

UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA



TESIS DOCTORAL

Efecto del riego y el nivel de carga de cosecha en cv. Tempranillo en  
condiciones de clima mediterráneo semi-árido

David Uriarte Hernández

Departamento de Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal

Conformidad de los directores:

Fdo.: Dr. M<sup>a</sup> Henar Prieto Losada Fdo.: Dr. Diego S. Intrigliolo Molina Fdo.: Dr. Abelardo García Martín

2015



# AGRADECIMIENTOS

No podría dejar pasar la oportunidad de agradecer a todas y cada una de las personas que han hecho posible que esta Tesis Doctoral salga del viñedo y termine plasmada en papel.

Henar, gracias por enseñarme el lenguaje de la plantas y tener siempre tiempo para escucharme, por creer que esta Tesis llegaría a su fin cuando las dudas me asaltaban y por ayudarme tanto en el sprint final. Gracias de veras!!!!, sin ti esto nunca hubiera sido posible.

Diego, gracias a ti por decirme que sería un honor dirigir esta Tesis, por ser siempre una referencia para mí, por corregir mis muchos errores en los artículos y no tirar nunca la toalla, por que incluso en la distancia aunque no lo creas, he aprendido mucho de ti y espero continuar haciéndolo. El honor, ha sido sin duda mío.

Abelardo, gracias por el último empujón que me diste, por que creíste que era posible llegar “on time” y por el tiempo que le has dedicado a esta Tesis.

Gracias a los tres por dirigir esta Tesis.

Gracias a Juan Ramón Castel por ser además de gran investigador, cercano directo y sincero. Esta Tesis va también dedicada a ti. Ponte bueno pronto.

Al personal del CICYTEX en especial al Departamento de Hortofruticultura Juan Bautista, José Ángel, Bosco, Margarita, Fernando, Vicky, Loli y Antonio. Gracias también a Valme, Carlota, Dami, Toni , Nieves, Encarna, Carlos, Juan Manuel, Juan, Fernando Blanco, Toni Vivas y Andrés al personal del Laboratorio del Enología del INTAX Esperanza Valdés, Dani, Balbi, Raquel, Inma y Esther.

Gracias también a Luís Mancha y a María Ángeles por trabajar conmigo en las viñas.

Gracias a las fuentes de financiación INIA/FEDER del proyecto y a la Junta de Extremadura.

A mis amigos del Barrio, Bernardo, Caty, Manolo, Juanma, Grego, Mila y Macarena. A mis amigos de batalla, Toño, Jymmy, Jacinto, Jota, Julio, Ángel, Villa, Paco y Sergio.

Gracias a mis padres Carlos y Carme y a mis hermanos Carlos y Carmen

A mis cuñados Dani, Susana, Javi, Estrella y David, y a mis sobrinos Daniel, Carmen, Candela y Abel y a mis suegros Jesús y Pilar.

Gracias a mis hijos Sergio y Jorge por que es una alegría veros crecer cada día  
Y a mi mujer Esther, la luz que ilumina cada rincón de mi vida.

*A Esther Sergio y Jorge.*



# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>Índice De Contenidos.....</b>	i
<b>Índice De Figuras.....</b>	v
<b>Índice De Tablas.....</b>	vii
<b>Lista De Símbolos.....</b>	xii
<b>Lista De Abreviaturas.....</b>	xiii
<b>Resumen.....</b>	1
<b>Summary.....</b>	3
<b>Introducción General.....</b>	5
A. Orígenes de la viticultura en Extremadura.....	7
B. Situación actual del cultivo.....	8
C. El cultivo de la vid.....	10
D. La viticultura en climas semi-áridos.....	12
E. Planteamiento y objetivos.....	18
F. Referencias.....	20
<b>Chapter 1: Interactive Effects of Irrigation and Crop Level on Tempranillo Vines in a Semi-Arid Climate.....</b>	27
Capítulo 1: Efectos de la Interacción del Riego y el Nivel de Cosecha en Vid ‘Tempranillo’ en Clima Semi-Árido.....	29
1.1. Summary.....	29
1.2. Resumen.....	29
1.3. Tag crowd.....	30
1.4. Introduction.....	31
1.5. Materials and Methods.....	32
1.5.1. Site description.....	32
1.5.2. Field determinations.....	33

1.5.3. <i>Must compositions</i> .....	34
1.5.4. <i>Statistical analysis</i> .....	35
1.6. Results.....	35
1.6.1. <i>Weather conditions, irrigation volume and vine water status</i> .....	35
1.6.2. <i>Phenological stages and vegetative growth</i> .....	37
1.6.3. <i>Yield components and water use efficiency</i> .....	39
1.6.4. <i>Fruit composition</i> .....	45
1.7. Discussion.....	46
1.7.1. <i>Irrigation effects</i> .....	46
1.7.2. <i>Crop level effects</i> .....	47
1.8. Conclusions.....	49
1.9. References.....	50
<b>Chapter 2: Combined Effects of Irrigation Regimes and Crop Level on 'Tempranillo'</b>	
<b>Grape Composition.....</b>	<b>53</b>
Capítulo 2: Efectos Combinados del Régimen Hídrico y el Nivel de Carga en la Composición de la Uva de 'Tempranillo' .....	55
2.1. Summary.....	55
2.2. Resumen.....	55
2.3. Tag crowd.....	56
2.4. Introduction.....	57
2.5. Materials and Methods.....	58
2.5.1. <i>Site description and field determinations</i> .....	58
2.5.2. <i>Must composition</i> .....	59
2.5.3. <i>Statistical analysis</i> .....	59
2.6. Results and Discussion.....	59
2.6.1. <i>Climatic conditions, vine water status and performance</i> .....	59
2.6.2. <i>Grape soluble solids and acids composition</i> .....	61

2.6.3. <i>Grape phenolic composition</i> .....	68
2.7. Conclusions.....	72
2.8. Referentes.....	73
<b>Capítulo 3: Estudio de los Componentes del Racimo en uva 'Tempranillo' Bajo Diferentes Regímenes Hídricos y Niveles de Producción.....</b>	<b>77</b>
Chapter 3. Study of the Cluster Components in 'Tempranillo' Grapevine Under Different Irrigation Regimes and Crop Level.....	79
3.1. Resumen.....	79
3.2. Summary.....	80
3.4. Etiquetas multiples.....	81
3.4. Introducción.....	82
3.5. Materiales y Métodos.....	85
3.5.1. <i>Descripción de la parcela, tratamientos y diseño experimental</i> .....	85
3.5.2. <i>Evolución del peso de la baya</i> .....	86
3.5.3. <i>Clasificación de las zonas del racimo</i> .....	86
3.5.4. <i>Clasificación de las bayas</i> .....	87
3.5.5. <i>Composición química</i> .....	88
3.5.6. <i>Análisis estadístico</i> .....	88
3.6. Resultados.....	90
3.6.1. <i>Estado hídrico y Productividad</i> .....	90
3.6.2. <i>Evolución del crecimiento de la baya. Influencia del régimen hídrico y del nivel de cosecha</i> .....	91
3.6.3. <i>Efecto de los tratamientos sobre las características del racimo</i> .....	93
3.6.4. <i>Distribución de las bayas en el racimo según zonas e influencia de la zona del racimo sobre las características del mosto</i> .....	94
3.6.5. <i>Influencia del régimen hídrico y del nivel de carga sobre el tamaño de la baya</i> .....	99
3.6.6. <i>Efecto del tamaño de la baya sobre las características del mosto</i> .....	95

3.7. Discusión.....	111
3.8. Conclusiones.....	115
3.9. Referencias.....	115
<b>Discusión General y Conclusiones.....</b>	<b>121</b>
A. Efecto del riego.....	123
B. Efecto de aclareo de racimos.....	127
C. Efecto de la posición de la baya en el racimo.....	130
D. Referencias.....	129
E. Conclusiones.....	133

# ÍNDICE DE FIGURAS

## Capítulo 1.

**Figure 1.1.** Stem water potential measured at midday ( $\Psi_{\text{stem}}$ ) during 2005 to 2008 seasons and rainfall in the same period. Values are irrigation treatment means  $\pm$  standard error of eight leaves pooling the two crop level regime.....36

**Figures 1.2 (a)** Leaf area index during ripening, from the irrigation and crop load treatments in averaged over four study seasons. **(b)** Pruning weight per vine, from the irrigation and crop load treatments in averaged over four study seasons. (Black) low crop level, (grey) high crop level both in bar graph (left scale) and mean of two crop levels on each irrigation treatment in line graphs (right scale). Within each data, the effect of irrigation was separately analysed in the two crop levels. In the different irrigation treatments, values followed by the same letter (a, b, c) are not significantly different at  $p<0.05$  using Tukey's test. \* indicates significance at  $p<0.05$  between crop levels for each single pair of irrigation treatments.....38

**Figures 1.3** Relationship of pre-veraison, post-veraison and seasonal stress integral with maximum LAI (**A**) and pruning weight ( $\text{kg m}^{-2}$ ) (**B**) from crop load treatments in 2005, 2006, 2007 and 2008 seasons; ( $\bullet$ ) symbols are from low crop level and ( $\circ$ ) symbols from high crop level; ( $n = 65$  values per crop level treatment). \*\*\* indicates significance at  $p<0.001$ .....44

## Capítulo 2.

**Figure 2.1** Evolution in berry composition of total soluble solids ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) from veraison to post harvest dates for irrigation treatments during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate harvest time. Vertical bars indicate  $\pm \text{SE}$ . Data represent means of four replicates.....62

**Figure 2.2** Evolution in berry composition of total soluble solids ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) from veraison to post harvest dates for low and high crop levels during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate harvest time. Vertical bars indicate  $\pm \text{SE}$ . Data represent means of four replicates.....64

**Figure 2.3** Evolution in berry composition of titratable acidity from veraison to post harvest dates for irrigation treatments during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate the harvest time. Vertical bars indicate  $\pm \text{SE}$ . Data represent means of four replicates.....65

**Figure 2.4 (A)** Relationship between titratable acidity and leaf area in Tempranillo vines in two crop levels: low crop level (Low: white point; dotted curve, linear) and high crop level (High: black point; full curve, linear) vines over four growing seasons ANOVA shown that  $P$  (Intercepts)  $< 0.05$  and  $P$  (Slope)  $> 0.05$ . **(B)** Relationship between malic acid and leaf area in cv Tempranillo vines in two crop levels: low crop level (Low: white point; dotted curve, linear) and high crop level (High: black point; full curve, linear) vines over four growing seasons ANOVA shown that  $P$  (Intercepts)  $< 0.05$  and  $P$  (Slope)  $> 0.05$ .....66

<b>Figure 2.5</b> Evolution in berry composition of titratable acidity (g L <sup>-1</sup> ) from veraison to post harvest dates for low and high crop levels during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate the harvest time. Vertical bars indicate $\pm$ SE. Data represent means of four replicates.....	67
<b>Figure 2.6</b> Must composition of total phenolic potential (a.u) in veraison, harvest and post harvest for each irrigation treatment. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate $\pm$ SE. Data represent means of four replicates.....	69
<b>Figure 2.7</b> Must composition of total anthocyanin potential (mg L <sup>-1</sup> ) in veraison, harvest and post harvest for each irrigation treatment. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate $\pm$ SE. Data represent means of four replicates.....	69
<b>Figure 2.8</b> Must composition of total phenolic potential (a.u) in veraison, harvest and post harvest for High and Low crop levels. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate $\pm$ SE. Data represent means of four replicates.....	70
<b>Figure 2.9</b> Must composition of total anthocyanin potential (mg L <sup>-1</sup> ) in veraison, harvest and post harvest for High and Low crop levels. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate $\pm$ SE. Data represent means of four replicates.....	70
<b>Figure 2.10 (A)</b> Relationship between total phenolic potential (a.u) and yield (t ha <sup>-1</sup> ) in Tempranillo vines for two crop levels: low crop level (Low: dotted curve, linear) and high crop level (High: full curve, linear) vines during four growing seasons ANOVA shown that P (Intercepts) > 0.05 and P (Slope)>0.05. Data represent means of four replicates. <b>(B)</b> Relationship between total anthocyanin potential (mg L <sup>-1</sup> ) and yield (t ha <sup>-1</sup> ) in Tempranillo vines for two crop levels: low crop level (Low: dotted curve, linear) and high crop level (High: full curve, linear) vines during four growing seasons ANOVA shown that P (Intercepts)>0.05 and P (Slope)>0.05. Every point represent mean of four replicates.....	71
Capítulo 3.	
<b>Figura 3.1.</b> Detalle de la medida de longitud de racimos y de la diferenciación de las dos zonas del racimo.....	87
<b>Figura 3.2.</b> Curva de frecuencias de bayas observadas en función de su peso en una población de N individuos, valor medio del peso de baya ( $\mu$ ) y desviación estándar ( $\delta$ ).....	88
<b>Figura 3.3.</b> Detalle de las medidas de diámetro en las bayas y de la separación por corte de las bayas del raquis.....	88
<b>Figura 3.4.</b> Evolución estacional del peso medio de la baya desde cuajado hasta postvendimia en los diferentes tratamientos de riego y carga de racimos durante 2005, 2006, 2007 y 2008. Cada punto es la media de las 4 parcelas elementales. Las barras representan el error estándar de la media. * Diferencias significativas entre tratamientos de riego para p≤0,05. Flecha continua indica 50% de envero y flecha discontinua indica inicio de vendimia.....	92

# ÍNDICE DE TABLAS

## Capítulo 1

<b>Table 1.1.</b> Water balance variables in a Tempranillo vineyard in Extremadura (Spain). Seasonal: rainfall, reference evapotranspiration ( $ET_0$ ), crop evapotranspiration (ETc) and average crop coefficient (Kc) from April to September. The duration of the irrigation season and irrigation water volumes applied in each treatment during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons are shown. In 2007 and 2008, crop evapotranspiration (ETc) values were obtained with a weighing lysimeter installed in the vineyard; see Picón-Toro et al. (2012) for details.....	35
<b>Table 1.2.</b> Statistical significance of main effects and three-way interactions (irrigation x crop level x year) analysis of variance (ANOVA) of the main factors included in the analysis.....	37
<b>Table 1.3.</b> Yield, yield components and vigor index (LA/fruit weight and crop load ). In the irrigation factor, values within columns followed by the same letter (a, b, c or d) are not significantly different at $p<0.05$ using Tukey's test both in low and high crop level. * indicates significance at $p<0.05$ between crop levels in each irrigation treatment. **,*** and ns, indicates significance at $p<0.05$ , $p<0.01$ and $p<0.001$ and not significant, respectively in crop level (high and low) and simple interaction factors.....	40
<b>Table 1.4.</b> Relationships between pre-, post-veraison and seasonal stress integral and different vine performance parameters in the same and following season. *Degrees of freedom ( $v = 47$ . not including season 2007 in data pooled) <sup>z</sup> Coefficient of determination and significance by Pearson.....	42
<b>Table 1.5.</b> Irrigation water use efficiency (IWUE) and water use efficiency including rainfall (WUE) of the different treatments and annual average. In the irrigation factor, values within columns followed by the same letter (a, b, c or d) are not significantly different at $p<0.05$ using Tukey's test. **,*** and ns, indicates significance at $p<0.05$ , $p<0.01$ and $p<0.001$ and not significant respectively in crop level (high and low) and simple interaction factors.....	44
<b>Table 1.6.</b> Effects of irrigation and crop level treatments on must quality at harvest in Tempranillo grapes. <sup>a</sup> For the irrigation factor, values within columns followed by the same letter (a, b, or c) are not significantly different at $p<0.05$ using Tukey's test. **,*** and ns, indicates significance at $p<0.01$ and $p<0.001$ respectively ; ns, not significant; nc, data not collected.....	45

## Capítulo 2

<b>Table 2.1.</b> Key phenological stage of Tempranillo vines from 2005 to 2008 growing seasons in the Vegas Bajas Guadiana River, Extremadura. a Cumulative growing degree days (base 10°C) from 20 March to 15 December. b Days of year.....	60
<b>Table 2.2.</b> Variables of must quality at harvest in the different irrigation and crop level treatments and their interactions from 2005 to 2008 growing seasons. <sup>a</sup> Means followed by a	

different letter within each column are significantly different at  $p<0.05$  level based on Tukey's multiple range test. \*, \*\*, \*\*\* and ns indicate significance at  $p<0.05$ , 0.01, 0.001 and not significant, respectively, in crop level and interaction effects. <sup>y</sup>data not collected.....63

### Capítulo 3

**Table 3.1.** Precipitación Octubre a Marzo y precipitación durante el periodo de crecimiento (Abril a Septiembre) Evapotranspiración de referencia (ET<sub>0</sub>). Coeficiente de cultivo medio (K<sub>c</sub>) calculado como ET<sub>C</sub>:ET<sub>0</sub>. <sup>y</sup> Volumen de riego aplicado en cada tratamiento durante los años 2005, 2006, 2007 y 2008. <sup>z</sup>ET<sub>C</sub> calculada directamente desde el lisímetro de pesada.....90

**Table 3.2.** Potencial hídrico de tallo a medio día en los tratamientos de riego y carga durante pre envero, post envero y estacional durante los años 2005, 2006, 2007 y 2008. \*\*, \*\*\* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0.01$ , 0.001 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....90

**Table 3.3.** Producción por cepa de los tratamientos de riego y carga durante 2005, 2006, 2007 y 2008. \*\*, \*\*\* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0.01$ , 0.001 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....91

**Table 3.4.** Efecto de los tratamientos de riego y carga sobre el peso y longitud de los racimos, número de bayas por racimo y peso medio de las bayas. \*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0.001$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$  y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....94

**Table 3.5.** Peso de la parte alta (Hombros) y baja (Punta) del racimo en vendimia en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha en los años 2006, 2007 y 2008. \*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0.001$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$  y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....95

**Table 3.6.** Número de bayas en vendimia de la parte alta (Hombros) y baja (Punta) del racimo en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha en los años 2006, 2007 y 2008. \*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0.001$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$  y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....95

**Table 3.7.** Peso medio de la baya obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombros) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha en los años 2006, 2007 y 2008. \*\*\*, \*\*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0.001$ ,  $p<0.01$ , y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....96

**Table 3.8.** Valores de pH obtenidos en vendimia según la distribución en la aparte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2006, 2007 y 2008. \*\*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0.001$ ,  $p<0.05$  y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....97

**Table 3.9.** Valores de acidez titulable obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2006, 2007 y 2008, los valores medios del estudio son mostrados también. \*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican

diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....97

**Table 3.10.** Valores de Sólidos Solubles Totales obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2006, 2007 y 2008, los valores medios del estudio son mostrados también. \*\*\*,\*,ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....98

**Table 3.11.** Concentración de compuestos fenólicos de las uvas obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2007. \*\*\*,\*\*, \*,ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....98

**Table 3.12.** Racimos muestreados dentro de la población del viñedo experimental. Media y coeficiente de variación estándar (Cv) aplicado a los componentes de los 15 racimos muestreados y Cv del peso y diámetro de bayas dentro del racimo.....100

**Table 3.13.** Número de bayas por racimo obtenidos en vendimia según las categorías la distribución por zonas en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005,2006, 2007 y 2008, los valores medios del estudio son mostrados también. \*\*\*,\*\*, \* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....101

**Table 3.14.** Peso medio de las bayas pertenecientes a cada categoría: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B">> 1.82g , para los tratamientos de riego y carga en los años 2005, 2006, 2007, 2008. \*\*\*,\*\*, \* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....102

**Table 3.15.** Peso de las bayas en vendimia contenidas en cada categoría: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B">> 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005,2006, 2007 y 2008 y media de los 4 años. \*\*\*,\*\*, \* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA). .....103

**Table 3.16.** Distribución de las bayas según categorías: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B">> 1.82g para las posiciones en el racimo de Hombro y Punta en los años 2006, 2007 y 2008 y media de los 3 años. \*\*\*,\*\*, \* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....104

**Table 3.17.** Valores de pH obtenidos en vendimia según la categoría: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B">> 1.82g para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y media de los 4 años. \*\*\*,\*\*, \*,ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....105

**Table 3.18.** Valores de Acidez Titulable obtenidos en vendimia según la categoría: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B">> 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y media de los años de estudio.\*\*\*,\*\*,

\* ,ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0.05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....106

**Table 3.19.** Valores de Sólidos Solubles Totales obtenidos en vendimia según categoría: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B"> 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y media de los años de estudio. \*\*\*, \* ,ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0.05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....107

**Table 3.20.** Valores de Polifenoles en mg L<sup>-1</sup> de Ácido gálico obtenidos en vendimia según categoría: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B"> 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y los valores medios de los años de estudio. \*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0.05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....108

**Table 3.21.** Valores de Antocianos en mg g<sup>-1</sup> de cloruro de malvidina, obtenidos en vendimia según categoría: "S"< 1.23g; "M", 1.23g <M <1.82g y "B"> 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y valores medios de los años de estudio. \*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0.05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....109

**Table 3.22.** Resultados de la composición química de las bayas utilizando la composición de la baya de la categoría "M", 1.23g <M <1.82g para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y valores medios de los años de estudio. \*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0.05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).....110

## *LISTA DE SÍMBOLOS*

<b>ET<sub>c</sub></b>	Crop evapotranspiration; Evapotranspiración de cultivo
<b>ET<sub>o</sub></b>	Reference evapotranspiration; Evapotranspiración de referencia
<b>K<sub>c</sub></b>	Crop coefficient;Coeficiente de cultivo
<b>v</b>	Degree of Freedom; Grados de libertad
<b>K<sup>+</sup></b>	Potassium; Potasio



## *LISTA DE ABREVIATURA*

<b>a.u.</b>	Absorbance unids; Unidades de absorvancia
<b>Avg</b>	Average; media
<b>Cv</b>	Coefficient of variation; Coeficiente de variación
<b>DOY</b>	Day of Year; Día del año
<b>GDD</b>	Growing degree days; Grados día
<b>IWUE</b>	Irrigation Water Used Effiency; Uso eficiente del agua de riego
<b>LAI</b>	Leaf area index; Índice de área foliar
<b>LA</b>	Leaf area; Área foliar
<b>SE</b>	Standard error; Error estandar
<b>SWP</b>	Stem water potencial; Potencial hídrico de tallo
<b>TA</b>	Titratable acidity; Acidez titulable
<b>TPP</b>	Total poliphenols potencial; Potencial polifenólico total
<b>TAnP</b>	Total anthocyanins Potencial; Potencial antocianico Total
<b>TSS</b>	Total soluble solids; Sólidos solubles totales
<b>var.</b>	Variety; Variedad
<b>WUE</b>	Water Used Effiency; Uso eficiente del agua
<b>WSI</b>	Water stress index; Indice de estres hídrico



# **RESUMEN**

Extremadura es una región con elevadas temperaturas y bajas precipitaciones durante el periodo de crecimiento y maduración de la uva, pudiendo considerarse como zona cálida con clima semiárido. Dichas condiciones climáticas suelen repercutir negativamente sobre la producción debido a un limitado crecimiento vegetativo y al efecto directo del estrés hídrico sobre el crecimiento de la baya y el racimo. Además las elevadas temperaturas durante el final del verano favorecen un desfase entre la maduración de la pulpa y la de hollejos y pepitas, que es más perjudicial en el caso de uvas tintas para vinificación. Esta situación ha contribuido a frenar el desarrollo tecnológico de la vitivinicultura Extremeña, haciéndola menos competitiva frente a otros países y regiones productoras. El riego aunque disminuye los efectos negativos derivados del déficit hídrico, puede conllevar a situaciones de exceso de vigor con efectos negativos sobre la composición de la baya. Durante 4 campañas consecutivas se mantuvo un ensayo de campo en un viñedo experimental de la variedad uva tinta 'Tempranillo' situado en las Vegas Bajas del Guadiana con el objetivo de determinar, como influyen diferentes regímenes hídricos y nivel de cosecha sobre el estado hídrico, el desarrollo vegetativo, el rendimiento y sus componentes y la composición de los mostos resultantes en estas condiciones. El impacto de estas prácticas se evaluó también a nivel del racimo considerando las zonas del mismo, la distribución de las bayas por calibres y el efecto de estos aspectos sobre la composición de las bayas.

Los resultados obtenidos confirman el efecto positivo del riego sobre el desarrollo vegetativo y la productividad del viñedo, incrementando también la acidez de los mostos, lo cual es de gran interés en la zona, ya que los mostos de esta variedad adolecen de bajos contenidos en ácidos orgánicos. El aspecto negativo fue la reducción en compuestos fenólicos que acompañó a los incrementos de producción. El riego deficitario demostró ser una solución interesante al compaginar el incremento de producción, con un cierto control del vigor de la vegetación, aumentando la eficiencia del uso del agua y mejorando la composición de los mostos en relación con el riego según demanda del cultivo (100% ETc). En las condiciones del ensayo, el tratamiento en el que la dosis de riego cubría el 25 % de la demanda hídrica del cultivo (ETc), resultó ser el más interesante, ya que incluso se mantuvo el contenido en compuestos fenólicos en niveles similares al secano. A lo largo de la duración del experimento fue posible comprobado como los efectos del déficit hídrico sobre el desarrollo de la cepa, actúan no solo en la propia campaña y la siguiente, sino que se va acentuando al avanzar los años.

Por otro lado, el aclareo de racimos realizados en el envero, incrementó la relación entre área foliar y producción, pero sin modificar el estado hídrico, ni el crecimiento de la vegetación. Este cambio en la relación fuente-sumidero aceleró el ritmo de maduración de las bayas con adelantos de entre 2 y 4 días en la fecha de vendimia. En vendimia, las bayas del tratamiento de menor carga tuvieron mayores concentraciones de azúcares, compuestos fenólicos, potasio y ácido málico, aunque disminuyó la acidez titulable.

No hubo interacción entre riego y carga para los parámetros de calidad considerados, sin embargo, se observó un incremento en la madera de poda y producción, en las cepas más regadas con menor carga, en relación con el mismo riego y carga alta.

Por último, los estudios a nivel de racimo han puesto de manifiesto la alta variabilidad existente en cuanto a tamaños de bayas en un viñedo de esta variedad, debida tanto a diferencias entre racimos, como dentro de racimos. Estas diferencias han servido de base para conocer la influencia del tamaño de la baya y la posición de la misma dentro del racimo sobre las características de los mostos resultantes, así como la influencia que han tenido los tratamientos sobre estos aspectos. La posición de la baya en el racimo determina el acceso de la misma a los asimilados y por tanto el tamaño y composición, de forma que las bayas situadas en la mitad inferior del racimo fueron más pequeñas y con un cierto retraso en la maduración respecto de las que ocupaban la parte alta. Estas diferencias fueron más evidentes en años de carga alta y en situaciones de déficit hídrico. Además, las bayas de menor tamaño, tuvieron mayor concentración de azúcar que las de mayor tamaño, aunque las bayas de tamaño medio, fueron las más equilibradas en azúcares, acidez y compuestos fenólicos. Estos resultados permiten extraer conclusiones aplicables al diseño de toma de muestras de bayas, así como orientar prácticas en bodega enfocadas a producciones con características determinadas.

Como consecuencia de estos trabajos se dispone de un mayor conocimiento del comportamiento de un viñedo de uva tinta en las condiciones de cultivo de las Vegas del Guadiana y de cómo responde a cambios en la disponibilidad de agua y modificaciones en el equilibrio entre vegetación y producción. Los cambios asociados a la climatología de cada uno de los años de estudio han dotado a este estudio de una mayor complejidad, pero ha proporcionado más robustez a las conclusiones extraídas.

# SUMMARY

Extremadura is a region characterized by high temperatures and low rainfall during the vine growth and ripening season. It could be considered as a warm semi-arid area. These weather conditions have an adverse impact on yield because of a reduction on the vegetative growth and the direct effect of water stress on berry growth. In addition, a high temperature during the end of the summer promotes a decoupling between the maturity of the pulp, the skins and seeds, which is more detrimental in the case of red grapes. This has negatively impacted the technological development of the viticulture in Extremadura, making it less competitive than other producing countries and regions. Supplying irrigation should reduce the negative effects of water stress; however it can lead to vine imbalances increasing vine vigour with negative effects on berry composition. A field experiment was conducted during four consecutive seasons in an experimental vineyard of the red grape variety 'Tempranillo' located in Vegas Bajas del Guadiana. The goal was to determine the influence of different water regimes and crop level on vine water status, vegetative growth, yield and its components and the characteristics of the resulting musts under these conditions. The impact of these agronomical practices was also evaluated into the cluster: the distribution of the berries according to size and position and effect of these aspects on the composition of the berries.

The results confirm the positive effect of irrigation on the vegetative growth and vineyard productivity, and also increase the acidity of the resulting musts, which is of great interest in the area, since Tempranillo musts suffer from low levels in organic acids. The negative aspect of irrigation application replacing the potential water needs was the reduction in phenolic compounds related with an increase in yield. Deficit irrigation proved to be an interesting solution for increasing yield when compared with the rain-fed regime, and improving must composition when compared with irrigation replacing full crop demand (100 % ETc). In these growing conditions, the treatment replacing 25% of the crop evapotranspiration (ETc), proved to be the most interesting, as even the polyphenol content remained similar to the treatment without irrigation. Along the four seasons, the water deficit effects on plant growth and development were cumulative with more pronounced effects as the experiment progressed.

Otherwise, cluster thinning at veraison, increased the ratio leaf area:yield, but without changing the vine water status, and the vegetative growth. This change in the source-sink relationship accelerated grape ripening with advances in 2 to 4 days in the harvest date. At

harvest, the lower load treatment had higher concentrations of phenolic compounds, potassium and malic acid, though decreased acidity.

In general, the effects of the crop load on the quality was independent of the irrigation level.

Finally, the studies done at cluster level have shown a high variability in the sizes of berries in a vineyard, due to differences between clusters, and within clusters. These differences have been the basis for determining the influence of berry size and position within the cluster on the characteristics of the resulting musts. Berry's position in the cluster determines its capacity to attract assimilates and therefore its size and composition. So that, the berries that occupied the lower positions of the cluster were smaller and ripened later than the ones at the higher positions within the cluster. These differences were most apparent in years of high load and in water deficit conditions. Furthermore, smaller berries, had higher sugar concentration than larger. However, medium size berries were the most balanced in terms of sugar, acid and phenolic compounds. These results have significance for designing berry sampling procedures and guiding practices in winery focused on productions with certain characteristics.

As a result of this work, there is now more knowledge on the responses of the Tempranillo variety to varying irrigation and crop load regimes within the growing conditions of the Guadiana river basin. The weather changes associated with each of the study years has given more complexity, but has provided more robustness to the conclusions drawn.



## *Introducción General*



## Introducción General

### A.        **Orígenes de la viticultura en Extremadura**

El uso de la uva como alimento y como materia prima para la elaboración de vino, es conocida por el hombre desde tiempos remotos, de hecho, el cultivo y la domesticación de la vid parece haber ocurrido entre el séptimo y el cuarto milenio antes de Cristo, en una zona geográfica situada entre el Mar Negro y e Irán (Zohary y Hopf 2000). Desde esta zona, ya como especie cultivada se habría extendido por los seres humanos en el Cercano Oriente, Oriente Medio, Europa Central y toda la Cuenca Mediterránea.

En España y en el Magreb, la influencia fenicia durante la primera parte del último milenio antes de Cristo parece haber desempeñado un papel importante en el establecimiento y desarrollo de la viticultura y la vinicultura a través del comercio (Nuñez y Walker 1989; Buxó 2008). Tras ellos y continuando con el comercio del vino, los griegos y mas tarde los romanos, extendieron su cultivo por toda la Península Ibérica.

El cultivo de la vid en Extremadura va ligada a la presencia romana de Emérita Augusta, que fue la capital de Lusitania y llegó a contar con una población de mas de 150.000 habitantes siendo la novena ciudad más importante del Imperio Romano. Como habituales consumidores del vino, tanto en las mesas de los patricios como en la dieta de sus ejércitos, los romanos desarrollaron ampliamente el cultivo de la vid. Prueba de ello, puede encontrarse en Barbaño (Montijo) donde se encuentran los restos de la mayor Coella Vinaria (Bodega) romana que se conoce en la Península Ibérica y que denota la importancia que la vid tuvo en nuestra región (Díaz González 2009).

Desde Extremadura el vino pasa a las mesetas castellanas a través del Puerto del Pico donde se establece un importante comercio del vino. Con la invasión visigoda, los pueblos bárbaros arrasan toda la cultura romana y entre ella los viñedos. Tras ellos llegan los pueblos visigodos más orientalizantes y en contacto con la cultura romana y por tanto, también consumidores del vino, quienes promulgan leyes favorecedoras del cultivo de la vid tras convertirse al cristianismo (Díaz González 2009).

Con la invasión musulmana, en el 711 después de Cristo, el consumo de vino disminuye en la península sin embargo, los árabes que invadieron España procedían de Siria e Irak y estaban impregnados en la cultura griega a través de sus relaciones con Bizancio y por tanto deberían conocer bien la cultura del vino. Los árabes utilizaban además el vinagre de vino como ingrediente de las comidas y junto a ellos vivían mozárabes y judíos extremeños, cuyas leyes no les prohibían el consumo del vino (Díaz González 2009).

Durante las guerras de la Reconquista, muchos de los viñedos fueron arrasados y la vid debió experimentar un nuevo retroceso para que más tarde y ya siendo la península territorio cristiano, surgiera una nueva viticultura en el entorno de las ciudades y a los monasterios que se iban fundando.

El cambio en la concepción de la vida de las Órdenes Religiosas pasando de un tipo de vida contemplativa practicado en la edad media al nuevo concepto de "Ora et la bora", hizo que entorno a los monasterios se desarrollara una agricultura en las grandes extensiones de terreno, siendo el de la vid uno de los cultivos más desarrollados.

Ya en la Edad Moderna, durante el siglo XVII se inicia el cambio cerealista y ganadero hacia el desarrollo de la viticultura en algunas zonas de la Tierra de Barros que terminó siendo impulsada con la política agraria de Carlos III a finales del XVIII.

Más tarde, el importante desarrollo industrial generalizado en toda Europa llevado a cabo en el siglo XIX, llegó también a los viñedos extremeños. En la segunda mitad del siglo, y debido a la Filoxera (*phylloxera vastatrix*), que arrasó una gran parte de los viñedos europeos, la demanda de vino aumentó y logró impulsar de nuevo el desarrollo de la viticultura en España, y en Extremadura.

## **B. Situación actual del cultivo**

La superficie vitícola mundial en la actualidad, alcanza las 7573 miles de hectáreas (mha), a la que España contribuye con el 14% como primer país en superficie, seguida por China (11%) y Francia (10%) (Report Mainz Congress; OIV 2015). Según el director general de la OIV, Jean-Marie Aurand, la superficie de viñedo está en recesión, principalmente debido a la reducción de los viñedos europeos, compensada parcialmente por el incremento en las superficies plantadas en el resto del Mundo, principalmente en China y América del Sur. En cuanto a la producción de vino fue de 271 millones de hectólitros (Mill. hl) en el año 2013, aunque experimentó una reducción del 6% en el año 2014 debido a unas condiciones meteorológicas poco favorables, principalmente en Europa.

En Europa se concentra la mayor parte de la producción, con Francia a la cabeza que en 2014 produjo 46,2 Mill. hl, por delante de Italia, con 44,4 Mill. hl y en tercer lugar España con 37 Mill. hl (OIV 2014). Por otro lado, la producción en el hemisferio sur y en Estados Unidos en este mismo año siguió aumentando respecto del año anterior: Argentina, 15,2 Mill. hl (+1 % / 2013); Nueva Zelanda 3,2 Mill. hl (+29 % / 2013); Sudáfrica, 11 Mill. hl (+4 % / 2013) y Estados Unidos (22,5 Mill. hl) (OIV 2014).

Los datos disponibles sobre el consumo de vino muestran una consolidación del consumo global en 2014 estimado en aproximadamente 243 Mill. hl, que es claramente inferior a la producción. Pero es destacable que este incremento ya no está impulsado por los países tradicionalmente productores y consumidores de vino, sino por la emergencia y el desarrollo de nuevos polos de consumo. Así, el periodo 2000-2013 se ha caracterizado por una modificación del mapa del consumo de vino: actualmente, en torno a un 39 % del consumo se localiza fuera de los países de la Unión Europea, respecto al 31 % del año 2000.

La situación nacional según La Encuesta de Superficies y Rendimientos de cultivos en España (ESYRCE 2014) recoge una importante superficie de viñedo para vinificación (963644ha), que representa el 5,8% de la superficie de cultivo nacional. En la distribución de la superficie por Comunidades Autónomas, Extremadura ocupa el segundo lugar con el 8,6% por delante de C. Valenciana (7,2%), Castilla y León (6,7%), Cataluña (5,7%) y la Rioja (5,1%) y sólo por detrás destaca Castilla la Mancha (48,8%). En el resto de CCAA no se llega al 5% de representatividad.

La variedad ‘Tempranillo’ cuyo origen genético es Albillo Mayor y Benedicto (Ibáñez et al. 2012), contempla 66 sinónimos en el Catálogo Internacional de Variedades de Vid y de entre ellos los más desatacados son ‘Tempranillo’ ‘Rioja’; ‘Tinta de Toro’; ‘Tinto del País’; ‘Tinto Fino’; ‘Ull de Llebre’; ‘Vid de Aranda’; ‘Albillo’; ‘Aragonés’; ‘Aragonesa’; ‘Arauxa’; ‘Cencibel’; ‘Chinchillana’; ‘Escobera’; ‘Garnacha de Logroño’; ‘Genciber’; ‘Jacibera’; ‘Tinta Fina’; ‘Tinta Madrid’; ‘Piñuela’; ‘Tinta Roriz’ y ‘Aragonez’ en Portugal y ‘Valdepenas’ en California. Es la primera variedad de uva tinta de nuestro país y la segunda incluyendo las blancas, tras ‘Airén’. Según datos oficiales del MAGRAMA y la Subdirección General de Estadística 2014, en España hay una superficie total de 201035 ha de viñedo variedad ‘Tempranillo’, cerca de un 20% de superficie total del viñedo en España, que supone el 87% de superficie mundial (232000 ha). En Extremadura, ‘Tempranillo’ ocupa una superficie de 21348 ha lo que equivale al 26% de la superficie total de la región.

El cultivo sigue siendo mayoritariamente de secano, sin embargo, la superficie de regadío ha aumentado de forma continua desde la derogación (Ley 8/96), hasta la actualidad. De las 83055 ha de viñedo de Extremadura, se riega 20994 ha (el 25,5%), siendo casi en exclusiva con riego localizado por goteo (94,9%), lográndose una alta eficiencia en la aplicación del agua. Esta transformación ha venido casi paralela, con un cambio radical en el sistema de conducción iniciado en los años 90, pasando del sistema tradicional en vaso a un sistema con guiado vertical de los pámpanos en espaldera. Este sistema de conducción, continua en incremento y así, de las 954020 ha de viñedo en España el 29,9% (285359 ha)

está en espaldera. En Castilla la Mancha se encuentra casi al 50% de la superficie con este sistema de España y en Extremadura el 18,7% (ESYRCE 2012).

### C. El cultivo de la vid

La vid (*Vitis vinifera*) pertenece a la familia Vitaceae, que comprende alrededor de 60 especies de *Vitis* salvajes inter-fériles distribuidas en Asia, América del Norte y Europa en condiciones climáticas subtropical, mediterránea y continental templada donde la temperatura media anual no desciende de los 9 °C. Es la única especie de la familia que ha adquirido un significativo interés económico a lo largo del tiempo; algunas otras especies, por ejemplo la *V. rupestris* norteamericana, *V. riparia* o *V. berlandieri*, se utilizan como portainjertos debido a su resistencia contra los agentes patógenos de la vid, como la filoxera, oídio y mildiu.

Es una planta de tipo arbustivo, con tallos leñosos y trepadores, con zarcillos opuestos a las hojas, hojas alternas y generalmente estipuladas. Posee además, flores pequeñas, pares y en general hermafroditas, inflorescencia en racimos compuestos, frutos en bayas, semillas con testa dura y compuestas.

En la vid, la brotación se produce debido a la acumulación de horas frío (Kliewer y Soleimani 1972), necesitando entre 150 y 1200 horas en función de la variedad (Westwood 1982; Lyon et al. 1989). En términos generales puede afirmarse que los requerimientos de la vid son inferiores a la mayoría de los frutales de hoja caduca (Lyon et al. 1989). Por otro lado, para la correcta maduración, debe acumular unos 2000 grados-día (Williams y Ayars 2005), siendo de igual modo variable en función de la variedad.

En el ciclo vegetativo anual se distinguen las siguientes etapas:

a) *Lloro o llanto*: exudado de un líquido incoloro por heridas de poda. Que marca la salida del reposo invernal. En Extremadura se observa a mediados de marzo.

b) *Crecimiento*: desarrollo del pámpano donde se distinguen las distintas partes de la ramas y de los órganos que portan (entrenudo, hojas, zarcillos e inflorescencia).

c) *Maduración de la madera*: lignificación del pámpano que pasa a denominarse sarmiento, acompañada de un considerable almacenamiento del almidón. Esto le confiere al sarmiento buena resistencia al frío invernal, permitiendo una brotación normal en la primavera siguiente.

d) *Caída de hojas*: se observa tras la vendimia y se produce por la migración del almidón hacia la madera y termina la vida activa de la vid.

Estos procesos fisiológicos, tienen una marcada regulación genética. Sin embargo, factores como el clima o diferentes prácticas culturales empleadas durante su desarrollo como el riego, despuntes o aplicaciones de reguladores de crecimiento, pueden modificar este comportamiento genético.

Por otra parte, el ciclo reproductivo de la vid es bianual de forma que las bayas cosechadas en agosto-septiembre (en Extremadura) se inician después de la floración del año anterior (salvo las que aparecen en los nietos en el año de cosecha), con las siguientes fases:

*a) Inducción y diferenciación floral:* tras la floración, algunas células vegetales pasan del estado vegetativo ordinario al estado reproductivo. Poco después aparecen los esbozos florales. Dicha diferenciación prosigue hasta la parada de la vegetación y se detiene en invierno, hasta reiniciarse con el desborre. En este momento la inflorescencia está completa y por lo tanto el volumen potencial de cosecha está definido.

*b) Floración:* se observa aproximadamente dos meses después del desborre, con unos diez días de duración desde la apertura del botón floral hasta la caída de la caliptra. En Extremadura tiene lugar a partir de mediados de mayo. Las bajas temperaturas, o el vigor excesivo, favorecen la caída de flores dando como resultado un fenómeno denominado “corrimiento”.

*c) Cuajado:* paso de la flor a fruto. Proceso fisiológico en el que se determina en gran medida la producción final en vendimia.

*c) Maduración:* se inicia con el cambio de color de la piel y la pulpa en variedades tintoreras, se produce la acumulación rápida de azúcares acompañada de un descenso progresivo de la concentración de ácidos orgánicos contenidos en las bayas y de la maduración de las pepitas y hollejos.

La baya es el tipo más común de fruto carnoso simple, que en el caso de la uva, madura en un pericarpio comestible. El ovario es siempre súpero en estas flores que tienen uno o más carpelos dentro de una cubierta fina y con interiores carnosos. Las semillas están encajadas en la pulpa y proceden de un ovario que es simple o multicarpelado.

En la uva pueden diferenciarse las siguientes partes:

*a) La piel u hollejo:* En esta parte se encuentran la mayor parte de los compuestos colorantes, antocianos y flavonoles, que se localizan en las vacuolas de las células del hollejo. En el hollejo existe un gradiente positivo de concentración desde el exterior hacia el interior; las células más próximas a la pulpa son las más ricas en antocianos (Possner and Kliewer, 1985). Está rodeado de una capa cérea denominada pruina.

*b) La pulpa:* Podemos distinguir tres zonas en función del contenido mayoritario de los diferentes compuestos. Una primera zona cercana a las semillas, zona central, donde se encuentra la mayor concentración de azúcares y ácido málico. Una zona intermedia que también tiene un alto contenido en azúcar y ácido tartárico y una tercera zona periférica próxima al hollejo donde se encuentran algunos de los compuestos responsables de los aromas varietales, potasio, oxidadas, compuestos responsables de la astringencia, acidez y azúcar (Possner and Kliewer, 1985).

*c) Las pepitas:* Proceden de la fecundación del óvulo por el polen en la reproducción sexual. Se encuentran dentro de la pulpa y difieren en volumen y en cantidad en función de la variedad, excepto en las variedades apirenas. Los taninos son abundantes en las pepitas, que presentan entre el 50% y el 90% de las proantocianidinas totales. Junto con los hollejos es la parte donde se localizan los compuestos fenólicos.

*d) Sistema vascular:* La uva, está recorrida por un sistema vascular que entra en la baya través de pedicelo y se prolonga hasta un engrosamiento denominado “pincel” a partir del cual se diferencian en redes periféricas, conducto vascular central y ovular que comunica con las semillas.

#### **D. La viticultura de climas semi-áridos**

El cultivo de la vid en zonas cálidas y secas puede afectar al crecimiento de la baya así como a su composición, y por lo tanto la de sus vinos, y en particular a los compuestos fenólicos. Altas temperaturas durante la maduración provocan un desfases en la madurez de las uvas, dificultando en ocasiones la obtención de uvas con taninos suficientes y maduros y con buenas sensaciones gustativas y aromáticas necesarias para vinos de calidad (Mira de Orduña 2010). Estas condiciones son las que dominan en buena parte de las zonas vitivinícolas españolas y han condicionado tradicionalmente la viticultura disminuyendo el potencial productivo, con rendimientos por hectárea bajos e irregulares, que en la mayoría de los casos, no han llevado asociado la obtención de uvas y mostos de una calidad deseada, lo que se ha visto traducido en una disminución del valor que estos vinos podrían llegar a alcanzar. Esta situación ha contribuido a frenar el desarrollo tecnológico de nuestra vitivinicultura, haciéndola menos competitiva frente a otros países productores.

El riego puede paliar en parte los efectos negativos de la aridez sobre el viñedo, evitando situaciones de sequía que limiten el desarrollo de la planta y por tanto la producción, regularizando las producciones y creando unas condiciones de microclima entorno al racimo más favorable para la maduración. No se puede olvidar, sin embargo, que existe una creciente

competencia por el agua, no solo porque el incremento previsto en la población mundial va a exigir aumentos en la superficie de regadío, sino que además, los modelos sobre cambio climático a nivel global, anuncian un incremento de la aridez, por lo que el déficit hídrico puede convertirse en el factor más limitante para la producción y la calidad de la uva (Jones et al. 2005). Por lo tanto, el regadío del futuro debe siempre situarse en el contexto de un uso eficiente del agua, que en el caso del viñedo debe ir acompañado de una gestión correcta de los volúmenes de agua disponibles valorando los períodos y niveles de estrés para preservar la calidad de los mostos. La adaptación a estos cambios, debe contemplar el aumento de la eficiencia en el uso del agua y la sostenibilidad de los recursos, según determina la Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 23/10/2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.

El desarrollo reproductivo de la viña se produce a lo largo de dos estaciones y la expresión genotípica del rendimiento potencial y la composición de las bayas está sujeta a los efectos de la climatología, así como de las prácticas agronómicas a lo largo de este periodo. La temperatura es uno de los factores más importantes que condicionan el desarrollo de la viticultura y delimitan las zonas vitícolas en el mundo (Winkler y Williams 1935) además de ser clave en la calidad de uvas y vino (Downey et al. 2006). La sucesión anual de estados fenológicos se ha visto acelerada por efecto del incremento de la temperatura asociada al calentamiento global (Keller 2010). El momento del envero es de particular importancia cuando un adelanto hace coincidir el periodo crítico de la maduración con las mayores temperaturas del año. A lo largo de la maduración se produce un incremento en la concentración de azúcares, aminoácidos y compuestos fenólicos (especialmente antocianidinas en uvas tintas) mientras disminuye la acidez (principalmente ácido málico) con el consiguiente incremento del pH. En climas cálidos, la mayoría de las variedades de uva llegan a alcanzar suficientes niveles de sólidos solubles para obtener vinos de alta calidad, pero no ocurre así en relación con el color, ya que temperaturas elevadas durante la maduración desacoplan la producción de los antocianos y los azúcares en las bayas, con consecuencias negativas en el balance entre color y alcohol en los vinos (Sadras y Moran 2012). Por otra parte, disminuye la acidez con el consiguiente incremento del pH y aumenta la concentración de aminoácidos (Pereira et al. 2006), pero disminuyen ciertas vitaminas, lo que en conjunto puede dificultar los procesos de fermentación (Hage et al. 2008), perdiendo además aromas varietales. La calidad del vino está muy relacionada con altas concentraciones de compuestos fenólicos que se asocian con el color, sabor y beneficios para la salud (Keller 2010).

El agua es el principal factor de producción en la viticultura de zonas semiáridas, ya que la mayor parte del periodo vegetativo coincide con el de escasez de lluvias y altas temperaturas. En estas condiciones el riego incrementa considerablemente las producciones, manteniendo la actividad fotosintética en las hojas y por tanto la acumulación de azúcar y minorando la pérdida de acidez durante la maduración. A pesar de que existen numerosos trabajos en los que se ha evaluado el efecto del riego sobre la composición de la uva (Bravdo et al. 1985; Freeman and Kiewer 1983; Ginestar et al. 1998; McCarthy 1997; Petrie et al. 2004; Salón et al., 2004) es complicado generalizar y extrapolar los resultados obtenidos en dichos ensayo a otras condiciones edafoclimáticas, prácticas de cultivo y variedades.

En las condiciones de cultivo de buena parte de las zonas vitivinícolas españolas las necesidades hídricas del viñedo son elevadas al situarse el ciclo de cultivo en un periodo de alta demanda evaporativa, similares a las de otras plantaciones frutales. Los valores de coeficiente de cultivo ( $K_c$ ) obtenidos en un lisímetro de pesada con el cultivar Tempranillo en espaldera en Extremadura fueron superiores a 1 para coberturas del suelo por encima del 80% (Picón-Toro et al. 2012), similares a los obtenidos en la variedad Thompson Seedless en un lisímetro situado en el Valle de San Joaquín en California (William y Ayars 2005). En ambos casos la relación obtenida entre índice e área foliar (LAI) y  $K_c$  fue similar a pesar de que existían diferencias notables entre sistemas de cultivo. Sin embargo, en Albacete se obtuvo para la variedad Tempranillo valores de  $K_c$  sensiblemente más bajos (con máximo de 0.75), con un sistema de formación similar al de Extremadura, pero en este caso las coberturas del suelo no superaron 45%, siendo la relación entre cobertura de suelo y  $K_c$  similar a la obtenida en Extremadura (López-Urrea et al. 2012). Dado que la transpiración de un huerto depende principalmente de la radiación interceptada por las plantas, la relación obtenida entre la transpiración y la fracción de radiación interceptada sería extrapolable a otras condiciones de cultivo, sobre todo si la climatología es similar.

El riego produce un aumento de la producción al incrementar la capacidad de asimilación de  $\text{CO}_2$ . Sin embargo, lleva asociado también un mayor crecimiento de los pámpanos y hojas, lo que no es siempre recomendable. El solapamiento de distintas capas de hojas, disminuye la penetración de radiación dentro de la cubierta vegetal, disminuyendo la capacidad fotosintética de las capas inferiores de hojas. Por otra parte, al disminuir la iluminación e incrementarse la humedad relativa, no solo por la propia evaporación del suelo húmedo, sino también por la propia transpiración de la planta, se favorece la aparición y desarrollo de enfermedades, y complica la penetración de los tratamientos fitosanitarios. Por último, un exceso de vigor vegetativo, puede favorecer la competencia con los racimos,

limitando el crecimiento de los mismos y afectando a los procesos de maduración, además de incrementar los costes de poda.

El crecimiento vegetativo es más sensible al déficit hídrico que el productivo (Hsiao 1973; Williams and Matthews 1990), por lo que dosis moderadas de riego, por debajo de las necesidades del cultivo, inducen cierto déficit hídrico, que permite controlar el vigor y los rendimientos (Matthews y Anderson 1988; Yuste 1995; García-Escudero et al. 2000; Cuevas 2001; Kennedy et al. 2002; Chaves et al 2007; Intrigliolo y Castel 2010). El estado fenológico en el que se induce el déficit hídrico, así como la severidad del estrés, provocan respuestas diferentes en la planta. Así, cuando se aplica el estrés hídrico en las etapas mas tempranas del desarrollo, afecta a la longitud de los brotes aunque puede también limitar de forma irreversible el potencial productivo de las cepas de la campaña actual (Williams y Matthews 1990), e incluso de la campaña siguiente si es lo suficientemente temprano e intenso como para afectar a los procesos de iniciación y diferenciación de las yemas fructíferas (Alleweldt y Iter 1969). Sin embargo, cuando el déficit hídrico afecta al periodo de maduración, tras el envero, el efecto sobre el desarrollo vegetativo y la producción es menor (Girona et al. 2009, Intrigliolo y Castel 2010).

Un aspecto muy importante es cómo afecta el estado hídrico de las cepas en los diferentes estados fenológicos a las características de los mostos, sin embargo es aquí donde existe una mayor disparidad en los resultados de trabajos realizados en diferentes zonas productoras del Mundo, posiblemente debido los diferentes escenarios edafoclimáticos y a factores genéticos de determinan la respuesta varietal. Buena parte de los trabajos publicados, coinciden en afirmar que para uvas tintas para vinificación, el déficit hídrico antes del envero, mejora la composición de los mostos en vendimia al aumentar la concentración de azúcar y antocianos (Matthews y Anderson 1988; Wample y Smithyman 2002; Intrigliolo y Castel 2010), mientras que otros subrayan el déficit después de envero como el periodo mas interesante para mejorar la vendimia (Roby et al. 2004, Castellarin et al. 2007 y Girona et al. 2009). La respuesta no es sencilla ya que las características de los mostos las determinan un conjunto de compuestos que interaccionan entre sí de forma que el resultado final depende no solo de las concentraciones individuales de cada uno de ellos sino de las proporciones. El déficit hídrico afecta de forma diferencial a cada compuesto según el momento e intensidad de la sequía y a la proporción en la baya de cada una de las partes de la misma (hollejo, pepitas y pulpa). Ante esta situación, los estudios a nivel local cobran gran importancia, ya que es la única forma de conocer el efecto que tendrá un déficit hídrico variable sobre la producción y composición de la vendimia de una variedad concreta.

Con carácter general, se considera que altas producciones en el viñedo dan lugar a mostos de baja calidad, ya que los azúcares y compuestos fenólicos disminuyen (Holzapfel et al. 1999). Sin embargo, este efecto parece estar más relacionado con el equilibrio entre el área foliar y la producción, que con la cantidad de fruta producida (Jackson 2008) y según Kliewer y Dokoozlian (2005) son necesarios ratios entre área foliar:producción por cepa entre 7 y 14 cm<sup>2</sup> Kg<sup>-1</sup> para una correcta maduración de la uva. Este rango, aunque se pueda tomar como orientativo, dependerá en buena medida de las condiciones agroclimáticas y se verá también condicionado por la capacidad de asimilación de la cubierta que como ya hemos visto, depende en buena medida del estado hídrico, además del sanitario de la vegetación.

En ciertos casos, se considera necesario el control de la producción para obtener una composición del mosto acorde con los objetivos de vendimia, siendo el aclareo de racimos una de las que más habitualmente se utiliza. Esta técnica consiste en la eliminación de parte de los racimos desarrollados en la planta, y puede aumentar la concentración de azúcares y compuestos fenólicos aunque también disminuir la acidez titulable (Ough y Nagaoka 1984; Poni et al. 1994; Valdés et al 2009; Intrigliolo y Castel 2011). La pérdida de producción suele ser proporcional al número de racimos eliminados, aunque en ocasiones puede verse compensada parcialmente por el aumento del peso del racimo y bayas (Fregoni y Corazzina 1984; Carbonneau et al. 1977). Pero una vez más los resultados dependerán de la variedad (Bravdo 1996), de la intensidad del aclareo realizado (Yuste et al. 1997) y sobre todo, del momento o estado fenológico en el que se realicen (Chapman et al. 2004).

La compensación de producción es mayor cuando el aclareo de racimos se realiza en etapas tempranas del desarrollo de la baya, incrementándose además la madera de poda (Poni et al. 1994; Intrigliolo y Castel 2011), mientras que Keller et al. (2005) no observaron incremento en el peso de los racimos con aclareos realizados en envero. Tanto el efecto compensatorio sobre la producción, como los cambios en la composición, se deben a una reducción en la competencia por asimilados con otros racimos, pero también puede intervenir cierta mejora del estado hídrico de la planta al reducir la carga. Un efecto de este tipo se ha observado en melocotonero (Girona et al. 2004) y ciruelo (Gucci et al. 1991) aunque en ocasiones sólo de manera temporal. Los resultados obtenidos en viñedo han sido variables ya que Naor et al. (1997), encontraron que al reducir la carga de un viñedo de 'Sauvignon Blanc' disminuyó la fotosíntesis en hoja, pero sin modificar el estado hídrico de la vid, mientras que Poni et al. (1994), no observaron efecto ni sobre la fotosíntesis, ni sobre el estado hídrico. Sin embargo, Olivo (2007), encontró un efecto tanto sobre la tasa de asimilación fotosintética como del estado hídrico pero solo al eliminar todos los racimos de la cepa.

En cuanto a la composición del mosto, mientras que algunos estudios han apuntan que el aclareo de racimos aumentó la concentración de azúcares y antocianos, (Poni et al. 1994; Intrigliolo y Castel 2011) otros han llegado a la conclusión de que este efecto es leve o inexistente (Ough y Nagaoka 1984; Guidoni et al. 2002; Keller et al. 2008, 2005) y en ocasiones solo consiste en un adelanto de la madurez de la uva.

A pesar de que el peso de la baya es un carácter varietal, puede verse afectado en buena medida por factores ambientales y por las prácticas de cultivo (Ojeda et al. 2002; Deloire et al. 2005; Downey et al. 2005; Petrie y Clingeleffer 2006; Castellarin et al. 2007; Bindon et al. 2008; Guidoni et al. 2008; Holt et al. 2008; Tarara et al. 2008; Hunter et al. 2010; Intrigliolo y Castel 2011). Uno de los efectos del déficit hídrico es la reducción en el tamaño de la baya, que en el caso de uvas tintas se ha relacionado con una mejora en la calidad de los mostos resultantes para la vinificación. Aunque se considera que una reducción del tamaño en sí misma puede mejorar la composición fenólica del mosto al incrementar la proporción de hollejo, frente a la pulpa (Singleton 1972; Galdstones 1992; Hardie et al. 1997). Sin embargo, el resultado final va a depender de la proporción entre las distintas parte de la baya y de la concentración de los compuestos en cada una de ellas. Por tanto, el efecto del déficit hídrico, sobre los procesos que determinan la multiplicación y expansión celular y la síntesis de los diferentes compuestos, son los que van a explicar la respuesta. Por otra parte, el aclareo de racimos es otra práctica cultural en el viñedo que puede incidir sobre el peso de la baya y en este caso el mayor tamaño puede ir acompañado de un aumento en la concentración de azúcares y compuestos fenólicos (Poni et al. 1994).

El tamaño de la baya y su composición, varía dentro de un mismo racimo (Pisciotta et al. 2014). Entre los factores que pueden contribuir a esta variabilidad están los intrínsecos al propio racimo como son, la arquitectura del racimo, el desarrollo secuencial de las diferentes partes de la baya condicionado por la polinización y la competencia entre ellas (Fernandez et al. 2006; Gray 2006); y por otra parte, los derivados de la posición que ocupa el racimo dentro de la planta y microclima del racimo (Tarter y Keuter 2005; Trought et al. 1997; Poni et al. 2008). Gray (2002), determinó que la variación en la masa de la baya, ocurría desde la floración apenas 4 –5 días antes de la caída de la caliptra, lo que ponía de manifiesto que los eventos previos a la floración afectan ya a la división y multiplicación de los primordios florales (Coombe 1973). Así las diferencias las curvas de crecimiento se hace evidente poco después de la floración y son responsable de las diferencias entre las bayas en la cosecha (Pisciotta et al. 2012).

La posición que ocupa la baya dentro del racimo juega también un papel importante en las características individuales de las mismas. Parece ser que las bayas que ocupan posiciones más “favorables” son las que se sitúan en la parte superior e interna del racimo, de forma que tienen más tamaño, concentración de azúcares y antocianos que las localizadas en la punta del racimo y en posiciones más externas, con un gradiente decreciente de arriba-abajo y de dentro-fuera (Tarter y Keuter 2005; Yuste 2009; Pisciotta et al. 2013). Esta variabilidad intra e inter-racimos no siempre es tenida en cuenta en procesos de muestreo para caracterización de las propiedades físicas y químicas de las bayas y puede llegar a condicionar los resultados obtenidos, si criterio de muestreo se establece en función de parámetros subjetivos adoptados por la persona que lo realiza.

## **E. Planteamiento y objetivos**

El viñedo en Extremadura ha sufrido una drástica transformación desde el año 1997 en que se derogó la que prohibía el riego del viñedo en España (Ley 8/96), pasando de una viticultura tradicional de secano, con variedades blancas, hasta una viticultura moderna de regadío con sistemas de formación más intensivos en espaldera y un especial protagonismo de la variedad tinta ‘Tempranillo’. Esta transformación ha sido rápida sin una necesaria adaptación de los sistemas a unas condiciones productivas bien diferentes de las zonas de origen y aunque ha incrementado de forma espectacular las producciones ha aumentado considerablemente los costes de producción y ha planteado dudas sobre el impacto sobre la calidad de los mostos para obtención de vinos tintos. La base genética, junto con las condiciones agroclimáticas condicionan poderosamente los resultados que se obtienen con la aplicación de una determinada técnica de cultivo. Este trabajo se refiere a dos aspectos fundamentales de la fisiología del viñedo que comprometen tanto a la producción como a la calidad de las vendimias, como son el estado hídrico y el equilibrio entre la vegetación y producción.

El mercado del vino es único en relación con el de otras bebidas obtenidas a partir de zumo de frutas, ya que el valor del producto está fuertemente condicionado por la obtención de un nivel de calidad en el producto final que tiene un alto grado de subjetividad, en el que intervienen tanto factores fisicoquímicos, como culturales y de marketing. Esto ha hecho que la búsqueda de la “calidad” se convierta en un objetivo de tal magnitud que ha llevado a la adopción de sistemas de producción y prácticas de cultivo, que a pesar de ser costosas, tanto por pérdidas de cosecha, como por aumento de costes, no están avaladas por resultados

concluyentes en cuanto a las mejoras que se obtienen. Este sería el caso del aclareo de racimos, la separación de los racimos en vendimia en “hombros” y “puntas” o la clasificación de las bayas por tamaño en la entrada en bodega.

El objetivo de este trabajo es obtener información en relación a la respuesta al riego y aclareo de racimos del cultivar ‘Tempranillo’ para las condiciones semiáridas del suroeste español. Esta información actuará como base para proponer un sistema de cultivo adaptado a estas particulares condiciones agroclimáticas que permitan compaginar, producción y calidad, cumpliendo con las exigencias de rentabilidad y eficiencia en el uso de los medios de producción. Este objetivo general se concreta en los siguientes objetivos parciales:

- Determinar cómo afectan diferentes niveles de reposición hídrica mantenida a lo largo del ciclo de cultivo, al desarrollo vegetativo y reproductivo de la variedad ‘Tempranillo’ (CAPÍTULO I).
- Conocer la respuesta productiva de la vid al aumentar la relación fuente-sumidero, mediante el aclareo de racimos realizado en envero (CAPÍTULO I).
- Determinar la interacción entre los factores riego y carga en los componentes del rendimiento (CAPÍTULO I).
- Determinar cómo evoluciona la maduración según el estado hídrico de la cepa y su nivel de carga, así como la interacción a la evolución de la maduración y características de los mostos (CAPÍTULO II).
- Conocer cómo afecta la posición de la baya dentro del racimo a las características físicas y químicas de la misma y evaluar el impacto sobre el mosto (CAPÍTULO III).
- Caracterizar la variabilidad del peso de bayas en un viñedo de la variedad Tempranillo, y la influencia del riego y nivel de carga sobre dicha variabilidad (CAPÍTULO III).
- Establecer la relación entre el peso de baya y la composición y la interacción con el estado hídrico y nivel de carga (CAPÍTULO III).

## F. Referencias

- Alleweldt, G., and E. Ilter. 1969. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Blütenbildung und Triebwachstum bei Rebe. *Vitis* 8: 286-313.
- Bindon, K.A., Dry, P.R. and Loveys, B.R. 2008. The interactive effect of pruning level and irrigation strategy on grape berry ripening and composition in *Vitis vinifera* L. cv Shiraz. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 29 (2), 71-78.
- Buxó, R. 2008. The agricultural consequences of colonial contacts on the Iberian Peninsula in the first millennium BC. *Vegetation History and Archaeobotany*, 17(1), 145-154.
- Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S. and Tabacman, H. 1985. Effect of irrigation and crop level on growth, yield and wine quality of var. Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* 36: 132-139.
- Castellarin, S.D., Matthews, M.A., Di Gaspero, G. and Gambetta, G.A., 2007. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta* 227, 101-112.
- Chapman, D. M., Matthews, M. A., and Guinard, J. X. 2004. Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different crop yields. *Am. J. Enol. Vitic.* , 55(4), 325-334.
- Chaves, M. M., Santos, T. P., Souza, C. R. D., Ortúñoz, M. F., Rodrigues, M. L., Lopes, C. M., ... and Pereira, J. S. 2007. Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology*, 150(2), 237-252.
- Cuevas, E. 2001. Estudio de mecanismos de adaptación ecofisiológica de la vid (*Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo) al déficit hídrico: Evaluación del consumo de agua y de las respuestas agronómicas en diferentes regímenes hídricos. Universidad Politécnica de Madrid. [Tesis doctoral].
- Deloire, A., Ojeda, H., Zebic, O., Bernard, N., Hunter, J.J. and Carbonneau, A. 2005. Influence de l'état hydrique de la vigne sur le style de vin. *Progrès Agric. Vitic.* 21, 455-461.
- de Orduna, R. M. 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*, 43(7), 1844-1855.
- Díaz González, Marcelino. 2009. Historia de la vid y el vino en Extremadura. La agricultura y la ganadería extremeñas. ISBN 978-84-88956-99-6, págs. 263-278
- Downey, M.O., Dokoozlian, N.K. and Krstic, M.P. 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *Am. J. Enol. Vitic.* 57, 257-268.

- Freeman, B. M., & Kliewer, W. M. 1983. Effect of irrigation, crop level and potassium fertilization on Carignane vines. II. Grape and wine quality. Am. J. Enol. Vitic, 34(3), 197-207.
- García-Escudero Domínguez, E., López Martín, R., Santamaría Aquilúe, P., and Zaballa Ogueta, O. 2000. Yield control in vineyards with drop irrigation. *Viticultura Enología Profesional (España)*.
- Ginestar, C., Eastham, J., Gray, S., and Iland, P. 1998. Use of sap-flow sensors to schedule vineyard irrigation. II. Effects of post-veraison water deficits on composition of Shiraz grapes. Am. J. Enol. Vitic, 49(4), 421-428.
- Girona, J., Marsal, J., Mata, M., Del Campo, J., and 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(3), 268-277.
- Gucci, R., Xiloyannis, C. and Flore, J.A. 1991 Gas exchange parameters, water relations and carbohydrate partitioning in leaves of field-grown *Prunus domestica* following fruit removal. *Physiologia Plantarum*. 83:497-5005.
- Guidoni, S., Ferrandino, A. and Novello, V. 2008. Effects of seasonal and agronomical practices on skin anthocyanin profile of Nebbiolo grapes. Am. J. Enol. Vitic. 59, 22-29.
- Hagen, K. M., Keller, M., and Edwards, C. G. (2008). Survey of biotin, pantothenic acid, and assimilable nitrogen in winegrapes from the Pacific Northwest. American journal of enology and viticulture, 59(4), 432-436.
- Hardie, W.J., O'Brien, T.P. and Jaudzems, V.G. 1997 Cell biology of grape secondary metabolism- a viticultural perspective. Proceedings of the Ninth Australian Wine Industry Technical Conference (Australian Wine Industry Technical Conference Inc: Adelaide, SA) pp. 78-82.
- Hsiao TC. 1973 Plant responses to water stress. Ann Rev Plant Physiol 24:519–570.
- Holt, H.E., Francis, I.L., Filed, M.J., Herderich, M.J. and Iland, P.G. 2008. Relationships between berry size, berry phenolic composition and wine quality score for Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) from different pruning treatments and different vintages. Aust. J. Grape and Wine Res. 14, 191-202.
- Holzapfel, B. P., Rogiers, S., Degaris, K., and Small, G. 1999 Ripening grapes to specification: effect of yield on colour development of Shiraz grapes in the Riverina. Aust. Grapegrower Winemaker 428, 24, 26–28

- Hunter, J.J., Volschenk, C.G. and Bonnardot, V., 2010. Linking grapevine row orientation to a changing climate in South Africa. In Proc. Intervitis Interfructa Congress, Stuttgart, Germany, pp. 60-70.
- Ibáñez, J., Muñoz-Organero, G., Zinelabidine, L. H., de Andrés, M. T., Cabello, F., and Martínez-Zapater, J. M. 2012. Genetic origin of the grapevine cultivar Tempranillo. Am. J. Enol. Vitic. , ajev-2012.
- Intrigliolo, D. S., and Castel, J. R. 2011. Interactive effects of deficit irrigation and shoot and cluster thinning on grapevine cv. Tempranillo. Water relations, vine performance and berry and wine composition. *Irrig. Sci.*, 29(6), 443-454.
- Intrigliolo, D. S., and 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. *Irrig. Sci.*, 28(2), 113-125.
- Jackson, R. S. (2008). *Wine science: principles and applications*. Academic press.
- Jones, G. V., White, M. A., Cooper, O. R., and Storchmann, K. 2005. Climate change and global wine quality. *Climatic change*, 73(3), 319-343.
- Keller, M. 2010. Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(s1), 56-69.
- Kennedy, J. A., Matthews, M. A., and Waterhouse, A. L. 2002. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *Am. J. Enol. Vitic.* , 53(4), 268-274.
- Kliewer W.M. and A. Soleimani. 1972. Effect of chilling on budbreak in Thompson seedless and Carignan grapevines. *Am. J. Enol. Viticult.* 23:31-34.
- Kliewer, W. M., and Dokoozlian, N. K. 2005. Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.* , 56(2), 170-181.
- 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. *Agr. water management*, 112, 13-20.
- Lyon S., M., S. Poller R., M. Rodríguez-Cano S. 1989. Evolución del letargo de yemas en seis especies frutales en relación al frío y tratamiento con tiourea o cianamida. 82 p. Tesis de Ing. Agrónomo. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago, Chile.

- McCarthy, M. G. 1997. The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera L.*). *Aust. J. Grape and Wine Res.*, 3(3), 2-8.
- Matthews, M. A., and Anderson, M. M. 1988. Fruit ripening in *Vitis vinifera L.*: responses to seasonal water deficits. *Am. J. Enol. Vitic.*, 39(4), 313-320.
- Naor, A.; Gal, Y. and Bravdo, B. 1997 Crop load affects assimilation rate, stomata conductance, stem water potential and water relations of field-grow Sauvignon Blanc grapevines. *Journal of Experimental Botany* 48(314):1675-1680.
- Núñez, D. R., and Walker, M. J. 1989. A review of palaeobotanical findings of early *Vitis* in the Mediterranean and of the origins of cultivated grape-vines, with special reference to new pointers to prehistoric exploitation in the western Mediterranean. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 61(3), 205-237.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carboneau, A., and Deloire, A. 2002. Influence of pre-and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *Am. J. Enol. Vitic.*, 53(4), 261-267.
- Olivo Brito, Natalia. 2007. Diagnóstico del estado hídrico de la viña (*vitis vinifera L.*) y puesta a punto del potencial hídrico de tallo como indicador para la programación de riego. Tesis doctoral. Universitat de Lleida. Departament de Producció Vegetal i Ciència Forestal.
- Ough, C. S., and Nagaoka, R. 1984. Effect of cluster thinning and vineyard yields on grape and wine composition and wine quality of Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.*, 35(1), 30-34.
- Pereira, G. E., Gaudillere, J. P., Pieri, P., Hilbert, G., Maucourt, M., Deborde, C., ... and Rolin, D. 2006. Microclimate influence on mineral and metabolic profiles of grape berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6765-6775.
- Petrie, P.R. and Clingeleffer, P.R., 2006. Crop thinning (hand versus manual), grape maturity and anthocyanin concentration: Outcomes from irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) in a warm climate. *Aust. J. Grape and Wine Res.* 12, 21–29.
- Picón-Toro, J., González-Dugo, V., Uriarte, D., Mancha, L. A., and Testi, L. 2012. Effects of canopy size and water stress over the crop coefficient of a “Tempranillo” vineyard in south-western Spain. *Irrig. Sci.*, 30(5), 419-432.
- Pisciotta, A., di Lorenzo, R., Barbagallo, M. G., and Hunter, J. J. 2014. Berry Characterisation of cv Shiraz According to Position on the Rachis. *S. Afr. J. Enol.*, 34(1).

- Pisciotta, A., Abruzzo, F., Barbagallo, M.G., Santangelo, T. and Di Lorenzo, R., 2012. Ulteriori approfondimenti degli effetti della dimensione degli acini sulla qualità dell'uva nella cv Cabernet Sauvignon. *Italus Hortus* 3(1), 82-88.
- Poni, S., Lakso, A. N., Turner, J. R., and Melious, R. E. 1994. Interactions of crop level and late season water stress on growth and physiology of field-grown Concord grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* , 45(2), 252-258.
- Possner, D.R.E. and Kliewer, W.M. 1985. The localisation of acids, sugars, potassium, and calcium into developing grape berries. *Vitis* 24: 229-240.
- Roby, G., Harbertson, J.F., Douglas, A.A. and Matthews, M.A., 2004. Berry size and vine water deficits as factors in wine grape composition: Anthocyanins and tannins. *Aust. J. Grape and Wine Res.* 10, 100-107.
- Tarara, J.M., Lee, J., Spayd, S.E., and Scagel, C.F., 2008. Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin Merlot grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 59 (3), 235-247.
- 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(1), 1-8.
- Sadras, V. O., & Moran, M. A. (2012). Elevated temperature decouples anthocyanins and sugars in berries of Shiraz and Cabernet Franc. *Aust. J. Grape and Wine Res.*, 18(2), 115-122.
- Singleton, V. L. 1972. Effects on red wine quality of removing juice before fermentation to simulate variation in berry size. *Am. J. Enol. Vitic.* , 23(3), 106-113.
- Wample, R. L., and Smithyman, R. 2002. Regulated deficit irrigation as a water management strategy in *Vitis vinifera* production. In *Deficit irrigation practices*.
- Westwood, M. N. 1982. *Fruticultura de Zonas Templadas*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid,España. 267 p.
- Williams, L. E., and Matthews, M. A. 1990. *Grapevine*. In 'Irrigation of agricultural crops. *Agronomy monographs no. 30'.*(Eds BJ Stewart and DR Nielsen) pp. 1019–1055. ASA-CSSA-SSSA: Madison, WI.
- Williams L.E and J.E. Ayars. 2005. Grapevine water use and the crop coefficient are linear functions of the shaded area measured beneath the canopy. *Agric Meteor* 135:201–211.

- Winkler, A. J. W. O. Williams. 1935. Effect of seed development on the growth of grapes.  
In Proc. Amer. Soc. Hort. Sci (Vol. 33, pp. 430-434).
- Yuste, J., H. Pelaez, P. Baeza, C. Ruiz y J. Lissarrague. 1997. Consecuencias del nivel de poda y  
del sistema de conducción en el viñedo en regadio. Ensayos realizados en la Rivera del  
Duero. Agricultura: Revista Agropecuaria 66(779), 492-496.
- Yuste, J. 1995. Comportamiento fisiológico y agronómico de la vid (*Vitis vinifera L.*) en  
diferentes sistemas de conducción en secano y regadío. Universidad Politécnica de  
Madrid.
- Zohary, D., Hopf, M., and Weiss, E. (2012). Domestication of Plants in the Old World: The  
origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the  
Mediterranean Basin. Oxford University Press on Demand.





## *Chapter 1.*

# *Interactive Effects of Irrigation and Crop Level on 'Tempranillo' Vines in a Semi-Arid Climate.*

*Capítulo 1.*

*Efectos de la Interacción del Riego y el Nivel de Cosecha en Vid  
'Tempranillo' en Clima Semi-Árido*

*Este capítulo está publicado en la revista Am. J. Enol. Vitic. :*

*Uriarte, D., Intrigliolo, D. S., Mancha, L. A., Picón-Toro, J., Valdés, E., Prieto, M. H. (2014).  
Am. J. Enol. Vitic May 2015 66 (2):101-111*



## Chapter 1. Interactive Effects of Irrigation and Crop Level on 'Tempranillo' Vines in a Semi-Arid Climate.

### 1.1. Summary

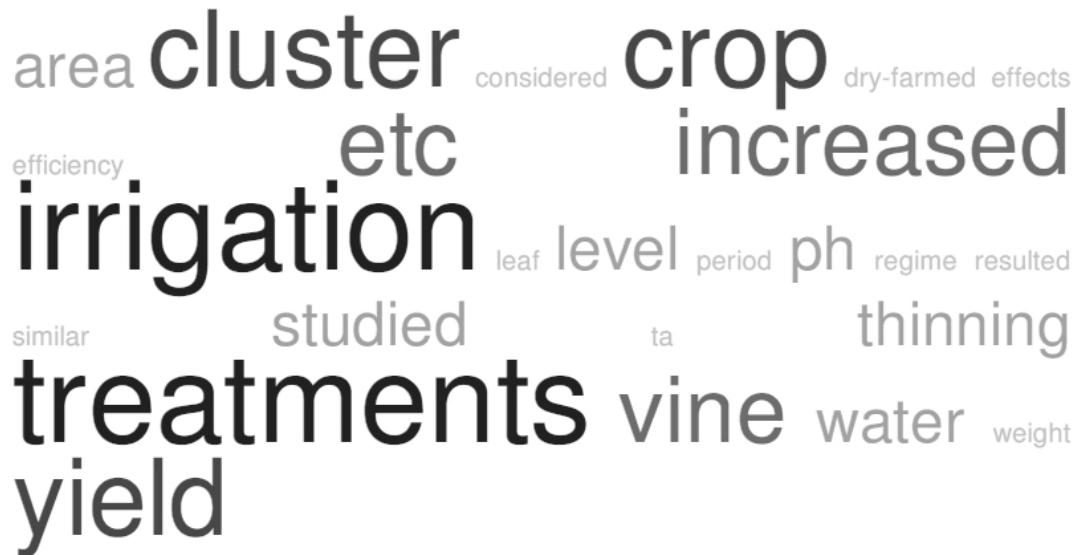
The effects of different irrigation and crop level regimes on grapevine var. Tempranillo performance in a Mediterranean climate were studied under field conditions over a four year period (2005-2008). Vines were subjected to three irrigated treatments providing 100%, 50% and 25% of crop evapotranspiration (ETc) plus a dry-farmed regime. In addition, two crop levels (high and low) established by veraison cluster thinning were studied for each of the treatments described. Increased irrigation doses resulted in higher yield and vine growth, although the 25% ETc treatment showed the highest irrigation water use efficiency with yields similar to the 50% ETc treatment. The short and long-term (following crop season) effects of the imposed treatments on some vegetative and productive parameters (i.e. the leaf area index and cluster weight) were related to vine water status, particularly when considering the pre-veraison period. Irrigation increased must titratable acidity (TA) but did not affect total soluble solids or pH. Cluster thinning resulted in a higher leaf area:yield ratio and lower yield even though a compensatory increment in cluster weight was observed at the low crop level treatments. For similar Brix, cluster thinning decreased TA and increased must pH, a negative feature since in the studied area must pH values are generally too high. Irrigation at 25% of ETc can be considered like a very worthwhile strategy for increasing yield against a dry-farmed vine, while at the same time maximizing water use efficiency without compromising grape composition.

### 1.2. Resumen

Los efectos de diferentes regímenes hídricos y nivel de carga de racimos sobre el desarrollo de la vid var. Tempranillo en clima Mediterráneo se estudiaron en condiciones de campo durante un período de cuatro años (2005-2008). Las cepas fueron sometidas a tres tratamientos de riego que proporcionaron el 100%, 50% y 25% de la evapotranspiración del cultivo (ETc) más un tratamiento de secano. Además, se estudiaron dos niveles de carga (alta y baja) establecidos mediante aclareo de racimos en envero para cada uno de los tratamientos descritos. El aumento de las dosis de riego produjo mayor rendimiento y crecimiento de la vid, aunque el tratamiento 25%ETc mostró la mayor eficiencia del uso del agua de riego con rendimientos similares al tratamiento 50%ETc. Los efectos a corto y largo plazo (en la campaña

siguiente) de los tratamientos aplicados sobre algunos parámetros vegetativos y productivos (el índice de área foliar y peso del racimo) fueron relacionados con el estado hídrico de la vid, sobre todo cuando se considera el período pre-envero. El riego aumentó la acidez titulable (TA) pero no afectó a los sólidos solubles totales ni al pH. El aclareo de racimos incrementó la relación área foliar:producción y disminuyó el rendimiento a pesar de que se observó un incremento compensatorio en el peso en racimo en los tratamientos de carga baja. Para un similar Brix, el aclareo de racimos disminuyó la TA y aumentó el pH, una característica negativa, ya que en el área de estudio los valores de pH son generalmente demasiado alto. El riego al 25% de la ETc puede ser considerado como una estrategia muy útil para incrementar el rendimiento frente al secano, a la vez que maximiza la eficiencia del uso del agua sin comprometer la composición de la uva.

### 1.3. Tag crowd



## 1.4. Introduction

Extremadura is a region located in the south-west of Spain where grapevine cultivation has traditionally been performed under dry-farming conditions. However, in recent years the amount of irrigated vineyard land has risen considerably as a result of growers' need to increase yield. Moreover, periods of low or no precipitation during plant growth and fruit set are occurring with more and more frequently in Mediterranean climate regions (Laget et al. 2008). Under these changing environmental circumstances, the irrigation practice is gaining importance.

According to Grimes and Williams (1990), there is a linear relationship between yield and vineyard evapotranspiration (ETc) when between 40% and 100% of ETc is replaced by means of irrigation. However, the application of 100% of water requirements could lead to imbalances in grape maturation (McCarthy 1997). For this reason, in semi-arid climatic conditions, deficit irrigation strategies can be used to obtain a higher yield than when using the dry-farming method while at the same time avoiding the possible detrimental effects of a full water regime on grape composition (Williams and Matthews 1990, Poni et al. 1994, Intrigliolo and Castel 2008, Girona et al. 2009).

The short-term effect of a soil water deficit is a reduction in vine growth. When water stress is applied early in the season, it can reduce shoot and rachis length and decrease irreversibly final berry size (Williams and Matthews 1990, Ojeda et al. 2001, Girona et al. 2009). Water stress also affects long-term yield as a result of the bud initiation and differentiation processes which take place within 5-7 weeks after bud break (Alleweldt and Iter 1969). In addition, water stress can directly influence cell division, photosynthesis and bud microclimate (Loveys and Kriedemann 1973). Therefore, crop season's yield will depend on the number of clusters initiated during the previous crop season, the number of flowers that develop after bud break, the number of berries set and the individual size of each berry. Girona et al. (2009) and Intrigliolo and Castel (2010) also reported that water deficits applied in early stages of the crop season had a greater effect on bud development than when applied later, and therefore a greater impact on the yield of the current and consecutive crop seasons.

A number of studies have been conducted on Tempranillo which have analyzed the effects of deficit irrigation when applied throughout the crop season or when limited to certain specific periods (Girona et al. 2009, Intrigliolo and Castel 2010). However, very few studies have compared deficit irrigation treatments with non-limiting irrigation treatments for this cultivar (Intrigliolo and Castel 2010, López-Urrea et al. 2012).

In semi-arid climates, the main goal when cultivating grapes for wine production should be to obtain the best grape composition with the highest possible yield while maximizing the available water resources. Numerous studies have shown that, a correct balance between vegetative growth and yield is necessary to achieve this goal (Howell 2001). This source-sink relationship is influenced by environmental factors as well as cultural practices aimed at modifying the yield level (Kliewer 1980, Poni et al. 1994). Cluster thinning is commonly used to balance the source-sink relationship, increasing the carbohydrate sources in relation to the sinks (Keller et al. 2005). The results obtained using this practice are far from conclusive, with some studies reporting fruit quality enhancement with higher polyphenol, anthocyanin and alcohol concentrations in the wine (Prajitna et al. 2007), while others did not find significant effects on grape composition (Keller et al. 2005). This apparent discrepancy may be due to differences in procedures used when applying cluster thinning (e.g. timing and intensity) and interactions with other physiological variables such as vine water status.

The aim of this present study was to investigate in cv. Tempranillo the short- and long-term combined effects of irrigation and cluster thinning treatments on water status, growth, yield, water use efficiency and basic grape composition under the semiarid conditions of Extremadura.

## 1.5. Materials and methods

### 1.5.1 Site description.

The experiment was conducted in Extremadura (south-west Spain) over four growing seasons (2005 to 2008) in a Tempranillo vineyard (*Vitis vinifera L.*) planted in 2001 on Ritter 110 rootstock at a spacing of 2.5 x 1.2 m (3,333 vine/ha). The vineyard was located in Guadajira (38°N, 6°W, altitude 198 m). Vines were trained in a vertical shoot positioning system oriented in a north-west to south-east direction. Six spurs per vine during 2005 and eight spurs per vine from 2006 to 2008, always with two buds per spur, were retained during winter pruning. All treatments were fertilized yearly with N, P and K at rates of 70, 40 and 94 kg/ha, respectively. Vineyard soil had a silt-loam texture with 37.3% sand, 25.5% clay, 36.1% silt and 1.1% of organic matter (average 0.0-1.6m of depth). Volumetric water content at field capacity was 0.30 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> and 0.16 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> at the permanent wilting point.

Budburst for Tempranillo in this area usually occurs by late March and anthesis by mid-May, veraison is reached by mid-July, harvesting takes place during early September and leaf fall is in late December. The cycle between budbreak and harvest takes an average of 163 days. Mean precipitation is 425 mm/year (1992-2011 data obtained from the CICYTEX weather

station), with almost all rainfall occurring between autumn and spring and extremely little over the summer period (June-September). Weather conditions and rainfall data were obtained using data from an agro-climate station located 100 m from the vineyard.

A split-plot experimental design was used with four replicates. Irrigation was the main factor and crop level the second factor within each irrigation regime. Each experimental plot consisted of six rows with 18 vines per row and 10 "control vines" were marked. The four irrigation treatments were comprised of dry-farmed vines (no applied water), 25ETc, 50ETc and 100ETc (vines irrigated at 25%, 50% and 100%, respectively of estimated ETc). The same treatments were applied during the previous crop season (2004). ETc was estimated as the product of reference evapotranspiration ( $ET_0$ ), calculated with the Penman-Monteith methodology, and a crop coefficient ( $K_c$ ). ETc,  $ET_0$  and  $K_c$  values are shown in Table 1. In 2005 and 2006, the  $K_c$  values used were based on the methodology of Allen et al. (1998) and in 2007 and 2008; they were obtained as the ratio  $ET_c/ET_0$ . ETc was measured with a weighting lysimeter set up in the experimental vineyard and using two vines. More details about lysimeter data collection and vine water use are reported in Picón-Toro et al. (2012).

Irrigation was initiated in all corresponding treatments when stem water potential ( $\Psi_{stem}$ ) reached a level of  $-0.8$  MPa. Irrigation was applied daily from Monday to Saturday and was terminated one week before harvest in 2005 and after harvest in mid-September from 2006 to 2008. Drip irrigation system had one line per vine row with pressure-compensated emitters of 4 L/h placed in a single row 60 cm apart. The total water applied in each treatment and the number of days of the irrigation season are shown in Table 1.1

Two crop levels were established for each treatment regime, unthinned (high crop level, high) and thinned (low crop level, low). Thinning was performed at the beginning of veraison and was based on leaving a single cluster per shoot.

### *1.5.2. Field determinations.*

Phenological stages were determined weekly using Eichhorn and Lorenz (1977) values. Water potential measurements were performed using a pressure chamber (Model Soil Moisture Corp., Santa Barbara, CA, USA) on one representative vine per experimental plot and two leaves per vine (a total of eight determinations per treatment).  $\Psi_{stem}$  determinations were performed weekly (normally on Wednesday) at midday (13:00 to 14:00 hr) on leaves bagged two hours previously. The water stress integral (WSI) for each treatment in each period of the year was calculated using the midday SWP data, through the equation defined by Myers (1988).

During the course of the season, leaf area index (LAI) was determined with a LAI-2000 plant canopy analyzer (LI-COR Inc., Lincoln, NE), measuring two vines per experimental plot (eight vines per treatment). Measurements were carried out just before dawn, under diffuse radiation using 270° view cap (LI-COR LAI-2000 Manual). An initial reference reading was taken above the canopy, and eight readings were taken below the canopy in order to cover the whole of the area of soil allotted per vine. In 2004 and 2007, at three different phenological stages (anthesis, veraison and postharvest), whereby LAI determinations were calibrated and this the equation was obtained:  $y = 3.1076 x + 0.0198$  ( $r^2=0.96$ ).  $x$  values correspond to field measurements using the LAI-2000 analyzer and the  $y$  values to destructive leaf area measurements using a LAI-3100 leaf area meter (LI-COR Inc., Lincoln, NE) on five edge vines, three times along the crop cycle. Mechanical shoot topping, a common practice in the study area, was carried out at the same canopy height for all treatments between fruit set and veraison.

Yield and its components (number and weight of clusters) and winter pruning weight were determined on the ten control vines per experimental plot. The number of berries per cluster was counted from 10 clusters per treatment. Berry weight, was determined as the weight of 100 berries from representative field samples of 500 g. LA:yield ratio was also calculated to express the vine sink-source balance using the average LAI value from veraison to harvest.

Water-use efficiency (WUE) was expressed as g of fresh fruit per liter of water (rainfall + irrigation) and irrigation water-use efficiency (IWUE) was expressed as g of fresh fruit per liter of irrigation water.

#### *1.5.3. Must compositions.*

Total soluble solids (TSS; Brix) was determined by refractometry (Atago RX-1000 refractometer). Juice pH and titratable acidity (TA) were determined with an automatic titrator (Crison Micro TT) following official methods of the OIV (1990) using a Crison Micro pH-meter (Barcelona, Spain). Titration was carried out with a 0.1 N solution of NaOH to an end point of pH 8.2. Must composition data were obtained in four samples per treatment (one per each replicated) with each sample consisting of 250 g of triturated berries. In 2005, must composition data from the 50ETc treatment were not collected.

Harvest time was based on 23 Brix and was determined by weekly measurements of fruit composition beginning at veraison.

#### 1.5.4. Statistical analysis.

Statistical software SPSS (ver.15.0; IBM Software Development, Armonk, NY) was used for data analysis. The results were subjected a three-way (irrigation x crop level x year) analysis of variance (ANOVA). The effects of season were almost always highly significant ( $p > 0.001$ ). Data were also analyzed using a two-way (irrigation x crop level) ANOVA for each season, using the general linear models procedure with irrigation as the main factor and crop level as the subplot of a split-plot design.

## 1.6. Results

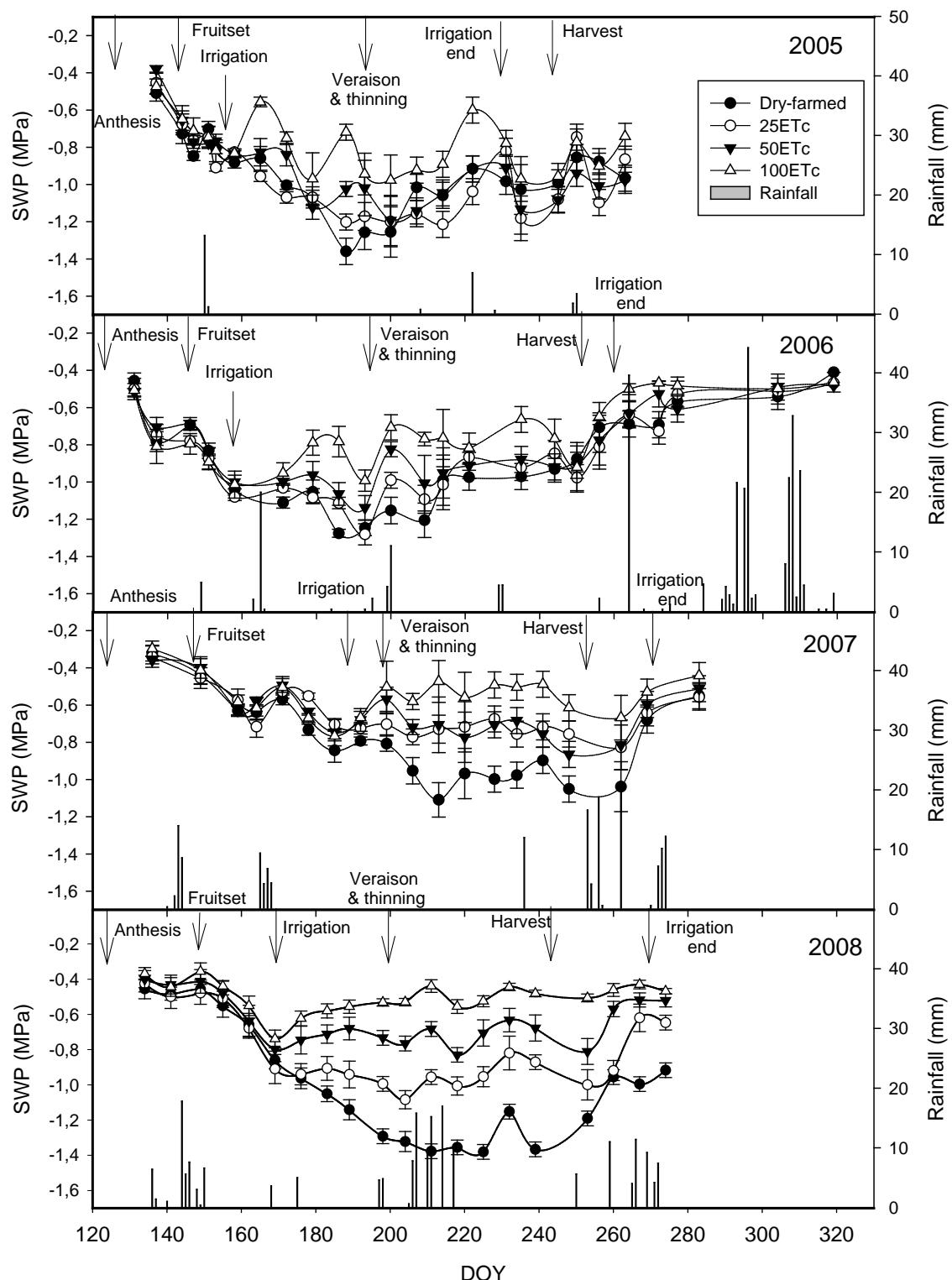
### 1.6.1. Weather conditions, irrigation volume and vine water status.

During the growing season (April-September),  $ET_0$  was very similar for three (2005, 2006 and 2008) of the four study years (Table 1.1). In 2007, the  $ET_0$  was 56 mm lower than the mean of the study period. Rainfall recorded from April to September was much higher in 2007 and 2008 than in 2005 and 2006. The  $ET_c$  obtained directly from the lysimeter was higher in the last two experimental seasons and so was the amount of water supplied through irrigation (Table 1.1).

**Table 1.1.** Water balance variables in a Tempranillo vineyard in Extremadura (Spain). Seasonal: rainfall, reference evapotranspiration ( $ET_0$ ), crop evapotranspiration ( $ET_c$ ) and average crop coefficient ( $K_c$ ) from April to September. The duration of the irrigation season and irrigation water volumes applied in each treatment during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons are shown. In 2007 and 2008, crop evapotranspiration ( $ET_c$ ) values were obtained with a weighing lysimeter installed in the vineyard; see Picón-Toro et al. (2012) for details

Year	Seasonal				Irrigation (mm)			
	Rainfall (mm)	$ET_0$ (mm)	$ET_c$ (mm)	$K_c$	Irrig. Days	25 $ET_c$	50 $ET_c$	100 $ET_c$
2005	54	1039	373	0.35	82	56	111	222
2006	58	1024	354	0.31	120	81	161	323
2007	182	975	508	0.52	85	62	137	172
2008	129	1026	755	0.74	103	153	305	611

After anthesis and until the initiation of irrigation,  $\Psi_{stem}$  displayed in all treatments a clear decreasing trend with no differences among treatments, but considerable variations among years (Figure 1.1). In all seasons, irrigation was initiated when a SWP value of -0.8 MPa was reached in the 100 $ET_c$  treatment. However, in 2007 and 2008 this occurred later in the season than in the first two years of study. As a consequence, in 2005 and 2006 during fruit set, which can be considered a critical phenological period for yield determination, SWP values were around -0.8 MPa whereas in the last two experimental seasons, vines experienced SWP values during fruit set of around -0.4 MPa (Figure 1.1).



**Figure 1.1.** Stem water potential measured at midday ( $\Psi_{stem}$ ) during 2005 to 2008 seasons and rainfall in the same period. Values are irrigation treatment means  $\pm$  standard error of eight leaves pooling the two crop level regime.

Clear differences in plant water status were only observed between the 100ETc and the other three treatments during the first two years (Figure 1.1). Differences between 25ETc and 50ETc were only observed in 2008.  $\Psi_{stem}$  values were obtained for the dry-farmed vines of around -1.5 MPa during the summer of the last experimental season. In the previous three seasons, the dry-farmed vines suffered more moderate plant water stress with the lowest values around -1.2 MPa.

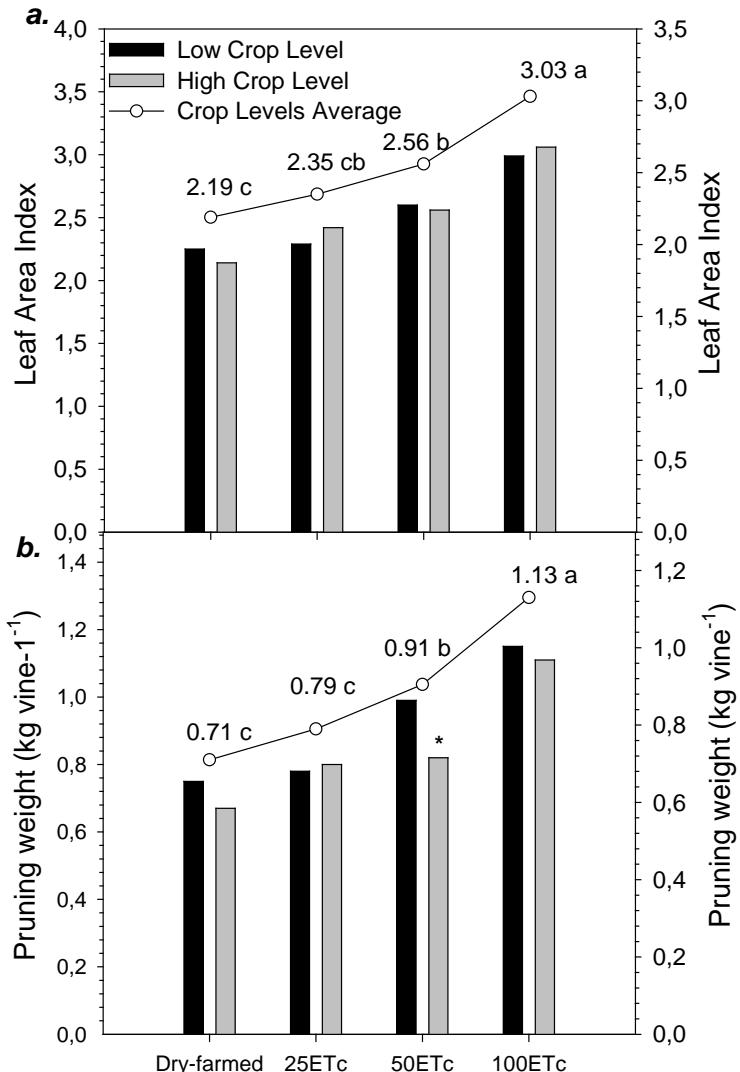
No effects on the water stress integrals were observed for crop level or its interaction with treatment or year in either the pre- or post-veraison periods (Table 1.2).

**Table 1.2.** Statistical significance of main effects and three-way interactions (irrigation x crop level x year) analysis of variance (ANOVA) of the main factors included in the analysis  
I. Irrigation. CL, crop level. Y, year

Variable	Irrigation	Crop level	Year	I x CL	I x Y	CL x Y	I x CL x Y
Pre-veraison stress integral	0.008	0.814	<0.001	0.204	0.627	0.681	0.666
Post-veraison stress integral	<0.001	0.662	0.061	0.703	0.068	0.916	0.945
Seasonal stress integral	<0.001	0.720	0.006	0.568	0.057	0.949	0.949
Average LAI during ripening	<0.001	0.961	<0.001	0.611	0.330	0.688	0.918
Pruning weight (kg vine <sup>-1</sup> )	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.042	0.968	0.279
Yield (kg vine <sup>-1</sup> )	<0.001	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	<0.001	0.001
Cluster number at harvest	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.033
Cluster weight (g)	<0.001	<0.001	<0.001	0.006	<0.001	<0.001	0.501
Berry per cluster	0.261	0.523	<0.001	0.319	0.200	0.522	0.324
Berry weight (g)	0.001	0.033	<0.001	0.472	0.534	0.131	0.003
WUE (gL <sup>-1</sup> )	0.038	<0.001	<0.001	0.107	0.490	0.001	0.892
IWUE (gL <sup>-1</sup> )	<0.001	0.010	0.002	0.057	0.720	0.047	0.934
LAI:Yield (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	0.013	<0.001	<0.001	0.001	0.544	0.146	0.785
Yield:pruning w. (kg kg <sup>-1</sup> )	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.008	<0.001	0.046
TSS (Brix)	0.976	0.074	0.001	0.281	0.372	<0.001	0.425
TA (m gL <sup>-1</sup> )	0.028	0.003	<0.001	0.089	0.297	<0.001	0.991
pH	0.739	<0.001	<0.001	0.082	0.347	<0.001	0.068

### 1.6.2. Phenological stages and vegetative growth.

Budburst was the phenological stage which displayed most variation during the course of the study, the latest occurring in 2005 (DOY 95) and the earliest in 2008 (DOY 79). However, just five days separated veraison in these two years and in both seasons harvesting took place the same day (DOY ≈ 245). The irrigation treatments applied had no notable effect on vine phenology, though cluster thinning did result in a slightly earlier harvesting date (4 days).



**Figures 1.2 (a)** Leaf area index during ripening, from the irrigation and crop load treatments in averaged over four study seasons. **(b)** Pruning weight per vine, from the irrigation and crop load treatments in averaged over four study seasons. (Black) low crop level, (grey) high crop level both in bar graph (left scale) and Mean of two crop levels on each irrigation treatment in line graphs (right scale). Within each data, the effect of irrigation was separately analysed in the two crop levels. In the different irrigation treatments, values followed by the same letter (a, b, c) are not significantly different at  $p<0.05$  using Tukey's test. \* indicates significance at  $p<0.05$  between crop levels for each single pair of irrigation treatments

Vine vegetative growth, expressed in terms of LAI, increased over during the course of the season until reaching a maximum value near veraison (results not shown). The highest LAI values of 3.03 were obtained in the 100ETc treatment, but no differences were observed between the LAI values for the 50ETc and 25ETc treatments (2.56 and 2.35 respectively; Figure 1.2 a). Lower LAI values, similar to 25ETc values, were obtained for the dry-farmed treatment compared to the 50ETc treatment throughout the study (Figure 2a). No effect on LAI was

observed during ripening (after cluster thinning was performed) for crop level or irrigation\*crop level interaction (Table 1.2).

Significant season-by-season effects were observed for pruning weight (Table 1.2). In addition, the effects of irrigation on this vine vigour index were dependent on crop level (Figure 2b). Pruning weight was  $0.71 \text{ kg vine}^{-1}$  for the dry-farming treatment and  $1.13 \text{ kg vine}^{-1}$  for 100ETc. Similar pruning weights were observed for 25ETc and 50ETc for the high crop level ( $0.80$  and  $0.82 \text{ kg vine}^{-1}$ , respectively), whereas at the low crop level 50ETc pruning weight values were slightly higher than those for 25ETc, with a significant irrigation\*crop level interaction in the more watered treatments. This effect was also observed in the full irrigation treatment (100ETc) in the 2008 season (data not shown).

Both LAI and pruning weight showed good correlation with the WSI during the growing season (Figure 3a and 3b). The highest correlation between LAI and WSI was observed during the pre-veraison period ( $r^2=0.64$ ;  $p<0.001$ , for the high crop level), whereas pruning weight was more closely related to the stress integral sum of the two periods than to the pre- or post-veraison period separately ( $r^2=0.64$ ;  $p<0.001$ , for the high crop level). Similar correlations were observed between the two crop levels treatments in both LAI and pruning weight (Figure 3a and 3b).

#### 1.6.3. Yield components and water use efficiency.

Yield varied with both irrigation treatment and year (Tables 1.2 and 1.3). However, the effect of Irrigation on yield and its components and the irrigation\*crop Level interaction were also highly significant, with the exception of number of berries per cluster (Table 1.2). Differences between irrigation treatments were observed in yield in the four study seasons, and the effect of irrigation was dependant on crop level. In the high crop level, yield in 2005, 2006 and 2008 was on average 39% higher for the 100ETc than for the dry-farmed treatment and in low crop level it was 50% higher (Table 1.3). Similar yields were observed for the 50ETc and 25ETc treatments at both the high and low crop levels with the exception of 2005, when yield for the 50ETc treatment was  $0.87 \text{ kg vine}^{-1}$  less than 25ETc in the unthinned treatment. It is necessary to note the important weight loss in harvest observed in high crop level due to exceptional effect of fungal diseases during 2007 growing season. Hence the absence of differences in yield in both crop levels in that year (effect not quantified).

**Table 1.3.** Yield, yield components and vigor index (LA:fruit weight and crop load). In the irrigation factor, values within columns followed by the same letter (a, b, c or d) are not significantly different at p<0.05 using Tukey's test both in low and high crop level. \* indicates significance at p<0.05 between crop levels in each irrigation treatment.

Yield (kg vine <sup>-1</sup> )								
Treatment	2005		2006		2007		2008	
	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
Dry-farmed	1,9c	3,2c*	2,7c	4,7c	2,9b	3,5	3,0b	8,0b*
25ETc	2,9b	4,5b*	3,7b	5,9b*	3,5ab	3,7	5,3a	9,0b*
50ETc	3,1b	3,6c	4,6ab	7,2ab*	4,1a	3,1*	5,6a	8,9b*
100ETc	4,5a	6,8a*	5,1a	8,2a*	3,8a	3,9	5,6a	10,8a*
Irrigation	***		***		ns		***	
Crop level	***		***		ns		***	
I*CL	***		ns		*		**	
Cluster weight (g)								
Treatment	2005		2006		2007		2008	
	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
Dry-farmed	185,5b	155,9c*	193,2b	203,0c	258,5	201,6*	367,2b	303,0b*
25ETc	184,0b	207,3b	213,9ab	220,1bc	241,1	228,2	355,4b	335,5b
50ETc	209,8b	182,8bc*	251,4a	250,7ab	260,2	214,1*	404,6ab	357,5ab*
100ETc	263,8a	278,0a	239,1a	280,0a*	259,2	211,7*	431,9a	386,1a*
Irrigation	***		***		ns		***	
Crop level	ns		ns		***		***	
I*CL	*		ns		ns		ns	
Cluster number								
Treatment	2005		2006		2007		2008	
	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
Dry-farmed	10b	20b*	14c	22b*	11b	17b*	8c	26*
25ETc	16a	22a*	17b	26a*	15a	16ab	16a	26*
50ETc	15a	19b*	18b	28a*	16a	14ab	14ab	25*
100ETc	16a	25a*	21a	29a*	14a	18a*	13b	26*
Irrigation	***		***		ns		***	
Crop level	***		***		**		***	
I*CL	***		ns		***		***	
Berry weight (g)								
Treatment	2005		2006		2007		2008	
	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
Dry-farmed	1,08c	1,19	1,49	1,50	2,01	1,88ab	1,72b	1,69
25ETc	1,18bc	1,19	1,44	1,50	2,27	1,76b*	1,81b	1,82
50ETc	1,39ab	1,34	1,39	1,49	2,07	1,99ab	2,25a	1,79*
100ETc	1,46a	1,41	1,58	1,40	2,07	2,13a	1,90ab	1,98
Irrigation	**		ns		ns		**	
Crop level	ns		ns		*		ns	
I*CL	ns		ns		*		*	

Continua en página siguiente

	LA:fruit weight ( $m^2 \text{ Kg}^{-1}$ )							
	2005		2006		2007		2008	
Treatment	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
Dry-farmed	2,98a	1,59*	2,75	1,68	2,82	1,67	2,37a	0,92*
25ETc	2,16ab	1,50	1,78	1,40	2,02	1,59	1,47c	0,93*
50ETc	2,28ab	1,91	1,84	1,14*	2,00	1,98	1,5bc	1,02*
100ETc	1,92b	1,27*	1,91	1,32	1,92	2,37	1,8b	0,91*
Irrigation	*		ns		ns		**	
Crop level	***		**		ns		***	
I*CL	ns		ns		ns		***	
	Crop load (fruit pruning weight $^{-1}$ )							
	2005		2006		2007		2008	
Treatment	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
Dry-farmed	5,24	10,85a*	5,03ab	8,82ab*	4,09	5,11	3,32c	9,23*
25ETc	6,8	9,38ab*	6,68a	8,98ab*	4,51	5,34	5,81a	10,24*
50ETc	5,89	7,43b	5,29ab	10,24a*	4,14	3,75	5,25ab	8,89*
100ETc	5,95	9,47a*	4,69b	7,15b*	3,45	3,45	4,37bc	10,29*
Irrigation	ns		**		ns		***	
Crop level	***		***		ns		***	
I*CL	ns		*		ns		*	

\*,\*\*,\*\*\* and ns, indicates significance at  $p<0.05$ ,  $p<0.01$  and  $p<0.001$  and not significant, respectively in crop level (high and low) and simple interaction factors.

In high crop level, clusters per vine was lower in the dry-farmed treatment than in the corresponding 100ETc treatment in 2005, 2006 and 2007 with, on average, four fewer clusters per vine (Table 1.3). In addition, dry-farmed treatment clusters had a lower mean weight compared to the 100ETc clusters (Table 1.3). No differences were observed between the 25ETc and 50ETc treatments in terms of mean cluster number or cluster weight (at either the high or low crop level), though the 25ETc cluster weight was lower than the corresponding value for the 100ETc treatment. A positive trend was observed in berry number as irrigation dose increased, with 150, 156, 157 and 172 berries per cluster in dry-farming, 25ETc, 50ETc and 100ETc respectively (average of the four years), though interannual variability was more pronounced than the effect of irrigation for this variable (data not shown). Similar to berry number per cluster, a positive season-by-season trend was observed in berry weight as irrigation dose increased, which was significant for the low crop level in 2005 and 2008 and only in 2007 at the high crop level (Table 1.3).

Cluster thinning removed an average of 39% of clusters per vine, lowering yield by 35% (Table 1.3). Cluster thinning increased cluster weight in 2005, 2007 and 2008 in the dry-farming treatment and from 2006 onwards in the 100ETc treatment (Table 1.3). As for the deficit irrigation regimes, cluster thinning did not affect 25ETc cluster weight but did result in increased 50ETc cluster weight in all seasons except 2006. An increase in berry weight due to cluster thinning was observed in the 25ETc and 50ETc treatments only in 2007 and 2008.

**Table 1.4.** Relationships between pre-. post-veraison and seasonal stress integral and different vine performance parameters in the same and following season

Parameters in the same season					
		Linear equation	(v)	Coefficient of determination	Significance
Pre-veraison stress integral (MPa*day)	Cluster weight (g)	$y = -5,83x + 473$	47	0,35	$p < 0,01$
	Berry weight (g)	$y = -0,03x + 2,36$	63	0,44	$p > 0,001$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -293x + 23297$	47	0,35	$p < 0,05$
	Cluster weight (g)	$y = -5,31x + 452$	47	0,36	$p < 0,01$
	Berry weight (g)	$y = -0,03x + 2,62$	63	0,56	$p < 0,001$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -577x + 42809$	47	0,32	$p < 0,05$
Post-veraison stress integral (MPa*day)	Cluster weight (g)	$y = -1,45x + 317$	47	0,06	$p < 0,10$
	Berry weight (g)	$y = -0,01x + 1,86$	63	0,09	$p < 0,10$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -158x + 18109$	47	0,30	$p < 0,05$
	Cluster weight (g)	$y = -2,51x + 345$	47	0,20	$p < 0,10$
	Berry weight (g)	$y = -0,01x + 1,98$	63	0,12	$p < 0,10$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -310x + 32434$	47	0,21	$p < 0,10$
Seasonal stress integral (MPa*day)	Cluster weight (g)	$y = -2,13x + 405,41$	47	0,29	$p < 0,05$
	Berry weight (g)	$y = -0,009x + 2,09$	63	0,28	$p > 0,05$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -1135x + 21667$	48	0,47	$p < 0,001$
	Cluster weight (g)	$y = -2,65x + 433$	47	0,48	$p > 0,001$
	Berry weight (g)	$y = -0,013x + 2,41$	63	0,41	$p < 0,01$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -310x + 32434$	47	0,46	$p < 0,001$
Parameter in the following season					
		Linear equation	(v)	Coefficient of determination	Significance
Pre-veraison stress integral (MPa*day)	Number of berries m <sup>-2</sup>	$y = -30,30x + 2199$	47	0,50	$p < 0,001$
	Cluster weight (g)	$y = -4,62x + 430,1$	47	0,36	$p < 0,01$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -174x + 19058$	47	0,20	$p > 0,10$
	Number of berries m <sup>-2</sup>	$y = -36,18x + 2396$	47	0,44	$p < 0,01$
	Cluster weight (g)	$y = -4,68x + 414,6$	47	0,45	$p < 0,01$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -670x + 42609$	47	0,54	$p < 0,001$
Post-veraison stress integral (MPa*day)	Number of berries m <sup>-2</sup>	$y = -14,01x + 1667$	47	0,19	$p > 0,10$
	Cluster weight (g)	$y = -1,94x + 343,4$	47	0,11	$p > 0,10$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -112x + 16862$	47	0,14	$p > 0,10$
	Number of berries m <sup>-2</sup>	$y = -13,26x + 1639$	47	0,10	$p > 0,10$
	Cluster weight (g)	$y = -1,93x + 322,8$	47	0,14	$p > 0,10$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -212x + 29059$	47	0,17	$p > 0,10$
Seasonal stress integral (MPa*day)	Number of berries m <sup>-2</sup>	$y = -8,91x + 1939$	47	0,29	$p < 0,05$
	Cluster weight (g)	$y = -1,89x + 399,3$	47	0,26	$p > 0,10$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -87x + 18819$	47	0,21	$p > 0,10$
	Number of berries m <sup>-2</sup>	$y = -9,19x + 1959$	47	0,20	$p > 0,10$
	Cluster weight (g)	$y = -1,87x + 380,3$	47	0,31	$p < 0,05$
	Yield (kg ha <sup>-1</sup> )	$y = -270x + 37868$	47	0,38	$p < 0,01$

\*Degrees of freedom (v = 47, not including season 2007 in data pooled) <sup>2</sup> Coefficient of determination and significance by Pearson.

Some yield components (cluster weight, berry weight and yield) were related to the seasonal WSI in pre- and post-veraison periods. Vine water status had a lower effect on these variables in the post-veraison period compared to the pre-veraison period (Table 1.4). A long-term effect of the pre-veraison (next season) stress integral was observed allowing to accurately predicting yield of the following season (Table 1.4).

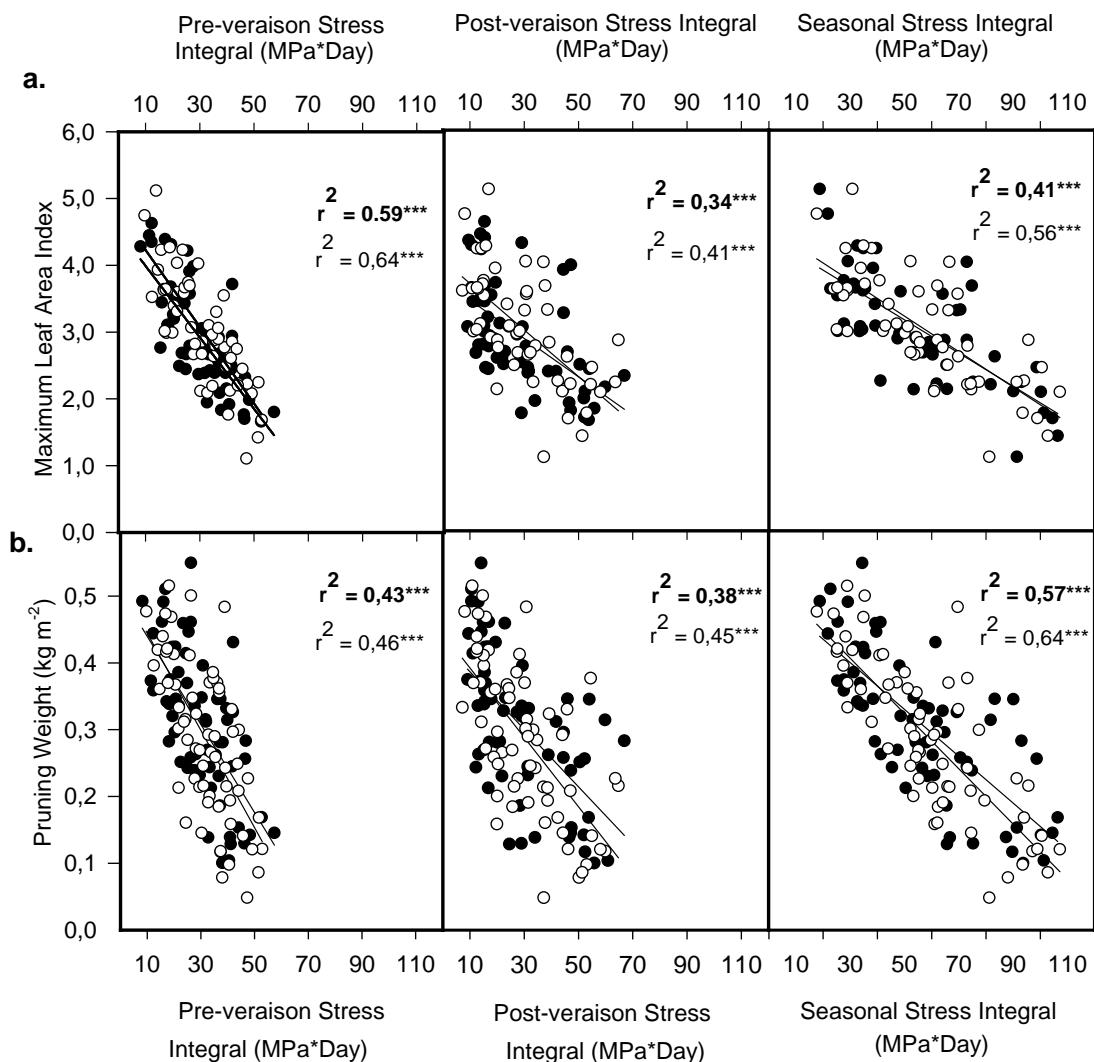
Water use efficiency including precipitations (WUE) was similar in most irrigation treatments, except in 2008 when the WUE value in the 100ETc treatment was about 50% less than the corresponding dry-farming treatment value (Table 1.5). When only considering efficiency in the use of water applied through irrigation (IWUE), the 25ETc treatment was the most efficient with an average  $18.8 \text{ g L}^{-1}$  versus  $9.7 \text{ g L}^{-1}$  and  $6.1 \text{ g L}^{-1}$  for the 50ETc and 100ETc treatments, respectively, over the four study years. The reduction in vine crop level due to cluster thinning reduced both WUE and IWUE in three of the four study seasons (Table 1.5). Cluster thinning decreased both WUE values IWUE every season except in the 2007 growing season in which the small difference in yield between the two crop levels induced similar water efficiency.

LA:yield ratio was different for each season and an important irrigation\*crop level interaction was observed (Table 1.2). At the high crop level, LA:yield ratio was similar for all treatments in the four study seasons (Table 1.3). However, at the low crop level, the LA:yield ratio values were lower in the 100ETc than the dry-farmed treatment during the 2005 and 2008 seasons. This effect at the low crop level was due to the reduction in yield as a result of thinning in the dry-farmed treatment (Table 1.3). The LAI:yield ratio was considerably increased by cluster thinning with an mean value of  $0.65 \text{ m}^2 \text{ Kg}^{-1}$ over the course of the study. However, it should be noted that differences in the LAI:yield ratio only began to appear at veraison when cluster thinning was performed.

**Table 1.5.** Irrigation water use efficiency (IWUE) and water use efficiency including rainfall (WUE) of the different treatments and annual average.

Treatment	IWUE ( $\text{g L}^{-1}$ )				WUE ( $\text{g L}^{-1}$ )			
	2005	2006	2007	2008	2005	2006	2007	2008
Irrigation	***	***	***	***	ns	ns	ns	***
Dry-farmed					5,23	5	2,27	5,30a
25ETc	22,23a	19,81a	17,63a	15,61a	5,69	4,88	2,73	4,78ab
50ETc	10,05b	12,11b	8,81b	7,92b	4,10	4,78	2,37	3,71bc
100ETc	8,40b	6,86b	4,67b	4,48c	4,87	3,89	1,98	2,86c
Crop level	**	**	ns	***				
Low	11,06	10,03	10,59	6,91	3,96	3,52	2,47	2,83
High	16,06	15,83	10,15	11,76	5,99	5,74	2,50	5,52
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*

In the irrigation factor, values within columns followed by the same letter (a, b, c or d) are not significantly different at  $p<0.05$  using Tukey's test. \*, \*\*, \*\*\* and ns, indicates significance at  $p<0.05$ ,  $p<0.01$  and  $p<0.001$  and not significant respectively in crop level (high and low) and simple interaction factors



**Figures 1.3** Relationship of pre-veraison, post-veraison and seasonal stress integral with maximum LAI (a) and pruning weight ( $\text{kg m}^{-2}$ ) (b) from crop load treatments in 2005, 2006, 2007 and 2008 seasons; (●) symbols are from low crop level and (○) symbols from high crop level; ( $n = 65$  values per crop level treatment). \*\*\* indicates significance at  $p<0.001$ .

#### 1.6.4. Fruit composition.

Brix was similar during the study seasons with an average value of 23.1 Brix. Differences between years were observed in TA, with the highest values occurring in 2008 (5.7 g/L) and the lowest in 2005 (3.3 g L<sup>-1</sup>). Differences were also observed in pH with maximum and minimum values of 3.9 and 3.7 in 2006 and 2008, respectively (Table 1.6). Brix was similar in all irrigation treatments (about 23 Brix), coinciding with the target value for harvest time. A value <22 Brix was only observed in 2008, in the dry-farming treatment, but it was not different from the other treatments. Must pH values were >3.7 in all treatments (Table 1.6), and there were no differences between treatments. However, TA tended to be higher in the 100ETc than in the dry-farming and 25ETc treatments each season and higher than in the 50ETc treatment in 2008. Deficit irrigation treatments (25ETc and 50ETc) had similar TA with a tendency to increase with the amount of water applied.

**Table 1.6.** Effects of irrigation and crop level treatments on must quality at harvest in Tempranillo grapes.

Treatment	TSS (Brix)				TA (g L <sup>-1</sup> )				pH			
	2005	2006	2007	2008	2005	2006	2007	2008	2005	2006	2007	2008
Irrigation	ns	ns	ns	ns	***	ns	**	**	ns	ns	ns	ns
Dry-farmed	23,7	22,4	23,7	21,9	3,27b	3,28	4,02c	4,78b	3,86	3,86	3,82	3,77
25ETc	23,0	23,4	23,6	22,7	3,43b	2,96	4,18bc	4,88b	3,87	3,97	3,8	3,7
50ETc	nc	23,1	23,1	22,9	nc	3,35	4,40ab	4,87b	nc	3,89	3,78	3,79
100ETc	23,8	23	23,1	23,5	3,85a	3,52	4,56a	5,76a	3,82	3,92	3,76	3,68
Crop Level	ns	ns	ns	***	ns	ns	**	**	***	ns	ns	***
Low	23,9	23	23,6	24,8	3,55	2,54	4,07	4,61	3,92	3,75	3,77	3,86
High	22,8	23	23,1	20,7	3,48	2,78	4,51	5,54	3,77	3,63	3,81	3,61
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

For the irrigation factor, values within columns followed by the same letter (a, b, or c) are not significantly different at p<0.05 using Tukey's test. \*\*,\*\*\* and ns, indicates significance at p<0.01 and p<0.001 respectively ; ns, not significant; nc, data not collected

The two crop load levels were harvested at different dates; the low crop level was harvested first and then this was followed, on average four days later, by the high crop level (6, 0, 7 and 2 delay days in 2005, 2006, 2007 and 2008, respectively). Differences between crop level in Brix were observed in 2008 (Table 6), the season in which the lowest Brix values (in the high crop level) were obtained throughout the study (20.7 Brix). Only in 2008 growing seasons, the low crop level treatment obtained a higher Brix. TA was higher in the high crop level in three of the four study years, though interannual variability was observed. Similarly, pH values approaching 4 were obtained in the low crop level treatment; these were higher than those

obtained with the low crop level treatment. An irrigation\*crop level interaction was not observed in must composition during the study (Table 1.2).

## **1.7. Discussion**

### *1.7.1. Irrigation effects*

In the present study, marked treatment-to-treatment variations in vine water status were observed within the same season and among years (Figure 1.1). This allowed determination of the effects of the intensity of water stress on vine performance and water use efficiency under different weather conditions.

100ETc was the most productive treatment, with similar Brix and higher TA than the other three treatments, but in a scenario of water scarcity and increasing energy prices this is not the most recommended treatment for a sustainable viticulture practice. In view of this, the 25% ETc treatment can be considered an worthwhile irrigation strategy since it resulted in the highest IWUE (irrigation water use efficiency) of the different irrigation treatments explored. When considering data from all four seasons, the 25ETc treatment resulted in a 26% increase in yield compared to the dry-farmed vines and IWUE was almost three times higher than with the 100ETc treatment. This is particularly important in an area of scarce water resources where, at present, most of the water used for irrigation is used for other horticultural crops. In the study region, where there are about 83,000 ha of vineyards, the application of a full watering regime in grapevines would result in an unsustainable use of the available surface and ground water resources. The application of around 88 mm/year (the average irrigation application of the 25ETc) is certainly more in line with the expected replenishment of underground water resources.

However, some negative aspects of the 25ETc treatment were also observed, including 20% lower yield than with the 100ETc treatment. In addition, the lower must TA of the 25ETc treatment is particularly detrimental when considering the already low TA values obtained in Tempranillo musts in an area characterized by warm summers. It can be speculated that this is mostly because the 50ETc and 100ETc treatments had more vegetative growth which helped to reduce cluster exposure to sunlight and high temperatures, thereby lowering malic acid degradation (Ruffner 1982). At harvest, the different irrigation regimes did not affect must Brix levels although slight differences were observed among treatments in vine balance. This was possibly because harvesting was carried out on different dates depending on the seasonal variation of the Brix level of each treatment.

On the other hand, the results obtained also suggest that vine performance in both the current and following season is much more related to pre-veraison than post-veraison vine water status (Table 1.5). This is because the reproductive cycle of the vine covers two consecutive seasons (Vasconcelos et al. 2009), with initiation and differentiation of fruit-bearing buds taking place during the anthesis period of the previous season (Alleweldt and Ilter 1969, Loveys and Kiedemann 1973). In this sense, it has been shown that water stress occurring during anthesis, fruit set or just after fruit set can impair bloom intensity, berry set and berry cell multiplication (Harris et al. 1968). This would explain the differences in yield in 2006 and 2008 even though the number of clusters per plant was the same in both seasons. The  $\Psi_{stem}$  values during anthesis and fruit set were higher than -0.5 MPa in 2008 and lower than -0.8 MPa in 2006. In general, there were lower berries per cluster and a lower berry weight in 2006 than in 2008. Overall, the results obtained suggest the importance of pre-veraison water status in the determination of potential yield for both the present and following season. In fact, pre-veraison water stress was able to predict vine performance even better than seasonal water stress (Figure 1.3. a). Only pruning weight, which depends not only on leaf area growth but also on the overall accumulation of dry matter in plant tissues, was better related with seasonal water stress (Figure 1.3.b).

In addition, the results obtained show that there are some cumulative effects of water stress over the seasons as a result of the application of the different irrigation regimes. For instance, the LAI values for the 50ETc treatment were; in general, lower than for the 100ETc treatment, though the differences were not significant until the 2008 season. These results indicate that water stress effects on vine vegetative growth depend on the short-term degree of water stress and also on the accumulated carry-over effects.

#### *1.7.2. Crop level effects*

Under the conditions of this study, vine water status was not affected by crop level. Similar results were reported by Keller et al. (2008) on Cabernet Sauvignon with thinning performed in veraison. Poni et al. (1993) obtained similar results on Concord grapevine, but with crop level adjustments which involved the removal of entire shoots and clusters performed earlier in the season (one week after bloom) compared to the present study. However, it should be mentioned that other studies found that reducing crop level had a positive effect on water status, especially in seasons of high yield (Williams 1987). In other woody crops, load reductions have been proposed as a strategy to alleviate the stress level in case of water shortage (Lopez et al. 2006 and Marsal et al. 2008), but the final response

depends partly on the stomatal behavior and on the sink strength of the remaining plant organs. In this experiment, Low crop level treatments tended to have higher cluster weight (Table 3) and Brix in the high yield season (Table 6), as a result of higher carbohydrates availability. Roots and unpruned wood could also benefit from an increase in assimilate availability (data not available). In agreement with Keller et al. (2008), in the present experiment, cluster thinning at veraison did not affect plant leaf area, as it did not promote post-veraison re-growth. As a consequence, the cluster microclimate was most likely not affected by cluster thinning. On the other hand, reducing vine crop level appears to increase pruning weight in some of the irrigated treatments (50ETc) most likely because of the higher availability of assimilates as a result of the reduction in the amount of sinks.

In this study, cluster thinning resulted in an increase in the LA:yield ratio, with an average positive balance of more than  $0.6 \text{ m}^2\text{kg}^{-1}$  (Table 1.3). It is possible that the reduction in sinks might have favored redistribution of photoassimilates to the reserve organs (Edson et al. 1995). This observed increase in pruning weight is more notable in moderate-to-low water stress vines as a result of more favorable water availability. It has been shown that increased water deficit reduces the leaf assimilation rates when  $\text{SWP} < -0.9 \text{ MPa}$  (Intrigliolo and Castel 2011).

The most evident effect of cluster thinning at veraison was the reduction in yield as a result of the lower clusters per vine. This decrease in yield was slightly lower in proportion to the number of clusters eliminated as a result of a compensatory effect of increased cluster weight (Table 3). This effect was more evident in the 2008 season, after many consecutive seasons of crop level control, when an increase in clusters weights due to cluster thinning was obtained in most of the irrigation treatments. These results suggest that the compensatory effect on cluster weight due to lowering vine crop level is also determined by vine balance (Naor et al. 2002) and this effect it will be more pronounced when vine balance suggested overcropping. Crop level had no clear effect on berry weight during this study despite being made later at the season (Williams and Matthews, 1990).

Santesteban and Royo (2006) reported that, in climates where the radiation load is not a limiting factor, canopy photosynthesis depends largely on water status and the vine sink:source balance. In 2005, 2006 and 2007, the target Brix was obtained at both the high and low crop level. However, in 2008, at the high crop level, grapes were harvested at a lower Brix (20.7 Brix) even though the harvest was delayed for as long as possible. In 2008, the high crop load treatments had a LA: yield ratio lower than  $1 \text{ m}^2$  leaf area per kg fruit, indicating some

degree of over-cropping. These results concur with those obtained by Kliewer and Dokoozlian (2005) in the cultivar Tokay, who indicated that a minimum of  $1.0 \text{ m}^2$  leaf area per kg fruit was needed to fully mature the crop. In addition, the season-to-season variations in the LA:yield ratio were more stable for the low than for the high crop load treatment. Similarly, it should be noted that thinning reduced interannual yield variability and therefore also reduced the interannual effect of the pre-veraison water status on yield (Table 1.4). It is clear that lowering crop load through cluster thinning lowers water use efficiency, but provides a better control over the source-sink balance. This technique can therefore be interesting in terms of interannual quality standardization, when yield value per se is not a priority. Cluster thinning however decreased the must TA level and increased its pH, which is particularly detrimental in the warm terroir of western Spain where Tempranillo wine TA levels tend to be too low. Similarly, Jackson and Lombard (1993) reported that leaf area per gram of fruit was negatively correlated with must TA levels and positively related to must pH.

## 1.8. Conclusion

Watering vines at full regime resulted in a 38% yield increase with respect to the dry-farmed treatment without any detrimental effect on berry Brix and with positive impact on must TA. However, among the irrigation strategies evaluated, deficit irrigation applied at 25% of the estimated ET<sub>c</sub> was the most efficient in terms of water use, and should be considered in cases of water scarcity or high water prices. While vine water status did not clearly affect grape composition, water stress, particularly during pre-veraison, clearly impacted on vine performance both in the same and subsequent growing season highlighting the importance of controlling plant water status before veraison. In general, vine response to the irrigation applications did not vary with the different crop levels established, suggesting that the deficit irrigation strategies proposed can be extrapolated across different levels of vine yield. Cluster thinning can, however, be employed as a tool to regulate the vine leaf area to yield ratio, allowing mitigating season-to-season differences in the vine sink:source balance. In addition, lowering the crop level can be used to increase sugar concentration only when a cluster thinning can avoid reaching vine leaf area to yield ratio falling below  $1 \text{ m}^2 \text{kg}^{-1}$ . In any case, as well as reducing the yield, cluster thinning also had some detrimental effects on grape composition in terms of higher must pH and lower grape TA. As a consequence, the practical application of this technique is not fully justified in the Tempranillo terroir of the study area.

## **1.9. References**

- Allen, R.G., L.S. Pereira, D. Raes, and M. Smith. 1998. Crop evapotranspiration. Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper, N°. 56, FAO, Rome.
- Alleweldt, G., and E. Ilter. 1969. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Blütenbildung und Triebwachstum bei Rebe. *Vitis* 8: 286-313.
- Edson C.E., G.S. Howell, J.A. Flore. 1995. Influence of fruit load on photosynthesis and dry matter partitioning of Seyval grapevines. 2. Seasonal changes in single leaf and whole vine photosynthesis. *Am. J. Enol. Vitic.* 46: 469–477.
- Eichhorn, K.W., and D.H. Lorenz. 1977. Phenological development stages of the grape vine. *Nachr. Deut. Pflanz.* 29: 119-120.
- Girona, J., J. Marsal, M. Mata, J. del Campo, and B. Basile. 2009. Phenological sensitivity of berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress. *Aus. J. Grape. Wine Res.* 15: 268-277.
- Grimes, D.W., and L.E. Williams. 1990. Irrigation effects on plant water relations and productivity of Thompson Seedless grapevines. *Crop. Sci.* 30: 255-260.
- Harris, J.M., P.E. Kriedemann, and J.V. Possingham, 1968. Anatomical aspects of grape berry development. *Vitis* 7:106–109.
- Howell, G. S. 2001. Sustainable grape productivity and the growth-yield relationship: A review. *Am. J. Enol. Vitic.* 52: 165-174.
- Intrigliolo, D. S., and J.R. Castel. 2008. Effects of irrigation on the performance of grapevine cv. Tempranillo in Requena, Spain. *Am. J. Enol. Vitic.* 59: 30-38.
- Intrigliolo, D.S., and J.R. Castel. 2010. Response of grapevine cv. 'Tempranillo' to timing and amount of irrigation: water relations, vine growth, yield and berry and wine composition. *Irrig. Sci.* 28: 113-125.
- Intrigliolo, D.S., and J.R. Castel. J.R. 2011. Interactive effects of deficit irrigation and shoot and cluster thinning on grapevine cv. Tempranillo. Water relations, vine performance and berry and wine composition. *Irrig. Sci.* 29: 443-454.
- Jackson, D. I., and P.B. Lombard. 1993. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality-a review. *Am. J. Enol. Vitic.* 44: 409-430.
- Keller, M., L.J. Mills, R.L. Wample, and S.E. Spayd. 2005. Cluster thinning effects on three deficit-irrigated *Vitis vinifera* cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* 56: 91-103.
- Keller, M., R.P. Smithyman, and L.J. Mills. 2008. Interactive effects of deficit irrigation and crop load on Cabernet-Sauvignon in an arid climate. *Am. J. Enol. Vitic.* 59: 22- 234.

- Kliewer, W. M. 1980. Trellising and spacing adjust to modern needs. California Agriculture 34: 36-37.
- Kliewer, W.M., N.K. Dokoozlian, N. K. 2005. Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. Am. J. Enol. Vitic. 56: 170-181.
- Laget, F., J.L. Tondut, A. Deloire, and M.T. Kelly. 2008). Climate trends in a specific Mediterranean viticultural area between 1950 and 2006. J. Int. Sci.Vigne Vin. 42: 113-123.
- Lakso, A.N., D. Intrigliolo, and D.M. Eissenstat. 2008. Modeling Concord Grapes with "VitiSim", a Simplified Carbon Balance Model: Understanding Pruning Effects. In VIII International Symposium on Modelling in Fruit Research and Orchard Management. J. Samietz (Ed.). 803, 243-250. Einsiedeln - Waedenswil (Switzerland).
- Lopez, G., M. Mata, Arbones, J.R. Solans, J. Girona, and J. Marsal, 2006. Mitigation of effects of extreme drought during stage III of peach fruit development by summer pruning and fruit thinning. Tree physiol. 26: 469-477.
- Loveys, B., and P.E. Kriedemann, 1973. Rapid changes in Abscisic acid-like inhibitors following alterations in vine leaf water potential. Physiol. Plantarum 28: 476-479.
- López-Urrea, R., A. Montoro, F. Mañas, P. López-Fuster, and E. Fereres. 2012. Evapotranspiration and crop coefficients from lysimeter measurements of mature 'Tempranillo' wine grapes. Agric.Water Manag. 112: 13-20.
- Marsal, J.M. Mata, A. Arbones, J. Del Campo, J. Girona, and G. Lopez. 2008. Factors involved in alleviating water stress by partial crop removal in pear trees. Tree physiol. 28: 1375-1382.
- McCarthy, M. G. 1997. The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera* L.). Aus. J. Grape Wine Res 3: 102-108.
- Myers, B. J. 1988. Water-stress integral - a link between short-term stress and long-term growth. Tree physiol. 4: 315-323.
- Naor, A., Y. Gal, and B. Bravdo. 2002. Shoot and Cluster Thinning Influence Vegetative Growth, Fruit Yield, and Wine Quality of Sauvignon blanc Grapevines. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 127:628-634.
- Ojeda, H., A. Deloire and A. Carbonneau,. 2001. Influence of water deficits on grape berry growth. Vitis 40: 141-145.
- O.I.V. 1990 Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts. Office Internetional de la Vigne et du Vin, Paris.

- Picon-Toro, J., V. Gonzalez-Dugo, D. Uriarte, L.A. Mancha and L. Testi. 2012. Effects of canopy size and water stress over the crop coefficient of a "Tempranillo" vineyard in south-western Spain. *Irrig. Sci.* 30: 419-432.
- Poni, S., A.N. Lakso, J.R. Turner and R.E. Melious. 1993. The effects of pre-veraison and post-veraison water-stress on growth and physiology of potted pinot-noir grapevines at varying crop levels. *Vitis* 32: 207-214.
- Poni, S., A.N. Lakso, J.R. Turner and R.E. Melious. 1994. Interactions of crop level and late season water stress on growth and physiology of field-grown Concord grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 45:252–258
- Prajitna, A., I.E. Dami, T.E. Steiner, D.C. Ferree, J.C. Scheerens, and S.J. Schwartz. 2007. Influence of cluster thinning on phenolic composition, resveratrol, and antioxidant capacity in Chambourcin wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 58: 346-350.
- Ruffner H.P. 1982 Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*: A review - Part A. *Vitis* 21: 247-259.
- Santesteban, L. G. and J.B. Royo, 2006. Water status, leaf area and fruit load influence on berry weight and sugar accumulation of cv.'Tempranillo'under semiarid conditions. *Scientia Hort.* 109: 60-65.
- Vasconcelos, M.C., M. Greven, C.S. Winefield, M.C.T. Trought and V. Raw. 2009. The flowering process of *Vitis vinifera*: A Review. *Am. J. Enol. Vitic.* 60: 411-434.
- Williams, L.E. 1987. Growth of 'Thompson Seedless' grapevines. I. Leaf area development and dry weight distribution. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 112: 325–330.
- Williams, L.E. and M.A. Matthews. 1990. Grapevine. In: Irrigation of agricultural crops – Agronomy. B.A. Stewart and D.R. Nielsen (Eds.)Monograph No. 30. pp: 1019-1055 Madison, Wisconsin, USA, ASA-CSSA-SSSA (eds.)



## *Chapter 2.*

# *Combined Effects of Irrigation Regimes and Crop Level on ‘Tempranillo’ Grape Composition*

*Capítulo 2.*

*Efectos Combinados del Régimen Hídrico y el Nivel de Carga en la  
Composición de la Uva ‘Tempranillo’*

*Este capítulo está bajo revisión en la revista Agricultural Water Management:*

*Uriarte, D., Intrigliolo, D. S., Mancha, L. A., Valdés, E., Gamero, E., Prieto, M. H. (2014).  
Under review in Agric. Water Manage.*



## Chapter 2. Combined Effects of Irrigation Regimes and Crop Level on ‘Tempranillo’ Grape Composition

### 2.1 Summary

The effects of different irrigation regimes maintained during fruit set to post-harvest on grapevine var. ‘Tempranillo’ berry composition were investigated during four consecutive seasons in a vineyard located in south-western Spain. In addition, two crop level regimes were established for each irrigation treatment by cluster thinning carried out around veraison. Considerable vintage-to-vintage variations in many quality parameters studied were observed despite berry total soluble solids content remaining nearly stable at around 23 °Brix each year. Irrigation applications, when compared with rainfed cultivation, increased berry titratable acidity and malic acid but slightly decreased berry total polyphenols and anthocyanin potential. Veraison cluster thinning increased berry malic acid, potassium and total phenolic compounds but reduced titratable acidity. High crop level delayed harvest date, but grapes from both thinned and unthinned vines reached similar sugar concentrations in all seasons except when yield was higher than 30 t ha<sup>-1</sup>, where sugar berry concentration was below 21 °Brix. It is concluded that irrigation is an interesting technique to increase berry titratable acidity for ‘Tempranillo’ grapes in semi-arid terroir where grape acidity is normally too low. Cluster thinning can be used instead to increase berry phenolic potential. However, in addition to the detrimental effects on yield reported in a companion paper by Uriarte et al. 2015, cluster thinning might result in lower acidity levels and it is then only recommended under very high crop level and poor climatic conditions during ripening.

### 2.2. Resumen

Los efectos de los diferentes regímenes de Hídricos mantenidos durante el cuajado de poscosecha sobre la composición de la baya, fueron investigados en la var. ‘Tempranillo’ durante cuatro campañas consecutivas en un viñedo ubicado en el sur-oeste de España. Además, se establecieron dos niveles de carga de racimos para cada tratamiento de riego mediante aclareo de racimos llevado a cabo en envero. Se observó una elevada variabilidad entre las vendimias de diferentes años en muchos de los parámetros de calidad estudiados a pesar de que la concentración de sólidos solubles totales se mantuvo estable en torno a los 23 °Brix cada año. La aplicación de riego, en comparación con el cultivo de secano, aumentó la acidez titulable de la baya y el ácido málico pero disminuyó ligeramente los polifenoles totales

y antocianos de la baya. El aclareo de racimos en enero aumentó la concentración de ácido málico en la baya, el potasio y los compuestos fenólicos totales, pero redujo la acidez titulable. La elevada carga productiva, retrasó la fecha de vendimia, pero tanto las cepas con aclareo como las no aclareadas alcanzaron concentraciones similares de azúcar cada campaña, excepto cuando el rendimiento fue superior a  $30 \text{ t ha}^{-1}$ , donde la concentración de azúcar en la baya fue a  $21^{\circ}\text{Brix}$ . En conclusión, el riego es una técnica interesante para aumentar la acidez titulable de la baya en ‘Tempranillo’ en zonas semiárida, donde la acidez de la uva es normalmente muy baja. El aclareo se puede utilizar como una alternativa para aumentar el potencial fenólico de la baya. Sin embargo, además de los efectos perjudiciales sobre el rendimiento descritos por Uriarte et al. 2015 en un documento complementario, el aclareo de racimos podría disminuir los niveles de acidez y por tanto sólo se recomienda bajo muy elevados nivel de carga y con pobres condiciones climáticas durante la maduración.

### **2.3. Tag crowd**

acidity      berry cluster  
addition around  
concentration      crop      effects      grapes      increase  
irrigation level      malic obrix phenolic potential regimes seasons  
sugar tempranillo      thinning      titratable total      veraison yield

## 2.4 .      Introduction

Irrigation is used in winegrape production regions throughout the world to manage vegetative and reproductive growth and to impact on berry composition (Fereres and Evans, 2006). A water deficit during berry growth reduces yield and is usually considered beneficial for wine quality, in particular for red wines (Matthews et al., 1990). However, vine response to water supply might vary among winegrape species as well as among cultivars within *V. vinifera* L. (Winkel and Rambal, 1990; Gibberd et al., 2001; Bota et al., 2001; de Souza et al., 2005; Intrigliolo and Castel, 2008).

In many Spanish regions and especially in Extremadura (southwestern of Spain) the climate is semi-arid, characterized by a long growing season, dry and warm and with a high solar radiation regime. Irrigation is therefore often used in this region to increase grape yield because of the low rainfall during the growing season and the high evaporative demand.

It is also widely acknowledged that crop level is a determining factor in berry quality and one of the goals of modern viticulture is to establish field practices which are able to limit vineyard yield and improve grapevine composition (Gatti et al., 2012; Palliotti et al., 2012).

However, previous studies, mostly carried out on var. Cabernet Sauvignon, have shown that a decrease in yield is not necessarily associated with significant changes in grape quality (Bravdo et al. 1985; Keller et al. 2005) and that the final effects on wine quality depend on the timing and intensity of the crop level regulation (Chapman et al., 2004). In this respect, while some studies have reported that cluster thinning increased berry sugars and anthocyanin concentration (Guidoni et al. 2002), others have concluded that this effect is slight or non-existent (Ough and Nagaoka 1984; Keller et al. 2008, 2005). This diversity of results suggests that the effects of cluster thinning depend on both soil and climate factors and possible variations in implementing this practice.

‘Tempranillo’ is the most common variety of red grape in Spain comprising a total of 205,975 ha, though most of these are cultivated under rainfed conditions with typically low yields ( $\leq 6500 \text{ kg ha}^{-1}$ ). Some studies have investigated the combined long-term impacts of deficit irrigation and cluster thinning in this variety (Intrigliolo and Castel 2011; Santesteban et al. 2011; Gamero et al. 2014). This information is needed to determine the optimal level of vine water stress and crop level for optimizing ‘Tempranillo’ grape composition in semi-arid climatic conditions.

This study investigates the combined effect of different percentages of water replacement based on crop evapotranspiration (ETc) and two crop level regimes adjusted by cluster

thinning at veraison and their interactions on grape quality characteristics in var. ‘Tempranillo’ during four growing seasons and under semi-arid weather conditions.

## **2.5. Materials and Methods**

### *2.5.1 Site description and field determinations*

The experiment was carried out across four consecutive growing seasons (2005 to 2008) in Extremadura (south-western Spain; Lat: 38°51'38'' N; long: 6°40'0'' W; altitude 198 m) in a var. ‘Tempranillo’ vineyard (*Vitis vinifera* L.) with vertical shoot positioning (VSP). The vineyard was planted in 2001 on Ritcher-110 rootstock at a spacing of 2.5 by 1.2 m (3.333 vine ha<sup>-1</sup>). Vineyard soil had a silt-loam texture with 37.3% sand, 25.5% clay, 6.1% silt and 1.1% of organic matter (average 0.0-1.6 m of depth). More details about the experimental vineyard, the plant material used irrigation applications, climatic conditions and field determinations can be found in Uriarte et al., (2015) where the effects of the different practices on vine performance are described.

The experimental design was a split-plot with four replicates; irrigation being the main factor and crop level the second factor within each irrigation regime. The irrigation treatments were comprised of dry-farmed vines (no applied irrigation) and vines irrigated at different percentages (25, 50 and 100) of estimated ETc using a weighting lysimeter set up in the experimental vineyard. Two crop levels were established at veraison for each irrigation regime, un-thinned (high crop level, H) and thinned (low crop level, L), based on leaving a single cluster per shoot.

Phenological stages were determined weekly using Eichhorn and Lorenz (1977) values. Growing degree days (GDD; base 10°C) from 20 March to 15 December were calculated using data from a weather station located at 50 m distance from the experimental vineyard. Stem water potential (SWP) determinations were performed weekly at midday (13:00 to 14:00 h) using a pressure chamber (Model Soil Moisture Corp., Santa Barbara, CA, USA). Yield weight was determined on ten vines per experimental plot. Berry weight was determined as the weight of 100 berries from representative field samples of 250 g. Leaf area-to-yield ratio (LA:Y) was also calculated to express the vine sink-source balance using veraison-harvest average LA.

### **2.5.2. Must composition**

Berry sugars and acid composition were determined weekly from veraison to post-harvest in samples of 250 g per experimental plot and treatment (a total of 4 independent samples per treatment and week). Total soluble solids (TSS) were determined by refractometry (Atago RX-1000 refractometer). Juice pH and titratable acidity (TA) were determined with an automatic titrator (Crison Micro TT) following official methods of the OIV (1990) using a Crison Micro pH-meter (Barcelona, Spain). Titration was carried out with a 0.1 N solution of NaOH to an end point of pH 8.2. Must composition data from the 50ETc treatment was not analyzed in 2005. Potassium ( $K^+$ ) was determined using a Varian AA 240 FS spectrometer (California, USA) following official methods of the OIV (1990).

Malic acid was determined using the enzymatic method (EEC Regulation No. 2676/90, 17 September, 1990) and tartaric acid with the Blouin method (Blouin 1992). Both acids were analysed in a SYSTEAT Easychem Automatic Multidetector (Gomensoro, Madrid). Total polyphenol potential (TPP) was determined following the methodology described by Ribereau-Gayon (2000). Total anthocyanin potential (TAnP) was quantified in accordance with di Stefano and Gentilini (2002)

Harvest was carried out when berry TSS reached 23 °Brix. The target was reached about four days earlier in the low crop level compared with the high crop level treatment (Table 1).

### **2.5.3. Statistical analysis**

Analysis of variance was performed using the statistical software SPSS (ver. 15.0; IBM Software Development, Armonk, NY). The results were subjected to a two-way (irrigation x crop level) analysis of variance (ANOVA) pooling all seasonal data together as well as season-by-season, using the general linear models procedure with irrigation as the main factor and crop level as the subplot of a split-plot design. The simple interaction between the two factors was also included in the ANOVA analysis. For statistical comparison of regression lines, an analysis of variance (ANOVA) was used on intercepts and slopes.

## **2.6. Results and Discussion**

### **2.6.1. Climatic conditions, vine water status and performance**

A detailed description of the weather conditions, vine water status, yield components and LA:Y ratio can be found in Uriarte et al. (2015). Here we only summarize the main results

obtained in order to better interpret the effects on grape composition, which is the main focus of the present manuscript.

**Table 2.1.** Key phenological stage of Tempranillo vines from 2005 to 2008 growing seasons in the Vegas Guadiana River, Extremadura.

Phenological Stage	2005		2006		2007		2008		2005-2008	
	DOY <sup>b</sup>	GDD <sup>a</sup>	DOY	GDD	DOY	GDD	DOY	GDD	DOY	GDD
Budbreak	95	6	86	5	81	1	79	0	85	3
Full Bloom	132	247	128	251	134	239	132	259	132	249
Setting	149	395	149	474	148	359	147	349	148	394
Véraison	198	1129	193	1072	194	895	199	955	196	1013
1 <sup>st</sup> Harvest	243	1787	254	2037	249	1641	244	1575	248	1760
2 <sup>nd</sup> Harvest	249	1862	254	2037	256	1732	246	1599	251	1807
Leaf Fall	349	2371	347	2651	348	2166	348	2107	348	2324

<sup>a</sup> Cumulative growing degree days (base 10°C) from 20 March to 15 December.

<sup>b</sup> Days of year

Weather conditions during the experiment were different between years. Season 2006 recorded the highest GDD with 2651 °C from budbreak to leaf-fall (Table 2.1). Seasons 2007 and 2008 were the mildest seasons with 2166 °C and 2107 °C, respectively. The growing season rainfall (April to September) was scarce in 2005 and 2006 with 85 and 65 mm, whereas 2007 was a rainy season with up to 215 mm. Averaging data from all experimental seasons, budbreak occurred on March 26<sup>th</sup> with a maximum difference of 16 days between 2005 (April 5<sup>th</sup>; Day Of Year 95) and 2008 (March 20<sup>th</sup>; DOY 79). Annual differences in phenology decreased during the growing season and veraison occurred in the same week each year (July 13-17; DOY ~198). Harvest dates were different each season depending on grape berry sugars accumulation, and occurred from August 31<sup>th</sup> to September 13<sup>th</sup> (Table 2.1). Leaf fall occurred during mid-December (DOY ~348) in each season. The irrigation regime did not affect plant phenological development, with only harvest date being affected by crop level treatment (four-day delay in high crop level; 2<sup>nd</sup> harvest in Table 2.1).

The seasonal variability in weather conditions had an important effect on average stem water potential (SWP) registered from anthesis to fruit-set, with mean values of -0.67 MPa, -0.75 MPa, -0.38 MPa and -0.44 MPa in 2005, 2006, 2007 and 2008, respectively (Figure 1.1). When irrigation started after fruit-set, 100ETc SWP values (-0.67 MPa), were higher than in the dry-farmed and 25ETc treatments (-0.95 MPa and -0.87 MPa) ( $p=0.002$ ). Differences between 25ETc (-0.83 MPa) and 50ETc (-0.66 MPa) were only observed in 2008

( $p=0.003$ ), and both irrigation treatments showed less water stress than the dry-farmed vines in the 2007 (-0.80 MPa) and 2008 (-1.01 MPa) growing seasons ( $p<0.001$ ). No crop level effects were observed on vine water status throughout the study (-0.81 MPa and -0.83 MPa,  $p=0.583$ ; in low and high crop level, respectively) and no Irrigation x Crop level interaction was found (Irrigation\*crop Level;  $p=0.670$ ).

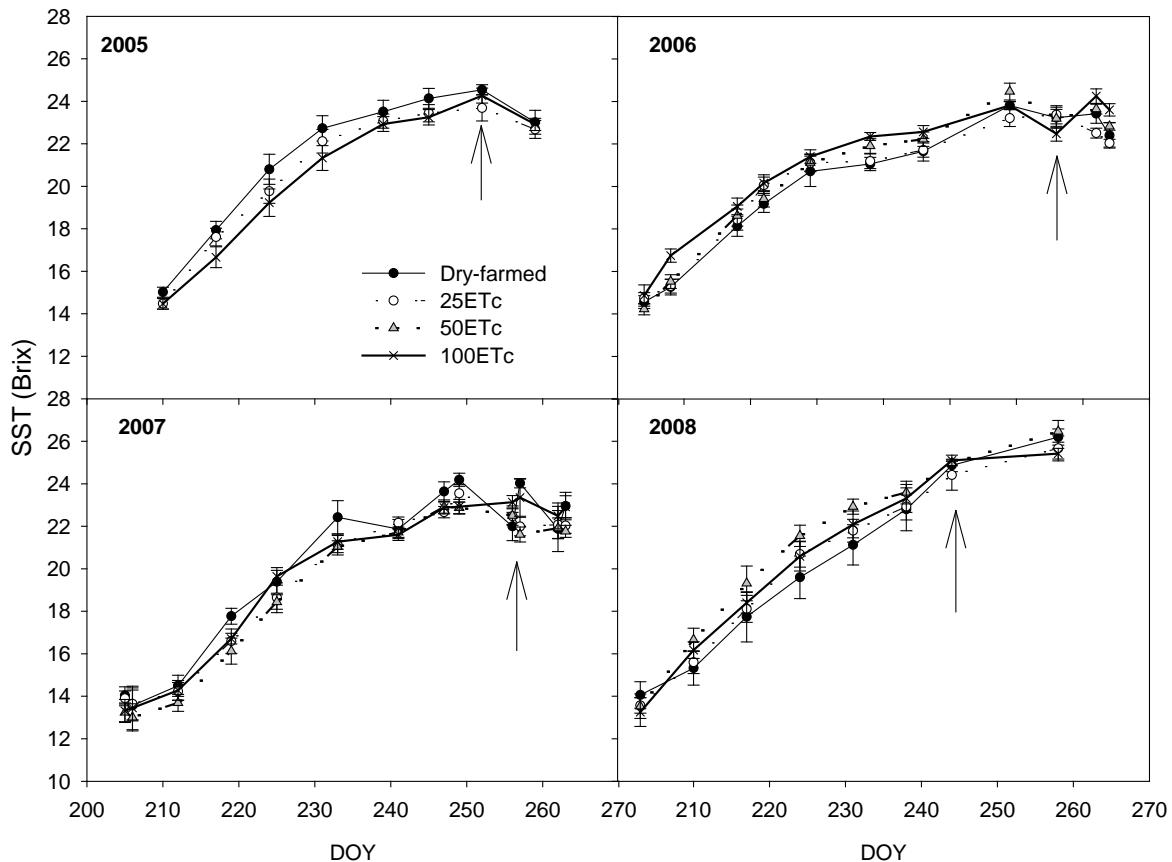
The highest yields were harvested in 2008 with a seasonal average of 23.5 t ha<sup>-1</sup> and the lowest in 2007 (11.9 t ha<sup>-1</sup>; Table 1.3). Watering vines at 100% ETc increased yield by 37% compared to dry-farmed, but yield was similar between the 25ETc and 50ETc treatments (15.1 t ha<sup>-1</sup> and 15.9 t ha<sup>-1</sup>, respectively;  $p=0.659$ ). Cluster thinning reduced yield by 35% ( $p<0.001$ ), similar to the percentage of clusters removed. Irrigation effects on yield were different depending on the crop level in most years ( $p = 0.004$ ; in the Irrigation\*crop Level interaction; Table 1.3).

Similarly, berry fresh weight was different among seasons ( $p <0.001$ ), with the highest value in 2007 (2.02 g) and the lowest in 2005 (1.27 g) (see in Table 1.3). Irrigation increased berry weight in 2005 and 2008 compared to dry-farming ( $p<0.001$ ), whereas no differences were observed between the 25ETc and 50ETc treatments ( $p<0.001$ ). On the other hand, cluster thinning effects were less pronounced than irrigation effects on berry fresh weight, with differences only observed in 2007 and 2008 (Table 1.3).

LA-to-yield ratio was higher on dry-farmed vines with 2.1 m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup> with respect to 100ETc (1.67 m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>;  $p<0.05$ ) but no differences in vine balance were observed between 25ETc and 50ETc (1.61 m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup> and 1.70 m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>, respectively;  $p<0.938$ ; Table 1.3). LA-to-yield ratio was considerably increased by up to 31% by cluster thinning ( $p<0.001$ ).

#### *2.6.2. Grape soluble solids and acids composition*

The veraison to postharvest variation in must TSS was similar in all watering treatments with slight early differences in sugar concentration only observed at the beginning of the ripening period (Figure 2.1).



**Figure 2.1** Evolution in berry composition of total soluble solids ( $^{\circ}$ Brix) from veraison to post harvest dates for irrigation treatments during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate harvest time. Vertical bars indicate  $\pm$  SE. Data represent means of four replicates.

In fact, all irrigation treatments reached the harvest time target value of 23  $^{\circ}$ Brix at the same time, and at harvest no statistically significant differences in TSS among irrigation treatments were recorded (Table 2.2). The effect of irrigation regime on berry TSS concentration was insignificant during most of the ripening period. This was despite the irrigated treatments having, in general, 21% lower LA-to-Yield ratio ( $1.66 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$ ) than the dry-farmed treatment ( $2.11 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$ ). The less favorable sink:source supply ratio of the irrigated treatments was most likely compensated by the higher photosynthetic capacity of watered vines since there is normally a negative relationship between SWP and leaf photosynthesis rate (Flexas et al., 2004), particularly when SWP falls below -1.0 MPa (Intrigliolo and Castel, 2011). Similar TSS contents between irrigation and non-irrigation vines have also been reported in other studies in 'Cabernet Sauvignon' and Merlot (Keller et al., 2008; Bowen et al., 2011;

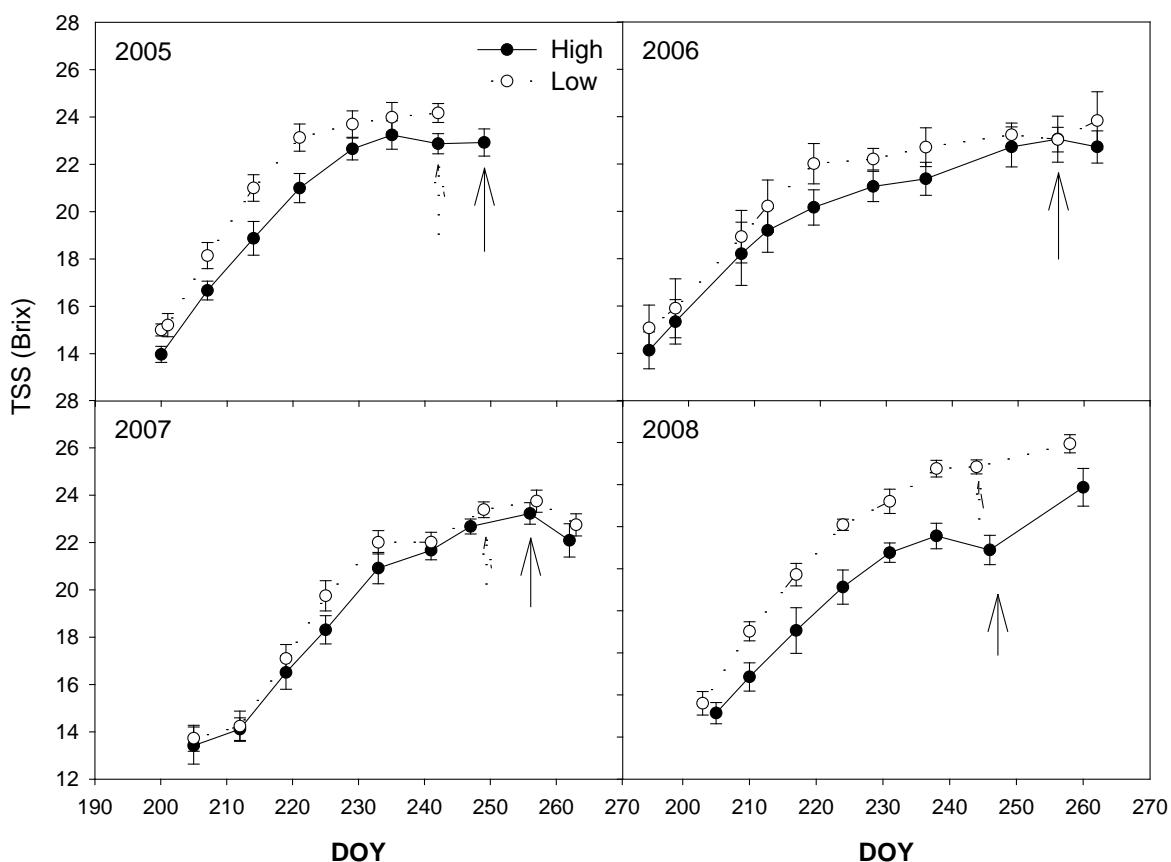
Shellie, 2011) and in 'Tempranillo' under similar climatic conditions as the present study (Intrigliolo and Castel, 2008).

**Table 2.2.** Variables of must quality at harvest in the different irrigation and crop level treatments and their interactions from 2005 to 2008 growing seasons

Treatment	TSS ( $\text{g L}^{-1}$ )					Titratable acidity ( $\text{g L}^{-1}$ )				
	2005	2006	2007	2008	Avg.	2005	2006	2007	2008	Avg.
Irrigation	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	**	**	***
Dry-farmed	23,7	22,4	23,4	21,9	22,9	3,3	b <sup>a</sup>	3,3	4,0	c
25ETc	23,0	23,4	23,1	22,7	23,2	3,4	b	3,0	4,2	bc
50ETc	nc	23,1	23,2	22,9	23	nc	3,3	4,4	ab	4,9
100ETc	23,3	23,0	23,8	23,6	23,2	3,8	a	3,5	4,6	a
Crop Level	ns	ns	ns	***	***	ns	*	***	***	***
High	22,9	23	23,2	20,7	22,4	3,5	3,5	4,5	5,5	4,3
Low	23,9	23	23,6	24,8	23,8	3,6	3,1	4,1	4,6	3,9
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
pH					Malic acid ( $\text{g L}^{-1}$ )					
Treatment	2005	2006	2007	2008	Avg.	2005	2006	2007	2008	Avg.
Irrigation	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns	***	**
Dry-farmed	3,9	3,9	3,8	3,8	3,8	1,3	c	1,2	1,6	2,1
25ETc	3,9	4,0	3,8	3,7	3,8	1,7	b	1,4	1,7	2,5
50ETc	nc	3,9	3,8	3,8	3,8	nc	1,1	1,8	2,4	bc
100ETc	3,8	3,9	3,8	3,7	3,8	2,2	a	1,4	1,9	3,0
Crop Level	***	ns	ns	***	***	*	***	***	ns	***
High	3,8	3,9	3,8	3,6	3,8	1,6	1	1,4	2,6	1,62
Low	3,9	3,9	3,8	3,9	3,9	1,8	1,5	2,2	2,4	1,99
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tartaric acid ( $\text{g L}^{-1}$ )					TPP (a.u.)					
Treatment	2005	2006	2007	2008	Avg.	2005	2006	2007	2008	Avg.
Irrigation	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	***
Dry-farmed	5,9	7,4	6	6	6,3	73,4	a	74,3	80,6	47,5
25ETc	6,0	7,1	5,8	6,1	6,2	56,0	b	71,6	72,1	46,0
50ETc	nc <sup>y</sup>	7,2	5,7	5,9	6,3	nc	65,9	65,3	47,8	59,7
100ETc	5,6	7,0	5,7	6,1	6,1	54,1	b	68,8	74,9	39,7
Crop Level	***	**	ns	ns	***	**	***	***	ns	***
High	4,6	7,4	5,8	6,1	6,1	53,1	59,5	64,1	42,0	54,8
Low	7	6,9	5,8	6,0	6,4	69,1	80,8	82,4	48,5	70,3
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
K ( $\text{g L}^{-1}$ )					TAnP ( $\text{mg L}^{-1}$ )					
Treatment	2005	2006	2007	2008	Avg.	2005	2006	2007	2008	Avg.
Irrigation	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns
Dry-farmed	nc	2,0	1,8	2,1	2,0	2239	a	1516	b	2175
25ETc	nc	2,2	1,8	2,0	2	1807	b	1698	a	2033
50ETc	nc	2,1	1,7	2,0	1,9	--	1478	b	1933	1144
100ETc	nc	2,2	2,0	2,1	2,1	1850	b	1463	b	2141
Crop Level	*	**	**	***	***	***	***	*	**	***
High	nc	2,0	1,7	1,9	1,9	1649	1376	1839	930	1435
Low	nc	2,2	2,0	2,0	2,1	2282	1702	2302	1258	1860
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>a</sup>Means followed by a different letter within each column are significantly different at p<0.05 level based on Tukey's multiple range test. \*, \*\*, \*\*\* and ns indicate significance at p<0.05, 0.01, 0.001 and not significant, respectively, in crop level and interaction effects. <sup>y</sup>data not collected.

At harvest, no differences in TSS were observed between the two crop level regimes (Table 2.2). However, the low crop level was harvested on average four days earlier than the high crop level (1<sup>st</sup> Harvest in Table 1.1) in all experimental seasons. This effect was also observed in berry ripening, where, for a given sampling date, low crop level had a higher TSS concentration than the high crop level (Figure 2.2), suggesting a more rapid berry sugars accumulation in the low crop level regime. Similar results were also obtained in ‘Tempranillo’ by Santesteban et al. (2011), where cluster thinning was applied during ripening during 4 consecutive seasons. Santesteban and co-workers (2011) attributed the faster grape sugars accumulation to a shift of the source:sink ratio which allows a greater allocation of photosynthates to the remaining clusters.

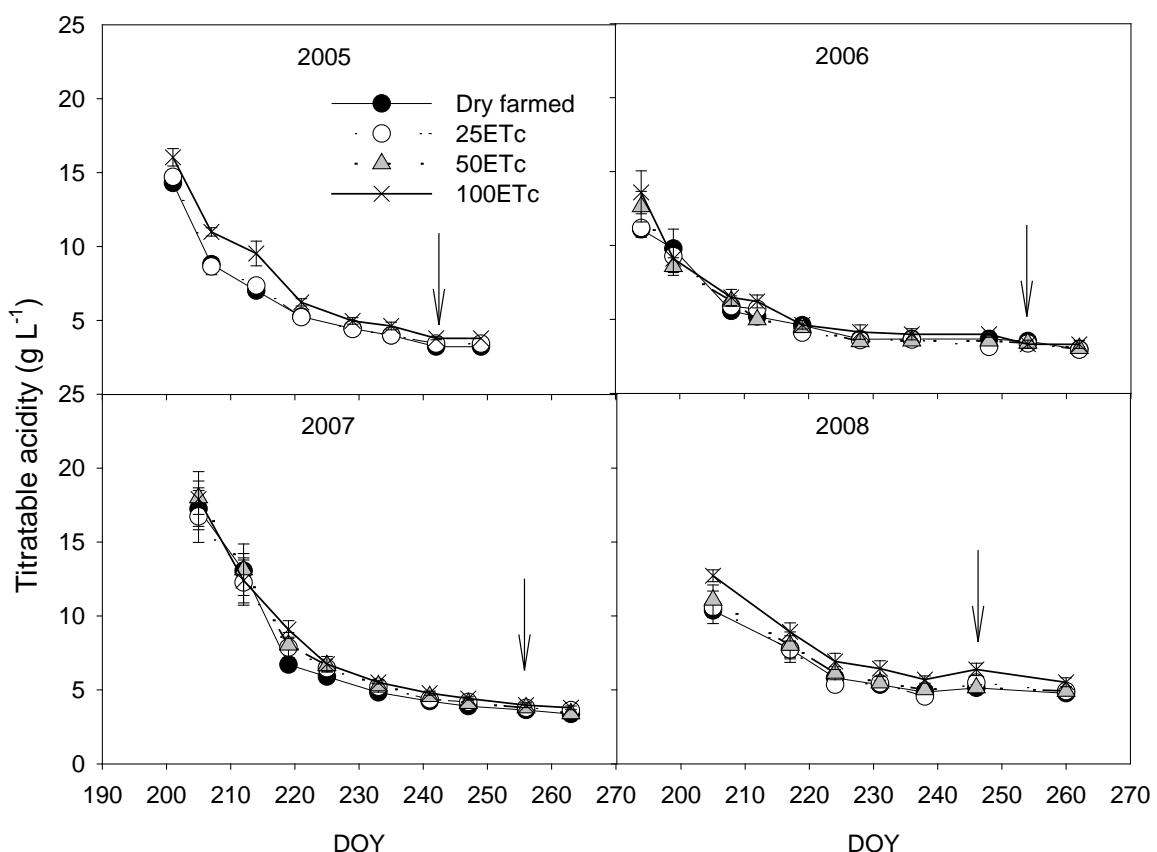


**Figure 2.2** Evolution in berry composition of total soluble solids (°Brix) from veraison to post harvest dates for low and high crop levels during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate harvest time. Vertical bars indicate  $\pm$  SE. Data represent means of four replicates.

In our study, statistically significant lower °Brix values were found in the high crop level regime only in 2008, even though the harvest was delayed as long as possible (Table 2 and Figure 2.2). It should be noted that in season 2008 very high yields were obtained with an average of  $30.4 \text{ t ha}^{-1}$  and  $16.3 \text{ t ha}^{-1}$  in the high and low crop level regimes, respectively. In the high crop level in season 2008, the LA-to-Yield ratio values ( $0.94 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$ ) were lower than

those considered optimum for proper grape ripening (Kliewer and Dokoozlian, 2001), suggesting that despite in a long-growing season under warm climate conditions and with irrigation, an LA:Y ratio lower than  $-1.0 \text{ m}^2\text{kg}^{-1}$  might be indicative of some degree of overcropping.

Titratable acidity at harvest (TA) was higher in 2008 with a concentration of  $5.1 \text{ g L}^{-1}$  ( $p < 0.001$ ) compared to the other years of study ( $3.5 \text{ g L}^{-1}$ ,  $3.3 \text{ g L}^{-1}$  and  $4.3 \text{ g L}^{-1}$  in 2005, 2006 and 2007, respectively). As also reported by Keller (2008) and Shellie (2011), irrigation applications in our study increased TA. In fact, the 100ETc treatment increased must acidity with respect to the dry-farmed and 25ETc treatments in three of the four study seasons (Figure 3 and Table 2).

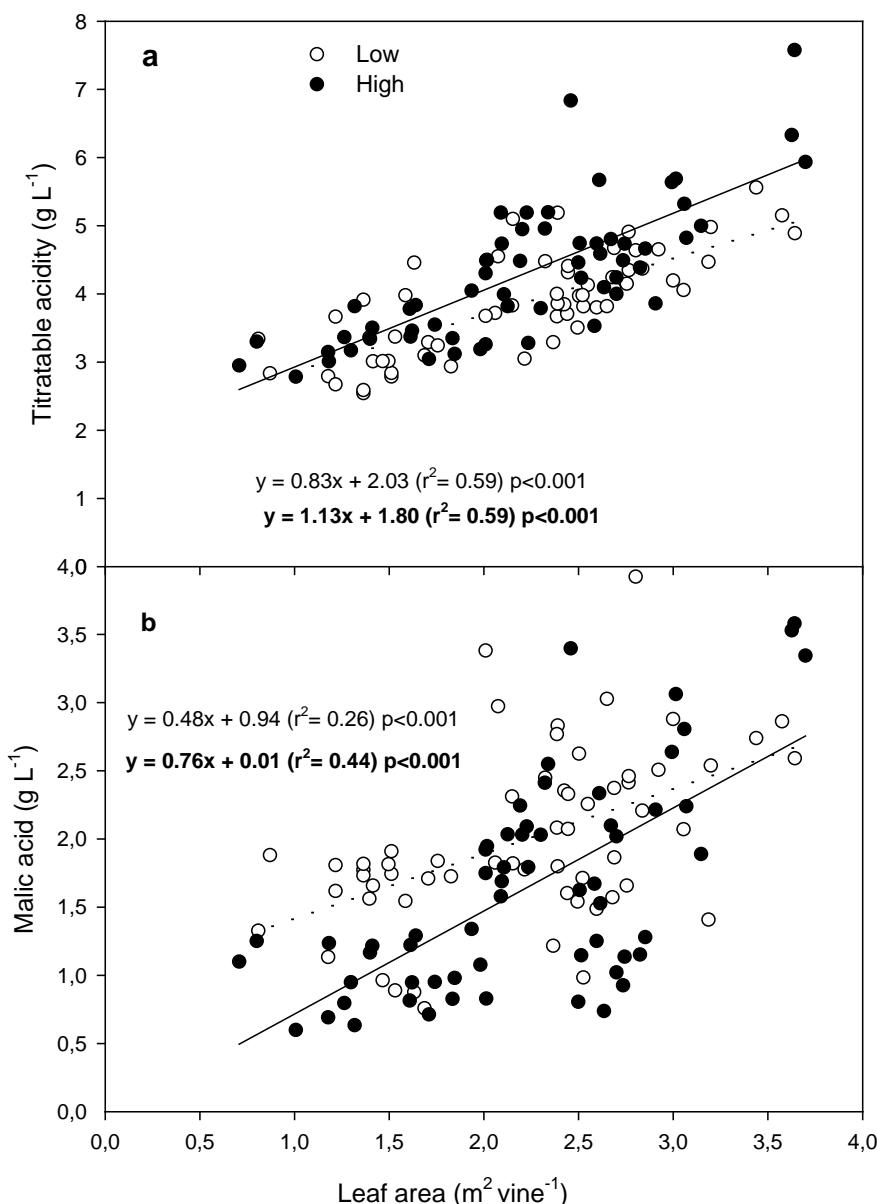


**Figure 2.3** Evolution in berry composition of titratable acidity from veraison to post harvest dates for irrigation treatments during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate the harvest time. Vertical bars indicate  $\pm \text{SE}$ . Data represent means of four replicates

Differences between 25ETc and 50ETc were only observed in the season-by-season average ( $p < 0.05$ ; results not shown) with higher values in 50ETc (Table 2.2). This positive effect of irrigation on must TA was due to increased malic acid concentration, with no differences being observed in tartaric acid between treatments (Table 2.2). Malic acid is known to be the main acid contributor to berry acidity (Esteban et al. 2002). These findings are important because in warm climates 'Tempranillo' is prone to produce grapes with low acidity levels and

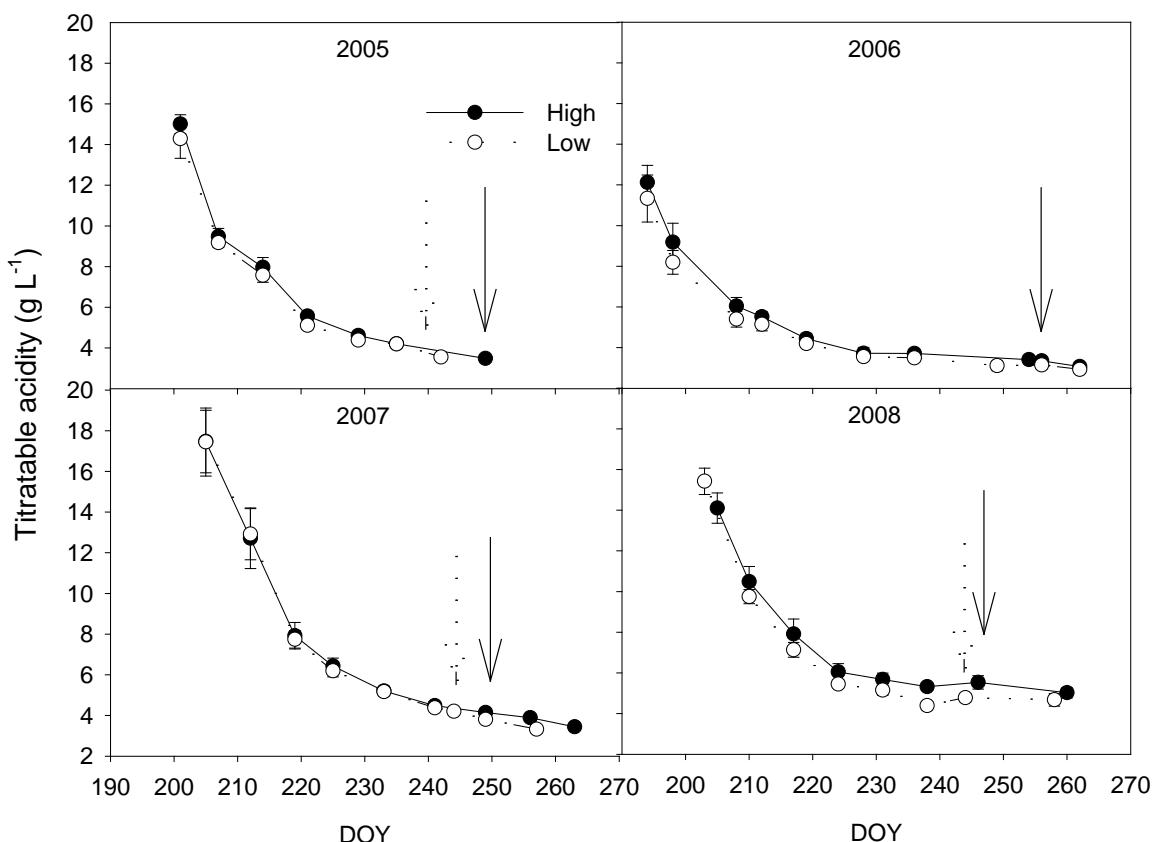
high pH. Supplemental application of irrigation might be then considered as a tool not only to increase yield but also to improve grape acidity.

Smart et al. (1985) reported that in more vigorous grape canopies cluster exposure is reduced and berry temperature is decreased, reducing the combustion of berry malic acid. The greater vegetative development obtained in irrigated treatments (Table 1.2), expressed in this study as maximum leaf area index, was directly related at harvest to TA and malic acid concentration ( $p=0.001$  and  $p=0.002$ , respectively) (Figure 2.4a, and b).



**Figure 2.4 (a)** Relationship between titratable acidity and leaf area in Tempranillo vines in two crop levels: low crop level (Low: white point; dotted curve, linear) and high crop level (High: black point; full curve, linear) vines over four growing seasons ANOVA shown that  $P$  (Intercepts)  $< 0.05$  and  $P$  (Slope)  $> 0.05$ . **(b)** Relationship between malic acid and leaf area in cv Tempranillo vines in two crop levels: low crop level (Low: white point; dotted curve, linear) and high crop level (High: black point; full curve, linear) vines over four growing seasons ANOVA shown that  $P$  (Intercepts)  $< 0.05$  and  $P$  (Slope)  $> 0.05$

This is in agreement with Intrigliolo and Castel (2010), who also observed an increase in malic acid when vine leaf area values were above  $8 \text{ m}^2$  per vine in the most irrigated vines. In the present study, there was a positive relationship between leaf area and TA and malic acid in both high and low crop levels. However, although the linear curves of low and high crop levels in both correlations (TA and malic acid concentration) had similar slopes ( $p>0.05$ ), TA was higher in the high crop level treatment for the same LA, while malic acid concentration was higher in the low crop level. In agreement with the results reported by Bravdo et al. (1985), these results suggest that malic acid concentration increases with thinning probably due to the more favorable distribution of photoassimilates in to the remaining clusters through highest sink-source relationship. On the other hand, no irrigation effects on pH were observed in this experiment, with similar values being found for all irrigation treatments (Table 2.2).



**Figure 2.5** Evolution in berry composition of titratable acidity ( $\text{g L}^{-1}$ ) from veraison to post harvest dates for low and high crop levels during 2005, 2006, 2007 and 2008 growing seasons. Arrows indicate the harvest time. Vertical bars indicate  $\pm \text{SE}$ . Data represent means of four replicates

A clear difference between crop levels was observed in TA and pH during ripening, with lower and higher values, respectively, in the low crop level treatment (Table 2.2 and Figure 2.5). These results agree with those previously reported by Bravdo et al. (1985) and Naor and Gal (2002), and suggest faster maturity in response to a lower crop load. However, Keller et al. (2005) reported that crop level had no effect on berry acidity and determined that

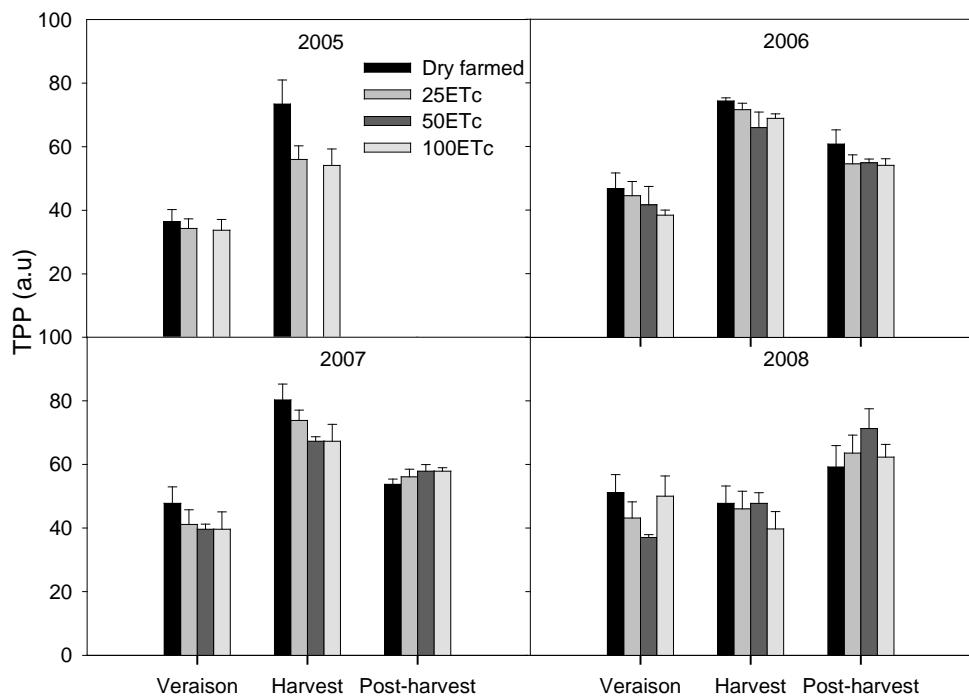
seasonal conditions, especially differences in temperature and soil moisture, were greater than the impact of thinning on berry component. Crop level regime had no effect on tartaric acid levels, as also observed in a five year study on ‘Cabernet Sauvignon’ by Bravdo et al. (1985).

All irrigation treatments showed similar levels in terms of berry potassium concentration ( $K^+$ ; Table 2.2). However, other studies have found a higher concentration of potassium when irrigation is supplied probably because of increased root metabolic activity and absorption in response to irrigation (Nadal and Arola 1995, Klein et al. 2000). The results of the present study may indicate that the moderate water stress in plants from the dry-farmed and 25ETc treatments (study average above -1.0 MPa in both treatments; data not shown) did not produce a limited capacity to absorb  $K^+$ .

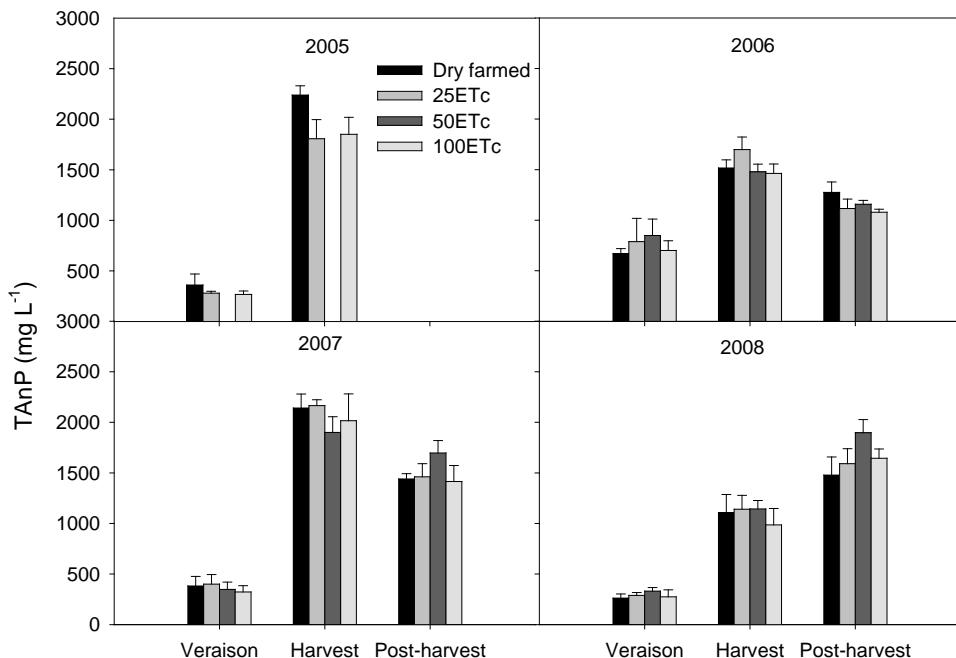
Conversely, cluster thinning increased  $K^+$  concentration each season with mean 2006-2008 values of  $2.1\text{ g L}^{-1}$  and  $1.9\text{ g L}^{-1}$  in low and high crop level, respectively (Table 2.2), probably due to the larger source-sink ratio of the cluster-thinned vines. Hepner and Bravdo (1985) showed that  $K^+$  content rose with decreasing crop loads in ‘Carignane’ and ‘Cabernet Sauvignon’ berries and, as in this study, found a positive correlation between  $K^+$  and must malic acid. A high  $K^+$  concentration in must also results in a high pH and loss of color quality during storage (Morries et al. 1983), and this may increase the negative effect of cluster thinning on acidity during winemaking.

### *2.6.3. Grape phenolic composition*

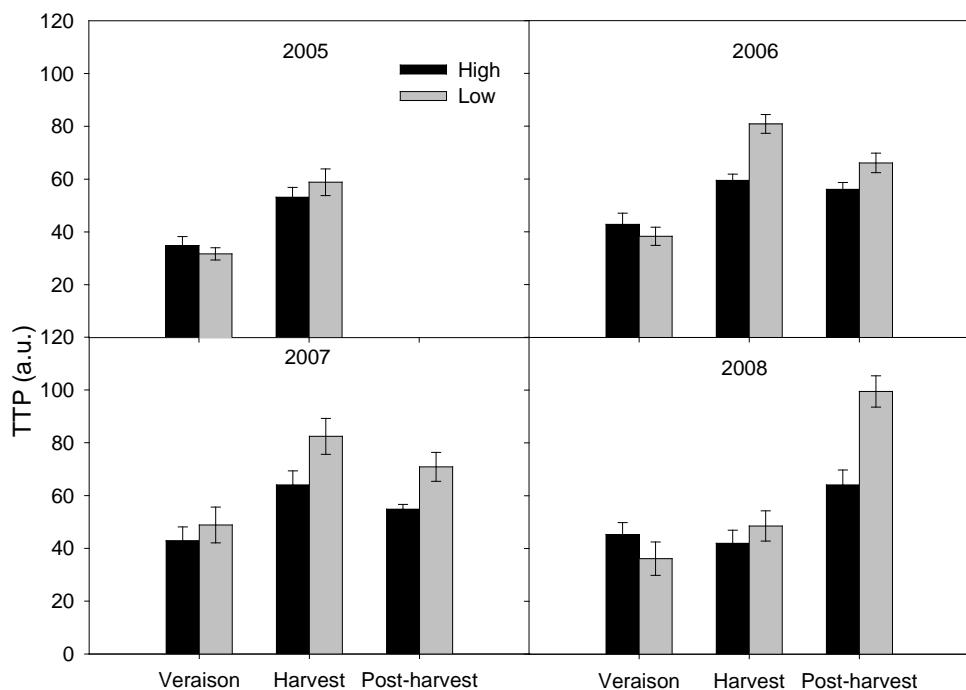
Total phenolic content, expressed as total phenolic potential (TPP) and total anthocyanin potential (TAnP), were high in 2007 and low in 2008 with values of 73.2 u.a. and  $2056\text{ mg L}^{-1}$  in 2007 and 45.3 and 1094 in 2008, respectively (average annual values from Table 2.2). Dry-farmed vine attained higher berry TPP values at harvest, while no differences among irrigation treatments were registered (Table 2.2). This trend was observed throughout ripening in three samples collected at veraison, veraison to harvest and harvest in 2005 and at veraison, harvest and postharvest in 2006, 2007 and 2008 seasons (Figure. 2.6). In general, higher must TPP values were observed for all treatments in the harvest samples in the 2006 and 2007 seasons, indicating that harvest took place at the appropriate grape phenolic maturity moment. However, in 2008, TPP values were higher in the post-harvest sample when the highest TPP values were obtained in the 50ETc treatment ( $p<0.05$ ). Overall, these results suggest that grape phenolic maturity did not attain maximum value in all seasons even though the harvest was carried out at a similar °Brix level. It also would seem to indicate that grape TSS is not a solid indirect indicator of grape phenolic maturity.



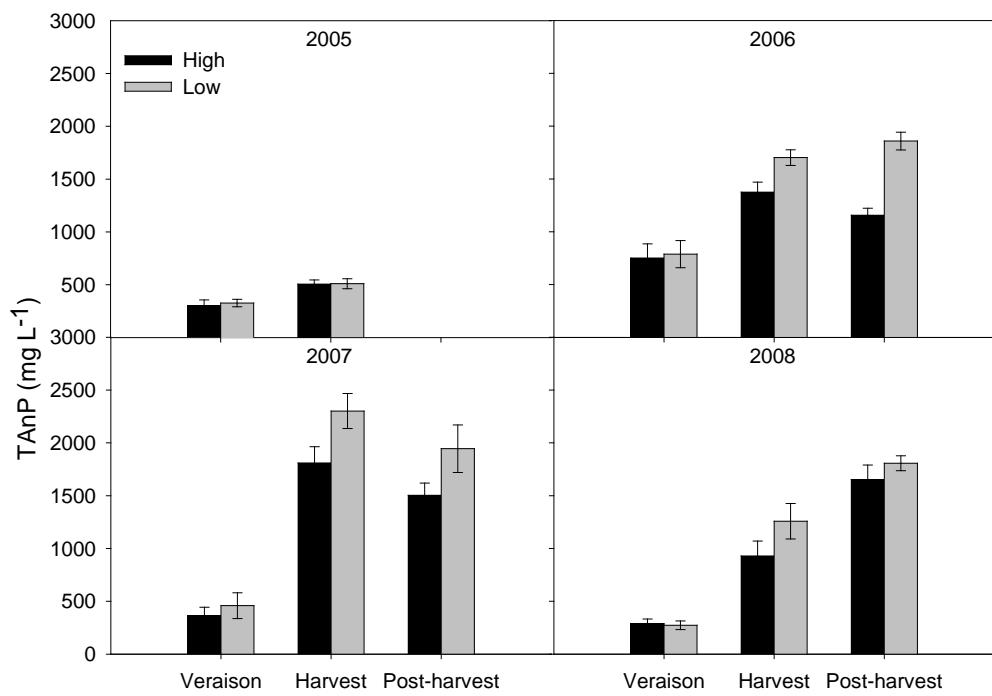
**Figure 2.6** Must composition of total phenolic potential (a.u) in veraison, harvest and post harvest for each irrigation treatment. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate  $\pm$  SE. Data represent means of four replicates



**Figure 2.7** Must composition of total anthocyanin potential ( $\text{mg L}^{-1}$ ) in veraison, harvest and post harvest for each irrigation treatment. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate  $\pm$  SE. Data represent means of four replicates

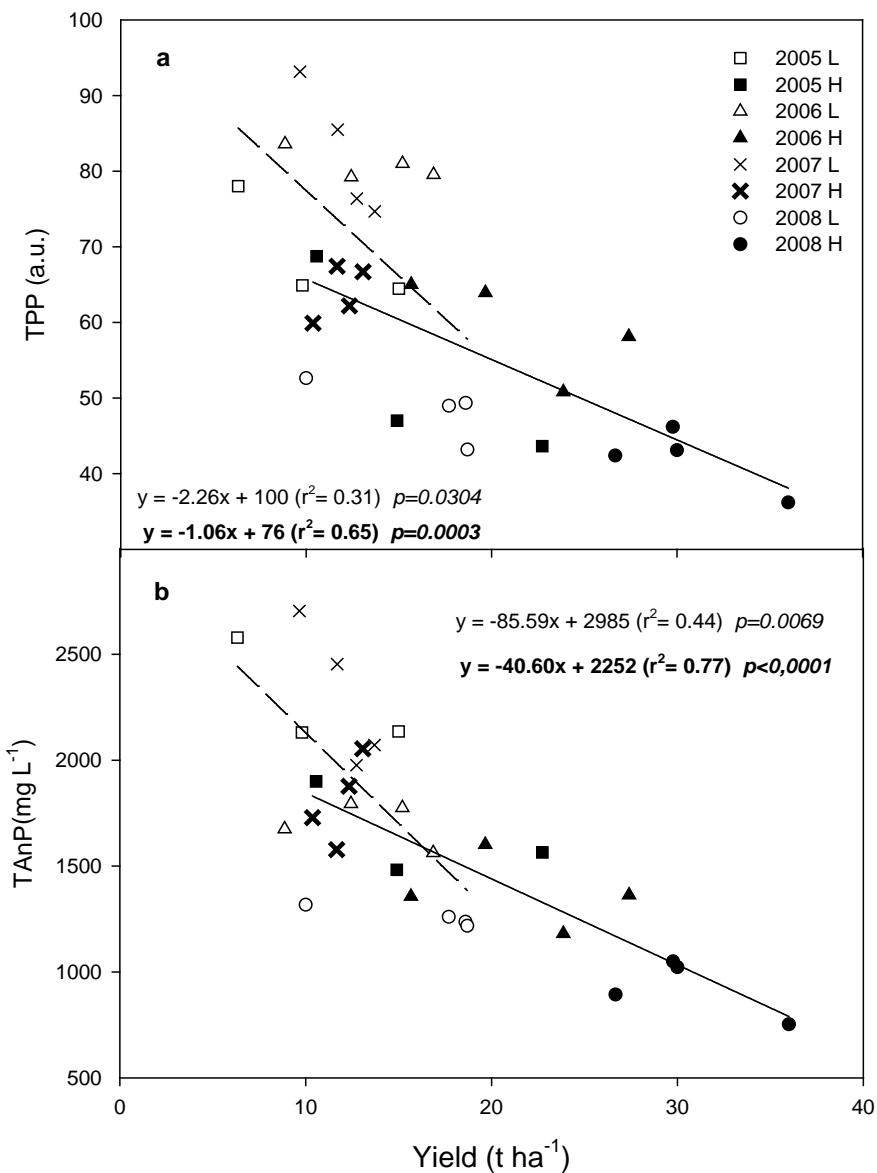


**Figure 2.8** Must composition of total phenolic potential (a.u.) in veraison, harvest and post harvest for High and Low crop levels. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate  $\pm$  SE. Data represent means of four replicates



**Figure 2.9** Must composition of total anthocyanin potential ( $\text{mg L}^{-1}$ ) in veraison, harvest and post harvest for High and Low crop levels. Post harvest was not analyzed in 2005. Vertical bars indicate  $\pm$  SE. Data represent means of four replicates

Pooling data from all seasons, no irrigation effects were observed in must TanP. However, in 2005 and 2006 the most irrigated treatments had lower TanP values than the dry-farmed and 25ETc ones (Table 2.2). During 2008, higher TAnP values were observed in the postharvest berry sampling, which is similar to what occurred for TPP (Fig. 7).



**Figure 2.10 (a)** Relationship between total phenolic potential (a.u) and yield ( $t\text{ ha}^{-1}$ ) in Tempranillo vines for two crop levels: low crop level (Low: dotted curve, linear) and high crop level (High: full curve, linear) vines during four growing seasons ANOVA shown that P (Intercepts) > 0.05 and P (Slope)>0.05. Data represent means of four replicates. **(b)** Relationship between total anthocyanin potential ( $\text{mg L}^{-1}$ ) and yield ( $t\text{ ha}^{-1}$ ) in Tempranillo vines for two crop levels: low crop level (Low: dotted curve, linear) and high crop level (High: full curve, linear) vines during four growing seasons ANOVA shown that P (Intercepts)>0.05 and P (Slope)>0.05. Every point represent mean of four replicates

Berry TPP contents clearly increased with cluster thinning throughout ripening (veraison to postharvest) each season except in 2008 when TPP values were different only in the postharvest samples (Table 2.2 and Figure 2.8). Similar to must TPP, TAnP content was higher in low crop level each season including 2008 at harvest (Table 2.2 and Figure. 2.9). On the other hand, no Irrigation\*Crop level interactions were observed in any of the quality parameters studied in this experiment (TSS, pH, AT; p>0.05; results not shown).

Pooling data from all seasons, a negative correlation was obtained between yield and berries PPT and TAnP content (Figure 2.10a and b) for both low and high crop levels, with the highest  $r^2$  value in the high crop level treatment ( $r^2=0.65$ ;  $p<0.001$  and  $r^2=0.77$ ;  $p<0.001$  for PPT and TanP, respectively) although the slope of the regression curve was similar  $p>0.05$  in both crop levels (Figure 2.10 a and b). Other works carried out by Keller et al. (2008) and Bowen et al. (2011) concluded that seasonal effects, such as climatic conditions, had a greater influence on berry composition than other cultural practices and are responsible for the seasonal fluctuations in fruit composition. Based on this, the specific conditions of each season would establish the potential concentration of berry color content. Cluster thinning thus achieves greater proximity to the potential of that year, improving the concentration of color compared to unthinned vines. Indeed, these results indicate that crop level has a positive effect on the color content of the berries but growing conditions each year have a greater effect than the crop level per se.

## **2.7. Conclusion**

Irrigation allows increasing must titratable acidity improving the low acidity of the wines produced under semi-arid growing conditions. In addition, irrigation with water replenishment strategies of 25% ET<sub>c</sub> obtained similar berry phenolic composition to that obtained in non-irrigated vines. Irrigation can therefore be considered an interesting tool for the improvement of berry composition, especially in red grape varieties growing in these climatic areas. Cluster thinning accelerates ripening and can increase phenolic and anthocyanin grape content, but reduces acidity and increase potassium concentration of must which can be a negative factor during wine storage. Thinning can be an effective tool to increase the color of the grapes, when a significant loss of yield can be accepted by winegrowers.

## **2.8. References**

- Bota J., Flexas, J. And Medrano, H. 2001. Genetic variability of phot osynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Ann. Appl. Biol.* 138, 353-361.
- Bowen, P., Bogdanoff, C., Usher, K., Estergaard, B., Watson, M. 2011. Effects of irrigation and crop load on leaf gas exchange and fruit composition in red winegrapes grown on a loamy sand. *Am. J. Enol. Vitic.* 62: 9-22.
- Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S. and Tabacman, H. 1985. Effect of irrigation and crop level on growth, yield and wine quality of var. Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* 36: 132-139.
- Chapman, D. M., Matthews, M. A., and Guinard, J. X. 2004. Sensory attributes of ‘Cabernet Sauvignon’ wines made from vines with different crop yields. *Am. J. Enol. Vitic.* 55: 4, 325-334.
- de Souza, C. R., Maroco, J. P., dos Santos, T. P., Rodrigues, M. L., Lopes, C., Pereira, J. S., and Chaves, M. M. 2005. Control of stomatal aperture and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars. *Agric. Ecosyst. Environ.* 106: 2, 261-274.
- di Stefano, R. and Gentilini, N., 2002. Methods of analysis of proanthocyanidins in red wines. *Riv. Ital. Vitic.* 55, 63-74.
- EEC, 1990. European Communities. Commission Regulation No. 2676/90 on “Community Analysis Methods to Use in Wine Sector”. Official 1. European Communities L272/3.1 0.90.
- Eichhorn, K. W., and Lorenz, D. H. 1977. Phenological development stages of the grape vine. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 29: 8, 119-120.
- Esteban, M. A., Villanueva, M. J., and Lissarrague, J. R. 2002. Relationships between different berry components in ‘Tempranillo’ (*Vitis vinifera* L) grapes from irrigated and non-irrigated vines during ripening. *J. Sci Food Agric.* 82: 10, 1136-1146.
- Fereres, E., and Evans, R. G. 2006. Irrigation of fruit trees and vines: an introduction. *Irrig. Sci.* 24: 2, 55-57. Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., Sharkey, T.D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6: 3, 269-279.

- Gamero, E., Moreno, D., Vilanova, M., Uriarte, D., Prieto, M.H., Valdés, M.E. 2014. Effect of bunch thinning and water stress on chemical and sensory characteristics of 'Tempranillo' wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* 20: 3, 394-400.
- Gatti, M., Bernizzoni, F., Civardi, S., Poni, S., 2012. Effects of Cluster Thinning and Preflowering Leaf Removal on Growth and Grape Composition in var. Sangiovese. *Am. J. Enol. Vitic.* 63:3, 325-332.
- Gibberd, M. R., Walker, R. R., Blackmore, D. H., and Condon, A. G. 2001. Transpiration efficiency and carbon-isotope discrimination of grapevines grown under well-watered conditions in either glasshouse or vineyard. *Aust. J. Grape Wine Res.* 7: 3, 110-117.
- Guidoni, S., Allara, P., and Schubert, A. 2002. Effect of cluster thinning on berry skin anthocyanin composition of *Vitis vinifera* var. Nebbiolo. *Am. J. Enol. Vitic.*, 53:3, 224-226.
- Hepner, Y., and Bravdo, B., 1985. Effect of crop level and drip irrigation scheduling on the potassium status of 'Cabernet Sauvignon' and 'Carignane' vines and its influence on must and wine composition and quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 36: 2, 140-147.
- Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., 2011. Interactive effects of deficit irrigation and shoot and cluster thinning on grapevine var. 'Tempranillo'. Water relations, vine performance and berry and wine composition. *Irrig. Sci.* 29 : 6, 443-454.
- Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., 2010. Response of grapevine var."Tempranillo"to timing and amount of irrigation: water relations, vine growth, yield and berry and wine composition. *Irrig. Sci.* 28: 2, 113-125.
- Intrigliolo, D. S., Castel, J. R. 2008. Effects of irrigation on the performance of grapevine var. 'Tempranillo' in Requena, Spain. *Am. J. Enol. Vitic.* 59 :1, 30-38.
- Keller, M., Smithyman R.P., Mills L.J. 2008. Interactive effects of deficit irrigation and crop load on 'Cabernet Sauvignon' in an arid climate. *Am. J. Enol. Vitic.* 59: 3, 221-234.
- Keller, M., Mills, L. J., Wample, R. L., and Spayd, S. E. 2005. Cluster thinning effects on three deficit-irrigated *Vitis vinifera* cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* 56: 2, 91-103.
- Klein, I., Strime, M., Fanberstein, L., and Mani, Y. 2000. Irrigation and fertigation effects on phosphorus and potassium nutrition of wine grapes. *Vitis*, 39: 2, 55-62.
- Kliewer, W. M., and Dokoozlian, N. K. 2005. Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 56: 2, 170-181.

- Matthews, M.A., and Anderson, M.M. 1988. Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: responses to seasonal water deficits. *Am. J. Enol. Vitic.*, 39(4), 313-320.
- Matthews, M. A., Ishii, R., Anderson, M. M., and O'Mahony, M. 1990. Dependence of wine sensory attributes on vine water status. *J. Sci. Food Agric.* 51: 3, 321-335.
- Morris, J.R., Sims, C.A., and Cawthon, D.L., 1983. Effects of excessive potassium levels on pH, acidity and color of fresh and stored grape juice. *Am. J. Enol. Vitic.* 34: 1, 35-39.
- Nadal, M., and Arola, L. 1995. Effects of limited irrigation on the composition of must and wine of ‘Cabernet Sauvignon’ under semi-arid conditions. *Vitis*, 34: 3, 151-154.
- Naor, A., Gal, Y., and Bravdo, B. 2002. Shoot and Cluster Thinning Influence Vegetative Growth, Fruit Yield, and Wine Quality of ‘Sauvignon blanc’ Grapevines. *J Am Soc Hortic Sci*, 127: 4, 628-634.
- Ough, C.S., Nagaoka. R., 1984. Effect of cluster thinning and vineyard yields on grape and wine composition and wine quality of Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* 35: 1, 30-34.
- Palliotti, A., Gardi, T., Berrios, J.G., Civardi, S., and Poni, S., 2012. Early source limitation as a tool for yield control and wine quality improvement in a high-yielding red *Vitis vinifera* L. cultivar. *Sci. Hortic.*, 145, 10-16.
- Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B. and Lonvaud, A., 2000. *Handbook of Enology*. Vol. I: The microbiology of wine and vinifications. Vol. II: The chemistry of wine stabilization and treatments. John Wiley and Sons Ltd., Chichester.
- Santesteban, L.G., Miranda, C., and Royo, J.B., 2011. Thinning intensity and water regime affect the impact cluster thinning has on grape quality. *Vitis*, 50: 4, 159-165.
- Shellie, K. C. 2011. Interactive Effects of Deficit Irrigation and Berry Exposure Aspect on Merlot and ‘Cabernet Sauvignon’ in an Arid Climate. *Am. J. Enol. Vitic.*, 62: 4, 462-470.
- Smart R.E, Coombe B.G., 1983. Water relations in grapevines. In: Koslowski TT, ed. *Water deficits and plant growth*, Vol. VII. New York: Academic Press, 136–196.
- Winkel, T., and Rambal, S. 1990. Stomatal conductance of some grapevines growing in the field under a Mediterranean environment. *Agric. For. Meteorol.* 51: 2, 107-121.
- Uriarte, D., Intrigliolo, D.S., Mancha, L.A., Picón-Toro, J., Valdes, E., and Prieto, M.H., 2015. Interactive Effects of Irrigation and Crop Level on ‘Tempranillo’ Vines in a Semi-Arid Climate. *Am. J. Enol. Vitic.* 66: 2, 101-111.





## *Capítulo 3.*

# *Estudio de los Componentes del Racimo en uva 'Tempranillo' Bajo Diferentes Regímenes Hídricos y Niveles de Producción*

*Chapter 3.*

*Study of Cluster Component in 'Tempranillo' Grapevine Under  
Different Irrigation Regimes and Crop Levels*



## Capítulo 3. Estudio de los Componentes del Racimo en uva 'Tempranillo' Bajo Diferentes Regímenes Hídricos y Niveles de Producción

### 3.1. Resumen

El peso de baya es un componente del rendimiento que ha recibido especial atención en viticultura en el caso de uvas tintas para vinificación, de forma que algunos de los aspectos beneficiosos del déficit hídrico sobre la composición de los mostos se ha atribuido al efecto directo sobre el tamaño de la baya. Reducir el tamaño de la baya puede “a priori” mejorar la relación entre hollejo y pulpa, siendo este último donde se localizan los compuestos responsables del color y otras características de interés. En este capítulo se analizó el efecto del régimen hídrico y el aclareo de racimos realizado en envero, sobre la distribución de las bayas por calibres. También analizó la influencia que tiene la posición que ocupa la baya en el racimo sobre su tamaño y composición. Para ello se estableció un ensayo de campo durante 4 campañas (de 2005 a 2008) con dos tratamientos de riego como factor principal establecidos en base a la evapotranspiración del viñedo (25ETc y 100ETc) y dos niveles de carga de racimos (Alta y Baja) en la subparcela. La carga baja consistió en la eliminación de parte de los racimos en el envero. El diseño experimental fue un Split-Plot con 4 repeticiones por parcela elemental. Las zonas diferenciadas en los racimos fueron la superior o “Hombro” y la inferior o “Punta”. Las bayas se clasificaron por peso individual en tres categorías distintas (“S” peso<1,23g, “M” con pesos de 1,23g a 1,82g y “B” pesos>1,82).

Las bayas situadas en los Hombros fueron de mayor tamaño y dieron lugar a mostos más rico en sólidos solubles totales y con menor acidez total, en relación con las ubicadas en la Punta y no se observaron diferencias en cuanto a composición fenólica. Estos resultados parecen indicar un cierto retraso en la maduración de la parte baja del racimo que se acentuó en situaciones de mayor competencia por los asimilados como sucedió en años de producción alta y riego deficitario. Al elevar la dosis de riego aumentó el peso de los racimos, debido principalmente al mayor número y peso de las bayas en la zona de los hombros.

El tamaño de la baya no tuvo influencia ni en el pH, ni en la acidez total. Los mostos obtenidos de las bayas “B” tuvieron menor concentración de azúcar y similar para los otros dos tamaños. En el caso de los compuestos fenólicos fue el tamaño “S” el que se diferenció de los otros dos tamaños, al tener concentraciones más bajas, tanto en TPP, como en TAnP.

Si se considera la variabilidad en el racimo como un atributo “no deseable” de cara a la vinificación, los resultados obtenidos sugieren que la práctica de separación de Hombro y Punta de racimos en vendimia puede resultar efectiva, siendo la fracción de los Hombros la

que aportaría mayor calidad. Sin embargo, en zonas de producción como Extremadura, donde los mostos suelen presentar una baja acidez y la concentración de azúcar no suele ser un factor limitante, no sería recomendable la separación del racimo en zonas. Por otra parte, el peso de baya y composición es muy variable dentro de un viñedo, dentro de racimos y más aún al considerar diferentes racimos, siendo además influenciable por las prácticas agronómicas. Este aspecto debe ser tenido en consideración en el diseño de los muestreos de bayas en función de los objetivos planeados.

### **3.2 Summary**

The berry weight is a yield component that has received special attention in viticulture particularly in the case in the case of red wine grapes. In this context, some of the beneficial aspects of water deficit on the composition of musts have been attributed to the direct effect on the berry size. A small berry size could be beneficial to achieving higher proportion skin:flesh. In the skins are located most of the compounds responsible for the color and others that confer desirable properties to the musts. In this chapter, the effects of water regime and cluster thinning in the distribution of sizes of berries within the bunch were studied during four seasons (from 2005 to 2008). The chapter also analyzes the influence that the position of berry in the cluster has on its size and composition. For this, two irrigation treatments were established as the main factor based on the replacement of the ETc (25% and 100%) and two levels of load clusters by thinning in veraison performed as a second factor in a split-plot experimental design. Two distinct areas in the cluster (shoulder) and (Bottom) were considered. In addition, berries were separated according to their weight in three different categories ("S" weights <1.23g, "M" weighing 1.23g to 1.82g and "B" weights > 1.82).

The separation of the clusters in "Bottom" and "Shoulders" resulted in some differences in the resulting musts, so that the shoulder was richer in TSS but also obtained a lower TA. However the bottom part of the clusters had smaller berries. Differences in phenolic compounds were observed between Shoulder and Bottom although these effects were studied only one year. These results suggest a slight delay in the maturation of berries located with the the Bottom portions of the cluster. Considering berry size itself, berries "B" TSS concentration was lower than in the larger size categories, while the concentration of TPP and TAnP was higher in the "M" and "B" berries than in the S ones. Cluster thinning did not affect berry size distribution.

Considering the variability in the cluster as an "undesirable" attribute for vinification, the results suggest that the practice of separated shoulder and Bottom parts of clusters can be

effective, with the fraction which Shoulders providing greater quality. However, in production areas such as Extremadura, where the must often have low acidity and sugar concentration is usually not a limiting factor, it would be not advisable to practice the cluster separation zones. Based on the results of this study, the berry size and composition have a high variability within a cluster. This variability, not only depends on factors such as weight or number of berries of the bunch, but also depends on the cultural practices such as irrigation and thinning in addition to the annual climatic characteristics.

### **3.3. Nube de etiquetas**



### **3.4. Introducción.**

El tamaño de la baya es un componente del rendimiento que junto con el número de bayas y el número de racimos determina la producción de un viñedo. El crecimiento de la baya depende de factores genéticos, de las condiciones agroclimáticas del viñedo tanto en el año en curso como en las campañas anteriores, ya que la producción de racimos y bayas en un año ha sido establecida previamente, durante la floración del año anterior (Vasconcellos et al 2009). Por otra parte, el peso de la baya y de los tejidos que la integran determinan la composición de los mostos y de los vinos resultantes (Roby y Matthews 2004; Gamero et. al 2014a,b).

El crecimiento de la baya dentro del racimo se ajusta a una curva doble sigmoidal con tres períodos o fases diferenciadas, estados I, II y III. Coombe y McCarthy (2002), redefinieron dicho proceso como dos ciclos consecutivos: un primer ciclo con una fase inicial en la que tiene lugar la división celular y alargamiento de las membranas, seguida de una segunda fase de crecimiento lento, letargo o latencia, donde comienza el endurecimiento de las semillas. El segundo ciclo comienza con la acumulación de azúcares, el ablandamiento de la cutícula, el cambio de color y la reanudación del crecimiento, debido exclusivamente al alargamiento de las membranas, sin que se produzca división celular (Ojeda et al. 1999). Diversos trabajos que inciden sobre la importancia del tamaño de la baya en la calidad suelen apoyar la idea de que un tamaño de baya reducido supone una mejora en la composición de los mostos, principalmente en el caso de uvas tintas. Esta mejora se justifica por una relación más favorable hollejo:pulpa, ya que en los hollejos se sintetizan compuestos de gran interés para la vinificación, entre los que se encuentran los compuestos responsables del color. Sin embargo, en los resultados obtenidos en diversos trabajos no se llega a establecer una relación clara entre tamaño y composición (Matthews y Kriedemann 2006; Petrie y Clingeffer 2006; Poni et al. 2006), de forma que el procedimiento por el que se produce la reducción de tamaño resulta clave en los cambios provocados en las características del mosto y en el posterior vino.

El déficit hídrico, incluso disminuyendo el tamaño de la baya, puede no incrementar la relación hollejo:pulpa (Zarrouk et al. 2012), siendo más frecuente un incremento en la síntesis de compuestos en los hollejos en condiciones de déficit (Zarrouk et al. 2012), aunque en general el estado fenológico en el que acontece el déficit hídrico y el nivel de estrés al cual se someten las cepas juegan un papel fundamental en esta respuesta.

El déficit hídrico tiene un efecto indirecto sobre la composición del mosto al reducir el crecimiento de la baya alterando la proporción de epidermis en relación al volumen de mesocarpo (Kennedy et al. 2002; Ojeda et al. 2002 Roby et al. 2004;) y directo al modificar la biosíntesis o degradación de metabolitos secundarios importantes desde el punto de vista sensorial como flavonoides y compuestos volátiles del aroma (Castellarin et al. 2007; Qian et al. 2009). Estos cambios en la composición fenólica dan lugar a diferencias detectables en los vinos (Gamero et al. 2014a,b). Sin embargo, al inducir un estrés hídrico en la cepa que resulte en un menor peso de la baya, no siempre se incrementa la proporción hollejo:pulpa, mientras que el efecto directo del déficit sobre la síntesis de compuestos parece más generalizado (Zarrouk et al. 2012). El déficit hídrico incrementa la proporción de las semillas en relación al peso total de las bayas, aumentando la importancia cuantitativa de los derivados de las semillas en relación con los de los hollejos (Shellie 2010). La composición fenólica de semilla y hollejo es diferente, de forma que al modificar las proporciones se afecta a la composición del vino. Además se afecta también la extractabilidad de algunos compuestos dependiendo del estado fenológico e intensidad del periodo de estrés. El déficit pre-envero puede reducir de forma irreversible el tamaño final de la baya (Smart 1974; Hardie y Considine 1976; Van Zyl 1984; Greenspan et al. 1994 y 1996; Lakso 2000; y Girona et al. 2009). Mientras que este efecto es menos acusado, si se produce en post-envero (Intrigliolo y Castel 2010). Sin Embargo, desde el punto de vista del efecto del estrés hídrico sobre la composición y características de los mostos, el momento más adecuado de déficit no resulta tan evidente. Algunos trabajos relacionan el nivel de estrés en pre-envero con una mejor calidad de los mostos (Matthews and Anderson 1988; Intrigliolo y Castel 2010), mientras que otros (Roby et al. 2004; Castellarin et al. 2007; Girona et al. 2009) apuntan a post-envero como la fase más interesante para mejorar las propiedades de la uva. En este caso además, se produciría una menor pérdida de cosecha.

Una de las primeras respuestas de las plantas al déficit hídrico es una reducción del crecimiento vegetativo (Williams y Matthews 1990), de forma que el riego deficitario puede ser una herramienta eficaz para el control del vigor y conseguir un equilibrio adecuado entre vegetación y carga frutal, favoreciendo la iluminación de los racimos. Por otra parte, el aclareo de racimos es otra técnica que también incide sobre el equilibrio de la planta, que puede mejorar la composición del mosto como consecuencia de una relación área foliar:racimo más favorable (Naor et al. 2002; Rubio 2004; Bravdo et al. 2005; Santesteban et al. 2011). Esta práctica puede afectar al tamaño de la baya dependiendo del momento; en el que se realice: en etapas tempranas, tras el cuajado, puede incrementar el tamaño potencial de la baya (Intrigliolo y Castel 2011), mientras que si se practica tras finalizar el periodo exponencial de

crecimiento de la baya no afecta al tamaño (Keller et al. 2008; Valdés et al. 2009). Según Guidoni et al. (2002), el aclareo de racimos en tamaño guisante puede incrementar el tamaño de las bayas, efecto que en principio podría conducir a un ratio hollejo:pulpa menos favorable. Sin embargo también se elevó la concentración de sólidos solubles, así como los flavonoides y antocianos del hollejo (por gramo de baya).

La técnica de deshojado temprano también puede producir una reducción temprana del número de bayas por racimo y en los trabajos de Poni et al. (2009) esta reducción fue acompañada de un incremento en el peso de baya, pero aumentando también la cantidad de hollejo, de forma que las bayas resultantes tuvieron además de mas azúcar, concentraciones mas elevadas de compuestos fenólicos (Poni et al. 2009). Cabe preguntarse si el empleo conjunto de ambas técnica (Riego y control de carga) tendrá un efecto acumulativo que redunde en una mejora más sensible de la calidad o si bien en condiciones de clima cálido, en donde la radiación no es el factor limitante, no se justifique la pérdida de cosecha por una mayor capacidad de asimilación por racimo.

La mayor parte de los trabajos en los que se aborda el efecto de las prácticas agronómicas sobre el tamaño de la baya han estudiado normalmente el tamaño medio, que viene en buena medida condicionado por el procedimiento de muestreo (Hidalgo 1993).

Conocido el peso medio de la baya y el rendimiento por hectárea, es posible estimar el número aproximado de bayas de un viñedo (Santesteban et al. 2010), de tal manera que para una plantación de var. ‘Tempranillo’, con marco de plantación 2,5m x 1.2m, un rendimiento de 12t ha<sup>-1</sup>, y un peso medio de baya de 1,5g, se producen alrededor de 7680000 bayas por hectárea. El anterior planteamiento induce a pensar, que ante tal número de bayas, la variabilidad de tamaños es más que probable, y el mosto, es el resultado homogeneizado de todo ello.

En el viñedo existe una variabilidad ligada al racimo, con diferencias notables en el peso de los mismos dependiendo de la posición ocupada en la cepa (Wolpert et al. 1983); y por otra a la de la baya dentro del racimo. Ambos aspectos a su vez, se encuentran sometidos a la variabilidad inducida por las condiciones agro-climáticas de la campaña y el historial previo del viñedo (campañas anteriores). A esta variabilidad física y química entre bayas no se le ha prestado apenas importancia por parte de viticultores y enólogos. Sin embargo, algunas de las prácticas de la viticultura van dirigidas a conseguir uniformidad en el viñedo. La variabilidad inter-racimos e intra-racimo afecta a la práctica de muestreo (Tarter y Keuler 2008; Barbagallo et al. 2011), a la composición de las uvas y al tipo de vino. La variabilidad del peso fresco de la baya dentro del racimo ha sido estudiada en las variedades ‘Thompson seedle’s (Kasimatis et al. 1975), ‘Cabernet Sauvignon’ (Tarter y Keuter 2005), y ‘Tempranillo’ (Yuste et al. 2009), en

estos trabajos, se observaron diferencias en el peso de la baya y composición dentro del racimo, mientras que Shellie (2010) no reportó diferencias en este sentido y pudiendo existir por tanto, un comportamiento varietal diferente.

A pesar de que la influencia del tamaño de la baya y su posición en el racimo sobre la composición de los mostos, son aspectos, además de complejos, poco estudiados, han justificado la realización a nivel comercial de prácticas muy costosas tanto en vendimia como en la entrada en bodega, cuando se trata de obtener vinos de muy alta calidad, que en buena medida pueden no estar totalmente apoyados con resultados concluyentes.

Los objetivos de este capítulo son:

- Caracterizar la variabilidad inter-racimos e intra-racimo existente en un viñedo de la variedad 'Tempranillo' con diferentes regímenes hídricos y niveles de carga.
- Determinar la influencia de la posición de las bayas dentro del racimo sobre las características físicas y químicas de las mismas.
- Determinar cómo prácticas agronómicas comunes en viticultura como el riego deficitario sostenido y el aclareo de racimos pueden incidir sobre la distribución de calibres de bayas dentro de un racimo.
- Determinar como influye el tamaño de la baya sobre la composición de los mostos, aislando el efecto del tamaño de la baya del tratamiento agronómico en sí.

### **3.5. Materiales y Métodos**

#### *3.5.1. Descripción de la parcela, tratamientos y diseño experimental.*

El ensayo se realizó en una parcela de 1.7 ha de vid (*Vitis vinifera L*) situada en la Finca "La Orden-Valdesequera" perteneciente a la Consejería de Economía, e Infraestructuras de la Junta de Extremadura, en el término municipal de Lobón, Badajoz (lat. 38°51'38''N; long. 6°40'0''W; altitud 198 m). El viñedo cv Tempranillo (clon RJ-43), fue plantado en 2001 sobre Patrón R-110/151 con un marco de plantación de 2,5m entre filas y 1,2m (3.333 plantas ha<sup>-1</sup>). Las plantas se formaron en espaldera con posicionamiento vertical de los brotes y orientación noroeste-sureste. La poda de invierno se realizó a razón de seis pulgares por cepa durante 2005 y ocho pulgares por cepa a partir de 2006, siempre con dos yemas por pulgar. Todos los tratamientos recibieron un aporte de fertilizante de 70, 40, y 94 kg ha<sup>-1</sup> de N, P y K (unidades fertilizantes) respectivamente. El suelo del viñedo era un franco-limoso con un 37,3% de arena,

el 25,5% de arcilla, el 36,1% limo y materia orgánica 1,1% (profundidad media 0,0-1,6 m). El contenido volumétrico de agua en el suelo fue de  $0,30 \text{ m}^3\text{m}^{-3}$  a capacidad de campo y  $0,16 \text{ m}^3\text{m}^{-3}$  en la marchitez permanente. La media anual de las precipitaciones fue de 425mm (datos desde 1992 a 2011 obtenidos de la estación climática del CICYTEX situada en la pradera adyacente al ensayo),

El diseño experimental de la parcela de ensayo fue un split-plot con cuatro repeticiones, donde el factor principal fue el riego y el factor secundario la carga de cosecha en cada tratamiento de riego. La parcela experimental consistió en seis filas de 18 cepas de las cuales 10 fueron marcadas como control.

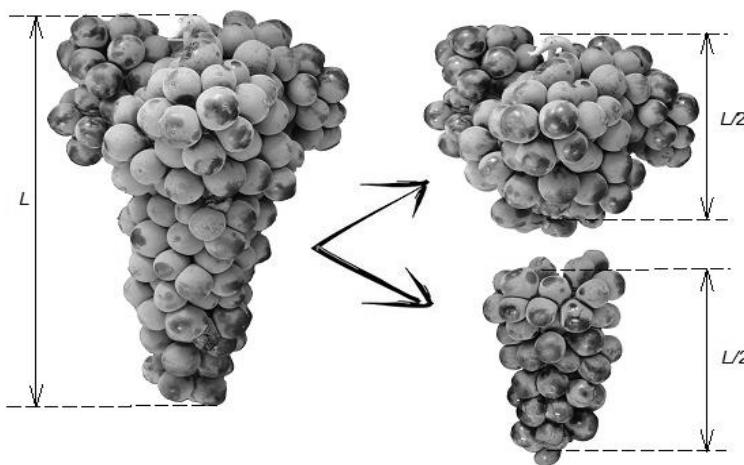
Los tratamientos de riego aplicados fueron 25ETc y 100ETc regados al 25% y 100% de la evapotranspiración del cultivo (ETc) respectivamente. La ETc fue calculada como el producto de la Evapotranspiración de un cultivo de una pradera (ETo) calculada con la metodología propuesta por Penman-Monteith (Allen et al. 1998); y un coeficiente de cultivo (Kc) ajustado para el viñedo por Picon-Toro et al. (2012). El riego fue por goteo con dos goteros autocompensantes de  $4\text{Lh}^{-1}$  por cepa aplicado de lunes a sábado. Los niveles de carga se establecieron en las subparcelas: Aclareo (Baja) y no Aclareo (Alta). El aclareo se llevó a cabo al comienzo del envero eliminando racimos hasta dejar un solo racimo por pámpano.

### *3.5.2. Evolución del peso de la baya.*

La toma de muestras se inició en tamaño guisante con frecuencia semanal hasta post-vendimia. Las muestras se tomaron con tijera escadas de 4 a 5 bayas hasta alcanzar unas 250 bayas por parcela experimental. En laboratorio se separaron las bayas del raquis cortando con una tijera a ras de la epidermis y se tomaron al azar 100 bayas para pesado en fresco.

### *3.5.3. Clasificación de las zonas del racimo.*

En la vendimia de los años 2006, 2007 y 2008 se seleccionaron 10 racimos por parcela elemental que se pesaron individualmente. Se midió la longitud de cada racimo desde la primera ramificación del ráquis hasta la última baya del extremo inferior (Figura 3.1), y se cortó el racimo en dos mitades de igual longitud, separando y pesando la zona superior (Hombro), y la zona inferior (Punta). Para cada zona se separaron las bayas, cortando con tijera y se contaron y pesaron conjuntamente las bayas. Posteriormente se clasificaron, contaron y pesaron las bayas por categorías y zona, como se explicará más adelante. El peso medio de la baya por racimo se calculó como el cociente entre el peso total de las bayas entre en número de bayas y de la misma forma por zona y categoría (por racimo y zona del racimo).



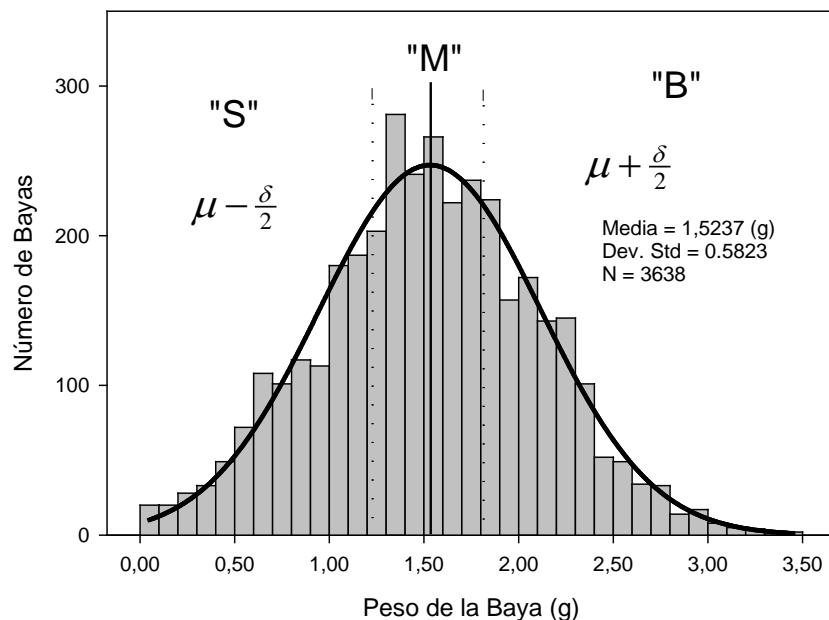
**Figura 3.1.** Detalle de la medida de longitud de racimos y de la diferenciación de las dos zonas del racimo

#### 3.5.4. Clasificación de las bayas.

El estudio de la clasificación de bayas por categorías, se realizó durante los años 2005, 2006, 2007 y 2008.

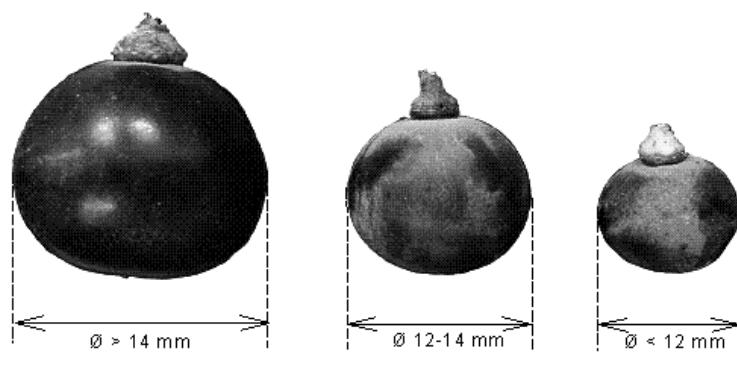
En 2005, se seleccionaron en el conjunto del viñedo (incluyendo parcelas de secano no incluidas en este trabajo ver capítulos 1 y 2) 15 racimos elegidos por diferencias en tamaño para tratar de incluir desde los más pequeños a los más grandes presentes en la población, obteniendo racimos con pesos comprendidos entre 119g y 624 g.

En cada racimo se separaron todas las bayas con tijera, pesando y midiendo el diámetro ecuatorial de cada una de ellas. El total fue de 3638 bayas con pesos que oscilaron entre 0,01g y 3,42g (Figura 3.2). La distribución de frecuencia de la población de bayas se ajustó a una curva normal con media ( $\mu$ ) de 1,52 g y desviación estándar ( $\delta$ ) de 0,58 g. Tras el análisis de los datos se distribuyó la población en tres categorías de baya en base a su peso, de tal forma que cada categoría representara el 33% de la población de los pesos de bayas: una primera categoría "S" con pesos de bayas menores de  $\mu-0,5\delta$ g (1.23g), una categoría "M" con pesos de baya comprendidos entre  $\mu-0,5\delta$ g y  $\mu+0,5\delta$ g (1.23g y 1.82g) y una última categoría "B" mayores que  $\mu+0,5\delta$ g y 3,50g (1,82g y 3,50g).



**Figura 3.2.** Curva de frecuencias de bayas observadas en función de su peso en una población de N individuos, valor medio del peso de baya ( $\mu$ ) y desviación estándar ( $\delta$ ). Las líneas de puntos indican la separación de bayas por categorías.

Para la separar las bayas por categorías (Figura 3.3), se fabricaron tres tamices de diámetro equivalente al peso de baya de cada categoría según la relación diámetro = 0,0014 peso 2,7069 ( $r^2 = 0.97$ ;  $p < 0.001$ ) obtenida sobre la misma población ( $N = 3638$  bayas).



**Figura 3.3.** Detalle de las medidas de diámetro en las bayas y de la separación por corte de las bayas del raquis.

Además, se determinaron las correlaciones entre el peso de la baya y peso y número de bayas por racimo de los 15 racimos utilizados en este análisis de la población de bayas.

### 3.5.5. Composición química.

Todas las analíticas descritas a continuación se realizaron sobre una muestra homogénea de 250 g de bayas desgranadas y trituradas. Los sólidos solubles totales (TSS; °Brix) fueron determinados por refractometría (refractómetro Atago RX-1000, Tokio, Japón),

las medidas de pH y acidez titulable (TA) se realizaron con un titulador automático (Crison Micro TT, Barcelona, España) siguiendo la metodología oficial de la OIV (1990), para la titulación se empleó una solución 0,1 N de NaOH y la valoración se llevó hasta punto final de pH 8,2. En cuanto a la composición fenólica de las bayas, el potencial polifenolico total (PPT) fue determinado según la metodología descrita por Ribereau-Gayon (2000) expresados como mg g<sup>-1</sup> de ácido gálico y el potencial antocianico total (PAnT) se cuantificó de acuerdo con la definida por Di Stefano y Gentilini (2002) y los resultados se expresaron como mg g<sup>-1</sup> de cloruro de malvidina.

Los análisis de compuestos fenólicos (TPP y TAnP) para el estudio de los racimos por zonas, sólo se realizó en 2007.

Durante la campaña 2006, el volumen de muestra obtenido de bayas categoría "B" en el tratamiento 25ETc, fue insuficiente para poder realizar los análisis de calidad en su totalidad, por lo que la muestra obtenida fue utilizada sólo para la determinación de TPP y TAnP sobre dicha categoría y tratamiento. Del mismo modo, en 2008 en las bayas de categoría "S", sólo fue posible determinar Brix, pH y TA. Mientras que en 2007 no se pudo realizar ninguna determinación (Brix, pH, TA, TPP y TanP) en la categoría de tamaño de baya "S".

### *3.5.6. Análisis estadístico.*

Los resultados se sometieron a análisis de la varianza (ANOVA) de tres vías (riego × carga × zona y riego × carga × categoría) utilizando el paquete estadístico SPSS. Ver. 15.0 (IBM, Armonk, NY).

### 3.6. Resultados.

#### 3.6.1 Estado hídrico y productividad.

**Tabla 3.1.** Precipitación Octubre a Marzo y precipitación durante el periodo de crecimiento (Abril a Septiembre) Evapotranspiración de referencia (ETo). Coeficiente de cultivo medio (Kc) calculado como ETc:ETo y volumen de riego aplicado en cada tratamiento durante los años 2005, 2006, 2007 y 2008

Año	Precipitación	Precipitación	Abr-Sep	Abr-Sep	Coeficiente	Riego (mm)	
	Oct-Mar	Abr-Sep (mm)	ETo (mm)	ETc (mm)	de cultivo (Kc) medio	100ETc	25ETc
2005	107	54,	1039	373	0,35	222	55
2006	189	58,	1024	355	0,31	323	80
2007 <sup>z</sup>	190	182	975	508	0,52	273	68
2008 <sup>z</sup>	216	130	1026	755	0,74	611	153

<sup>z</sup> ETc calculada directamente a partir del lisímetro de pesada instalado en la parcela (Picón-Toro et al. 2012).

**Tabla 3.2.** Potencial hídrico de tallo a medio día en los tratamientos de riego y carga durante pre envero, post envero y estacional durante los años 2005, 2006, 2007 y 2008.

Potencial hídrico pre envero (MPa)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	**	*	ns	***	***
25ETc	-1,00	-1,09	-0,68	-0,85	-0,90
100ETc	-0,80	-0,91	-0,63	-0,58	-0,73
Carga	ns	ns	ns	ns	ns
Baja	-0,90	-1,01	-0,68	-0,73	-0,83
Alta	-0,90	-0,99	-0,63	-0,70	-0,80
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Potencial hídrico post envero (MPa)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	ns	ns	*	***	***
25ETc	-1,10	-0,95	-0,75	-0,96	-0,94
100ETc	-0,88	-0,75	-0,55	-0,50	-0,67
Carga	ns	ns	ns	ns	ns
Baja	-1,00	-0,81	-0,68	-0,73	-0,80
Alta	-0,98	-0,89	-0,63	-0,74	-0,81
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Potencial hídrico estacional (MPa)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	*	ns	ns	***	***
25ETc	-0,98	-0,99	-0,68	-0,80	-0,86
100ETc	-0,80	-0,83	-0,55	-0,53	-0,68
Carga	ns	ns	ns	ns	ns
Baja	-0,91	-0,90	-0,64	-0,65	-0,78
Alta	-0,86	-0,91	-0,59	-0,68	-0,76
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns

\*\*, \*\*\* y ns, Indica diferencias estadísticamente significativas con p<0,01, 0,001 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

**Tabla 3.3.** Producción por cepa de los tratamientos de riego y carga durante 2005, 2006, 2007 y 2008.

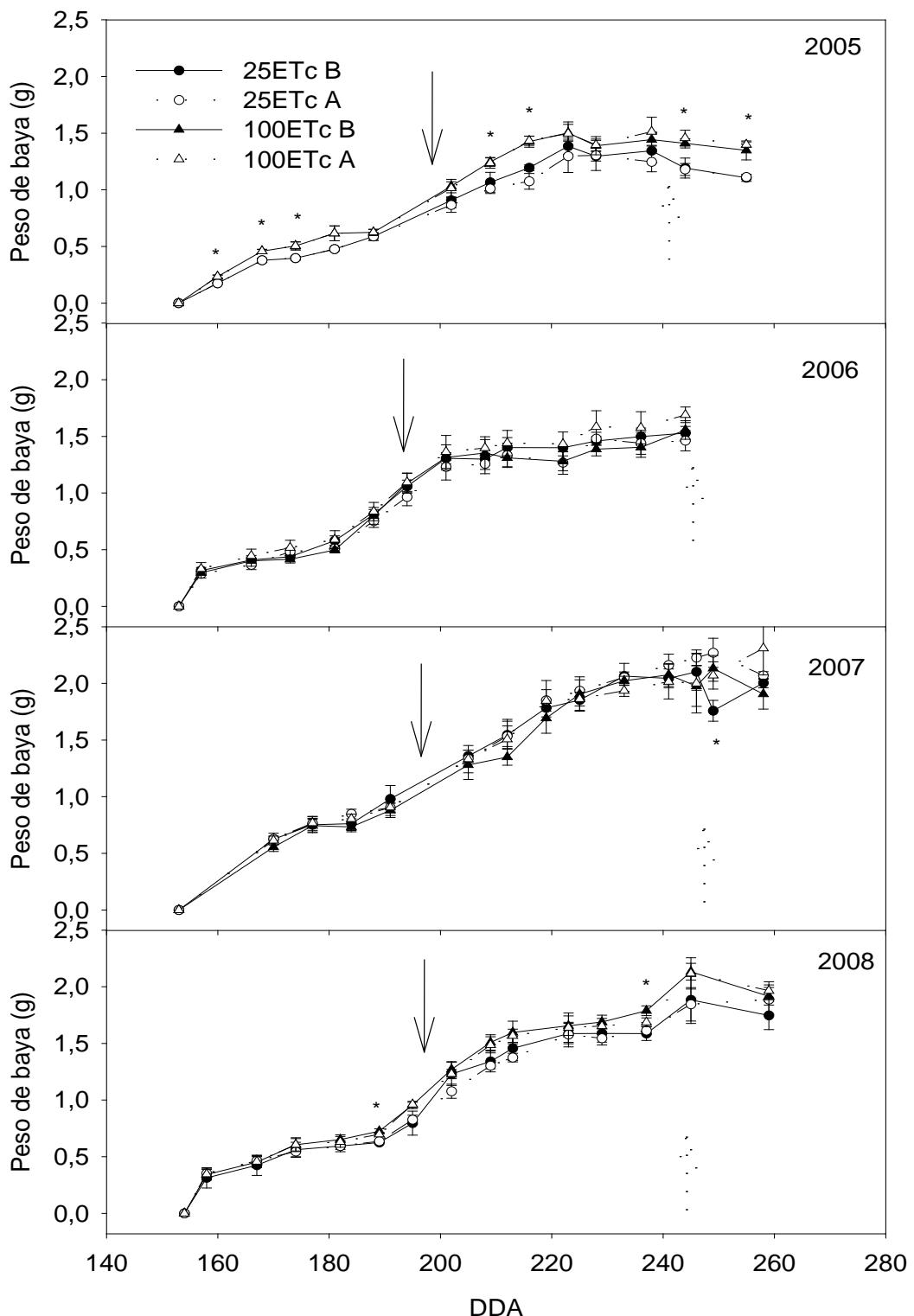
Tratamiento	Producción Kg planta <sup>-1</sup>				
	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	***	***	ns	**	***
25ETc	3,71	4,79	3,61	7,15	4,81
100ETc	5,61	6,64	3,87	8,21	6,10
Carga	***	***	ns	***	***
Baja	3,54	3,91	3,67	5,46	4,28
Alta	5,77	6,55	3,81	9,90	6,63
Interacción	**	ns	ns	*	*

\*\*, \*\*\*, y ns, Indica diferencias estadísticamente significativas con p<0,01, 0,001 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

Las condiciones climáticas y volumen de agua de riego (Tabla 3.1), han sido descritas en el Capítulo 1 (chapter 1), así como el efecto del riego y el aclareo de racimos sobre el estado hídrico (Tabla 3.2) y la producción por cepa (Tabla 3.3) que han sido discutidos previamente en el mismo capítulo 1. Dichas información ha sido mostrada para facilitar la comprensión de los resultados obtenidos e este capítulo.

#### *3.6.2. Evolución del crecimiento de la baya. Influencia del régimen hídrico y nivel de cosecha.*

*El periodo de crecimiento de las bayas (de cuajado a vendimia), tuvo una duración similar a lo largo de los cuatro años de estudio, entorno a 93 días (Figura 3.4). Sin embargo, hubo diferencia notables entre años en la duración de cada una de las fases y en las tasas de crecimiento durante las fases post-cuajado y de maduración. El peso de la baya se incrementó rápidamente tras el cuajado en un periodo entre 10 (2006 y 2008) y 20 días (2007), para pasar a una segunda etapa de crecimiento casi nulo que apenas fue apreciable en 2007, mientras que en 2006 y 2008 fue muy evidente.*



**Figura 3.4:** Evolución estacional del peso medio de la baya desde cuajado hasta post-vendimia en los diferentes tratamientos de riego (25ETc y 100ETc) y carga de racimos (B, baja y A, alta) durante 2005, 2006, 2007 y 2008. Cada punto es la media de las 4 parcelas elementales. Las barras representan el error estándar de la media. \*Diferencias significativas entre tratamientos de riego para  $p<0,05$ . Flecha continua indica 50% de envero y flecha discontinua indica inicio de vendimia.

El inicio del envero coincidió todos los años (entorno a 196DDA) con el inicio de una nueva fase de crecimiento rápido que llevó hasta la maduración, pero con una ganancia de peso rápida y constante en el año 2007, mientras que en 2006 y 2005 hubo un periodo pre-cosecha prolongado en el que la ganancia de peso fue escasa, hasta alcanzar la concentración de azúcar marcada como objetivo para la vendimia (23ºBrix). Los tratamientos de riego aplicados, no modificaron el inicio, ni el ritmo de crecimiento de la baya, sin embargo el peso de las bayas del 100ETc fue superior a las del 25ETc tras el cuajado, de forma significativa en 2005 los días 160, 168 y 174 y a los 189 en 2008 antes del envero. En estos dos años también hubo diferencias entre tratamientos de riego en el peso de baya en vendimia o en momentos próximos a la misma (días 209, 216, 244 y 255 en 2005, 249 en 2007 y 237 en 2008). A diferencia del nivel de riego, el aclareo de racimos, realizado al inicio del envero, no tuvo efecto sobre la evolución estacional del peso de baya (Figura 3.4).

### *3.6.3. Efecto de los tratamientos sobre las características del racimo.*

Como se puede ver en la tabla 3.4, hubo diferencias considerables entre años en el peso medio de los racimos que oscilaron entre los 216 g en 2005 y 455 g en 2008 (media anual). Por otra parte, el estado hídrico de las cepas tuvo un efecto claro sobre dicho peso, de forma que en 3 de los 4 años de ensayo los racimos de 100ETc fueron más pesados que los de 25ETc, con una pérdida media de peso del 17,4% debido al estrés hídrico. Esta pérdida fue debida tanto al menor número de bayas por racimo, con diferencias significativas en los años 2005 y 2008; como al menor peso medio de las bayas, que fue menor en 3 de los 4 años.

La longitud media del racimo fue de 18,2cm en 25ETc y de 20,1cm en 100ETc (Tabla 3.4). Esta diferencia llegó a ser máxima en 2008 y resultó significativa en dos de los tres años estudiados, coincidiendo con las campañas en las que el peso del racimo fue también diferente.

El aclareo de racimos en ningún caso modificó el peso medio del racimo, ya que en el único año en que al reducir la carga se incrementó el número de bayas por racimo, se compensó con menor peso medio de las mismas.(Tabla 3.4 ). En ningún caso hubo interacción entre los tratamientos de riego\*carga para ninguno de los componentes estudiados.

**Tabla 3.4.** Efecto de los tratamientos de riego y carga sobre el peso y longitud de los racimos, número de bayas por racimo y peso medio de las bayas.

Peso de racimos (g)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	***	*	ns	***	***
25ETc	162,0	293,1	341,6	389,7	315,8
100ETc	270,0	337,1	346,9	520,2	382,6
Carga	ns	ns	ns	ns	ns
Baja	210,7	325,5	346,0	462,9	354,2
Alta	221,4	304,7	342,5	447,1	344,3
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Número de Bayas por racimo					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	***	ns	ns	***	**
25ETc	136	229	174	278	204
100ETc	187	245	165	326	232
Carga	ns	ns	*	ns	ns
Baja	159	244	184	305	224
Alta	163	230	154	300	212
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Peso medio de baya (g)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	**	*	ns	***	***
25ETc	1,05	1,15	1,71	1,28	1,30
100ETc	1,30	1,24	1,77	1,45	1,41
Carga	ns	ns	*	ns	ns
Baja	1,21	1,17	1,84	1,36	1,37
Alta	1,18	1,17	1,65	1,38	1,35
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Longitud del Racimo (cm)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego		**	ns	***	***
25ETc		17,3	17,0	20,8	18,2
100ETc		19,1	17,6	23,4	20,1
Carga		ns	ns	ns	ns
Baja		18,6	17,2	22,1	19,3
Alta		17,7	17,5	22,2	19,0
Interacción		ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

### 3.6.4. Distribución de las bayas en el racimo según zonas (Punta y Hombro).

Al dividir el racimo en 2 zonas de igual longitud, en la zona superior (Hombros) se acumuló una mayor proporción del peso total del racimo (67,6% como media de los tres años de ensayo) (Tabla 3.5) debido principalmente a que contenía un mayor número de bayas (Tabla 3.6). Las bayas localizadas en los Hombros fueron algo mas pesadas, significativamente en la media de los cuatro años de estudio (Tabla 3.7).

**Tabla 3.5.** Peso de la parte alta (Hombros) y baja (Punta) del racimo en vendimia en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha en los años 2006, 2007 y 2008.

Tratamiento	Zona	Peso de cada zona (g)			
		2006	2007	2008	Media
25ETc	Hombro	178,7	196,2	259,9	211,6
	Punta	98,4	116,6	115,2	110,1
100ETc	Hombro	212,8	202,6	357,8	257,7
	Punta	108,0	104,2	140,3	117,5
Baja	Hombro	207,1	203,8	312,3	241,1
	Punta	107,1	116,4	131,2	118,2
Alta	Hombro	184,3	195,0	305,5	228,2
	Punta	99,3	104,4	124,3	109,3
Zona	Hombro	195,7	199,4	308,9	234,7
	Punta	103,2	110,4	127,8	113,8
<b>Significación</b>					
	Riego	*	ns	**	***
	Carga	ns	**	ns	ns
	Zona	***	***	***	***
	Riego*Zona	ns	ns	***	**
	Carga*Zona	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

**Tabla 3.6.** Número de bayas en vendimia de la parte alta (Hombros) y baja (Punta) del racimo en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha en los años 2006, 2007 y 2008.

Tratamiento	Zona	Número de Bayas			
		2006	2007	2008	Media
25ETc	Hombro	147	107	190	148
	Punta	82	68	89	79
100ETc	Hombro	161	107	234	167
	Punta	84	58	98	80
Baja	Hombro	159	114	214	162
	Punta	85	70	96	84
Alta	Hombro	81	55	91	76
	Punta	170	113	239	174
Zona	Hombro	154	107	212	157
	Punta	83	63	93	80
<b>Significación</b>					
	Riego	ns	ns	**	**
	Carga	ns	ns	ns	Ns
	Zona	***	***	***	***
	Riego*Zona	ns	ns	*	*
	Carga*Zona	ns	ns	ns	Ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

Al ser la misma la longitud del raquis de cada zona, el número de bayas desarrolladas por cada centímetro lineal de raquis, resultó inferior en la Punta que en el Hombro, lo que podría indicar una menor compacidad de bayas en esta zona. Sin embargo, en este estudio, no

se realizó un análisis en profundidad de la compacidad de cada una de las zonas, por lo que no se tuvo en cuenta ni el número ni la longitud de las ramificaciones o “Alas” presentes en la porción del raquis de cada zona, por lo que no es posible concluir en base a estos resultados que la Punta del racimo presentó una menor compacidad de bayas que el Hombro.

**Tabla 3.7:** Peso medio de la baya obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombros) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha en los años 2006, 2007 y 2008.

Tratamiento	Zona	Peso de baya (g)			
		2006	2007	2008	Media
25ETc	Hombro	1,21	1,88	1,39	1,49
	Punta	1,19	1,79	1,30	1,43
100ETc	Hombro	1,33	1,88	1,54	1,59
	Punta	1,32	1,82	1,45	1,53
Baja	Hombro	1,29	1,76	1,47	1,51
	Punta	1,27	1,69	1,38	1,45
Alta	Hombro	1,25	1,99	1,47	1,57
	Punta	1,24	1,92	1,37	1,51
Zona	Hombro	1,27	1,88	1,47	1,54
	Punta	1,25	1,80	1,38	1,48
Significación					
	Riego	***	ns	***	**
	Carga	ns	**	ns	*
	Zona	ns	ns	ns	*
	Riego*Zona	ns	ns	ns	ns
	Carga*Zona	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

El déficit hídrico disminuyó el peso de ambas zonas del racimo (Tabla 3.8), pero fue en la zona del Hombro donde el efecto fue mayor, llegando a ser significativo en 2008, año en que los racimos tuvieron mayor tamaño; y en la media de los 3 años. Así, el peso medio del Hombro fue de 257 g en 100ETc y 212 g en 25ETc (p<0,01; interacción riego\*zona en Hombro). El peso de las Puntas estuvo entorno a 114g sin efecto del tratamiento de riego (p>0,05; interacción riego\*zona en Punta). El mayor peso del Hombro en 100ETc fue debido a mayor número de bayas en comparación a los racimos correspondientes a 25ETc, con 19 bayas menos en este último por término medio (p<0,01; interacción riego\*zona en hombro). Sin embargo, el factor carga no tuvo un efecto diferencial en las dos zonas del racimo para ninguno de los componentes estudiados.

En el análisis químico de los mostos se observa que la posición de las bayas en el racimo no modificó el pH de las mismas (Tabla 3.8), pero sí la TA que fue mayor en la Punta con un valor medio de 4,4 g L<sup>-1</sup> mientras que en el Hombro fue de 4,1 g L<sup>-1</sup> (Tabla 3.9). Por otro lado, el contenido en azúcares se incrementó en el Hombro, de forma significativa en el año 2008 (Tabla 3.10). Las zonas del racimo no afectaron a la composición fenólica determinada en

2007 (Tabla 3.11), pero hay que destacar que coincidió con una año en que tampoco se obtuvieron diferencias en los otros parámetros estudiados (Tabla 3.11).

**Tabla 3.8** Valores de pH obtenidos en vendimia según la distribución en la parte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2006, 2007 y 2008.

Tratamiento	Zona	pH			Media
		2006	2007	2008	
25ETc	Hombro	4,01	3,80	3,79	3,85
	Punta	3,96	3,79	3,71	3,81
100ETc	Hombro	3,99	3,82	3,71	3,84
	Punta	3,92	3,81	3,69	3,81
Baja	Hombro	4,07	3,84	3,94	3,92
	Punta	4,01	3,84	3,90	3,88
Alta	Hombro	3,93	3,78	3,56	3,76
	Punta	3,87	3,77	3,50	3,74
Zona	Hombro	4,00	3,81	3,75	3,84
	Punta	3,94	3,80	3,70	3,81
<hr/>					
Significación					
	Riego	ns	ns	ns	ns
	Carga	*	***	***	***
	Zona	ns	ns	ns	ns
	Riego*Zona	ns	ns	ns	ns
	Carga*Zona	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

**Tabla 3.9** Valores de acidez titulable obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2006, 2007 y 2008, los valores medios del estudio son mostrados también.

Tratamiento	Zona	Acidez Titulable (g L <sup>-1</sup> )			Media
		2006	2007	2008	
25ETc	Hombro	3,31	3,97	3,99	3,81
	Punta	3,63	4,05	4,55	4,06
100ETc	Hombro	3,88	4,27	5,01	4,36
	Punta	4,62	4,32	5,08	4,53
Baja	Hombro	3,46	4,03	4,14	3,92
	Punta	3,85	4,13	4,30	4,11
Alta	Hombro	3,74	4,22	4,86	4,26
	Punta	4,40	4,23	5,33	4,49
Zona	Hombro	3,60	4,12	4,50	4,09
	Punta	4,13	4,18	4,81	4,30
<hr/>					
Significación					
	Riego	**	***	***	***
	Carga	ns	ns	***	***
	Zona	ns	ns	*	*
	Riego*Zona	ns	ns	ns	ns
	Carga*Zona	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

**Tabla 3.10** Valores de Sólidos solubles totales obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2006, 2007 y 2008, los valores medios del estudio son mostrados también.

Sólidos Solubles Totales (%brix)					
Tratamiento	Zona	2006	2007	2008	Media
25ETc	Hombro	22,7	22,5	23,5	22,8
	Punta	22,5	22,6	20,9	22,2
100ETc	Hombro	23,0	22,7	22,9	22,8
	Punta	22,7	22,6	22,7	22,6
Baja	Hombro	23,3	23,1	24,6	23,5
	Punta	23,3	23,0	23,8	23,2
Alta	Hombro	22,4	22,1	21,7	22,1
	Punta	21,9	22,1	19,8	21,6
Zona	Hombro	22,9	22,6	23,2	22,8
	Punta	22,6	22,6	21,8	22,4
Significación					
	Riego	ns	ns	ns	ns
	Carga	*	***	***	***
	Zona	ns	ns	*	ns
	Riego* Zona	ns	ns	*	ns
	Carga* Zona	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

**Tabla 3.11:** Concentración de compuestos fenólicos de las uvas obtenidos en vendimia en la parte alta (Hombro) y baja (Punta) en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2007.

Tratamiento	Zona	Polifenólos	Antocianos
		(mg g <sup>-1</sup> Ácido gálico)	(mg g <sup>-1</sup> cloruro de malvidina)
25ETc	Hombro	3,03	1,26
	Punta	2,86	1,19
100ETc	Hombro	2,47	1,07
	Punta	2,51	1,07
Baja	Hombro	2,77	1,20
	Punta	2,75	1,20
Alta	Hombro	2,73	1,13
	Punta	2,62	1,06
Zona	Hombro	2,75	1,17
	Punta	2,69	1,13
Significación			
	Riego	***	**
	Carga	ns	*
	Zona	ns	ns
	Riego* Categoría	ns	ns
	Carga* Categoría	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

En relación con los tratamientos de riego y carga, al aumentar la dosis de riego aumentó la acidez de los racimos (Tabla 3.9) y disminuyó la concentración de Polifenóles y Antocianos totales (Tabla 3.11), pero estos cambios afectaron por igual a ambas partes del racimo, de forma que no hubo interacción riego\*zona, en estas determinaciones, ni tampoco en el pH (Tabla 3.8). Sin embargo, en 2008, las uvas distribuidas en el Hombro del racimo, acumularon más TSS en el tratamiento menos regado (23,5 y 22,9 en 25ETc y 100ETc respectivamente;  $p<0.05$ ; Tabla 3.10).

El nivel de carga de las cepas modificó la composición de los racimos, de forma que las cepas con menos carga tuvieron mayor pH, menor acidez y más sólidos solubles totales y antocianos totales, pero en ningún caso este efecto fue diferente en las dos zonas del racimo estudiadas (Tablas 3.8, 3.9, 3.10 y 3.11).

#### *3.6.5. Influencia del régimen hídrico y del nivel de carga sobre el tamaño de la baya.*

Al seleccionar en el viñedo experimental un total de 15 racimos, buscando un gradiente en cuanto al tamaño de los mismos, incluyendo desde parcelas no regadas, hasta las del tratamiento 100ETc, se encontraron pesos de racimo comprendidos entre 119g y 624g (Tabla 3.12). La desviación estándar ( $\delta$ ) de esta muestra fue de 180g lo que equivale a un coeficiente de variación (Cv) del 48% para un peso medio de racimo de 377g. El peso de los raspones tuvo un Cv muy similar y se incrementó proporcionalmente al peso del racimo. El número de bayas por racimo, fue muy variable con una  $\delta$  de 93 bayas para un número medio de bayas de 243 por racimo (Cv del 38%). El peso medio de la baya por racimo estuvo comprendido entre 0,88g (racimo nº 2) y 1,86g (racimo nº 14). El Cv dentro del racimo osciló entre el 22% (racimo nº 5) y el 58% (racimo nº 4). El peso medio de la baya en el promedio de los 15 racimos fue de 1,48g con un Cv del 20% (0,30g).

La variabilidad en el peso medio de la baya intra-racimo fue también considerable, de tal manera que el coeficiente de correlación de Pearson entre peso de baya y racimo fue de 0,65 ( $p<0.005$  y  $n = 15$ ), lo que indica un predicción del peso de la baya de tan solo el 42% mediante el peso del racimo, mientras que fue del 13,5% ( $p<0.098$ ;  $n = 15$ ) con el número de bayas por racimo.

**Tabla 3.12** Racimos muestreados dentro de la población del viñedo experimental. Media y coeficiente de variación estándar (Cv) aplicado a los componentes de los 15 racimos muestreados y Cv del peso y diámetro de bayas dentro del racimo.

Racimo	Peso				Diámetro					
	Racimo (g)	Cv	Nº Bayas	Cv	Peso Raspón	Cv	Peso Medio baya (g)	Cv	Medio baya (mm)	Cv
1	118,56		129		3,89		0,89	26%	10,81	12%
2	150,60		167		3,80		0,88	24%	10,81	9%
3	192,11		131		4,80		1,43	33%	12,79	15%
4	235,55		205		8,90		1,11	58%	11,20	28%
5	252,38		159		5,53		1,55	22%	13,35	9%
6	301,74		171		7,99		1,72	26%	13,82	11%
7	302,02		193		6,34		1,53	29%	13,22	12%
8	324,01		198		5,36		1,61	35%	13,39	15%
9	346,32		204		6,13		1,67	36%	13,14	16%
10	477,50		314		8,11		1,49	38%	12,82	16%
11	487,80		331		6,20		1,45	38%	12,92	17%
12	608,54		406		11,51		1,47	36%	13,05	14%
13	611,93		328		10,42		1,83	33%	13,66	16%
14	623,50		328		11,76		1,87	31%	14,16	14%
15	624,50		374		12,99		1,64	28%	13,34	12%
Media	377,14	48%	242,53	38%	7,58	39%	1,48	20%	12,83	8%

Al clasificar las bayas de los tratamientos de riego y carga en tres categorías, la mayor parte de las mismas quedó comprendida en la categoría intermedia M (entre 12 y 14 mm de diámetro) con 160 bayas por racimo de media de los 4 años (73% del total de las bayas) (Tabla 3.13). El número medio de bayas en las categorías S y B fue similar entre sí, con 40 y 31 bayas respectivamente. Sin embargo el número y proporción de estas categorías respecto de total de bayas fue muy variable entre años. Así la categoría S, alcanzó el 26% del total de bayas del racimo en 2006 y sólo el 8% en 2007, mientras que la categoría B tuvo el 6% y el 26% de las bayas del racimo en los mismos años respectivamente.

El tratamiento de mayor riego tuvo más bayas por racimo, como ya se indicó en el apartado 3.6.4. El incremento se produjo en los calibres M y B, mientras que disminuyó el número de bayas en la categoría S. Este incremento se observó en los años 2005 y 2008 y en la media de los 4 años.

El aclareo no tuvo efecto significativo en el número de bayas de cada categoría en la media de los años de estudio (Tabla 3.13), sin embargo en el año 2006 el aclareo de racimos incrementó el número de bayas de M a costa de una disminución en las otras categorías ya que no existió diferencias en el número total de bayas por racimo.

**Tabla 3.13.** Número de bayas por racimo obtenidos en vendimia según las categorías la distribución por zonas en los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008, los valores medios del estudio son mostrados también.

Tratamiento	Categoría	Número de Bayas				
		2005	2006	2007	2008	Media
25ETc	S	37	64	15	34	43
	M	99	160	130	223	153
	B	4	9	44	22	25
100ETc	S	19	61	14	28	35
	M	156	168	111	241	169
	B	12	19	51	63	37
Baja	S	30	57	15	30	38
	M	124	176	134	235	167
	B	8	12	48	45	30
Alta	S	25	68	13	32	41
	M	132	152	107	228	155
	B	8	16	47	40	31
Categoría	S	28	62	14	31	40
	M	127	164	120	232	161
	B	9	14	48	42	31
<b>Significación</b>						
Riego	***	ns	ns	**	**	
Carga	ns	ns	ns	ns	ns	
Categoría	***	***	***	***	***	***
Riego*Categoría	***	ns	ns	**	**	
Carga*Categoría	ns	**	ns	ns	ns	

\*\*\*, \*\*, \* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con  $p<0,001$ ,  $p<0,01$ ,  $p<0,05$  y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

En la tabla 3.14 se puede ver como hubo diferencias interanuales en el peso medio de las bayas de cada una de las categorías, aunque fue el calibre M el que mantuvo pesos más estables. 100 ETc tuvo bayas de mayor tamaño, pero en cada año las categorías en las que fue apreciable el aumento de peso fue diferente (M y B en 2005. S y M en 2007 y M en 2008). Por otra parte, la reducción de carga tuvo un efecto variable en cada categoría, de forma que en los años 2005 y en la media de los 4 ensayos la reducción de carga actuó homogeneizando los pesos de baya: incremento el peso medio en S, disminuyendo M y B en relación a las cepas con más carga.

**Tabla 3.14.** Peso medio de las bayas pertenecientes a cada categoría: "S" < 1.23g; "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g , para los tratamientos de riego y carga en los años 2005, 2006, 2007, 2008.

Tratamiento	Categoría	Peso medio de la baya (g)				Media
		2005	2006	2007	2008	
25ETc	S	0,66	0,65	0,77	0,69	0,67
	M	1,24	1,39	1,62	1,36	1,40
	B	2,06	2,10	2,46	2,22	2,26
100ETc	S	0,62	0,66	1,11	0,56	0,63
	M	1,41	1,46	1,62	1,46	1,49
	B	2,15	2,23	2,46	2,18	2,26
Baja	S	0,69	0,70	0,81	0,60	0,67
	M	1,32	1,44	1,54	1,40	1,43
	B	2,10	2,13	2,38	2,16	2,21
Alta	S	0,59	0,61	1,07	0,65	0,63
	M	1,34	1,41	1,69	1,42	1,47
	B	2,10	2,21	2,54	2,24	2,30
Categoría	S	0,64	0,66	0,94	0,62	0,65
	M	1,33	1,43	1,62	1,41	1,45
	B	2,02	2,17	2,46	2,20	2,25
<b>Significación</b>						
Riego						
Carga						
Categoría						
Riego*Categoría						
Carga*Categoría						

\*\*\*, \*\*, \* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

Como resultado del número y peso medio de las bayas de cada categoría, la categoría M representó la mayor proporción del peso del racimo con 230,9g de media (70% del peso total de las bayas; Tabla 3.15), seguido de la categoría B (22%) y por último la categoría S (8%). El peso y proporción de cada categoría varió entre años. Así en 2005 la categoría M aportó el 83% del peso de las bayas del racimo, mientras que en 2007 la importancia de este grupo se redujo a un 59% del peso total. En este año, la categoría B llegó a aportar el 37% del peso. Al igual que con el número de bayas en los años 2005 y 2008, como en la media de los 4 años se observó interacción riego\*categoría. El estrés hídrico tendió a disminuir la proporción del calibres B, aunque el calibre M se mantuvo como proporción principal en todos los casos (entre un 62% y un 80% según años). El efecto del nivel de cosecha resultó menor que el del riego y tan solo en el año 2006 el aclareo incrementó la proporción de M a costa disminuir de S y B como muestra la interacción Carga\*categoría (Tabla 3.15).

**Tabla 3.15:** Peso de las bayas en vendimia contenidas en cada categoría: "S" < 1.23g, "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y media de los 4 años.

Tratamiento	Categoría	Peso de cada categoría (g)				
		2005	2006	2007	2008	Media
25ETc	S	24,2	40,5	11,5	23,7	29,0
	M	123,9	225,7	203,3	302,9	214,0
	B	8,8	15,8	110,4	48,5	58,5
100ETc	S	12,1	37,3	12,9	16,2	21,6
	M	220,5	248,0	175,4	347,5	247,8
	B	26,4	42,1	129,4	134,5	86,5
Baja	S	20,8	36,3	12,1	18,9	25
	M	165,0	255,8	201,7	327,4	237,5
	B	17,6	24,9	118,4	97,2	71,0
Alta	S	15,4	41,5	12,2	20,9	25,6
	M	179,3	218,0	176,9	323,0	224,3
	B	17,6	33,1	121,2	85,8	74,4
Categoría	S	18,1	38,9	12,2	19,9	25,3
	M	172,2	236,9	189,3	325,2	230,9
	B	17,6	29,0	119,8	91,5	72,5
<b>Significación</b>						
Riego	***	*	ns	***	***	***
Carga	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Categoría	***	***	***	***	***	***
Riego*Categoría	***	ns	ns	***	**	**
Carga*Categoría	ns	**	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0.01, p<0.05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

La distribución de las categorías según la zona del racimo se muestra en la Tabla 3.16. El número de bayas de la categoría M, fue mayor en el Hombro que en la Punta del racimo, donde además fueron mayores también las bayas de categoría B. Las bayas de categoría S se encontraron de manera similar en ambas zonas del racimo. En cuanto al peso de las categorías en cada zona, el peso de M y B resultó también mayor en el Hombro que en la Punta. Resulta interesante señalar que la contribución de las categorías S y B al peso de cada zona, fue similar en Hombro y Punta (7 y 24% en S y B respectivamente en Hombro y 8 y 23% para S y B en la Punta). Esto fue debido a que el peso medio de la baya compensó las diferencias en número de bayas en estas categorías por zonas: las bayas S de la Punta hicieron una mayor aportación al peso total al tener mayor peso medio que las situadas en el Hombro, mientras que las baya B alcanzaron mayor peso individual en el Hombro que en la Punta (Tabla 3.14).

**Tabla 3.16.** Distribución de las bayas según categorías: "S" < 1.23g; "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g para las posiciones en el racimo de Hombro y Punta en los años 2006, 2007 y 2008 y media de los 3 años.

Número de bayas por racimo					
Zona	Categoría	2006	2007	2008	Media
Hombro	S	39	15	20	29
	M	108	74	163	115
	B	9	32	30	26
Punta	S	24	13	13	18
	M	56	46	69	57
	B	7	16	13	13
Significación					
Zona*Categoría		***	**	***	***
Peso medio de las bayas (g)					
Zona	Categoría	2006	2007	2008	Media
Hombro	S	0,61	0,8	0,63	0,62
	M	1,45	1,6	1,41	1,46
	B	2,37	2,54	2,25	2,41
Punta	S	0,65	0,85	0,66	0,66
	M	1,43	1,54	1,39	1,44
	B	2,02	2,47	1,97	2,23
Significación					
Zona*Categoría		***	**	***	***
Peso de las bayas de cada categoría(g)					
Zona	Categoría	2006	2007	2008	Media
Hombro	S	24,1	12,1	12,5	18,3
	M	157,2	118,7	229,5	168,5
	B	22	80,8	67,5	61,2
Punta	S	15,3	10,6	8,5	11,9
	M	79,7	70,7	95,7	82
	B	14,1	40,1	25,6	28,4
Significación					
Zona*Categoría		***	**	***	***

\*\*\*, \*\* y ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

**3.5.6 Efecto del tamaño de la baya en las características de los mostos.**

De manera general, el tamaño de la baya no tuvo efecto sobre el pH (Tabla 3.17). Sin embargo, 25ETc disminuyó el pH en las bayas S y lo incrementó en las M respecto a 100ETc. Mientras que el aclareo únicamente afectó a las bayas S incrementando su pH en 2005 y la media de los 4 años.

**Tabla 3.17:** Valores de pH obtenidos en vendimia según la categoría: "S" < 1.23g; "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y media de los 4 años.

		pH				
Tratamiento	Categoría	2005	2006	2007	2008	Media
25ETc	S	3,75	3,93		3,71	3,78
	M	3,82	3,95	3,80	3,88	3,86
	B	3,86		3,84	3,96	3,90
100ETc	S	3,88	4,00		3,89	3,94
	M	3,94	3,98	3,78	3,84	3,88
	B	3,95	3,86	3,77	3,89	3,85
Baja	S	3,99	4,09		3,95	4,05
	M	3,87	4,04	3,81	3,93	3,91
	B	3,91		3,80	4,01	3,91
Alta	S	3,64	3,86		3,65	3,74
	M	3,89	3,90	3,76	3,79	3,83
	B	3,90	3,86	3,81	3,84	3,84
Categoría	S	3,81	3,98		3,81	3,87
	M	3,88	3,97	3,79	3,86	3,87
	B	3,90	3,86	3,81	3,93	3,88
Significación						
	Riego	**	ns	ns	ns	ns
	Carga	**	**	ns	***	***
	Categoría	ns	ns	ns	ns	ns
	Riego*Categoría	ns	ns	ns	*	*
	Carga*Categoría	***	ns	ns	ns	*

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

También, la acidez titulable (AT), fue similar en las tres categorías (tabla 3.18) y claramente mayor en 100ETc. Mientras que se observó una cierta interacción con el riego, en la que el estrés hídrico incrementó la AT en la categoría S, aunque solamente en 2008. El aclareo disminuyó la acidez en 2005 y 2008, que resultó además más acusado en las categorías S y B.

**Tabla 3.18.** Valores de Acidez Titulable obtenidos en vendimia según la categoría: "S" < 1.23g; "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y media de los años de estudio.

		Acidez Titulable (g L-1)				
Tratamiento	Categoría	2005	2006	2007	2008	Media
25ETc	S	3,79	3,90		4,05	3,91
	M	3,95	3,39	4,28	3,87	3,88
	B	4,01		4,18	3,62	3,92
100ETc	S	4,55	3,56		4,25	3,97
	M	3,93	3,76	4,68	4,73	4,29
	B	3,82	4,05	4,48	4,51	4,38
Baja	S	3,44	3,40		3,76	3,56
	M	3,65	3,32	4,38	4,20	3,89
	B	3,19		4,24	3,92	3,98
Alta	S	4,90	4,02		4,53	4,31
	M	4,22	3,83	4,58	4,40	4,27
	B	4,64	4,05	4,43	4,22	4,32
Categoría	S	4,17	3,71		4,15	3,94
	M	3,94	3,57	4,48	4,30	4,08
	B	3,91	4,01	4,33	4,07	4,15
Significación						
Categoría	Riego	ns	ns	*	***	**
	Carga	***	ns	ns	***	***
Riego*Categoría		ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	**	ns
		*	ns	ns	*	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

La concentración de sólidos solubles fue menor en las bayas de la categoría B, sin que se observaran diferencias entre S y M en el año 2005 y en la media de los 4 años (Tabla 2.19). El riego o la carga no influyeron de forma diferencial en la concentración de azúcares en cada categoría.

**Tabla 3.19.** Valores de Sólidos Solubles Totales obtenidos en vendimia según categoría: "S" < 1.23g; "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y media de los años de estudio.

		TSS (°brix)				
Tratamiento	Categoría	2005	2006	2007	2008	Media
25ETc	S	24,3	21,1		23,0	22,8
	M	23,6	21,5	23,6	23,5	23,1
	B	23,0		21,9	23,1	22,5
100ETc	S	24,0	22,7		24,0	23,4
	M	24,4	22,9	23,1	23,9	23,5
	B	22,4	22,0	22,1	23,2	22,6
Baja	S	24,8	21,8		24,2	23,5
	M	24,0	23,0	23,5	24,6	23,8
	B	22,4		21,9	23,8	22,7
Alta	S	23,5	22,1		22,8	22,7
	M	23,9	21,4	23,2	22,8	22,8
	B	23,0	22,0	22,1	22,5	22,1
Categoría	S	24,1	21,9		23,5	23,1
	M	24,0	22,2	23,4	23,7	23,3
	B	22,7	22,0	22,0	23,1	22,6
Significación						
Riego	ns	*	ns	ns	ns	ns
	Carga	ns	ns	ns	***	**
Categoría	*	ns	***	ns	*	
Riego*Categoría	ns	ns	ns	ns	ns	
Carga*Categoría	ns	ns	ns	ns	ns	

\*\*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0.05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

La concentración de polifenoles totales de las bayas aumentó con el tamaño de la baya, sin embargo se observó un marcado efecto año, ya que esta tendencia se invirtió en el año 2005, siendo mayor la concentración en las bayas S. Al no disponer de muestra de la categoría S en los años 2007 y 2008 no se pudo verificar esta tendencia, aunque en 2008 las Bayas de mayor tamaño, también presentaron mayor concentración en polifenoles. En 2005, el riego deficitario incrementó los polifenoles en B y los disminuyó en S ligeramente, mientras que no afectó al M. También en 2005, el aclareo incrementó los polifenoles en S y los disminuyó ligeramente en B.

**Tabla 3.20.** Valores de Polifenoles en mg L<sup>-1</sup> de Ácido gálico obtenidos en vendimia según categoría: "S" < 1.23g; "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y los valores medios de los años de estudio.

Tratamiento	Categoría	Polifenóles (mg L <sup>-1</sup> Ácido gálico)				
		2005	2006	2007	2008	Media
25ETc	S	2,72	1,30			2,01
	M	2,55	1,62	3,31	1,61	2,26
	B	2,38	1,39	2,99	1,99	2,41
	S	2,84	1,41			1,77
	M	2,51	1,67	2,87	1,44	2,10
	B	1,98	1,72	2,91	1,85	2,31
100ETc	S	2,95	1,55			2,10
	M	2,54	1,68	3,02	1,57	2,17
	B	2,13	1,39	2,99	2,06	2,42
	S	2,61	1,16			1,68
	M	2,51	1,61	3,16	1,48	2,18
	B	2,23	1,72	2,92	1,78	2,29
Categoría	S	2,78	1,36	--	--	1,89
	M	2,53	1,65	3,090	1,53	2,18
	B	2,18	1,56	2,953	1,92	2,36
<b>Significación</b>						
		Riego	*	ns	*	ns
		Carga	**	*	ns	*
		Categoría	**	*	ns	***
		Riego*Categoría	***	ns	ns	ns
		Carga*Categoría	***	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

Las bayas de la categoría S presentaron la menor concentración de PAnT durante el estudio, excepto en 2005, donde las bayas B presentaron menor concentración con diferencias significativas en la media de los tres años y en 2005, al igual que sucedió con el contenido TPP total. En 100ETc el contenido en PAnT disminuyó al elevarse el peso de bayas de la categoría, mientras que en el caso del secano las tres categorías tuvieron concentraciones parecidas, algo mayores en M. En la carga baja el aumento de calibre disminuyó estos compuestos, mientras que en la alta fue el calibre intermedio el más favorecido.

**Tabla 3.21.** Valores de Antocianos en mg g<sup>-1</sup> de cloruro de malvidina, obtenidos en vendimia según categoría: "S" < 1.23g; "M", 1.23g < M < 1.82g y "B" > 1.82g, para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y valores medios de los años de estudio.

Tratamiento	Categoría	Antocianos (mg g <sup>-1</sup> cloruro de malvidina)				
		2005	2006	2007	2008	Media
25ETc	S	0,52	0,51			0,51
	M	0,63	0,63	1,47	0,65	0,84
	B	0,51	0,34	1,31	0,67	0,84
100ETc	S	0,76	0,66			0,68
	M	0,70	0,65	1,21	0,62	0,80
	B	0,57	0,54	1,06	0,61	0,77
Baja	S	0,66	0,69			0,66
	M	0,65	0,69	1,28	0,65	0,82
	B	0,51	0,34	1,08	0,70	0,79
Alta	S	0,61	0,48			0,54
	M	0,68	0,59	1,41	0,62	0,83
	B	0,57	0,54	1,29	0,57	0,82
Categoría	S	0,64	0,58			0,60
	M	0,67	0,64	1,34	0,63	0,82
	B	0,54	0,44	1,19	0,64	0,80
<b>Significación</b>						
Riego		**	ns	*	ns	ns
Carga		ns	*	ns	*	ns
Categoría		**	ns	ns	ns	*
Riego*Categoría		**	ns	ns	ns	ns
Carga*Categoría		***	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

Para poder comparar el efecto del tratamiento de riego y el nivel de carga sobre la composición del mosto, minorando el efecto del tamaño de la baya, en la Tabla 3.22, se presentan los resultados analíticos en mostos de las bayas de la categoría intermedia (M). Estos datos confirman el incremento en la acidez en las medias de los 4 años, debido al mayor riego en 100ETc, pero no hubo diferencias ni en sólidos solubles, ni en compuestos fenólicos. En el caso de los antocianos en 2008 100ETc tuvo mayores concentraciones. En cuanto al efecto del nivel de carga, el aclareo disminuyó la acidez y elevó la concentración de azúcares, pero no tuvo efecto sobre los compuestos fenólicos. Al igual que sucedió con el riego hubo diferencias en 2008 en contenido de polifenoles siendo mayor en el caso de la carga alta.

**Table 3.22.** Resultados de la composición química de las bayas utilizando la composición de la baya de la categoría "M", 1.23g <M <1.82g para los diferentes tratamientos de riego y nivel de carga de cosecha durante 2005, 2006, 2007 y 2008 y valores medios de los años de estudio.

Acidez Titulable (g L <sup>-1</sup> )					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	ns	ns	ns	***	**
25ETc	3,95	3,39	4,28	3,87	3,88
100ETc	3,93	3,76	4,68	4,73	4,29
Carga	*	ns	ns	ns	**
Baja	3,65	3,32	4,38	4,20	3,89
Alta	4,22	3,83	4,58	4,40	4,27
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Sólidos Solubles Totales (ºBrix)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	ns	ns	ns	ns	ns
25ETc	23,6	21,5	23,6	23,5	23,1
100ETc	24,4	22,9	23,1	23,9	23,5
Carga	ns	ns	ns	**	**
Baja	24,0	23,0	23,5	24,6	23,8
Alta	23,9	21,4	23,2	22,8	22,8
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Polifenóles (mg L <sup>-1</sup> Ácido gálico)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	ns	ns	ns	ns	ns
25ETc	2,55	1,62	3,31	1,61	2,26
100ETc	2,51	1,67	2,87	1,44	2,10
Carga	ns	ns	ns	ns	ns
Baja	2,54	1,68	3,02	1,57	2,17
Alta	2,51	1,61	3,16	1,48	2,42
Interacción	ns	ns	ns	ns	ns
Antocianos (mg g <sup>-1</sup> cloruro de malvidina)					
Tratamiento	2005	2006	2007	2008	Media
Riego	***	ns	*	ns	ns
25ETc	0,63	0,63	1,47	0,65	0,84
100ETc	0,70	0,65	1,21	0,62	0,80
Carga	**	ns	ns	ns	ns
Baja	0,65	0,69	1,28	0,65	0,82
Alta	0,68	0,59	1,41	0,62	0,83
Interacción	***	ns	ns	ns	ns

\*\*\*, \*\*, \*, ns, Indican diferencias estadísticamente significativas con p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa respectivamente en el análisis de la varianza (ANOVA).

### **3.6. Discusión.**

El estudio de la baya según su disposición espacial en el racimo, aporta una información importante que contribuye a comprender las fuentes de variabilidad de la calidad de los mostos obtenidos en vendimia. Los resultados obtenidos en este estudio, ponen de manifiesto que existe cierta variabilidad en las características fisico-químicas de las bayas dependiendo de la posición que estas ocupan el en racimo. Sin embargo las variaciones encontradas y cuantificadas son menos evidentes de los que cabría esperar a partir de las consideraciones empíricas de viticultores y enólogos. Así pues el trabajo realizado viene a ser una de las primeras contribuciones científicas realizado para cuantificar la influencia que pueden tener el tamaño de la baya y su posición en el racimo con respecto a su composición.

La evolución estacional en el crecimiento de la baya tuvo diferencias considerables entre años, en la duración de las diferentes fases y tasas de crecimiento durante los ciclos de crecimiento rápido. Esta variabilidad no pudo atribuirse a los tratamientos de riego aplicados sino probablemente a la interacción por un lado de las condiciones ambientales, principalmente la temperatura durante la etapa inicial del crecimiento de la baya (Harris et al. 1968), y por otro lado al nivel de carga previo al aclareo de racimos.

El estrés hídrico tanto en pre-envero (año 2005) como en post-envero (año 2007), como su efecto combinado (pre y post-envero) durante ambos periodos (año 2008), disminuyó el tamaño de la baya en vendimia durante su crecimiento (Figura 3.4), coincidiendo con otros resultados publicados (Poni et al. 2009, Girona et al. 2009).

A pesar de la efectividad del déficit pre-envero para el control del peso de la baya, constatada en la bibliografía (Hardie y Considine 1976; Smart 1974; Van Zyl 1984; Greenspan et al. 1994 y 1996; Lakso 2000; y Girona et al. 2009; Intrigliolo y Castel 2010), resulta difícil recomendar estrategias de riego deficitario para el control del tamaño de la baya en Extremadura, donde la posibilidad de inducir un nivel de estrés controlado y temprano está supeditada a las características meteorológicas del año.

El Hombro representó las dos terceras partes del racimo en términos de número de bayas y peso del mismo, siendo también mayor el peso medio de la baya. Estas diferencias entre Hombro y Punta se acentuaron en el año con mayor número de bayas por racimo (2008, Tabla 3.4). Un comportamiento similar se ha observado en otras variedades como 'Concord', 'Cabernet franc' y 'Cabernet Sauvignon' (Pagay y Cheng 2010; Tarter y Keuter 2005) y ha sido descrito previamente en el caso de 'Tempranillo' (Yuste et al. 2009). Sin embargo, no fue observado en 'Shiraz' (Pisciotta et al. 2014). El menor peso de bayas en la Punta del racimo, sugiere una desfavorable posición de las bayas en cuanto al abastecimiento de asimilados.

La separación de los racimos en Hombro y Punta dio lugar a algunas diferencias en los mostos resultantes, de forma que el Hombro fue más rico en azúcar pero con menor acidez, siendo las diferencias entre las zonas, más acusadas en el año de mayor producción. Este resultado parece indicar un cierto adelanto en la maduración de la parte superior del racimo, que se acentuó en los racimos de mayor tamaño del año 2008. En este caso, el menor tamaño de bayas en la Punta no incrementó la concentración de compuestos responsables del color.

La Punta que representa un tercio del peso total del racimo, presentó mayor variabilidad que el Hombro en relación a las analíticas resultantes del racimo completo. Resultados similares fueron descritos por Tarter y Keuter (2005) en ‘Cabernet Sauvingon’. En cuanto al contenido fenólico, Figueiredo-González et al. (2012) no encontraron diferencias en la dinámica de acumulación de antocianinas y flavonoles entre diferentes zonas del racimo en var. ‘Brancellao’, coincidiendo con los resultados obtenidos en este trabajo en el año 2007. Conocidos los efectos positivos de la iluminación y temperatura sobre los compuestos de la baya (Crippen y Morrison 1986; Bergqvist et al. 2001; Spayd et al. 2002), la ausencia de efecto de la zonas en el contenido de Polifenoles y Antocianos, pueden indicar que las bayas de la Punta, no presentan “ventajas” en término de iluminación y temperatura respecto a las bayas situadas en el Hombro. Además la menor acidez titulable y la menor concentración de azúcar de la Punta, de nuevo vuelve a sugerir, que los resultados obtenidos son debidos a un retraso en la maduración, motivados por una menor abastecimiento de asimilados.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que estos resultados proceden de la experiencia de un solo año, en el que además no se observaron diferencias en azúcar y acidez titulable entre zonas del racimo, a diferencia de otros de los años de ensayo.

Si se considera la variabilidad en el racimo como un atributo “no deseable” de cara a la vinificación, los resultados obtenidos sugieren que la práctica de separación de Hombro y Punta de racimos en vendimia puede resultar efectiva, siendo la fracción de los Hombros la que aportaría mayor calidad. Sin embargo, en zonas de producción como Extremadura, donde los mostos suelen presentar una baja acidez y la concentración de azúcar no suele ser un factor limitante, no sería recomendable la separación del racimo en zonas.

El efecto restrictivo del riego deficitario, sobre el peso y número de las bayas por racimo, sólo resultó evidente en el Hombro, mientras que el riego, ni el aclareo tuvieron un efecto diferencial en Hombro y Punta para el resto de los parámetros estudiados, en la media del estudio.

La exploración de la población de bayas y racimos de este estudio, confirmó la elevada variabilidad tanto en peso del racimo y número de bayas por racimo como en el peso medio de la baya obtenida en estudios anteriores (Shellie 2010, Friend et al 2009, Ollat et al, 2002,

Amerine y Roessler 1958). Por otra parte, el peso de racimo y número de bayas, explicaron menos del 50% de la variabilidad encontrada en el peso medio de la baya. Por tanto, este peso no solo depende de factores intrínsecos del racimo, sino también de otros factores como el estado hídrico de la cepa y/o las prácticas vitícolas. Un aspecto interesante a tener en cuenta es como el peso medio de la baya varía en función del procedimiento de muestreo, ya que los pesos medios de la baya para un mismo tratamiento obtenidos al considerar el peso individual de cada una de las bayas del racimo (Tabla 3.4), fue diferente del peso medio de la categoría de bayas M mayoritaria (Tabla 3.16). Estas diferencias, además no se mantuvieron siempre en el mismo sentido, ya que en tres de los años (2005, 2006 y 2008) el peso medio obtenido a partir de los pesos individuales fue menor, mientras que en 2007, año en que las bayas fueron de mayor tamaño, esta estimación fue mayor. Estos resultados, sugieren que muestreos en campo realizados al azar, no harían mas que confirmar la variabilidad intra-racimo, por lo que sería más recomendable realizar muestreos dirigidos hacia las partes mas representativas.

En este trabajo, al agrupar las bayas por tamaños, las características de los mostos obtenidos con cada categoría fueron diferentes, aunque como se ha visto ya en capítulos anteriores con una fuerte influencia del factor año. Las bayas de mayor tamaño tuvieron menor concentración de azúcares, mientras que la concentración de polifenoles y antocianos fue mayor en las bayas intermedias y grandes. Estos resultados difieren de los de obtenidos por Walker et al. (2005) en 'Shiraz', que no obtuvieron diferencias en composición fenólica en mostos procedentes de bayas de diferentes tamaños de una misma población, lo que pone de manifiesto la importancia de factores genéticos y medioambientales. Así pues el trabajo pone de manifiesto que no puede siempre afirmarse de manera general que las bayas de menor tamaño sean de mayor calidad.

Al estudiar la incidencia del tamaño de la baya en relación con el riego se observa, que el déficit hídrico retrasó la maduración de las bayas de menor calibre sobre todo en los años en los que la producción fue mayor. Las bayas de tamaño intermedio, presentaron mayor concentración de azúcar que las más grandes, a pesar de que éstas, parecen tener una situación más favorable para captar los asimilados producidos por las hojas. Todo ello podría indicar un cierto efecto de dilución, que no aparece en el caso de la acidez.

En cuanto al efecto del tamaño de la baya sobre los compuestos sintetizados en la piel es controvertido, ya que el factor año tiene una incidencia clave.

Cuando se minimiza el efecto del tamaño de la baya, para analizar como influyeron el régimen hídrico y el aclareo de racimos sobre la composición de los mostos, se confirma, en el caso del riego el incremento de la acidez con el agua aplicada y la reducción de la acidez e

incremento del azúcar en la carga baja (Tabla 3.22). En estas condiciones tanto el riego, como la carga no tuvieron impacto sobre la composición fenólica. Según Roby y Matthews (2004) el primer mecanismo por el que el déficit hídrico incrementa taninos y antocianidinas es la respuesta diferencial de piel y mesocarpo frente al déficit hídrico, de forma que para un peso de baya similar el déficit hídrico incrementa el peso de hollejo (Roby et. al. 2004). La ausencia de efecto del riego observada sobre TPP y TAnP en este estudio pudo ser debida a la ausencia de condiciones (diferencias mayores en déficit hídrico) que generaran crecimiento diferencial entre las distintas partes de la baya, sin que las posibles diferencias en síntesis entre tratamientos de riego llegaran a generar diferencias apreciables.

Una información interesante sería contrastar los resultados obtenidos con esta selección de bayas “más representativas” y la de mostos obtenidos de racimos completos, lo que permitiría evaluar la importancia real de los calibres “menos frecuentes”.

A partir de todo lo que se ha visto es necesario reflexionar sobre la importancia que tiene el procedimiento de muestreo sobre los resultados obtenidos. Si el objetivo es conseguir una representación real de lo que sucede en el viñedo habría que recurrir a racimos completos, cosa que solo sería factible para situaciones de vendimia, ya que en muestreos a lo largo del año la variabilidad entre racimos se ha visto que también es importante. Si lo que se propone es estudiar el efecto de un tratamiento tal vez la solución más razonable sería establecer una zona de muestreo dentro del racimo, intermedia

El aclareo de bayas en enero no modificó el tamaño de bayas ni la distribución de las mismas en el racimo, pero a la vista de los resultados obtenidos, a pesar de existir diferencias en composición en relación al tratamiento sin aclareo, cabe pensar que la respuesta podía haber sido más clara y consistente a lo largo de los años si se hubiera practicado antes la descarga de racimos, con el fin de afectar a procesos importantes que tienen lugar tras el cuajado como se ha estudiado con aclareos tempranos (Guidoni et al. 2002) o técnicas de deshojado precoz (Poni et al. 2009)

Según los resultados de este estudio, apoyados además por algunos resultados obtenidos en término de contenido de TSS del Hombro por Pisciotta et al. (2013), sugieren que la aplicación de técnicas de cultivo encaminadas a disminuir la variabilidad en pro de una mayor uniformidad de tamaño y composición de bayas, no resultan viables en condiciones de campo.

### **3.7. Conclusiones.**

Las bayas procedentes del aparte alta del racimo dieron lugar a mostos con mayor contenido azucarado y menor acidez, mientras que la composición fenólica no varió en función de la posición de la baya en el racimo

Las bayas de categoría M representaron el 70% del peso del racimo.. El número de bayas de las categorías "B" y S fue similar, pero la diferencia en el peso individual de la bayas de cada grupo hizo que la categoría B aportara el 22 y el 8 % respectivamente al peso total del racimo.

La composición de la baya fue diferente según categoría de tamaño de forma que los mostos procedentes de la categoría S tuvieron menor concentración de compuestos fenólicos que los de las categorías M y B. En el caso de la categoría B fue menor la concentración de sólidos solubles totales.

El déficit hídrico, disminuyó el número y peso de las bayas de la categoría M, y el pH de las bayas de categoría S.

El aclareo de racimos, incrementó el peso medio de la baya en la categoría B, sin afectar al el número y peso de las bayas de cada categoría. Por otro lado, en la composición de la baya, el aclareo incrementó el pH de las bayas de categoría S.

Puede en definitiva afirmarse que la composición de la baya, depende del su localización en el racimo y del tamaño de la baya, pero se ve además influenciada por el estado hídrico y nivel de carga de la cepa.

### **3.8. Referencias.**

- Allen, R.G.; Pereira, L.S.; Raes, D. and Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper, No. 56, FAO, Rome.
- Amerine, M. A., and Roessler, E. B. 1958. Field testing of grape maturity. University of California.
- Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S., and Tabacman, H. 1985. Effect of irrigation and crop level on growth, yield and wine quality of Cabernet Sauvignon. Am. J. Enol. Vitic. , 36(2), 132-139.
- Bergqvist, J., Dokoozlian, N., and Ebisuda, N. 2001. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California. Am. J. Enol. Vitic. , 52(1), 1-7.

- Castellarin, S. D., Matthews, M. A., Di Gaspero, G., and Gambetta, G. A. 2007. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta*, 227(1), 101-112.
- Clingeleffer, P.R., 2006. Crop thinning (hand versus manual), grape maturity and anthocyanin concentration: Outcomes from irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) in a warm climate. *Aust. J. Grape and Wine Res.* 12, 21–29.
- Coombe, B.G.; McCarthy, M.G. «Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening», *Aust J Grape Wine Res* 2000; 6: 131-135.
- Crippen, D. D., & Morrison, J. C. (1986). The effects of sun exposure on the phenolic content of Cabernet Sauvignon berries during development. *Am. J. Enol. Vitic.* , 37(4), 243-247.
- di Stefano, R. and Gentilini, N., 2002. Methods of analysis of proanthocyanidins in red wines. *Riv. Ital. Vitic. Enol.* 55, 63-74.
- Figueiredo-González, M., Simal-Gándara, J., Bosco, S., Martínez, M. C., Santiago, J. L., and Cancho-Grande, B. 2012. Anthocyanins and flavonols berries from *Vitis vinifera L.* cv. Brancellao separately collected from two different positions within the cluster. *Food Chemistry*, 135(1), 47-56.
- Friend, A.P., M.C.T. Trought, and G.L. Creasy. 2009. The influence of seed weight on the development and growth of berries and live green ovaries in *Vitis vinifera L.* cvs. Pinot noir and Cabernet Sauvignon. *Aust. J. Grape Wine Res.* 15:166-174.
- Gamero, A., Moreno, D., Talaverano, I., Prieto, M. H., Guerra, M. T., and Valdés, M. E. 2014a. Effects of Irrigation and Cluster Thinning on Tempranillo Grape and Wine Composition. *S. Afr. J. Enol.*, 35(2).
- Gamero, E., Moreno, D., Vilanova, M., Uriarte, D., Prieto, M. H., and Valdés, M. E. 2014b. Effect of bunch thinning and water stress on chemical and sensory characteristics of Tempranillo wines. *Austral. J. Grape Wine Res.*, 20(3), 394-400.
- Girona, J., J. Marsal, M. Mata, J. del Campo and B. Basile. 2009. Phenological sensitivity of berry growth and composition of Tempranillo Grapevines (*Vitis Vinifera L.*) to water stress. *Austral. J. Grape Wine Res* 15:268-277.
- Guidoni, S., Ferrandino, A. and Novello, V., 2008. Effects of seasonal and agronomical practices on skin anthocyanin profile of Nebbiolo grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 59, 22-29.
- Greenspan, M.D., K.A. Shackel and M.A. Matthews. 1994. Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficits. *Plant, Cell and Environment* 17: 811-820.
- Greenspan, M.D., H.R. Schultz and M.A. Matthews. 1996. Field evaluation of water transport in grape berries during water deficits. *Physiol. Plantarum* 97: 55-62.

- Harris, J. M.; Kriedemann, P. E.; Possingham, J. V.; 1968: Anatomical aspects of grape berry development. *Vitis* 7, 106-119
- Hardie, W.J. and J.A. Considine. 1976. Response of grape to water-deficit stress in particular stages of development. *Am. J. Enol. Vitic.* 27: 55-61.
- Hidalgo, L. 1993. Tratado de viticultura general. Mundi. Prensa, Barcelona, España. 983 p.
- Intrigliolo, D. S., and 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. *Irrig. Sci.*, 28(2), 113-125.
- Intrigliolo, D. S., and Castel, J. R. 2011. Interactive effects of deficit irrigation and shoot and cluster thinning on grapevine cv. Tempranillo. Water relations, vine performance and berry and wine composition. *Irrig. Sci.*, 29(6), 443-454.
- Keller, M., Smithyan, R. P., and Mills, L. J. 2008. Interactive effects of deficit irrigation and crop load on Cabernet Sauvignon in an arid climate. *Am. J. Enol. Vitic.*, 59(3), 221-234.
- Kennedy, J. A., Matthews, M. A., & Waterhouse, A. L. 2002. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *Am. J. Enol. Vitic.* , 53(4), 268-274.
- Lakso, A. N. 2000. Basics of water balance in New York vineyards. Proc. 29th NY Wine Industry Workshop, NYS Agric. Exper. Sta., p 94-101.
- Matthews, M. A., and Anderson, M. M. 1988. Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: responses to seasonal water deficits. *Am. J. Enol. Vitic.* , 39(4), 313-320.
- Matthews, M.A. and Kriedemann, P.E., 2006. Water deficit, yield, and berry size as factors for composition and sensory attributes of red wine. In Proc. Austr. Society of Viticulture and Oenology 'Finishing the Job' - Optimal ripening of Cabernet Sauvignon and Shiraz, pp. 46-54.
- Naor, A., Gal, Y., and Bravdo, B. 2002. Shoot and Cluster Thinning Influence Vegetative Growth, Fruit Yield, and Wine Quality ofSauvignon blanc'Grapevines.*Hort. Sci.*.,127(4), 628-634.
- OIV. 1990. Office Internationale de la Vigne et du Vin. Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins et des Mou^ts, Paris
- Ojeda H, A. Deloire , A. Carbonneau, A. Ageorges and C. Romieu. 1999. Berry development of grapevines: relations between the growth of berries and their DNA content indicate cell multiplication and enlargement. *Vitis*;38:145–150.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A. and Deloire, A., 2002. Influence of pre- and postvéraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *Am. J. Enol. Vitic.* 53, 261-267. Petrie, P.R. and

- Ollat, N., P. Diakou-Verdin, J.P. Carde, F. Barrieu, J.P. Gaudillère, and A. Moing. 2002. Grape berry development: A review. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 36:109-131.
- Pagay, V., and L. Cheng. 2010. Variability in berry maturation of Concord and Cabernet franc in a cool climate. *Am. J. Enol. Vitic.* 61:61-67.
- Petrie, P. R., and Clingeleffer, P. R. 2006. Crop thinning (hand versus mechanical), grape maturity and anthocyanin concentration: outcomes from irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) in a warm climate. *Austral. J. Grape Wine Res.* 12(1), 21.
- Picón-Toro, J., González-Dugo, V., Uriarte, D., Mancha, L. A., and Testi, L. 2012. Effects of canopy size and water stress over the crop coefficient of a “Tempranillo” vineyard in south-western Spain. *Irrig. Sci.*, 30(5), 419-432.
- Pisciotta, A., di Lorenzo, R., Barbagallo, M. G., and Hunter, J. J. 2014. Berry Characterisation of cv Shiraz According to Position on the Rachis. *S. Afr. J. Enol.*, 34(1).
- Poni, S., Canalini, L., Bernizzoni, F., Civardi, S. and Intrieri, C., 2006. Effects of early defoliation on shoot synthesis, yield components, and grape composition. *Am. J. Enol. Vitic.* 57, 397-407. Poni, S. and Libelli N., 2008. Dimensione dell’acino e qualità dell’uva: una relazione non scontata. *L’Informatore Agrario* 17, 31-36.
- Poni, S., Bernizzoni, F., Civardi, S., and Libelli, N. 2009. Effects of pre-bloom leaf removal on growth of berry tissues and must composition in two red *Vitis vinifera* L. cultivars. *Austral. J. Grape Wine Res.*, 15(2), 185-193.
- Qian, M. C., Fang, Y., & Shellie, K. 2009. Volatile composition of Merlot wine from different vine water status. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(16), 7459-7463.
- Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B. and Lonvaud, A., 2000. *Handbook of Enology*. Vol. I: The microbiology of wine and vinifications. Vol. II: The chemistry of wine stabilization and treatments. John Wiley and Sons Ltd., Chichester.
- Roby, G., and Matthews, M. A. 2004. Relative proportions of seed, skin and flesh, in ripe berries from Cabernet Sauvignon grapevines grown in a vineyard either well irrigated or under water deficit. *Austral. J. Grape Wine Res.*, 10(1), 74-82.
- Roby, G., Harbertson, J. F., Adams, D. A., and Matthews, M. A. 2004. Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: anthocyanins and tannins. *Austral. J. Grape Wine Res.*, 10(2), 100-107.
- Rubio Cano, J. A. 2004. Irrigation and cluster thinning: effects on physiological activity, on yield control and on red grape variety Tempranillo quality (*Vitis vinifera* L.). Tesis Doctorales-Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (España).
- Shellie, K.C. 2010. Water deficit effect on ratio of seed to berry fresh weight and berry weight uniformity in winegrape cv. Merlot. *Am. J. Enol. Vitic.* 61:414-418.

- Santesteban, L.G., Miranda, C., Royo, J.B., 2010. Vegetative growth reproductive development and vineyard balance. In: Delrot, S., Medrano, H., Or, E., Bavaresco, L., Grando, S. (Eds.), *Methodologies and Results in Grapevine Research*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 45–56.
- Santesteban, L. G., Miranda, C., and Boyo, J. B. 2011. Thinning intensity and water regime affect the impact cluster thinning has on grape quality. *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 50(4), 159.
- Smart, R.E., 1974. Aspects of water relations of the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Am. J. Enol. Vitic.* 25, 84-91.
- Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L., & Ferguson, J. C. 2002. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *Am. J. Enol. Vitic.* , 53(3), 171-182.
- Tarter, M.E., and S.E. Keuter. 2005. Effect of rachis position on size and maturity of Cabernet Sauvignon berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 56:86-89.
- Valdés, M. E., Moreno, D., Gamero, E., Uriarte, D., Prieto, M. D. H., Manzano, R., ... and Intrigliolo, D. S. 2009. Effects of cluster thinning and irrigation amount on water relations, growth, yield and fruit and wine composition of Tempranillo grapes in Extremadura (Spain). *J. Int. Sci.Vigne Vin*, 43(2), 67-76.
- Vasconcelos, M. C., Greven, M., Winefield, C. S., Trought, M. C., and Raw, V. 2009. The flowering process of *Vitis vinifera*: a review. *Am. J. Enol. Vitic.* , 60(4), 411-434.
- Van Zyl, J.L. 1984. Response of grapevine to soil water regimes and irrigation systems. Adelaide: The Australian Wine Research Institute. p.25-67.
- Yuste, J., San Miguel, M. A., de la Iglesia, E. y Barajas, E. 2009. Madurez de las bayas de tempranillo en función de su posición espacial en el racimo. *Enoviticultura*, (1), 13-16.
- Williams, L. E., and Matthews, M. A. 1990. Chapter 34 Grapevine. *Agronomy Series*, 30, 1019-1055.
- Wolpert, J. A., Howell, G. S., and Mansfield, T. K. 1983. Sampling Vidal blanc grapes. I. Effect of training system, pruning severity, shoot exposure, shoot origin, and cluster thinning on cluster weight and fruit quality. *Am. J. Enol. Vitic.* , 34(2), 72-76.
- Zarrouk, O., Francisco, R., Pinto-Marijuan, M., Brossa, R., Santos, R. R., Pinheiro, C., ... and 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.





## *Discusión General y Conclusiones*



## Discusión General

Este trabajo es el resultado de un análisis profundo del comportamiento agronómico de un viñedo del cv. Tempranillo en condiciones semi-áridas de cultivo en Extremadura. Este viñedo fue sometido a diferentes dosis de riego, combinado con dos niveles de carga, analizando el efecto de los mismos sobre el desarrollo vegetativo, productivo y las características de los mostos, a lo largo de cuatro campañas consecutivas (2005-2008). Se evaluó además cómo actuaron estos factores sobre las zonas superior e inferior del racimo y sobre la variabilidad en tamaños de bayas presentes en el viñedo, desde el punto de vista de características físicas de las bayas y químicas de los mostos resultantes.

Un aspecto destacable del estudio es el gran protagonismo que tuvo el factor año en los resultados obtenidos. La alta variabilidad interanual, a pesar de haber prestado una mayor complejidad a la interpretación de los resultados, proporcionó una información valiosa para entender el comportamiento de un viñedo del cv. Tempranillo en unas condiciones de cultivo que son habituales del Suroeste español. Por otra parte, esta variabilidad climática interanual se ha constatado prácticamente en la totalidad de los trabajos publicados sobre condiciones de campo (ej. Medrano et al 2003; Keller et al. 2005; Intrigliolo y Castel 2010) de forma que son necesarios estudio plurianuales para obtener resultados robustos, cuando se trata de determinar los efectos de las prácticas culturales en una zona de cultivo determinada.

### A. Efecto del riego

Las diferencias en los volúmenes de agua aplicados a los diferentes tratamientos de riego fueron considerables, de forma que el tratamiento 25ETc recibió a lo largo del ciclo de cultivo la cuarta parte del agua de riego que 100ETc. Esta cantidad fue diferente en cada año dependiendo de la climatología, pero en 2008 las diferencias fueron de 153 frente a 611 mm en 25ETc y 100ETc respectivamente. Estas cifras son importantes en el contexto de la agricultura de una región semi-árida con 80.000has de viñedo. Aunque estas diferencias dieron lugar a un estado hídrico diferente, en ningún caso puede considerarse que 25ETc sufriera un déficit hídrico severo de acuerdo a los valores aportados para viñedos por otros autores (Carboneau 1998; Willians y Araujo 2002). También es cierto que en este ensayo el comportamiento del tratamiento de secano, tampoco corresponde a una situación de sequía severa, a pesar de que el viñedo estaba situado en una zona de alta demanda evaporativa y escasa pluviometría estival. Esto destaca la importancia de cuantificar el estado hídrico de la planta, en este caso con el SWP, más que las dosis de riego para comparar estos resultados

con los que se puedan obtener en otras localizaciones incluso geográficamente próximas. Aspectos como el momento en que se inició el déficit hídrico y el mantenimiento más o menos marcado de las diferencias en estado hídrico entre los tratamientos, han sido responsables en buena medida de las diferencias entre años y tratamientos en un mismo año.

Un aspecto que “a priori” puede llamar la atención es que cabía esperar mayores diferencias en estado hídrico a la vista de las diferencias en los volúmenes de agua aplicados. Hay que tener en cuenta que la demanda hídrica de un viñedo guarda una estrecha relación con el desarrollo de la vegetación, como se cuantificó en un lisímetro situado en esta misma parcela (Picón et al. 2012) y las intervenciones a las que se somete el viñedo para dirigir la vegetación en la espaldera, tienden a igualar la radiación interceptada por los diferentes tratamientos y a minorar diferencias generadas tras la brotación con intervenciones de poda en verde (despiojado). El déficit hídrico tras la brotación ha demostrado ser efectivo en el control del crecimiento de los pámpanos, en los años en que la pluviometría primaveral no fue muy alta y puede por tanto plantearse para sustituir o minorar intervenciones de poca.

El tratamiento más productivo fue 100ETc alcanzando un 37% más de rendimiento que el tratamiento de secano. La producción media obtenida en este tratamiento para los 4 años fue de  $24,7 \text{ t ha}^{-1}$  y la máxima correspondiente al año 2008 fue de  $36 \text{ t ha}^{-1}$ . Esto sitúa el potencial productivo del viñedo para la zona en valores muy altos, y más teniendo en cuenta que el sistema de poda podido actuar como limitante de la productividad. Se confirma también que en esta zona la sequía es un poderoso condicionante de la productividad.

Atendiendo a las características de los mostos, todos los tratamientos de riego alcanzaron el valor umbral de los 23º en concentración de sólidos solubles totales (TSS) de forma que la producción de azúcares no resultó limitante en ningún caso. Sin embargo las bayas provenientes del tratamiento 100ETc tenían mayor acidez total (TA) que las del tratamiento de secano. La mejora en la acidez de los mostos es un atributo deseable en esta zona en que las altas temperaturas suelen conducir en el cv. Tempranillo vendimias con poca acidez. Por el contrario, el tratamiento más regado fue también el que tuvo menor contenido en PPT y TAnP, siendo más acusado en años más productivos. La relación inversa entre contenido polifenólico y producción fue más evidente al comparar anualidades, que tratamientos en una misma campaña.

Haciendo una valoración conjunta de productividad, calidad de la cosecha y eficiencia en el uso del agua a lo largo de cuatro años de estudio, el tratamiento 25ETc parece el más recomendable, con rendimientos entorno al 26% superiores al secano y similares al

tratamiento de riego 50ETc, con concentraciones de TSS y TAnP similares al secano. El aspecto negativo es que la TA fue menor que en los tratamientos que recibieron más agua (50ETc y 100ETc) debido a la menor concentración de ácido málico. El menor desarrollo vegetativo en este tratamiento incrementó la iluminación y temperatura de los racimo y en consecuencia la combustión del ácido málico (Ruffner 1982). Nuestros resultados muestran una relación positiva entre el desarrollo de la vegetación y la TA y la concentración de ácido málico. Como consecuencia se propone para zonas vitícolas con estas características climatológicas un sistema productivo que junto con la práctica del riego deficitario, que mejoren producción (respecto del secano) y compuestos fenólicos (respecto de riegos sin limitaciones hídricas), se adopten sistemas de manejo de la vegetación que conlleven a una mayor protección de los racimos, quizás con vegetación más libre tipo Sprawl (Freeman et al. 1992) con el fin de lograr una menor degradación de ácido málico.

En cuanto al periodo de aplicación del déficit hídrico, aunque esta Tesis Doctoral no tenía como objetivo principal comparar distintos periodos de aplicación del estrés hídrico, se puede concluir que el potencial de crecimiento vegetativo y productivo del viñedo está más relacionado con el estado hídrico antes del envero que después de él. Así pues el nivel de déficit hídrico soportado por las cepas marcará los acontecimientos de esa campaña la siguiente. Esto se explica, en base a las características bianuales el ciclo reproductivo de la vid, que hace que se concentren en un limitado espacio de tiempo los procesos de iniciación y diferenciación de las yemas fructíferas de la campaña siguiente, con la floración, cuajado y estados iniciales de crecimiento de las bayas de la campaña actual, siendo además el preámbulo de la fase de más activo crecimiento vegetativo, tras la brotación de las yemas (Alleweld y Ilter 1969; Loveys y Kiedemann 1973; Vasconcelos et al. 2009).

Los resultados de este trabajo confirman que el déficit hídrico soportado por las cepas modifica el desarrollo y la productividad de la vid a corto y medio plazo, dependiendo de su intensidad, pero también tiene un efecto acumulativo a largo plazo. Así, se aprecia que las diferencias entre tratamientos se fueron haciendo más acusadas al avanzar los años de ensayo, hasta llegar al 2008, en que incluso el tratamiento con un déficit hídrico moderado (50ETc) empieza a tener diferencias claras en desarrollo vegetativo con el tratamiento 100ETc , manifestándose estas diferencias también las características analíticas de los mostos.

## B. Efecto de aclareo de racimos

El principal efecto del aclareo de racimos, fue la disminución de la producción, ligeramente inferior a la intensidad del aclareo realizada (35% y 37% respectivamente) ya que en las cepas con menor carga el peso medio del racimo fue ligeramente más alto que en las que se manutuvo la carga alta (Tabla 1.3.). El aclareo, tal y como se practicó en este ensayo no modificó el estado hídrico de las cepas, por lo que el aumento en el peso de racimos parece más debido al incremento en la relación área foliar: producción al eliminar la competencia de parte de los racimos (Naor et al. 2002). Este efecto se acentuó, los años en los que la producción fue más elevada. En ningún caso la desaparición de parte de los racimos actuó como un estímulo para el desarrollo foliar, que se mantuvo similar en ambos niveles de carga y por tanto no afectó al microclima de los racimos. Sin embargo, sí se incrementó el peso de la madera de poda en el tratamiento 50ETc. Por tanto, es posible que al superar en el tratamiento de aclareo los  $0,6 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$  del ratio área foliar: producción, parte de los fotoasimilados pasaran a incorporarse a la madera como reserva (Edson et al. 1995), en condiciones moderadas de estrés. Sin embargo, conseguir estos valores en la relación entre área foliar: producción mediante con el aclareo, se hizo a expensas de una caída en la eficiencia en el uso del agua y una pérdida de cosecha, conseguida mediante un incremento en los costes de producción.

Esta situación “a priori” tan desfavorable solo podría sustentarse en base a una mejora sensible en las características de los mostos. Con los dos niveles de carga las bayas alcanzaron el objetivo de vendimia (23º de TSS), pero el nivel carga modificó el ritmo de maduración: las cargas altas presentaron concentraciones más bajas de azúcares y mayor acidez de forma que los cepas con menos carga llegaron entre 3 y 4 días antes al objetivo de vendimia., con menor TA en este momento. Estos resultados son similares a los obtenidos por Santiesteban et al. (2011). También fue constatada menor TA que el las cargas altas para una misma fecha de muestreo durante la maduración (Figure 2.4). Este efecto del aclareo sobre la acidez de los mostos está en consonancia con los obtenidos por Bravdo y Hepner (1985) en ‘Cabernet Sauvignon’. Sin embargo Keller et al. (2005) en un estudio realizado con las variedades ‘Cabernet Sauvignon’, ‘Riesling’ y ‘Chenin blanc’ no obtuvo efecto del aclareo sobre la acidez. Según este autor, las condiciones específicas de temperatura y humedad de suelo en cada campaña, son más determinantes en la concentración de TA que el aclareo.

A diferencia de lo observado en los tratamientos riego, donde la concentración de  $\text{K}^+$  no dependió del estado hídrico, el aclareo de racimos proporcionó mostos con mayor

concentración de K<sup>+</sup>. Este incremento fue también observado por Hepner y Bravdo (1985) en ‘Carignane’ y ‘Cabernet Sauvignon’ quienes además, observaron mayores concentraciones de ácido málico cuando la concentración de K<sup>+</sup> fue más elevada, en consonancia con los resultados de esta tesis. Sin embargo este resultado no resulta positivo, ya que está demostrada la negativa relación entre el K<sup>+</sup> y la estabilidad de los vinos (Morries et al. 1983).

El aclareo de racimos, tuvo un efecto positivo sobre TPP y TAnP a lo largo del estudio, y pudo observarse una relación negativa entre la producción y los compuestos fenólicos (Figura 2.10.). Sin embargo las diferencias entre ambos niveles de carga fueron menores, que las diferencias observadas entre años. Estos resultados sugieren que las condiciones de cada campaña, principalmente la temperatura, condicinal el potencial fenólico de las uvas en mayor medida que las el riego o el aclareo. Si bien el aclareo de racimos permite acercarse más al potencial máximo fenólico de cada campaña.

La respuesta del aclareo de racimos, resultó independiente del riego aplicado en alguno de los parámetros analizados (TSS, pH y TA), lo que sugiere que esta técnica puede utilizarse en cualquier situación de estado hídrico.

Los cambios producidos en el mosto por la reducción de carga no siempre fueron positivos, ya que el aumento en algunos de los compuestos fenólicos se consiguió a costa de una reducción en la acidez, sin olvidar la “dolorosa” pérdida de cosecha, conun adelante en la fecha de vendimia que no parece suponer una ventaja dadas las características climáticas de la zona. Los resultados apuntan a que fue un aumento en la superficie foliar disponible por racimo el principal responsable de esta mejora y en este mismo trabajo y discusión se han planteado técnicas alternativas para favorecer esa relación, incluso reduciendo costes de cultivo.

En el apartado anterior se ha destacado la importancia del periodo preenvero en la respuesta del viñedo al estado hídrico, dado que es el momento en que se condiciona los acontecimientos que ocurrirán durante el resto de la campaña. Según se ha discutido en este apartado el aclareo de racimos realizado en envero no modificó algunos de los aspectos que pueden ser clave en la producción y composición final de las bayas, como estado hídrico y área foliar y los efectos significativos parecen atribuibles a una reducción en la competencia entre racimos. Todo apunta a que una aclareo realizado lo antes posible hubiera sido más efectivo, provocando más diferencias respecto de las cepas con más carga. La ventaja esperada con un retraso en el aclareo era evitar estimular el crecimiento de la baya, que efectivamente se consiguió, pero en el capítulo III de esta tesis se ha demostrado que el mayor tamaño de la

baya, si es debido a un mayor acceso a fotoasimilados va necesariamente asociado a pérdida de calidad

### **C. Efecto de la posición de la baya en el racimo**

Además de los efectos del riego y el aclareo de racimos sobre las características de la vid en términos de desarrollo, productividad y composición, la posición que la baya ocupa dentro del racimo, tiene un efecto sobre su morfología y sobre sus características químicas. Así, la variabilidad en tamaño y concentración de compuestos de la baya, que podemos encontrar en una plantación, se encuentra también reflejada a nivel de planta, dentro de un mismo racimo.

Esta tesis pone de manifiesto la elevada variabilidad tanto en peso del racimo y número de bayas por racimo, como en el peso medio de la baya y confirma los obtenidos en estudios previos con otras variedades y condiciones de cultivo (Shellie 2010, Friend et al 2009, Ollat et al, 2002, Amerine y Roessler 1958). Dado que el peso del racimo o el número de bayas por racimo, no explican más allá del 50% del peso individual de cada baya, hay que tener en cuenta que otros factores también lo condicionan, algunos de los cuales han sido contemplados en este trabajo (estado hídrico y nivel de carga y sobre todo las condiciones climáticas particulares de cada año).

A pesar de que en varios trabajos se establece una relación clara entre un tamaño reducido de la uva con mejor calidad (Roby et al. 2004; Matthews y Kriedemann 2006; Petrie y Clingeleffer 2006; Poni et al. 2006), también se ha demostrado que no es el tamaño de baya per sé, quien confiere la mejor composición desde el punto de vista enológico. Ya que cuando las bayas se clasificaron las bayas por tamaño, sustrayéndolas del efecto de los tratamientos de riego y carga, las bayas de mayor tamaño tuvieron menor concentración de azúcares, y la concentración de polifenoles y antocianos fue mayor en las bayas intermedias y grandes. Según los resultados obtenidos, las bayas de tamaño intermedio (entre 1,2g y 1,8g), presentaron una composición más equilibrada que las de tamaño inferior y superior, siendo además las que hicieron una mayor contribución en peso a los mostos de racimos completos. A diferencia de estos resultados, Walker et al. (2005) en ‘Shiraz’, que no obtuvieron diferencias en composición fenólica en mostos procedentes de bayas de diferentes tamaños de una misma población , lo que sugiere que la variedad y/o las condiciones de cultivo, pueden jugar un papel importante en este comportamiento.

El tamaño que alcanza una baya dentro de un racimo va a ser consecuencia de la facilidad de acceso a los compuestos y sustancias suministrados por el sistema vascular, entre los que se incluirían tanto fotoasimilados, como agua. Así las bayas peor abastecidas, son de menor tamaño y de maduración más lenta. Esta distribución de las “categorías” se produce desde las etapas más tempranas del desarrollo de la inflorescencia (May 2000) pudiendo afectar no solo a las células del mesocarpo y la epidermis, sino además al número de ovarios viables que en sí mismo condiciona el tamaño final de la baya, ya que la relación entre el tamaño de la baya y el número de semillas ha quedado bien establecida en varios trabajos (Schumann, 1973; Coombe and Hale, 1973) citados por Boselli et al. (1995). Los resultados de este estudio destacan que esta posición de “privilegio” de la baya respecto de los suministros procedentes de la propia cepa tuvieron un mayor impacto en la composición final que las condiciones de iluminación, que podrían actuar como estímulo para la síntesis de compuestos dentro de la propia baya, ya que bayas de mayor tamaño situadas en zonas peor iluminadas tuvieron concentraciones más altas de los compuestos azúcares y compuestos fenólicos.

Finalmente, conocer la existencia de esta variabilidad en los viñedos en cuanto a tamaños de bayas, el origen de la misma y su posible significado en cuanto a las características químicas de los mostos, es importante para dirigir los muestreos evitando resultando erróneos en estudios de investigación o en las tomas de decisiones en las bodegas comerciales. En base a los resultados obtenidos se propone establecer protocolos de muestreo diseñados en función de los objetivos perseguidos.

#### **D. Referencias**

- Alleweldt, G., and E. Ilter. 1969. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Blütenbildung und Triebwachstum bei Reben. *Vitis* 8:286-313.
- Amerine, M. A., Roessler, E. B., and Filipello, F. 1959. Modern sensory methods of evaluating wine. University of California.
- Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S., and Tabacman, H. 1985. Effect of crop level and crop load on growth, yield, must and wine composition, and quality of Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* ,36(2), 125-131.
- Boselli, M., Volpe, B., and Di Vaio, C. 1995. Effect of seed number per berry on mineral composition of grapevine (*Vitus vinifera* L.) berries. *Journal of Horticultural Science*, 70(3), 509-516.

- Carbonneau, A. (1998). Aspects qualitatifs. *Traité d'irrigation*. Tec and Doc-Lavoisier, 297-346.
- Coombe, B. G., and Hale, C. R. 1973. The hormone content of ripening grape berries and the effects of growth substance treatments. *Plant Physiology*, 51(4), 629-634.
- Edson, C. E., Howell, G. S., and Flore, J. A. 1995. Influence of crop load on photosynthesis and dry matter partitioning of Seyval grapevines. II. Seasonal changes in single leaf and whole vine photosynthesis. *Am. J. Enol. Vitic.* , 46(4), 469-477.
- Freeman, B. M., Tassie, E., and Rebbecki, M. D. 1992. Training and trellising. *Viticulture*, 2, 42-65.
- Friend, A. P., Trought, M. C., and Creasy, G. L. 2009. The influence of seed weight on the development and growth of berries and live green ovaries in *Vitis vinifera* L. cvs. Pinot Noir and Cabernet Sauvignon. *Austral. J. Grape Wine Res*, 15(2), 166-174.
- Intrigliolo, D. S., and 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. *Irrig. Sci.*, 28(2), 113-125.
- Keller, M., L.J. Mills, R.L. Wample, and S.E. Spayd. 2005. Cluster thinning effects on three deficit-irrigated *Vitis vinifera* cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* 56: 91-103.
- Loveys, B. R., Kriedemann, P. E., and Törökfalvy, E. 1973. Is abscisic acid involved in stomatal response to carbon dioxide?. *Plant Science Letters*, 1(8), 335-338.
- May, P. 2000. From bud to berry, with special reference to inflorescence and bunch morphology in *Vitis vinifera* L. *Austral. J. Grape Wine Res*, 6, 82-98.
- Matthews, M. A., and Kriedemann, P. E. 2006. Water deficit, yield, and berry size as factors for composition and sensory attributes of red wine. *Proceedings of the australian society of viticulture and oenology*, 1-9.
- Medrano, H., Escalona, J. M., Cifre, J., Bota, J., and 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(6), 607-619.
- Morris, J. R., Sims, C. A., and Cawthon, D. L. 1983. Effects of excessive potassium levels on pH, acidity and color of fresh and stored grape juice. *Am. J. Enol. Vitic.* , 34(1), 35-39.
- Naor, A., Gal, Y., and Bravdo, B. (2002). Shoot and Cluster Thinning Influence Vegetative Growth, Fruit Yield, and Wine Quality ofSauvignon blanc'Grapevines.<,127(4), 628-634.
- Ollat, N., Diakou-Verdin, P., Carde, J. P., Barrieu, F., Gaudillere, J. P., and Moing, A. 2002. Grape berry development: a review. *J. Int. Sci.Vigne Vin (France)*.

- Petrie, P. R., and Clingeleffer, P. R. 2006. Crop thinning (hand versus mechanical), grape maturity and anthocyanin concentration: outcomes from irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) in a warm climate. *Austral. J. Grape Wine Res.*, 12(1), 21.
- Picón-Toro, J., González-Dugo, V., Uriarte, D., Mancha, L. A., and Testi, L. 2012. Effects of canopy size and water stress over the crop coefficient of a “Tempranillo” vineyard in south-western Spain. *Irrig. Sci.*, 30(5), 419-432.
- Poni, S., Palliotti, A., and Bernizzoni, F. 2006. Calibration and evaluation of a Stella software-based daily CO<sub>2</sub> balance model in *Vitis vinifera L.* *Hort. Sci.*, 131(2), 273-283.
- Roby, G., Harbertson, J. F., Adams, D. A., and Matthews, M. A. 2004. Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: anthocyanins and tannins. *Austral. J. Grape Wine Res.*, 10(2), 100-107.
- Ruffner, H. P. 1982. Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*: a review. *A. Vitis*.
- Shellie, K. C. 2010. Water deficit effect on ratio of seed to berry fresh weight and berry weight uniformity in winegrape cv. Merlot. *Am. J. Enol. Vitic.*, 61(3), 414-418.
- Schumann, F. 1973. Einfluss der Samenzahl in den Beeren auf Ertrag und Qualität bei verschiedenen Ertragsrebsorten (*Vitis vinifera L.*). *Weinberg und Keller*.
- Vasconcelos, M. C., Greven, M., Winefield, C. S., Trought, M. C., and Raw, V. 2009. The flowering process of *Vitis vinifera*: a review. *Am. J. Enol. Vitic.*, 60(4), 411-434.
- Walker, R. R., Blackmore, D. H., Clingeleffer, P. R., Kerridge, G. H., Rühl, E. H., and Nicholas, P. R. 2005. Shiraz berry size in relation to seed number and implications for juice and wine composition. *Austral. J. Grape Wine Res.*, 11(1), 2-8.
- Williams, L. E., and Araujo, F. J. 2002. Correlations among predawn leaf, midday leaf, and midday stem water potential and their correlations with other measures of soil and plant water status in *Vitis vinifera*. *Hort. Sci.*, 127(3), 448-454.



## **E. Conclusiones**

- ❖ Las viñas regadas al 100 de la ETc incrementaron la producción un 38% respecto al secano sin detrimiento en concentración de azúcar y con un positivo incremento de la Acidez Titulable. Sin embargo entre las estrategias de riego evaluadas la aplicación un deficit del 25% de la ETc, mantuvo una concentración de compuestos fenólicos similar al secano e incrementó su producción entorno al 20%. Ademas, fue el mas eficiente en terminos de uso del agua y debería ser considerado en caso de escasez de agua o elevado precio del agua. El estrés hídrico no afectó a la composición de la baya.
- ❖ El estrés hídrico particularmente durante pre-envero, afectó claramente el desarrollo de la vid tanto en la misma con en la siguiente campaña, destacando la importancia del control del estado hídrico pre-envero.
- ❖ En general, la respuesta de la vid al riego no varió con los diferentes niveles de carga establecidas. Las estrategias de riego propuestas pueden ser extrapoladas a diferentes niveles de producción.
- ❖ El aclareo de racimos, puede ser empleada como una herramienta para regular el ratio entre area foliar y producción, permitiendo disminuir las variaciones interanuales fuete:sumidero. Además, la disminución de la carga puede ser utilizada para incrementar la concentración de azúcar solo cuando el aclareo de racimos pueda evitar alcanzar ratios de área foliar:producción por debajo de  $1 \text{ m}^2 \text{kg}^{-1}$ .
- ❖ El aclareo de racimos tuvo un efecto negativo sobre la composición en términos de pH, Acidez Titulable y concentración de potasio. Sin embargo, incrementó la concentración de fenoles y Antocianos de la baya. El aclareo de racimos, puede ser una herramienta efectiva para incrementar el color cuando la disminución de la producción y la perdida de acidez pueda ser aceptada.
- ❖ Las bayas procedentes del aparte alta del racimo dieron lugar a mostos con mayor contenido de azúcar y menor Acidez Titulable, mientras que la composición fenólica no vario en función de la posición de la baya en el racimo.
- ❖ Las bayas de categoría M representaron el 70% del peso del racimo. El número de bayas de las categorías B y S fue similar, pero la diferencia en el peso individual de la bayas de cada grupo hizo que la categoría B aportara el 225 y el 8 % respectivamente al peso total del racimo.

- ❖ La composición de la baya fue diferente según categoría de tamaño de forma que los mostos procedentes de la categoría S tuvieron menor concentración de compuestos fenólicos que los de las categorías M y B. En el caso de la categoría B fue menor la concentración de sólidos solubles totales.
- ❖ El déficit hídrico, disminuyó el número y peso de las bayas de la categoría M, y el pH de las bayas de categoría S.
- ❖ El aclareo de racimos, incrementó el peso medio de la baya en la categoría B, sin afectar al el número y peso de las bayas de cada categoría. Por otro lado, en la composición de la baya, el aclareo incrementó el pH de las bayas de categoría S.

