV-MA-C1-01: R2011).
- OIV, Organización internacional de la viña y el vino. (2018). Statistical Report on World Viticulture.
- OIV, Organización internacional de la viña y el vino. (2019). Informe de aspectos de la coyuntura mundial: situación del sector en 2018.
- Ojeda, H., Deloire, A., Carbonneau, A. (2001). Influence of water deficits on grape berry growth. *Vitis*, Geilweilerhof. 40, 141-146.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., Deloire, A. (2002). Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* L., cv Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53, 261–267.
- Ollat, N., Van Leeuwen, C., de Cortazar-Atauri, I.G., Touzard, J.M. (2017). The challenging issue of climate change for sustainable grape and wine production. *Oeno One*. 51, 59-60.
- Ollé D., Guiraud, J.L., Souquet, J.M., Terrier, N., Ageorges, A., Cheynier, V. (2011). Effect of pre- and post-veraison water deficit on pranthocyanididn and anthocyanin accumulation during Shiraz berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 17, 90–100.
- ONU (Organización de las Naciones Unidas). (2017). The World Population Prospects. Key findings and advances tables. <https://population.un.org/wpp>.
- Ortega, J.F., De Juan, J.A., Tarjuelo, J.M. (2005). Improving water management: The irrigation advisory service of Castilla-La Mancha (Spain). *Agricultural Water Management*. 77, 37-58.
- Ortega-Regules, A., Romero-Cascales, I., Lopez-Roc, J.M., Ros-Garcia, J.M., Gomez-Plaza, E. (2006). Anthocyanin fingerprint of grapes: environmental and genetic variations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86, 1460–1467.
- Paladines-Quezada, D.F., Moreno-Olivares, J.D., Fernandez-Fernandez, J.I., Bleda-Sanchez, J.A., Martinez-Moreno, A., Gil-Munoz, R. (2019). Elicitors and pre-Fermentative cold maceration: Effects on polyphenol concentration in Monastrell grapes and wines. *Biomolecules*. 9, 99-116.
- Palliotti, A., Tombesi, S., Frioni, T., Famiani, F., Silvestroni, O., Zamboni, M., Poni, S. (2014). Morphostructural and physiological response of container - grown Sangiovese and Montepulciano cv. (*Vitis vinifera*) to rewatering after a pre-veraison limiting water deficit. *Functional Plant Biology*. 41, 634–647.
- Pantin, F., Monnet, F., Jannaud, D., Costa, J.M., Renaud, J., Muller, B., Simmonneau, T., Genty, B. (2013). The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytologist*. 197, 65–72.
- Pardo, F. (1996). Jumilla. Viñas, bodegas y vinos. Edición del Autor. Murcia. 287 pág.
- Parida, A.K. y Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60, 324–349.

- Parker, A. K., De Cortázar-Atauri, I.G., Van Leeuwen, C., Chuine, I. (2011). General phenological model to characterize the timing of flowering and veraison of *Vitis vinífera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 17, 206-216.
- Parker, R. (2008). *Parker's Wine Buyer's Guide*. Ed. Simon and Schuster. Nueva York, EEUU.
- Pascual, M., Lordan, J., Villar, J.M., Fonseca, F., Rufat, J. (2013). Stable carbon and nitrogen isotope ratios as indicators of water status and nitrogen effects on peach trees. *Scientia Horticulturae*. 157, 99–107.
- Pastor del Rio, J.L. y Kennedy, J.A. (2006). Development of proanthocyanidins in *Vitis vinífera* L. cv. Pinot Noir grapes and extraction into wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 125–132.
- Peacock, W., Christensen, L., Andris, H. (1987). Development of a drip irrigation Schedule for average canopy vineyards in the San Joaquin valley. *American Journal of Enology and Viticulture*. 38, 113–119.
- Pellegrino, A., Lebon, E., Simonneau, T., Wery, J. (2005). Towards a simple indicator of water stress in grapevine (*Vitis vinifera* L.) based on the differential sensitivities of vegetative growth components. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 306-315.
- Penumathsa, S.V. y Maulik, N. (2009). Resveratrol: a promising agent in promoting cardioprotection against coronary heart disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 87, 275-286.
- Peñuelas, J. y Filella, I. (1998). Visible y near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. *Trends in Plant Science*. 3, 151-156.
- Pérez-Lamela, C., García-Falcón, M. S., Simal-Gándara, J., Orriols-Fernández, I. (2007). Influence of grape variety, vine system and enological treatments on the colour stability of young red wines. *Food Chemistry*. 101, 601–606.
- Peterlunger, E., Sivilotti, P., Colussi, V. (2005). Water stress increased polyphenolic quality in 'Merlot' grapes. Ed. VII on Grapevine Physiology and Biotechnology, Davis, California, EEUU
- Peuke, A. D. (2009). Nutrient composition of leaves and fruit juice of grapevine as affected by soil and nitrogen fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 172, 557–564.
- Petrie, P.R. y Clingeleffer, P.R. (2005). Effects of temperature and light (before and after budburst) on inflorescence morphology and flower number of Chardonnay grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 59-65.
- Peyrot des Gachons, C.P., Van Leeuwen, C., Tominaga, T., Soyer, J.-P., Gaudillère, J.P., Dubourdieu, D. (2005). Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L cv Sauvignon blanc in field conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85, 73–85.
- Picón, J., Uriarte, D., Mancha, L.A., Blanco, J., Prieto, M.H. (2012). Seasonal crop coefficients and relationships with measures of canopy development for Tempranillo grapevines in south-western Spain. *Acta Horticulturae*. 3, 235–242.
- Pilati, S., Bagagli, G., Sonogo, P., Moretto, M., Brazzale, D., Castorina, G. (2017). Abscisic acid is a major regulator of grape berry ripening onset: new insights into ABA signaling network. *Frontiers in Plant Science*. 8, 1093-1097.
- Pitsavos, C., Makrilakis, K., Panagiotakos, D.B., Chrysohoou, C., Ioannidis, I., Dimosthenopoulos, C., Stefanadis, C., Katsilambros, N. (2005). The J-shape effect of alcohol intake on the risk

- of developing acute coronary syndromes in diabetic subjects: the CARDIO2000 II Study. *Diabetic Medicine*. 22, 243-248.
- Poni, S., Intrieri, C., Silvestroni, O. (1994). Interactions of leaf age, fruiting and exogenous cytokinins in Sangiovese grapevines under non-irrigated conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*. 45, 71-78.
- Poni, S., Bernizzoni, F., Civardi, S. (2008). The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. 'Sangiovese'. *Vitis*. 47, 1-6.
- Porter, L. J., Hrstich, L. N., Chan, B. G. (1986). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphinidin. *Phytochemistry*. 25, 223-230.
- Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V., Moutounet, M. (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*. 36, 781-784.
- Prieto, J.A. (2011). Simulation of photosynthesis and transpiration within grapevine (*Vitis vinifera* L.) canopies on a 3D architectural model application to training system evaluation. Dissertation, Université Montpellier.
- Prior, L.D., Grieve, A.M. (1987). Water use and irrigation requirements of grapevine. Sixth Australian Wine Industry Technical Conference. pp. 165–168.
- Prior, L.D. y Grieve, A.M., Slavich, P.G., Cullis, B.R. (1992). Sodium chloride and soil texture interactions in irrigated field grown sultana grapevines. II. Plant mineral content, growth and physiology. *Australian Journal of Agriculture. Research*. 43, 1067–1083.
- Provinciali, M., Re, F., Donnini, A., Orlando, F., Bartozzi, B., Di Stasio, G., Smorlesi, A. (2005). Effect of resveratrol on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *International Journal of Cancer*. 115, 36-45.
- Quijada-Morin, N., Regueiro, J., Simal-Gandara, J., Tomas, E., Rivas-Gonzalo, J. C., Escribano-Bailón, M. T. (2014). Relationship between the sensory-determined astringency and the flavanolic composition of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60, 355–361.
- Rajha, H.N., Ziegler, W., Louka, N., Hobaika, Z., Vorobiev, E., Boechzelt, H.G., Maroun, R.G. (2014). Effect of the drying process on the intensification of phenolic compounds recovery from grape pomace using accelerated solvent extraction. *International Journal of Molecular Sciences*. 15, 18640-18658.
- Ravaz, L. (1903). Sur la brunissure de la vigne. *C.R. Academy. Science*. 136, 1276-1278.
- Renaud, S. y De Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*. 339, 1523–1526.
- Reynolds, A.G. y Wardle, D.A. (1993). Significance of viticultural and enological practices on monoterpenes flavorants of British Columbiagrown *Vitis vinifera* berries and juices. *American Journal of Enology and Viticulture*. 48, 194-202.
- Reynolds, A. y Naylor, A. (1994). Pinot Noir and Riesling grapevines respond to water stress duration and soil water-holding capacity. *Horticultural Science*. 29, 1505-1510.
- Revilla, I., Perez-Magarino, S., Gonzalez-SanJose, M.L., Beltran, S. (2001). Identification of anthocyanin derivatives in grape skin extracts and red wines by liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography*. 847, 83-90.
- Reuter, D.J. y Robinson, J.B. (1997). *Plant analysis: an interpretation manual*, 2nd edn. CSIRO, Collingwood. Canberra, AUS.

- Ribeiro de Lima, M. T., Waffo-Teguo, P., Teissedre, P. L., Pujolas, A., Vercauteren, J., Cabanis, J. C., Merillon, J. M. (1999). Determination of stilbenes (trans-astringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 2666–2270.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdied, D. (2006). *Handbook of Enology Vol 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments*. John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, England.
- Richards, L.A. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils, U.S. Salinity Laboratory Staff, USDA Handbook. 60, 160-173.
- Rinaldi, A., Joudres, M., Teissedre, P. L., Moio, L. (2014). A preliminary characterization of Aglianico (*Vitis vinifera* L. cv.) grape proanthocyanidins and evaluation of their reactivity towards salivary proteins. *Food Chemistry*. 164, 142–149.
- Riquelme, F. y Martínez-Cutillas, A. (2018). *El libro de la Monastrell*. Cofradía del Vino Reino de la Monastrell. Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería y Pesca, Murcia.
- Ritchie, G.A. y Hinckley, T.M. (1975). The pressure chamber as an instrument for ecological research. *Advances in Ecological Research*. 9, 165–254.
- Robinson, J. B. (2005). Critical plant tissue values and application of nutritional standards for practical use in vineyards. In *Proceedings of the Soil Mineral Environment and Vine Nutrition Symposium (ASEV)*, 61–68, ed. L. P. Christensen and D. R. Smart. Davis, CA: American Society for Enology and Viticulture.
- Roby, G., Harbertson, J.F., Adams, D.A., Matthews, M.A. (2004). Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: Anthocyanins and tannins. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 10, 100-107.
- Rocheta, M. (2016). “Transcriptomic comparison between two *vitis vinifera* L. varieties (trincadeira and touriga nacional) in abiotic stress conditions. *Plant Biology*. 16, 224-241.
- Roelfsema, M.R. y Hedrich, R. (2005). In the light of stomatal opening: new insights into ‘the Watergate’. *New Phytology*. 167, 665-691.
- Romero, I., Ortega-Regules, A., López-Roca, J.M., Fernández-Fernández, J.I., Gómez-Plaza, E. (2005). Extractability from grapes to wines according to variety. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56, 212-219.
- Romero-Cascales, I. (2008). Extracción de los compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia.
- Romero, I., Garcia-Escudero, E., Martin, I. (2010). Effects of Leaf Position on Blade and Petiole Mineral Nutrient Concentration of Tempranillo Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *American Journal of Enology and Viticulture*. 61, 544-550.
- Romero, I., Garcia-Escudero, E., Martin, I. (2013). Leaf blade versus petiole analysis for nutritional diagnosis of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. *American Journal of Enology and Viticulture*. 64, 50-64.
- Romero, P., Gil-Muñoz, R., del Amor, F.M., Valdés, E., Fernández, J.I., Martínez-Cutillas, A. (2013). Regulated Deficit Irrigation based upon optimum water status improves phenolic composition in Monastrell grapes and wines. *Agricultural Water Management*. 121, 85–101.
- Romero, P., Fernández-Fernández, J. I., Martínez-Cutillas, A. (2010). Physiological thresholds for efficient regulated deficit-irrigation management in winegrapes grown under semiarid conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*. 61, 300–312.

- Romero, P., Fernández-Fernández, J.I., Gil Muñoz, R., Botía, P. (2016a). Vigour-yield-quality relationships in long-term deficit-irrigated wine grapes grown under semiarid conditions. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*. 28, 23-51.
- Romero, P., García-García, J., Fernández-Fernández, J.I., Gil Muñoz, R., del Amor, F., Martínez-Cutillas, A. (2016b). Improving berry and wine quality attributes and vineyard economic efficiency by long-term deficit irrigation practices under semiarid conditions. *Scientia Horticulturae*. 203, 69-85.
- Romero, P., Botia, P., Maria Navarro, J. (2018). Selecting rootstocks to improve vine performance and vineyard sustainability in deficit irrigated Monastrell grapevines under semiarid conditions. *Agricultural Water Management*. 209, 73-93.
- Romero, P. y Garcia, J.G. (2019). The productive, economic, and social efficiency of vineyards using combined drought-tolerant rootstocks and efficient low water volume deficit irrigation techniques under mediterranean semiarid conditions. *Sustainability*. 15, 78-96.
- Rousserie, P., Lacampagne, S., Vanbrabant, S., Rabot, A., Geny-Denis, L. (2020). Influence of berry ripeness on seed tannins extraction in wine. *Food Chemistry*. 315, 206-234.
- Rozenstein, O., Haymann, N., Kaplan, G., Tanny, J. (2018). Estimating cotton water consumption using a time series of sentinel-2 imagery. *Agricultural Water Management*. 207, 44–52.
- Ruffner, H. P. (1982). Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*: A review. Part A. *Vitis*. 21, 247-259.
- Ruiz-García, Y., Gómez-Plaza, E., Fernández-Fernández, J., Martínez-Cutillas, A., Gil-Muñoz, R. (2013). Mejora clásica de los vinos de Monastrell mediante el uso de híbridos intraspecíficos. *ENOFORUM*, Adezzo (Italia).
- Sadras, V.O., Moran, M.A., Bonada, M. (2013). Effects of elevated temperature in grapevine. Berry sensory traits. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 19, 95–106.
- Saint-Cricq, N., Vivas, N., Glories, Y. (1998). Maturité phénolique: définition et contrôle. Review. *France of Oenology*. 173, 22-25.
- Salazar-Parra, C., Aguirreolea, J., Sánchez-Díaz, M., Irigoyen, J.J., Morales, F. (2010). Effects of climate change scenarios on Tempranillo grapevine (*Vitis vinifera* L.) ripening: response to a combination of elevated CO<sub>2</sub> and temperature and moderate drought. *Plant Soil*. 337, 179–191.
- Salón, J.L., Chirivella, C., Castel, J.R. (2005). Response of cv. bobal to timing of deficit irrigation in Requena, Spain: water relations, yield, and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56, 121-134.
- Sánchez, J.M., López-Urrea, R., Valentín, F., Caselles, V., Galve, J.M. (2019). Lysimeter assessment of the simplified two-source energy balance model and eddy covariance system to estimate vineyard evapotranspiration. *Agricultural Forest Meteorology*. 274, 172–183.
- Sánchez-Iglesias, M. (2007). Incidencia del tratamiento de microoxigenación sobre la composición fenólica y el color de vinos tintos jóvenes y de crianza de Castilla-León. Tesis Doctoral. Universidad de Burgos.
- Santesteban, L.G., Miranda, C., Royo, J.B. (2011). Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo'. *Agricultural Water Management*. 98, 1171-1179.

- Santesteban, L.G., Miranda, C., Barbarin, I., Royo, J.B. (2015). Application of the measurement of the natural abundance of stable isotopes in viticulture: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 21, 157-167.
- Santesteban, L.G., Miranda, C., Marín, D., Sesma, B., Intrigliolo, D.S., Mirás-Avalos, J.M., Escalona, J.M., Montoro, A., de Herralde, F., Baeza, P., Romero, P., Yuste, J., Uriarte, D. Martínez-Gascueña, J., Cancela, J.J., Pinillos, V., Loidi, M., Urrestarazu, J., Royo, J.B. (2019). Discrimination ability of leaf and stem water potential at different times of the day through a meta-analysis in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Agricultural Water Management*. 221, 202-210.
- Santos, T., Lopes, C.M., Rodrigues, M.L. (2007a). Partial rootzone drying irrigation affects cluster microclimate improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines. *Scientia Horticulturae*. 112, 321–330.
- Santos, T.P., Lopes, C.M., Rodrigues, M.L., de Souza, C.R., Ricardo-da-Silva, J.M., Maroco, J.P., Pereira J.S., Chaves M.M. (2007b). Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines. *Scientia Horticulturae*. 112, 321-330.
- Sarneckis, C.J., Dambergs, R.G., Jones, P., Mercurio, M., Herderich, M.J., Smith, P.A. (2006). Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimized tool for grape and wine analysis. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 12, 39-49.
- Sato, M., Suzuki, Y., Okuda, T., Yokotsuka, K. (1997). Contents of resveratrol, piceid, and their isomers in commercially available wines made from grapes cultivated in Japan. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 61, 1800-1805.
- Sauer, M.R. (1968). Effects of vine rootstocks on chloride concentration in Sultana scions. *Vitis*. 7, 223-226.
- Savoi S., Wong D.J., Arapitsas P., Miculan M., Bucchetti, S., Peterlunger, E., Fait, A. (2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology*. 16, 67-79.
- Savoi, S., Wong, D., Degu, A., Herrera, J.C., Bucchetti, B., Peterlunger, E., Fait, A., Mattivi, F., Castellarin, S. D. (2017). Multi-omics and integrated network analyses reveal new insights into the systems relationships between metabolites, structural genes, and transcriptional regulators in developing grape berries (*Vitis vinifera* L.) exposed to water deficit. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1124-1139.
- Scacco, A., Verzera, A., Carmela, M., Lanza, A., Tripodi, G., Dima, G. (2010). Influence of soil Salinity on sensory characteristics and volatile aroma compounds of Nero d'Avola Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 65, 498-505.
- Schultz, H.R. y Matthews, M.A. (1988). Resistance to water transport in shoots of *Vitis vinifera* L. *Plant Physiology*. 88, 718–724.
- Schultz, H.R. (1998). Photosynthetic responses to drought of two grapevine cultivars of different geographical origin during water stress. *Acta Horticulturae*. 427, 251-266.
- Schultz, H.R. (2003). Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behavior of two field grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant Cell Environment*. 26, 1393–1405.

- Schultz, H.R. y Jones, G.V. (2010). Climate induced historic and future changes in viticulture. *Journal of Wine Research*. 21,137-145.
- Schulze, E.D., Turner, N.C., Gollan, T., Shackel, K.A. (1987). Stomatal responses to air humidity and to soil drought. In: E. Zeiger, G.D. Farquhar and I.R. Cowan (Editors), *Stomatal Function*. Stanford University Press, Stanford, CA, pp. 311-321.
- Senent, M. y García J.L. (2014). Sobreexplotación de acuíferos en la cuenca del Segura, evaluación y perspectivas. Ed. Fundación Instituto Euromediterráneo del Agua. Murcia, España.
- Serra, I., Strever, A., Myburgh, P.A., Deloire, A. (2013). Review: the interaction between rootstocks and cultivars (*Vitis vinifera* L.) to enhance drought tolerance in grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 20, 1–14.
- Shainberg, I. y Letey, J. (1984). Response of soils to sodic and saline conditions. *Hilgardia*. 52, 1-57.
- Shani, U. y Ben-Gal, A. (2005). Long-term response of grapevines to salinity: Osmotic effects and ion toxicity. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56, 148-154.
- Shani, U., Waisel, Y., Eshel, A., Xue, S., Ziv, G. (1993). Responses to salinity of grapevine plants with split root systems. *New Phytology*. 124, 695-701.
- Sheltie, K.C. (2006). Vine and berry response of Merlot (*Vitis vinifera* L.) to differential water stress. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 514–518.
- Shellie, K. C. (2014). Water productivity, yield, and berry composition in sustained versus regulated deficit irrigation of Merlot grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 65, 197–205.
- SIAR. (2020). <http://crea.uclm.es/siar/datmeteo/consulta.php?ip=2&ie=6>.
- Singh, C.S., Gupta, S.K., Ram, S. (1996). Assessment and management of poors quality waters for crop production: A simulation model (SWAM). *Agricultural Water Management*. 30, 25-40.
- Sipiora, M.J. y Gutierrez M.J. (1998). Effects of pre-veraison irrigation cutoff and skin contact on the composition, color and phenolic content of young Cabernet Sauvignon vines in Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49, 152-162.
- Smart R.E., Dick J.K., Gravett I.M., Fisher B.M. (1990). Canopy management to improve grape yield and wine quality principles and practices. *South African Journal Enology and Viticulture*. 11, 3-17.
- Smart, R.E., Turkington, C.R., Evans, J.C. (1974). Grapevine response to furrow and trickle irrigation, *American Journal of Enology and Viticulture*. 25, 62–66.
- Smith, J.P. (2004). Investigations into the mechanisms underlying grapevine rootstock effects on scion growth and yield. PhD Thesis, Charles Sturt University, Wagga Wagga, Australia.
- Smith, P.A., McRae, J.M., Bindon, K. (2015). Impact of winemaking practices on the concentration and composition of tannins in red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 21, 601-614.
- Snyder, R., Moratiel, R., Song, Z., Swelam, A., Joma, I., Shapland, T. (2011). Evapotranspiration response to climate change. *Acta Horticulturae*. 922, 91-98.
- Soar, C. J., Dry, P. R., Loveys, B. R. (2006). Scion photosynthesis and leaf gas exchange in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz mediation of rootstock effects via xylem sap ABA. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 12, 82-96.

- Soil Survey Staff. (2010). *Claves para Taxonomía de suelos (11th EDITION)*, United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service (USDA-NRCS), Pocahontas Press Inc., Blacksburg, Virginia, Washington, EE.UU.
- Soud, I., Toumi, I., Hermosín-Gutiérrez, I., Nasri, S., Mliki, A., Ghorbel, A. (2019). The effect of salt stress on resveratrol and piceid accumulation in two *Vitis vinifera* L. cultivars. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 25, 625–635.
- Soundararajan, R., Wishart, A.D., Rupasinghe, H.P.V., Arcellana-Panlilio, M., Nelson, C.M., Mayne, M., Robertson, G.S. (2008). Quercetin-3-glucoside protects neuroblastoma (SH-SY5Y) cells in vitro against oxidative damage by inducing SREBP-2 mediated cholesterol biosynthesis. *The Journal of Biological Chemistry*. 283, 2231–2245.
- Souza, C.R., Maroco, J.P., Santos, T.P., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., Pereira, J.S., Chaves, M.M. (2005). Grape berry metabolism in field-grown grapevines exposed to different irrigation strategies. *Vitis*. 44, 103-109.
- Speirs, J., Binney, A., Collins, M., Edwards, E., Loveys, B. (2013). Expression of ABA synthesis and metabolism genes under different irrigation strategies and atmospheric VPDs is associated with stomatal conductance in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv Cabernet Sauvignon). *Journal of Experimental Botany*. 64, 1907-1916.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H., Dickey, D.A. (1997). *Principes and procedures of statistic. A biometrical approach*. McGraw-Hill Series in Probability and Statistics. 3th Ed Boston, Massachusetts.
- Stevens, R.M. y Walker, R.R. (2002). Response of grapevines to irrigation-induced saline-sodic soil conditions. *Australian Journal Experimental Agriculture*. 42, 323-331.
- Stevens, R.M., Harvey, G., Partington, D.L. (2011). Irrigation of grapevines with saline water at different growth stages: effects on leaf, wood and juice composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 17, 239–248.
- Stewart, G.R. y Ahmad, I. (1983). Adaptation to salinity in angiosperm halophytes D.A. Robbs, W.S. Pierpoint (Eds.), PSE Symposium Series 21, Metals and micronutrients, Academic Press, New York, pp. 33-50.
- Stirbet, A., Kromdijk, D., Govindjee, J. (2018). Chlorophyll a fluorescence induction: Can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses. *Photosynthetica*. 56, 86-104.
- Stockley, C. y Lloyd, D. (2001). Analytical specifications for the export of Australian wine. The Australian Wine Research Institute, Glen Osmond, AUS.
- Sudraub, P. (1958). Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges. *Annals de Technologie Agricole*. 7, 203-208.
- Sun, B., Ribes, A.M., Leandro, M.C., Belchior A.P., Spranger, M.I. (2006). Stilbenes: quantitative extraction from grape skins, contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. *Analytica Chimica Acta*. 563, 382-90.
- Taha, M.W., El-Sewey, A., Fadliah, Z.G. (1972). Salt tolerance of grape, guava, and olive plants. Alexandria. *Journal Agriculture Research*. 20, 123-134.
- Tanner, C.B. (1963). Plant temperatures. *Agronomy Journal*. 55, 210-211.
- Tardieu, F. (2005). Plant tolerance to water deficit: physical limits and possibilities for progress. *Comptes Rendus Geosciences*. 337, 57–67.
- Teakle, N. L. y Tyerman, S. D. (2010). Mechanisms of Cl<sup>-</sup> transport contributing to salt tolerance. *Plant Cell Environment*. 33, 566–589.

- Tecnovino. (2019). <https://www.tecnovino.com/ligero-incremento-de-la-superficie-de-vinCC%83edo-en-espana%CC%83>.
- Terrier, N., Ollé, D., Verrés, C., Cheynier, V. (2009). Biochemical and molecular aspects of flavan-3-ol synthesis during berry development. In: Roubelakis-Angelakis, K.A. (Ed.), *Grapevine Molecular Physiology and Biotechnology*, second ed. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 365-388.
- Tomás, M., Medrano, H., Escalona, J.M., Martorel, I.S., Pou, A., Ribas-Carbó, M., Flexas, J. (2014). Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental Experimental Botany*. 103, 148–157.
- Tonietto, J. y Carbonneau, A. (1998). Facteurs mésoclimatiques de la typicité du raisin de table de l'A.O.C. Muscat du Ventoux dans le département de Vaucluse, France. *Program of Agriculture and Viticulture*. 115, 271-279.
- Tonietto, J. y Carbonneau, A. (2004). A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology*. 124, 81-97.
- Tregeagle, J.M., Tisdall, J.M., Blackmore, D.H., Walker, R.R. (2006). A diminished capacity for chloride exclusion by grapevine rootstocks following long-term saline irrigation in an inland versus a coastal region of Australia. *Australian Journal Grape Wine Research*. 12, 178-191.
- Tregeagle, J.M., Tisdall, J.M., Tester, M., Walker, R.R. (2010). Cl<sup>-</sup> uptake, transport and accumulation in grapevine rootstocks of differing capacity for Cl<sup>-</sup> exclusion. *Functional Plant Biology*. 37, 665-673.
- Urbina blog. (2019). Estados fenológicos de la vid. <http://urbinavinos.blogspot.com/2011/08/estados-fenologicos-de-la-vid.html>.
- U.S.D.A. (1999). Guía para la evaluación de la calidad y la salud del suelo. Departamento de Agricultura. Servicio de conservación y recursos naturales. Instituto de la calidad de los suelos.
- Vaadia, Y. y Kasimatis, A.N. (1961). Vineyard irrigation trials. *American Journal of Enology and Viticulture*. 12, 88–98.
- Vandeleur, R.K., May, G., Shelden, M.C., Gilliam, M., Kaiser, B.N., Tyerman, S.D. (2009). The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: Diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine. *Plant Physiology*. 149, 445–460.
- Van Hoorn, J.W. (1981). Salt movement, leaching efficiency, and leaching requirement. *Agricultural Water Management*. 4, 409–428.
- Vanino, S., Pulighe, G., Nino, P., De Michele, C., Bolognesi, S., D'Urso, G. (2015). Estimation of evapotranspiration and crop coefficients of tendone vineyards using multi-sensor remote sensing data in a Mediterranean environment. *Remote Sensing*. 7, 14708–14730.
- Van Leeuwen, C. y Seguin, G. (1994). Incidences de alimentation en eau de la vigne, appréciée par l'état hydrique du feuillage, sur le développement de l'appareil végétatif et la maturation du raisin. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 28, 81-110.
- Van Leeuwen, C., Tregoat, O., Choné, X., Bois, B., Pernet, D., Gaudillère, J. P. (2009). Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes. *Journal International Sciences de la Vigne et du vin*. 43, 121-134.

- Vanzy, J.L. (1984). Response of Columbard grapevines to irrigation as regards quality and aspects of growth. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 5, 19–28.
- Verslues, P.E. y Juenger, T.E. (2011). Drought, metabolites, and Arabidopsis natural variation: a promising combination for understanding adaptation to water limited environment. *Current Opinion on Plant Biology*. 14, 240–245.
- Vezzulli S., Civardi, S.F, Bavaresco, L. (2007). Methyl jasmonate treatment as a trigger of resveratrol synthesis in cultivated grapevine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 4, 2-5.
- Vincent, D., Ergul, A., Bohlman, M.C., Tattersall, E.A., Tillett, R.L., Wheatley, M.D., Woolsey, R., Quilici, D.R., Joets, J., Schlauch, K., Schooley, D.A., Cushman, J.C., Cramer, G.R. (2007). Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity. *Journal of Experimental Botany*. 58, 1873–1892.
- Villalobos, J. y Ferreres, E. (2017). *Fitotecnia: principios de agronomía para una agricultura sostenible*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Vinos de Jumilla. (2018). <https://vinosdejumilla.org/denominacion-de-origen-prottegida-jumilla>.
- Vrhovsek, U., Wendelin, S., Eder, R. (1997). Effects of various vinification techniques on the concentration of cis- and transresveratrol and resveratrol glucoside isomers in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 48, 214-219.
- Walker, R.R., Scott, N.S., Kriedemann, P.E. (1981). An analysis of photosynthetic response to salt treatment in *Vitis vinifera*. *Australian Journal Plant Physiology*. 8, 359-374.
- Walker, M.A. (1992). Future directions for rootstock breeding, in *Rootstock Seminar: A Worldwide Perspective*, American Society for Enology and Viticulture, Davis, CA, pp. 60–68.
- Walker, M.A., Wolpert, J.A., Weber, E. (1994). Field screening of grape rootstock selections for resistance to fan leaf degeneration. *Plant Disease*. 78, 134-136.
- Walker, R.R., Read, P.E., Blackmore, D.H. (2000). Rootstock and salinity effects on rates of berry maturation, ion accumulation and colour development in Shiraz grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 6, 227-239.
- Walker, R.R., Blackmore, D.H., Clingeleffer, P.R., Correll, R.L. (2002). Rootstock effect on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sulatna). Yield and vigour inter-relationships. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 8, 3–14.
- Walker, R.R., Blackmore, D.H., Clingeleffer, P.R., Godden, P., Francis, L., Valente, P., Robinson, E. (2003). Salinity effects on vines and wines. *Bulletin de l’OIV*. 76, 865–866.
- Walker, R.R., Deidre, H., Blackmore, R., Ray, L., Correll, A. (2004). Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). Ion concentrations in leaves and juice. *Australian Journal of Grape and Wine research*. 10, 90-99.
- Walker, R., Clingeleffer, P. (2009). Rootstock attributes and selection for Australian conditions. *Australian Viticulture*. 13, 69–76.
- Walker, R. (2010). Managing salinity in the vineyard. *Csiro plant industry, waite campus, Adelaide*. [www.mvwi.com.au/items/423/Rob%20Walker%20-%20Salinity%20201011.pdf](http://www.mvwi.com.au/items/423/Rob%20Walker%20-%20Salinity%20201011.pdf)

- Walker, R.R., Blackmore, D.H., Clingeleffer, P.R. (2010). Impact of rootstock on yield and ion concentrations in petioles, juice and wine of Shiraz and Chardonnay in different viticultural environments with different irrigation water salinity. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16, 243-257.
- Walker, R. R., Blackmore, D. H., Clingeleffer, P. R., Emanuelli, D. (2014). Rootstock type determines tolerance of Chardonnay and Shiraz to long-term saline irrigation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 20, 496–506.
- Walker, R.R., Blackmore, D.H., Clingeleffer, P.R., Holt, H., Pearson, W., Francis, I.L. (2019). Effect of rootstock on yield, grape composition and wine sensory attributes of Shiraz grown in a moderately saline environment. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 25, 414-429.
- Wang, Y.S., Liu, F.L., Andersen, M.N., Jensen, C.R. (2010). Improved plant nitrogen nutrition contributes to higher water use efficiency in tomatoes under alternate partial root-zone irrigation. *Functional Plant Biology*. 37, 175–182.
- Webb, L., Whetton, P., Barlow, E.W.R. (2007). Modelled impact of future climate change on phenology of wine grapes in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 13, 165–175.
- Webb, L.B., Whetton, P.H., Barlow, E.W.R. (2011). Observed trends in winegrape maturity in Australia. *Global Change Biology*. 17, 2707–2719.
- Wilkinson, S. y Davies, W.J. (2002). ABA-based chemical signalling: The co-ordination of responses to stress in plants. *Plant Cell Environment*. 25, 195-210.
- Williams, L.E., Dokoozlian, N.K., Wample, R.L. (1994). Grape. *Handbook of environmental physiology of fruit crops*. S. B. and A. P.C. Orlando. Florida. CRC. Press. 85-133.
- Williams, L.E y Ayars, J.E. (2005). Water use of Thompson Seedless grapevines as affected by the application of gibberellic acid (GA3) and trunk girdling - Practices to increase berry size. *Agricultural Forest Meteorology*. 129, 85–94.
- Williams, L.E. y Fidelibus, M.W. (2016). Measured and estimated water use and crop coefficients of grapevines trained to overhead trellis systems in California's San Joaquin Valley. *Irrigation Science*. 34, 431–441.
- Williams, L.E y Matthews, M.A. (1990). Grapevine. In: Stewart, B.A., Nielson, N.R. (Eds.), *Irrigation of Agricultural Crops*, Agronomy Monograph No. 30. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, pp. 1019-1055.
- Xu, Y., Castel, T., Richard, Y., Cuccia, C., Bois, B. (2012). Burgundy regional climate change and its potential impact on grapevines. *Climate Dynamics*. 39, 1613-1626.
- Yamagata, K., Tagami, M., Yamori, Y. (2015). Dietary polyphenols regulate endothelial function and prevent cardiovascular disease. *Nutrition*. 31, 28–37.
- Yan-lun, B., Shuang, H.Y., Ting-yao, T., Mina, Z., Fang, Y., Xiang-yu, S. (2019). Anthocyanin accumulation and biosynthesis are modulated by regulated deficit irrigation in Cabernet Sauvignon (*Vitis Vinifera* L.) grapes and wines. *Plant Physiology and Biochemistry*. 135, 469-479.
- Yunusa, I.A.M., Walker, R.R., Lu, P. (2004). Evapotranspiration components from energy balance, sapflow and microlysimetry techniques for an irrigated vineyard in inland Australia. *Agricultural and Forest Meteorology*. 127, 93–107.
- Zamora, F. (2003). *Elaboración y crianza del vino tinto; aspectos científicos y prácticos*. Ed. Mundi-Prensa, AMV Ediciones, Madrid, Spain.

- Zamora, F. (2013). La química del color del vino. *Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular*. 176, 18-22.
- Zarrouk O., Brunetti C., Egipto R., Pinheiro C., Genebra T., Gori A., Lopes C. M., Tattini M., Chaves M.M. (2016). Grape Ripening is Regulated by Deficit Irrigation/Elevated Temperatures According to Cluster Position in the Canopy. *Frontiers in Plant Science*. 7, 1640-1655.
- Zarrouk, O., Francisco, R., Pinto-Marijuan, M., Brossa, R., Santos, R.R., Pinheiro, C., Costa, J.M., Lopes, C., Chaves, M.M. (2012). Impact of irrigation regime on berry development and flavonoids composition in Aragonez (Syn. Tempranillo) grapevine. *Agricultural Water Management*. 114, 18–29.
- Zelm, E., Van-Zhang, Y., Testerink, C. (2020). Salt Tolerance Mechanisms of Plants. *The Annual Review of Plant Biology*. 1, 31-52.
- Zhang, X., Walker, R. R., Stevens, R. M., Prior, L.D. (2002). Yield salinity relationships of different grapevine (*Vitis Vinifera* L.) scion-rootstock combinations. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 8, 150-156.
- Zhang, J., Schurr, U., Davies, W. J. (1987). Control of stomatal behaviour by abscisic acid, which apparently originates in the roots. *Journal of Experimental Botany*. 38, 1174–1181.
- Zhu, J.K. (2007). *Plant Salt Stress*. Ed. John Wiley & Sons, Ltd. Nueva Jersey. EEUU.
- Zufferey, V., Spring, J.L., Verdinal, T., Dienes, A., Belcher, S., Lorenzini, F., Koestel, C., Rosti, J., Gindro, K., Spangenberg, J., Viret, O. (2017). Influence of water stress on plant hydraulics, gas exchange, berry composition and quality of Pinot noir wines in Switzerland. *Oeno One*. 51, 37-57.