



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMIA**

**EFFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO ENTRE CUAJA - PINTA Y PINTA – COSECHA SOBRE
LA COMPOSICIÓN FENÓLICA EN BAYAS Y VINOS DE CV. *CABERNET SAUVIGNON***

Memoria de Título

MARÍA CAROLINA IMBERT JIMENEZ

**Talca - Chile
2003**

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto del estrés hídrico en dos periodos de desarrollo de la vid (post-cuaja y post-pinta), sobre la composición fenólica de mostos y vinos (en particular antocianinas), se realizó un ensayo compuesto por tres niveles de reposición hídrica (100, 70, y 40% de la Etreal). Para lo anterior, durante la temporada 2001-2002 se seleccionó un viñedo cv. Cabernet sauvignon de 8 años de edad, plantado a una densidad 3,0 x 1,2 m, regado por goteo (3,5 l/h) y conducido en espaldera vertical simple en la zona de Penciahue (VII Región) en el cual se aplicó los tratamientos de riego.

Los resultados del análisis químico de las bayas sugieren que tanto los niveles de compuestos fenólicos en general, como la concentración de antocianinas en particular se vieron afectados por los distintos niveles de reposición hídrica en los tratamientos aplicados en el periodo de post-cuaja. De esta manera, a medida que disminuyó el suministro hídrico, se produjo un aumento en la concentración de polifenoles totales, modificando así la composición fenólica de mostos y vinos. En particular, y con respecto a las antocianinas, se determinó un aumento en su concentración a medida que el déficit hídrico se hizo más severo, destacando la malvidina como la antocianina de mayor concentración. La proporción de antocianinas acetiladas versus antocianinas cumariladas (medida como Índice de Holbach) no se vio alterada por los tratamientos. Finalmente el estrés hídrico aplicado en el periodo de post-pinta no se tradujo en cambios significativos en la composición fenólica de los mostos y/o vinos, salvo en el aumento del índice de polifenoles totales.

ABSTRAC

In order to evaluate the hydric stress effect in two periods of the vine's development (post-setting and post-veraison) on the phenolic composition of wines and grape (anthocyanins in particular), a three-levelled hydric reposition (100, 70, and 40% Etrial). Composed test was carried on to accomplish the above mentioned goal, an, an eight year-old cv Cabernet sauvignon vineyard, located in the Penciahue area (VIIth region) was chosen for the 2001-2002 season. The vineyard was planted on a 3,0 x 1,2 m density, watered by dripping (3,5 l/h), and driven by simple trellis. Watering treatments were applied upon it.

The results of the berries chemical analysis suggest that phenolic compounds levels as a whole as well-as anthocyanins concentrations in particular, were affected due to diverse levels of hydric reposition during the post-setting treatments that were applied. Accordingly, as the hydric supply was decreased, an increase on the total polyphenol concentration was measured, thus, altering the phenolic composition on wines and new wines. Specifically, and regarding on the anthocyanins, an increase on its concentration was found as the hydric deficit was made more severe, the malvidin outstanding as the most-concentrated anthocyanins. The proportion of Acetate anthocyanins versus p-coumarate anthocyanins (measured as Holbach's rating) experienced no changes during the treatment. Finally, the hydric stress applied during the post-veraison period did not result on any significant changes on the phenolic composition of wines and/or grapes, apart from the increase on the total polyphenol rate.

ÍNDICE

Cap.	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos generales	
1.2. Objetivos específicos	
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Estrés Hídrico	
2.2. Compuestos Fenólicos	
2.3. Composición fenólica de los Vinos	
2.4. Antocianinas	
3. MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1. Manejo general del experimento	
3.2. Características edafoclimáticas	
3.3. Tratamientos de reposición hídrica	
3.4. Diseño Experimental	
3.5. Componentes del Rendimiento	
3.6. Madurez tecnológica	
3.7. Madurez Fenólica	
3.8. Composición de vinos	
3.9. Extracción de antocianinas a través de cromatografía líquida HPLC	
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
4.1. Componentes del rendimiento	
4.2. Madurez tecnológica	
4.2.1. Características del mosto	
4.3. Madurez fenólica	
4.3.1. Características de los polifenoles en bayas	
4.4. Composición del vino	
4.4.1. Características del vino	
4.4.2. Composición de los polifenoles en el vino	
4.5. Extracción de antocianinas a través de HPLC	
4.5.1. Evolución de las antocianinas glucosiladas, acetiladas y cumariladas	
4.5.2. Índice de Holbach	
5. CONCLUSIONES	27
6. BIBLIOGRAFÍA	28
7. ANEXOS	33

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Tratamientos de reposición hídrica (Post-cuaja y Post-pinta)	10
Cuadro 2. Influencia de diferentes regímenes hídricos post cuaja y post pinta sobre los componentes del rendimiento en vides cv Cabernet sauvignon (Pencahue. VII Región. Temporada 2001/02)	13
Cuadro3. Influencia de diferentes regímenes hídricos post cuaja y post pinta sobre los componentes del mosto en vides cv Cabernet sauvignon. (Pencahue. VII Región. 2001/02)	15
Cuadro 4. Influencia de distinto niveles de reposición hídrica post-cuaja y post-pinta sobre la composición polifenólica del mosto (cv. Cabernet Sauvignon, Pencahue 2001-2002)	16
Cuadro 5. Influencia de diferentes regímenes hídricos post cuaja y post pinta sobre la composición del vino en vides cv Cabernet sauvignon. (Pencahue. VII Región. Temporada 2001/02)	18
Cuadro 6. Efecto de distinto niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta en los polifenoles, intensidad colorante y matiz del vino en vides cv. Cabernet Sauvignon. (Pencahue 2001-2002)	19
Cuadro 7. Efecto de distinto niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta sobre antocianinas glucosiladas, cv. Cabernet Sauvignon, Pencahue 2001-2002.-	22
Cuadro 8. Efecto de distinto niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta sobre antocianinas acetiladas, cv. Cabernet Sauvignon, Pencahue 2001-2002.-	23
Cuadro 9. Efecto de distinto niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta sobre antocianinas p-cumarilados, cv. Cabernet Sauvignon, Pencahue 2001-2002.-	23

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura general de los antocianos	7
Figura 2. Evolución de Antocianinas Fácilmente Extraíbles, medidas días después de pinta (ddp)	17
Figura 3. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre los Fenoles Totales. EAG: equivalente ácido gálico.	20
Figura 4. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre el matiz.	21
Figura 5. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre antocianina petunidina-3-(6acetil)-glucósido.	24
Figura 6. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre antocianina petunidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido	25

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pag.
Anexo 1. Distribución de los Tratamientos	34
Anexo 2. Determinación de la Madurez Fenólica por Método de Glories	35
Anexo 3. Metodología de la Composición del Vino Taninos Totales.	37
Anexo 4. Metodología de la Composición del Vino Antocianos Totales	38
Anexo 5. Metodología de la Composición del Vino Índice de Taninos	39
Anexo 6. Metodología de la Composición del Vino Fenoles Totales	40
Anexo 7. Condiciones de Operación Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)	41
Anexo 8. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la concentración de antocianinas individuales.	42
Anexo 9. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre las concentraciones de malvidina, cianidina, delfinidina, petunidina y peonidina glucosiladas, acetilada y cumarilada.	43
Anexo 10. Proporción de antocianinas acetiladas versus antocianinas cumariladas	48

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día ha habido un aumento en la competitividad vitivinícola dentro de Chile como en el extranjero demandando esfuerzos adicionales por ofrecer vinos de alta calidad a precios cada vez más convenientes, que atraigan a los compradores de los principales mercados beneficiando la calidad de las uvas en desmedro de los rendimientos, (Elliot, 2000). La calidad de la uva y el momento de cosecha son considerados uno de los factores que tienen mayor incidencia en la calidad del vino obtenido. Así, se han hecho algunos estudios que indican que un déficit de agua produce cambios importantes en el crecimiento vegetativo, en la productividad y en la composición del fruto. Donde déficits hídricos influyen en la calidad final del vino producido, pero su efecto final sobre la vid va a depender de su duración e intensidad, además del estado fenológico en que se aplique, pudiendo aumentar, disminuir o no tener efectos sobre la viña. (Coombe, 1992). Por lo tanto, el riego es una herramienta útil para modificar algunas de las cualidades de la materia prima. Así, los compuestos fenólicos tienen una importancia fundamental en la calidad del vino, especialmente los antocianos y los taninos, debido a que ellos son los que le dan color y astringencia a los vinos tintos.

El estrés hídrico controlado entre cuaja y pinta reduce el tamaño de la baya (Gurovich, 1997) y por lo mismo aumenta la relación entre hollejo y pulpa (Peña, 2002), con esto se traduce a un mejor color en vinos tintos. Así, al aumentar la concentración de compuestos fenólicos para sacar provecho de esta situación desde el punto de vista cualitativo, no solo se requieren del manejo agronómico, sino que también el determinar el momento óptimo de cosecha, donde además de medir la madurez tecnológica (azúcar y acidez) se haga un seguimiento de la evolución de los compuestos fenólicos (antocianos y taninos) incorporando así el concepto de madurez fenólica, aspecto claro para determinar el momento óptimo de la cosecha. (Bordeu *et al*, 2002).

1.1. Objetivos Generales.

- El objetivo de este trabajo es determinar cambios en la composición fenólica en bayas y vino de vides cv Cabernet sauvignon a través de distintas combinaciones de déficit hídricos.

1.2. Objetivos Específicos.

- Determinar el contenido de antocianinas presentes en vinos jóvenes, a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y ver la proporción de antocianinas acetiladas versus antocianinas cumariladas (medida como Índice de Holbach).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Estrés Hídrico

Un estrés hídrico es un grupo de respuestas fisiológicas de la planta frente a una limitación del suministro del agua. Algunas de estas respuestas en vides incluyen: cierre estomático, reducción de fotosíntesis, reducción de la división celular y pérdida de expansión celular. Luego, un estrés hídrico controlado determina un potencial productivo menor, reduciendo la expresión vegetativa y aumentando la concentración de algunos compuestos de los frutos (fenoles, taninos, sólidos solubles, etc.), repercutiendo sobre la calidad de estos. Por el contrario, un viñedo bajo condiciones normales de aporte hídrico puede mantener e incluso aumentar tanto el vigor de la planta como su producción de uva. (Sotomayor y Lavín, 1996)

El tamaño de la baya es un factor importante de calidad para uvas de mesa y pasas, en cambio para uva vinífera se prefiere un pequeño tamaño de bayas lo que se traduce en una alta relación superficie/volumen ya que en un aumento de los componentes que le otorgan color y sabor al vino del tejido de la cutícula de la baya contiene la mayoría de estos. (Williams y Matthews, 1990; Ferreyra y Sellés, 1999; Burgos *et al*, 1996; Aceituno, 2000).

Diversos estudios han concluido que un estrés hídrico post pinta afecta los rendimientos disminuyéndolos significativamente, además se aumenta el color, el aroma y el sabor del vino (Ginestar *et al*, 1998; Goowin, 1995). Del mismo modo, un estrés hídrico en pre pinta, durante la primera etapa del desarrollo de la baya, tiene como resultado una disminución en el diámetro de ésta teniendo un impacto más significativo que un estrés en post pinta. (Poni *et al*, 1993; Matthews *et al*, 1987; Cabas *et al*, 1996). Además de lo anterior, existen estudios que indican que este tipo de estrés aumenta considerablemente los compuestos químicos de la baya como

taninos, antocianinas (Chonél *et al*, 2000), sólidos solubles y pH. (Reynolds y Naylor, 1994). Otros estudios dicen que cualquier régimen deficitario aumenta los fenoles y en particular las antocianinas (Ferreyra *et al*, 2002), los taninos (Gurovich y Páez, 2002) donde lo mejor es estresar a las plantas entre cuaja a pinta y no después de pinta. De ahí que, en la producción de uva vinífera de calidad, el estrés hídrico controlado puede ser beneficioso para incrementar la calidad de mostos y vinos (Hardie y Considine, 1976; Williams y Matthews, 1990; Burgos *et al*, 1996;Gurovich, 1997).

2.2. Compuesto Fenólicos

Según Pridham, citado por Peña (1999), una clasificación general de los compuestos fenólicos se incluye a un gran número de sustancias sumamente heterogéneas, que se caracterizan por poseer un anillo aromático con, al menos, una sustitución hidroxilo y una cadena lateral funcional. Estos compuestos, procedentes del metabolismo secundario de los vegetales, están ampliamente distribuidos en todo el Reino Vegetal. En las plantas superiores es tal su abundancia, que sólo son superados por los carbohidratos. Se encuentran en todos los tejidos, mostrando una gran diversidad de estructuras. Constan de un anillo bencénico que contienen uno o diversos grupos hidroxilo, según su estructura química. (Martínez de Toda, 2002). Los compuestos fenólicos de la uva provienen principalmente de la piel u hollejo de las bayas y de las pepas, pues su concentración es muy baja en la pulpa (semillas (65%), escobajo (22%), piel (12%) y pulpa (1%)). Estos contribuyen a la calidad sensorial (color, astringencia, amargor y aroma) y nutricional de los vegetales, tanto de los frutos como de sus productos de transformación. (Peña, 1999).

La concentración y variedad de polifenoles en el vino depende de numerosos factores: la variedad de vid, el tipo de vino, clima, terreno, época de cosecha, diferentes procedimientos de prensado de la uva, tiempo de fermentación del mosto con la piel y las pepas, entre otros.⁽¹⁾

Los compuestos fenólicos de la uva se dividen en no flavonoides y flavonoides. Los no flavonoides tienen un único anillo, mientras que los flavonoides están formados por dos anillos fenólicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono (Martínez de Toda, 2002). Dentro de los no flavonoides se encuentran los ácidos fenólicos, divididos en ácidos benzoicos (C6-C1) y ácidos cinnámicos (C6-C3). Los ácidos fenólicos son principalmente ácidos hidroxicinnámicos y se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y de la pulpa bajo forma de ésteres tartáricos. La concentración de los ésteres hidroxicinnámicos disminuye durante el desarrollo de la baya y se estabiliza en la madurez enológica. (Cheynier *et al.*, 2000).

Los flavonoides están representados en la uva por los antocianos, flavonoles y taninos. Los antocianos están localizados en el hollejo de las bayas en la 3^{ra} – 10^a capas de las vacuolas de la superficie del hollejos (Hernandez, 2000) y contribuyen de manera preponderante al color de las especies tintas. Estos compuestos poseen varios grupos hidroxilos (-OH) unidos a su estructura de anillo (Cheynier *et al.*, 2000). Los flavonoles están únicamente en el hollejo de las bayas, bajo la forma de glicósidos, son pigmentos de color amarillo. Los taninos son flavanos (3-flavan-oles) están presentes en la uva en estado de monómeros y bajo formas más o menos polimerizadas que constituyen los taninos catéquicos. (Valls, *et al.*, 2000).

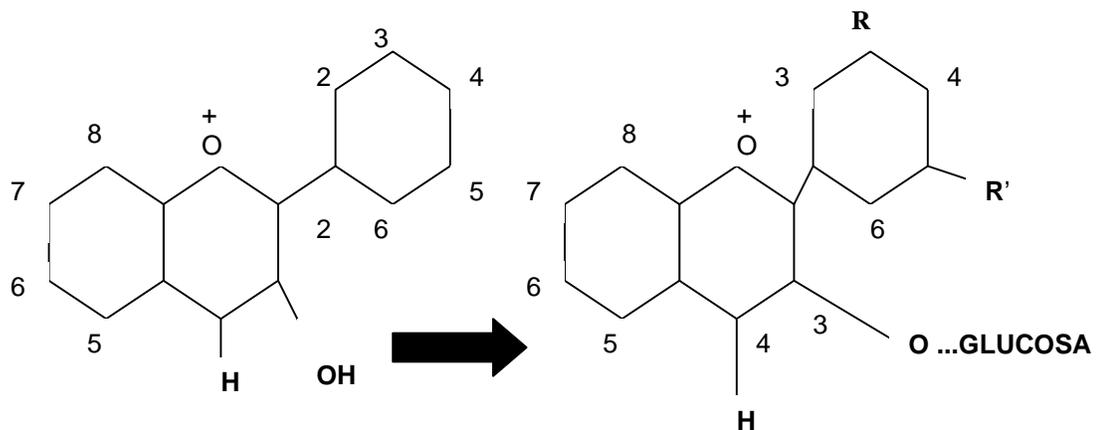
¹ Boletín Ciencia, Vino y Salud. Polifenoles en el Vino: la clave de su Capacidad Antioxidante.2(2), mayo 1998

2.3. Composición fenólica de los vinos

En el vino junto con las moléculas procedentes de las bayas, aparecen otros fenoles en las etapas fermentativas. La maceración es el principal procedimiento en cepas tintas para la extracción de color. Los antocianos son extraídos rápidamente, alcanzando una concentración máxima los primeros días, mientras que los taninos son extraídos con un tiempo de latencia, por lo que va aumentando su concentración progresivamente con el tiempo de contacto (Cheynier et al., 2000). El color, astringencia y amargor del vino son debidos a sustancias fenólicas y a los productos de sus reacciones, así el color del vino se debe a los antocianos libres y además a las combinaciones de las estructuras taninos-antocianos. (Ribéreau-Gayon, 1982)

2.4. Antocianinas

Las antocianinas en la naturaleza no se encuentran en estado libre, sino que están asociadas a una o más moléculas de azúcar. La cantidad y composición de estas en la uva varían enormemente en función de la especie y variedad (Mazza y Miniati, 1993), siendo el contenido global de (500 hasta 3000 mg/Kg). Las antocianidinas corresponden a una aglucona (sin glucosa en su molécula) de las antocianinas. Así es posible encontrar 5 antocianinas de las variedades europeas (*Vitis vinifera L.*), que se caracterizan por la glucosilación en posición 3 y la presencia mayoritaria es la malvidina-3-glucósido y de sus derivados acilados (Waterhouse y Ebeler; 1999). Los principales ácidos que esterifican el azúcar en posición 6 son el ácido acético y el p-cumárico, obteniendo varias estructuras, diferenciándose en el número y posición de grupos hidroxilos (Figura 1).



Antocianidina	Antocianina = Antocianina + Glucosa	R	R'
Malvidina	Malvidina-3 -Glucósido	OCH ₃	OCH ₃
Cianidina	Cianidina-3-Glucósido	OH	H
Petunidina	Petunidina-3-Glucósido	OH	OCH ₃
Delfinidina	Delfinidina-3-Glucósido	OH	OH
Peonidina	Peonidina-3-Glucósido	OCH ₃	H

Fuente: Peña, 1999

Figura 1. Estructura General de los Antocianos

Estudios en Alemania han propuesto una relación entre las antocianinas acetiladas con las antocianinas cumariladas, formando un índice, en el cual se pueden diferenciar distintos vinos varietales. La metodología propuesta por Holbach, dice que la suma de antocianinas aciladas y la relación de antocianinas acetiladas/cumariladas forman un parámetro analítico para el futuro y poder hacer útil diferenciar distintos clase de uvas. Así con índices superiores a 3,5 son Cabernet sauvignon (Holbach *et al.*, 1997)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Manejo general del experimento

Esta investigación se llevó a cabo en un viñedo ubicado en el valle de Penciahue, VII región (35° 22' LS, 71° 47' LW; 150 m.s.n.m), en una parcela experimental de 972 m², durante la temporada agrícola 2001- 2002. El estudio se realizó con vides (*Vitis vinífera L.*) del cv Cabernet sauvignon de 8 años de edad, plantado a una densidad de 3,0 x 1,2 m regado por goteo (3,5 l/h) y conducido en espaldera simple (orientación norte-sur) podada en pitón cargador. Los análisis de madurez (pH, acidez total, °Brix) y los de polifenoles en uva y vino han sido realizado en el Centro Tecnológico de la Vid y el Vino de la Universidad de Talca.

3.2. Características edafoclimáticas

El clima es de tipo templado semiárido, con una temperatura máxima y mínima durante el año de 27,6 y 5,5°C. El régimen hídrico presenta una precipitación promedio anual de 709 mm, un déficit hídrico de 863 mm con un período seco de 7 meses. El período libre de heladas es de 301 días, con un promedio de 3 heladas por año. Registra anualmente 1.685 días grado y 660 horas de frío. El suelo pertenece a la serie Cunculén, que ocupa una posición de terraza remanente siendo un suelo plano a moderadamente ondulado, con pendiente que varía entre 1% a 5% de drenaje imperfecto con permeabilidad moderadamente lenta y escurrimiento superficial moderadamente lento a moderadamente rápido. La profundidad de suelo varía entre 25 a 95 cm, presentando suelos derivados de arenisca compactada de textura franco arenosa en superficie y franco arcillosa a arcillosa en profundidad, según el análisis de suelo.

Con el objetivo de definir la capacidad de estanque del ensayo, se realizó un muestreo de suelo, excavando 4 calicatas en posición cercana a la espaldera. Posteriormente se procedió a describir los distintos horizontes del perfil de suelo extrayendo las muestras respectivas, con las cuales se efectuó la determinación de las propiedades físico hídricas. Así, se determinó a una profundidad de 60 cm una densidad aparente de $1,44 \text{ gr cm}^{-3}$, un pH que varió entre 5,9 y 6,4 a través del perfil y una humedad aprovechable de 13,1% (CC: 25,2%; PMP: 12,3%)

Durante la Primavera del año 2001 de septiembre hasta diciembre las temperaturas mínimas promedio fueron de $8,2^{\circ}\text{C}$ y las temperaturas máximas promedio fueron de $26,4^{\circ}\text{C}$; la humedad relativa mínima promedio fue de 35,3% y la humedad relativa máxima promedio fue de 92,4%; las precipitaciones durante la primavera fueron de 47,6 mm. La poda se ajustó a 20 yemas por metro lineal se hizo chapoda a principios de diciembre, luego se ajusto la carga dejando en promedio 1,4 racimos por brote, no se hizo deshoje.

3.3. Tratamientos de reposición hídrica

Se utilizaron tres niveles de reposición hídrica en post-cuaja y tres niveles en post-pinta de 40%, 70% y 100% de la evapotranspiración real de la vid. (Anexo 1) muestra esquema que representa el sector con las 27 parcelas, donde hay 9 tratamientos con tres repeticiones cada uno.

3.4. Diseño experimental

El ensayo correspondió a un arreglo factorial de 3×3 con un diseño experimental completamente al azar, (Cuadro 1). Así, el diseño generó un total de 9 tratamientos con tres repeticiones cada uno. Cada repetición o unidad experimental estuvo compuesta por 30 plantas (incluido los bordes). Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y en los casos donde esta resultó significativa se realizó la prueba de comparación múltiple de Duncan con un

nivel de confianza de 95%. Dado la gran variabilidad de los datos de las antocianinas, se decidió considerar un nivel de significancia hasta $p \leq 0,1$ de esta forma en cada análisis se incluye un valor "p" real arrojado por el análisis correspondiente.

Cuadro 1. Tratamientos de reposición hídrica (Post-cuaja y Post-pinta)

Tratamiento	Reposición hídrica (%)	
	Cuaja – Pinta	Pinta – Cosecha
T1	100	100
T2	100	70
T3	100	40
T4	70	100
T5	70	70
T6	70	40
T7	40	100
T8	40	70
T9	40	40

3.5. Componentes del rendimiento

Diámetros de bayas y rendimientos de tratamientos. Desde cuaja se midió el tamaño de las bayas, con una frecuencia de siete días hasta el momento de la cosecha. Las mediciones se hicieron con un pie de metro a racimos marcados. En cosecha se pesaron las distintas parcelas para así, medir los rendimientos de cada tratamiento.

3.6. Madurez tecnológica

En cosecha cada tratamiento pasa por la molienda de donde se extrae el jugo para realizar análisis de sólidos solubles (a través de refractometría), acidez total (neutralización con NaOH 0,1N, expresado g/L de ácido sulfúrico), pH (potenciómetro).

3.7. Madurez fenólica

La evolución de madurez se llevó a cabo desde la pinta hasta el momento de cosecha a través del método Glories (Anexo 2). Para esto se recolectaron 200 bayas quincenalmente en cada parcela, tomando bayas desde el ápice, el sector medio y el hombro del cada racimo muestreado, desde un solo lado de la espaldera y en forma aleatoria. Con las muestras se realizaron análisis de antocianinas totales ((mg/L)/200bayas), antocianos fácilmente extraíbles ((mg/L)/200bayas), índice de polifenoles totales, fenoles totales (mg/L)equivalente ac. gálico, índice de madurez celular (EA, índice de madurez de pepas (Mp).

3.8. Composición de vinos

Una vez finalizada la fermentación maloláctica se hicieron análisis de pH (potenciometría), grado alcohólico (mediante determinación de etanol por destilación), acidez volátil (por el método de Blarez, mediante de vapor de agua), acidez total (determinada por titulación con NaOH 0.1 N usando como indicador azul de bromotimol), taninos totales (mg g de (+)catequina/L) (Anexo 3), antocianos totales (a través de la absorbancia de 520 nm) (Anexo 4), índice de Taninos (% a través del índice de etanol) (Anexo 5), fenoles totales (mg o g de equivalente de ácido gálico) (Anexo 6), intensidad colorante (determinado mediante densidad óptica medida a 420, 520, 620 nm), matiz (obtenido mediante el cuociente entre las absorbancia de 420 y 520 nm) (Anexo 3)

3.9. Extracción de antocianinas a través de cromatografía líquida HPLC

Las antocianinas individualizadas se determinaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siguiendo el proceso de extracción y análisis cromatográfico propuesto por Johnston y Morris (1997). La identificación de los compuestos se realizó por comparación de sus espectros a 520 nm. La cuantificación se realizó mediante el uso de un patrón externo

(cloruro de malvidin-3,5-diglucósido) y se siguieron las recomendaciones indicadas por Cacho *et al.*, (1992). Luego de cuantificar todas las antocianinas se hicieron cálculos del Índice de Holbach, donde se toman todas las sumatorias de las antocianinas acetiladas y las antocianinas cumariladas y se hace una relación entre ellas.

$$\text{Indice de Holbach} = \frac{\sum \text{Antocianinas Acetiladas}}{\sum \text{Antocianinas Cumariladas}}$$

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Componentes del rendimiento

Evolución del diámetro de bayas y rendimientos. La evolución del diámetro de bayas desde cuaja en adelante muestra diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 2), donde la reducción del tamaño final de las bayas es más significativo para los tratamientos de estrés hídrico de 40% ETreal en post-cuaja, que para los de post-pinta, por lo tanto el diámetro es muy dependiente de la alimentación hídrica durante ese periodo (Ojeda, 2002), ya que esta reducción del tamaño de las bayas esta asociado al proceso de división celular que ocurre en el pericarpio, en la fase inicial del crecimiento del fruto (Gurovich y Páez; 2002), lo que hace que haya un menor número de células por bayas (Matthews *et al.*, 1987). Con todo esto se produce una respuesta sobre los rendimientos, produciendo grandes diferencias de peso en los tratamientos con menor reposición hídrica.

Cuadro 2. Influencia de diferentes regímenes hídricos post cuaja y post pinta sobre los componentes del rendimiento en vides cv Cabernet sauvignon (Pencahue, VII Región, Temporada 2001/02)

Reposición Hídrica	Diámetro de Bayas (mm)							Rendimientos kg/ha
	18-Dic	26-Dic	02-Ene	16-Ene	12-Feb	26-Feb	21-Mar	21-Mar
A) Post-Cuaja								
100%	7	7,6 a ^z	8,1 a	8,5 a	10,3	11,4 a	11,8 a	12659,5 a
70%	7	7,8 a	8,0 a	8,4 a	10,5	11,0 b	11,2 b	9141,6 b
40%	7	7,2 b	7,3 b	7,6 b	10	10,5 c	11,0 b	8452,5 b
Significancia ^y	n.s.	*	**	**	n.s.	**	*	*
B) Post-Pinta								
100%	7	7,4	7,7	8,2	10,3	11	11,3	9807,5
70%	7,1	7,6	7,7	8,3	10,3	10,8	11,3	10366,5
40%	6,8	7,6	7,8	8,1	10,2	11,1	11,4	10079,5
Significancia	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción AxB	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.05$)

Y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)

4.2. Madurez tecnológica

4.2.1 Características del mosto. Las distintas respuestas del mosto dependiendo de las reposiciones hídricas aplicadas en post-cuaja y post-pinta (Cuadro 3), donde se observa diferencias altamente significativas para valores de pH y acidez total y diferencias significativas para los sólidos solubles, solo en el período de post-cuaja. El pH tuvo un leve aumento con las reposiciones hídricas de 70 y 40% ETreal, siendo que estas no difieren estadísticamente. La reposición hídrica de 100% es menor que las dos anteriores concordando con Ferreyra y Selles (1999) donde en tratamientos con el 100% ETreal en post-cuaja el pH tiene un valor menor.

La Acidez Total del mosto tuvo diferencias altamente significativas para aquellos tratamientos de estrés en post-cuaja, apreciándose los menores valores con la reposición hídrica del 70%. Resultados similares obtuvieron Gurovich y Páez (2002) y Rojas (2001).

Con relación a los sólidos solubles hubo diferencias estadísticamente significativas solo en tratamientos post-cuaja, siendo las reposiciones hídricas de 70 y 40% ETreal las que acumulan mayor cantidad de azúcar. Estos resultados concuerdan con Matthews *et. al.*, (1999), donde en períodos con déficit hídricos en post-cuaja los sólidos solubles son mayores. Contrario a esto Peynaud (1989), dice que en post-pinta comienza la acumulación de azúcar y disminuye la acidez de las bayas.

Cuadro 3. Influencia de diferentes regímenes hídricos post cuaja y post pinta sobre los componentes del mosto en vides cv Cabernet sauvignon conducidas en espaldera simple. (Pencahue. VII Región. Temporada 2001/2002)

Tratamientos	pH	Ac. Total (gr/L H ₂ SO ₄)	Sólidos Solubles °Brix
A)Post-Cuaja			
100%	3,52 b ^z	3,38 b	22,71 b
70%	3,66 a	2,93 a	23,44 a
40%	3,63 a	3,21 b	23,38 a
Significancia ^y	**	**	*
B)Post-Pinta			
100%	3,64	3,20	23,4
70%	3,57	3,15	23,2
40%	3,59	3,17	22,9
significancia	n.s	n.s	n.s
Interacción AxB	n.s	n.s.	n.s

^z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.05$)

^y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)

4.3. Madurez Fenólica

4.3.1. Características de los polifenoles en bayas. Los valores encontrados en el (Cuadro 4), muestran diferencias significativas entre los tratamientos en post-cuaja, para los antocianos totales y el índice de madurez celular, y diferencias altamente significativas para los antocianos fácilmente extraíbles. Con respecto a los antocianos totales, hay mayor concentración con reposiciones hídricas de un 40% ETreal, en comparación a los otros tratamientos. Estos resultados concuerdan con Acevedo (2003), donde encuentra que el contenido de antocianinas aumenta en un 30 y 15% con déficit hídricos en pre y post pinta, en relación con tratamientos de riego continuo durante ese mismo periodo.

Por otro lado, los antocianos fácilmente extraíbles y el índice de madurez celular, tienen mucha relación entre sí, ya que, al haber mayor extractibilidad, en tratamientos con un 40% ETreal, más débil será el índice, en el cual este representa la aptitud de la uva para liberar los antocianos de la piel.

Para los tratamientos en post-pinta, se encuentran diferencias significativas en el índice de polifenoles totales o fenoles totales (equivalentes ácido gálico) y diferencias altamente significativas para el índice de madurez de pepas, donde encontramos mayores concentraciones para los tratamientos de un 70 y 40% Etreal, para ambos índices. Estos resultados tienen mucha relación entre ellos, dado que, el índice de madurez de pepas es considerado como el % de contribución de taninos de las pepas, lo cual entre más elevado el índice, mayor será el valor de los fenoles totales.

Cuadro 4. Influencia de distintos niveles de reposición hídrica post-cuaja y post-pinta sobre la composición polifenólica del mosto (cv. Cabernet Sauvignon, Pencahue 2001-2002)

Reposición Hídrica	ApH1 (mg/L)	ApH3.2 (mg/L)	IPT	Fenoles totales (mg/L)EAG	EA (%)	MP (%)
A)Post-Cuaja						
100%	1558,7 b ^z	850,2 c	72,8	2716,4	45,4 a	48,8
70%	1639,2 ab	910,9 b	68,8	2566,7	44,2 ab	50,6
40%	1715,6 a	1029 a	80,8	3014,8	39,9 b	53,8
Significancia ^y	*	**	n.s	n.s.	*	n.s
B)Post-Pinta						
100%	1603	909,4	51,0 b	1903,7 b	43,2	45,3 b
70%	1654,9	934,8	82,7 a	3085,2 a	43,4	52,8 a
40%	1655,5	945,9	88,6 a	3308,9 a	42,9	55,2 a
Significancia ^y	n.s	n.s	*	*	n.s	**
Interacción AxB	n.s.	n.s	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

^z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.05$)

^y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)

ApH1: Antocianos Totales (mg/L); ApH 3.2: Antocianos Fácilmente Extraíbles (mg/L); IPT: Índice de Polifenoles Totales; : en mg/L equivalentes de ácido gálico (EAG); EA: Índice de madurez celular (%); MP; Índice de madurez de Pepas (%)

La evolución de antocianos fácilmente extraíbles (Figura 2), muestra que aumenta la extracción de antocianos a medida que van madurando las bayas y luego desciende en el momento de la cosecha, ya que estos se concentran a lo largo de toda la maduración alcanzando un máximo, para luego disminuir durante un período de sobremaduración lo cual está ligado a un fenómeno de degradación, donde se produce un envejecimiento celular disminuyendo la cohesión entre células produciéndose una degradación de las paredes y membranas celulares (Cédric, 2002). Las mayores concentraciones se producen con un 40%

de reposición hídrica durante toda la temporada y las menores extracciones se producen con un 100% de reposición hídrica. Estos resultados concuerdan con los de Ferreyra y Selles (1999), Rosillo *et al* (1998), donde al producir un estrés severo en post-cuaja, se produce una mayor cantidad de antocianos en cosecha.

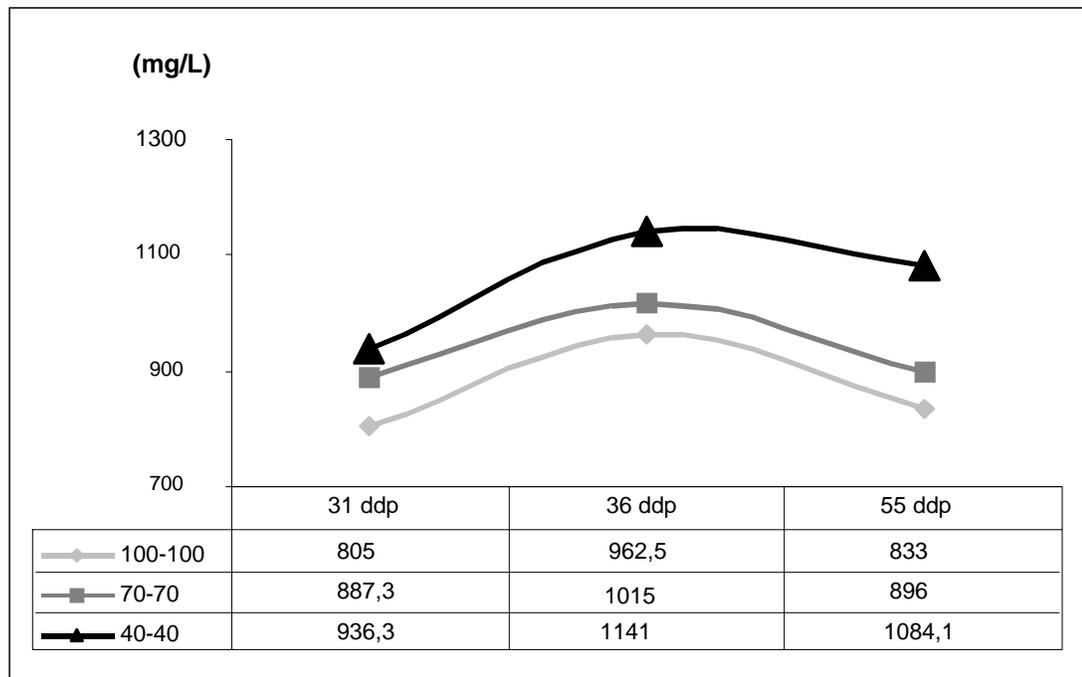


Figura 2. Evolución de Antocianinas Fácilmente Extraíbles, medidas días después de pinta (ddp)

4.4. Composición del vino

4.4.1. Características del vino. En cuanto al pH, grado alcohólico, acidez volátil (g/L ac. acético) y acidez total (g/L ac. sulfúrico), no se detectó diferencias estadísticas en post-cuaja y post-pinta (Cuadro 5).

Cuadro 5. Influencia de diferentes regímenes hídricos post cuaja y post pinta sobre la composición del vino en vides cv Cabernet sauvignon. (Pencahue. VII Región. Temporada 2001/2002)

Reposición Hídrica	pH	Grado Alcohólico (°A)	Ac. Volatil (g/L)	Ac. Total (g/L ác.sulfurico)
A)Post-Cuaja				
100%	3,8	12,8	0,3	3,5
70%	3,9	13,1	0,3	3,3
40%	3,8	13,1	0,3	3,5
significancia	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
B)Post-Pinta				
100%	3,8	13,0	0,3	3,3
70%	3,8	13,1	0,3	3,5
40%	3,8	13,0	0,3	3,5
Significancia	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción AxB	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.05$)

y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)

4.4.2. Composición de los polifenoles en el vino. Los distintos tratamientos de riego tuvieron un efecto diferente dependiendo de la época en que fueron aplicados. Es así como los taninos totales y antocianos totales obtuvieron diferencias significativas, y los fenoles totales e intensidad colorante diferencias altamente significativas para los tratamientos en post-cuaja. Donde los mayores valores fueron encontrados en los tratamientos con reposiciones hídricas de un 70 y 40% ETreal. Resultados similares encontraron Acevedo (2003), Rojas (2002) y Matthews *et al.*, (1989) quienes observaron un incremento de los polifenoles totales en el vino en los tratamientos con menores tasas de riego en post-cuaja. Además hay un aumento en la concentración del color, influyendo en el contenido de fenoles y antocianos (Ferreira y Selles 1999). Estos resultados coinciden con los obtenidos en las bayas, donde al haber mayor extractibilidad de antocianos, nos permite obtener mayor color desde las cutículas y así aumentar la intensidad colorante en el vino.

En el caso de los taninos totales presentaron valores de 3,34 y 2,93 (g+)catequina/L) en las reposiciones hídricas de un 40 y 70% respectivamente, siendo que la cantidad oscila en el vino tinto entre 1 y 4 g/L, lo que con tratamientos de riego de un 40% se aumentan las concentraciones de taninos, debido a los mayores niveles del índice de madurez de pepas presentes en las bayas (Cuadro 4), lo cual está directamente relacionado con el amargor y astringencia de los vinos (Peña, 1999).

Cuadro 6. Efecto de distintos niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta en los polifenoles, intensidad colorante y matiz del vino (cv. Cabernet Sauvignon, Penciahue 2001-2002)

Reposición Hídrica	Taninos Totales (g+)catequina/L)	Antocianos Totales (mg/L)	Índice de Taninos (%)	Fenoles Totales (mg/L)EAG [■]	I.C.* (420+520+620) (DO)*	Matiz 420/520 (DO)
A) Post-Cuaja						
100%	2,77 b ^z	443,8 b	3,97	1878,4 b	13,1 b	0,56
70%	2,93 a	504,6 a	7,97	1984,8 b	14,0 a	0,59
40%	3,34 a	531,9 a	6,34	2270,2 a	15,7 a	0,61
Significancia ^y	*	*	n.s.	**	**	n.s.
B) Post-Pinta						
100%	2,90 a	472,9	5,28	1951,7	13,3	0,56
70%	3,13 a	491,3	5,86	2112,4	14,8	0,61
40%	3,01 a	516,2	7,14	2069,2	14,7	0,61
Significancia	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción AxB	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*

- ^z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.05$)
^y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)
[■]: EAG: equivalente a ácido gálico
[•]: DO: Densidad Óptica
^{*}: Intensidad colorante

Por otro lado, el matiz y los fenoles totales indicaron diferencias significativas para las interacciones entre los niveles de agua aplicados en post-cuaja y post-pinta. En relación a esto, los fenoles totales (Figura 3), presentaron los mayores valores en el tratamiento 9 (40-40%) ETreal con 2488,9 mg/L EAG., por el contrario, los valores con menores concentraciones son en el tratamiento T1 (100-100%) ETreal con 1716,3 mg/L EAG., concordando con Gurovich *et al.*, (2002), donde cita a variados autores que dicen que la disponibilidad de agua restringida

favorece la síntesis de compuestos fenólicos y un aporte equivalente al 100% ETreal, reduce la concentración de polifenoles.

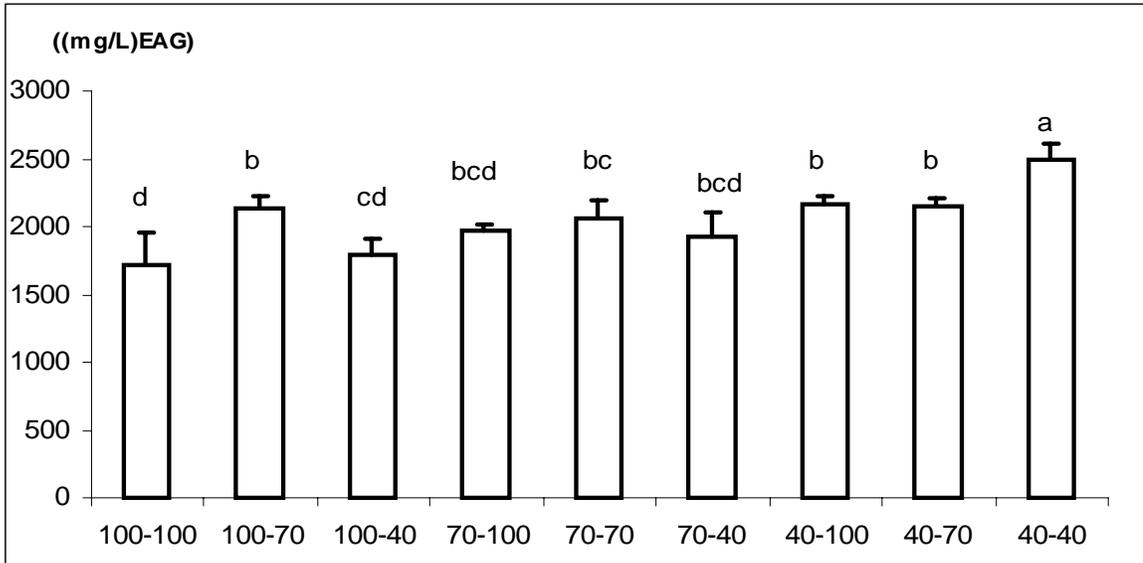


Figura 3. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre los Fenoles Totales. EAG: equivalente ácido gálico.

Para el matiz (Figura 4), la mayor razón fue para el tratamiento T3 (100-40%) ETreal con valores de 0,67 y el valor mas débil es para el tratamiento T1 (100-100%) ETreal con 0,49;. Lo cual estos resultados no concuerdan con los de Acevedo 2003 y Rojas 2002, donde ellos no encontraron diferencias estadísticas para ninguno de los tratamientos de riego.

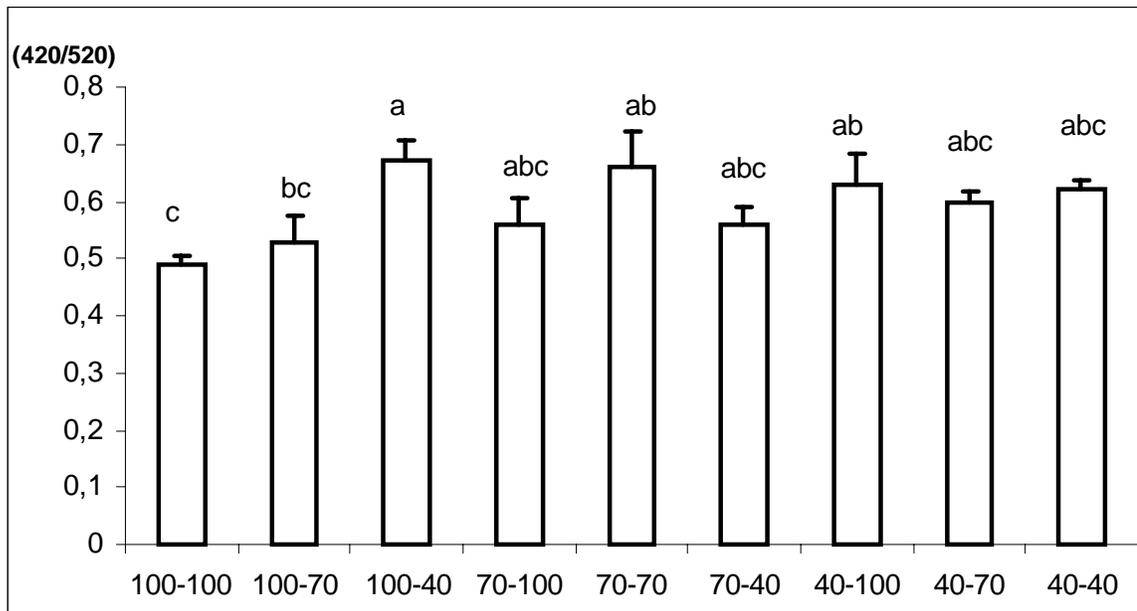


Figura 4. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre el matiz.

4.5. Extracción de antocianinas a través de HPLC.

El análisis estadístico entregó diferencias significativas ($p \leq 0,1$), a las antocianinas glucosiladas, acetiladas y cumariladas para los tratamientos de post-cuaja, observando mayores concentraciones de estas en las reposiciones hídricas de 40% y 70% de la Etreal.

La mayor concentración fue la malvidina (Cuadros 7, 8 y 9) lo que coincide con Keller *et al.*, (1998), donde encuentra mayores concentraciones de Peonidina, cianidina y malvidina en periodos de post-cuaja. Otros estudios realizados en España demuestran que distintos niveles de disponibilidad de agua en la variedad Tempranillo, en suelos regados y no regados, muestran un aumento en las concentraciones de antocianinas en suelos no regados durante todo el periodo de desarrollo, excepto en períodos post-pinta (Esteban, 2001).

Los datos encontrados en el (Cuadro 7), muestran diferencias significativas en los tratamientos de post-cuaja sobre las antocianinas glucosiladas, donde las mayores concentraciones son con las reposiciones hídricas de un 40 y 70% ETreal. En la petunidina-3-

glucósido no se encontró ninguna variación con los diferentes tratamientos de riego para ninguno de los dos periodos.

Cuadro 7. Efecto de distinto niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta sobre antocianinas glucosiladas (mg/L), cv. Cabernet Sauvignon, Pencahue 2001-2002.-

Reposición Hídrica	Delfinidina-3-glucósido	Cianidina-3-glucósido	Petunidina-3-glucósido	Peonidina-3-glucósido	Malvidina-3-glucósido
A) Post-cuaja					
100%	4,2 b ^z	0,5 b	7	1,9 b	96 b
70%	4,2 b	0,7 ab	7,7	2,3 ab	123 a
40%	5,6 a	1,5 a	7,9	2,9 a	118 ab
Significancia ^y	*	*	n.s.	*	*
B) Post-pinta					
100%	5,1	1,1	6,8	2,3	117
70%	4,3	0,6	6,8	2,4	99
40%	4,6	1,2	8,6	2,4	120
significancia	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción AxB	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

^z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.1$)

^y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)

Los datos encontrados en el (Cuadro 8), muestran diferencias significativas en los tratamientos en post-cuaja sobre las antocianinas acetiladas, donde las mayores concentraciones se encuentran en las reposiciones hídricas de un 40 y 70% ETreal. En las deldinidina-3-(6acetil)-glucósido y la peonidina-3-(6acetil)-glucósido, no se encontraron ninguna variación con los diferentes tratamientos de riego para ninguno de los dos periodos, no así para la petunidina, donde para los dos periodos y su interacción hay significancia.

Cuadro 8. Efecto de distintos niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta sobre antocianinas acetiladas (mg/L), cv. Cabernet Sauvignon, Péncahue 2001-2002.-

Reposición Hídrica	Delfinidína-3-(6acetil)-Glucósido	Cianidína-3-(6acetil)-glucósido	Petunidína-3-(6acetil)-glucósido	Peonidína-3-(6acetil)-glucósido	Malvidína-3-(6acetil)-glucósido
A) Post-cuaja					
100%	1,1	2,2 b ^z	3,6 a	1,1	34,4 b
70%	1,2	2,8 a	2,8 b	1,1	42,7 a
40%	1,2	2,9 a	3,1 b	1,1	42,1 a
Significancia ^y	n.s.	*	*	n.s.	*
B) Post-pinta					
100%	1,2	2,5	2,9 b	1,1	39,1
70%	1,1	2,5	3,5 a	1,1	36,7
40%	1,2	2,9	3,1 b	1,1	43,5
significancia	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.
Interacción AxB	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.

^z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.1$)

^y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)

Los datos encontrados en el (Cuadro 9), muestran diferencias significativas en los tratamientos en post-cuaja sobre las antocianinas cumariladas, donde las mayores concentraciones se encuentran en las reposiciones hídricas de un 40 y 70% ETreal. Para la petunidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido se encontró significancia sólo en la interacción de los dos periodos.

Cuadro 9. Efecto de distintos niveles de reposición hídrica, post-cuaja y post-pinta sobre antocianinas p-cumariladas (mg/L), cv. Cabernet Sauvignon, Péncahue 2001-2002.-

Reposición Hídrica	Delfinidín-3-(6-p-cumaril)-Glucósido	Cianidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido	Petunidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido	Peonidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido	Malvidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido
A) Post-cuaja					
100%	0,9 a ^z	0,2 b	0,6	0,4	8 b
70%	0,8 b	0,3 a	0,6	0,4	10,2 a
40%	0,8 b	0,3 a	0,6	0,4	10,1ab
Significancia ^y	*	*	n.s.	n.s.	*
B) Post-pinta					
100%	0,8	0,3	0,6	0,4	8,8
70%	0,8	0,3	0,6	0,4	8,6
40%	0,9	0,3	0,7	0,4	10
significancia	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción AxB	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.

^z: Valores indicados con la misma letra no difieren estadísticamente, según prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0.1$)

^y: Significancia: n.s.: no significativo; *: significativo; **: altamente significativo, ($p \leq 0.01$)

Resulta importante observar

que existen diferencias significativas entre las interacciones de los dos periodos fenológicos para las petunidina-3-(6acetil)-glucósido y petunidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido (Figura 5 y 6), donde se muestra que las mayores concentraciones para la antocianina acetilada son en las repeticiones hídricas de 100% y 70% (tratamiento 2), con 4,4 mg/L, y para la antocianina p-cumarilada son en las repeticiones hídricas de 70%y 40% (tratamiento 6), con 0,9 mg/L

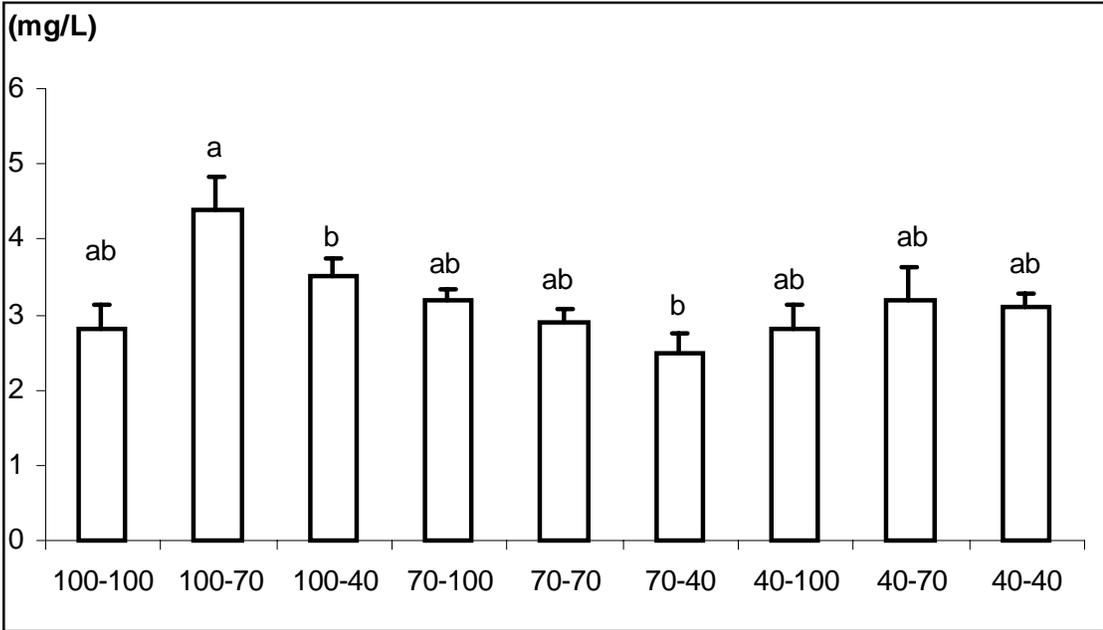


Figura 5. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre antocianina petunidina-3-(6acetil)-glucósido.

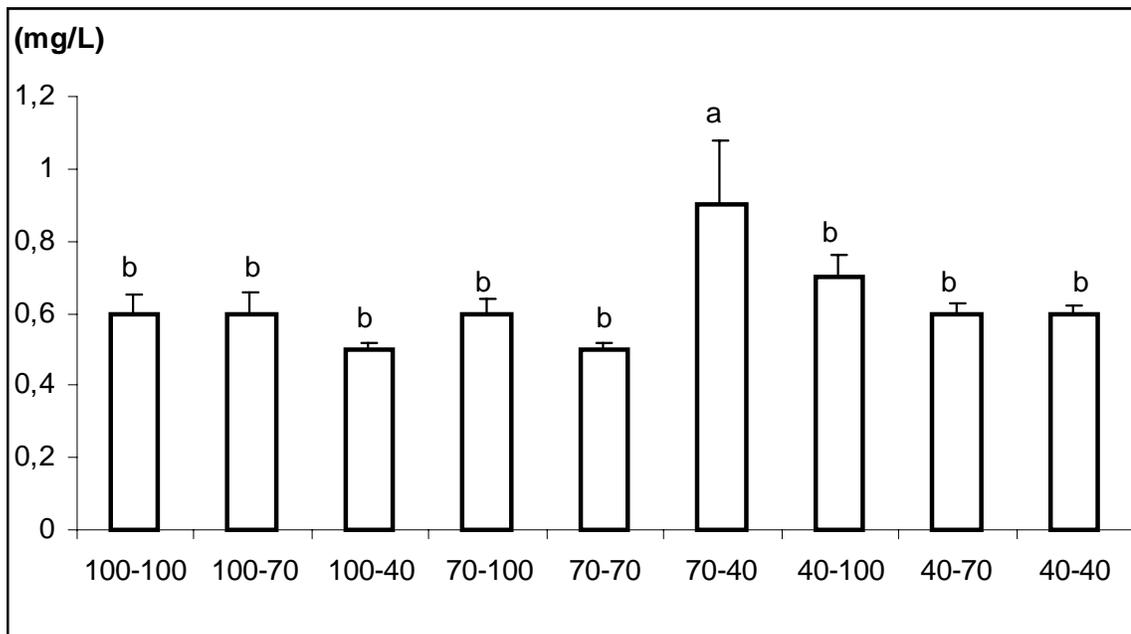


Figura 6. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre antocianina petunidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido.

4.5.1 Evolución de las antocianinas glucosiladas, acetiladas y cumariladas. Las mayores concentraciones de antocianinas glucosiladas, acetiladas y cumariladas fueron observados en las reposiciones hídricas 70% y 40% (tratamiento 6) con 233,8 mg/L, seguida de los tratamiento 7 y 9 con 40-100% y 40-40% respectivamente. (Anexo 7). Si analizamos las antocianinas individualmente (Anexo 8), observamos que las glucosiladas están en mayor proporción que las acetiladas y cumariladas con excepción de la cianidina acetiladas, donde muestra mayores concentraciones, en comparación con las cianidinas glucosiladas y cumariladas.

El compuesto identificado que se presenta en todos los casos en mayor proporción es la malvidina, donde las mayores concentraciones son en el tratamiento 70-40% Etreal, con un porcentaje de 60% para la malvidina-3-glucosilada, 23% para malvidina-3-(6acetil)-glucosilada y

6% para malvidina-3-(6-p-cumaril)-glucosilada. Estos resultados concuerdan con estudios efectuados en Atenas por Lanaridis *et. al.*, (1997), donde concluye que la malvidina es la antocianina más abundante de las uvas, dentro de todos los cepajes que se estudiaron, además durante la maduración aumenta progresivamente.

Ya que no hay muchos estudios sobre como afecta el estrés hídrico en las antocianinas individuales, resulta altamente recomendable continuar con investigaciones, que consideren otros tipos de suelos, otras variedades o clones y otros momentos de déficit hídricos que permitan ahondar en el conocimiento de los cambios composicionales de la baya y vino.

4.5.2. Índice de Holbch. Además con estas resultados se calculó el índice de Holbach donde los valores que nos entregan los tratamientos en promedio son de 4,2 (Anexo 10), lo cual es un valor mucho mayor al que dice Holbach *et. al.*, (1997), indicando que las antocianinas acetiladas están en mayor proporción que las antocianinas cumariladas, además son vinos varietales jóvenes donde se hizo una microvinificación obteniendo un mayor contacto entre los orujos y el jugo, coincidiendo con lo señalado por Mancilla *et al.*, (2001) quienes señalan que para cuatro clones de la variedad Syrah en la zona de Penciahue, encontró valores que fluctuaban para la relación de antocianinas acetiladas y antocianinas cumariladas entre 2,51 – 5,6.

Lo anterior nos indica que la utilización de cualquier tratamiento de riego no afectará directamente en la obtención del índice, concordando con Monreal (2001). Esto deja en evidencia que hay que estudiar más cosas para definir un índice de genuidad varietal.

5. CONCLUSIONES

- El estrés hídrico en post-cuaja afecta a la composición fenólica de las bayas, aumentando la concentración de las antocianinas totales, antocianos fácilmente extraíbles y el índice de madurez celular, liberando mayor antocianos de la piel. Para periodos en post-pinta la concentración aumenta para el índice de polifenoles totales y para el índice de madurez de pepas, con reposiciones hídricas de 40 y 70% de la Etreal.
- En el vino se producen cambios en la composición fenólica con riegos deficitarios en post-cuaja, aumentando las concentraciones de los taninos totales, antocianos totales, fenoles totales e intensidad colorante con reposiciones hídricas de 40% y 70%. En post-pinta no se produjo ningún cambio significativo en la composición fenólica de los vinos.
- Las antocianinas, se determinó un aumento en su concentración a medida que el déficit hídrico se hizo más severo, destacando la malvidina como la antocianina de mayor concentración. La proporción de antocianinas acetiladas versus antocianinas cumariladas (medida como Índice de Holbach) no se vió alterada por los tratamientos.

6. BIBLIOGRAFIA

1. **Aceituno, L. 2000.** Efecto de distintos niveles de reposición hídrica post cuaja sobre distintas variables productivas y de calidad en mostos y vinos cv Cabernet Sauvignon. Tesis Ing. Agr. Universidad de Talca. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 2000
2. **Acevedo, C. 2003.** Efecto de diferentes niveles de reposición hídrica en post- cuaja y en post-pinta sobre variables de crecimiento vegetativo, rendimiento, composición de bayas , mostos y calidad de vinos en cv. Cabernet sauvignon. Tesis de Grado Magister en Horticultura, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca, Chile. 40 pp
3. **Bordeu, E.; Mira, P. y Rivadeneira, R. 2002.** Madurez Fenólica: Experiencia en Chile. Tópicos de Actualización en Viticultura y Enología.
4. **Burgos, L.; Ferreyra, R.; Sellés, G. y Valenzuela, J. 1996.** Manejo del riego y calidad del vino. Revista Tierra Adentro nº 7. p 30-33.
5. **Cabas, N.; Sotomayor, J. y Lavín, A. 1996.** Secano interior riego en viñas. Serie Quilamapu Nº 61. Instituto de investigación Agropecuaria. Centro experimental Cauquenes – Chile. p38
6. **Cacho, J.; Fernandez, P.; Ferreira, V.; Castells, J. 1992.** Evolution of five anthocyanidin-3 glucosides in the skin of the tempranillo, Moristel and Garnacho grape varieties and influence of Climatological variable. Am. J. Enl. Viic, Vol 43 Nº.3 244-248, 1992
7. **Cédric, S. y Glorie, Y.; 2002.** General Phenomena During Grape Maturation. Tópicos de Actualización en Viticultura y Enología. Department of Viticulture and Enology . University of California, Davis
8. **Cheyrier, V.; Moutounet, M. y Sarni-Manchado, P. 2000.** Enología : Fundamentos científicos y tecnológicos. Capítulo 4. p 114 - 132

9. **Chonél, X; Tregoat1, O; Van Leeuwen, C. y Dubourdiou, D. 2000.** Vine water deficit: among the 3 applications of pressure chamber, stem water potential is the most sensitive indicator. International Journal of Vine and du Wine Sciencies. Vol 34. N°4. October 2000
10. **Coombe, B. 1992.** Resarch on Development and Ripening of Grape Berry. Am. J. Enol. Vitic., Vol 43, No. 1 1992
11. **Elliot, J. 2000.** Wine grape growing in Western Australia. Viticulture. Agriculture Western Australia.
12. **Esteban M.; Villanueva M. y Lissarrague J. 2001.** Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L) grape berries during ripening. J. Sci Food Agric. 81, 409-420. (on line 2001)
13. **Estrés hídrico: Cuando y Por que.** www.vitivinicultura.cl/.Noviembre 2000
14. **Ferreya, R.; y Sellés, G. 1999.** Viñedos y vinos. El riego en vides viníferas. Chile Agrícola. Julio-Agosto 1999 p 133-135
15. **Ferreya, E.; Sellés, V.; Peralta, A.; Burgos, R. y Valenzuela, J. 2002.** Manejos del riego en Vides Viníferas para Modificar Cualidades del Vino.Tierra Adentro N°42 Enero-Febrero 2002
16. **Ginestar, C.; Eastham, J.; Gray, S. y Iland, P. 1998.** Use of sap-flow sensors to schedule vineyard irrigation. Effects of post-verasion water deficits on water relations, vine growth, and yield of shiraz grapevines. Am. J. Enol. Vitic., vol. 49, N° 4, 1998. p 413-419
17. **Goodwin, I. 1995.** Irrigation of vineyards. Intitute of sustainable irrigated agriculture p 8-13
18. **Gurovich, L. 1997.** Respuesta de la vid a condiciones de humedad del suelo restringida, por motivos de sequía. Revista Aconex nº 54. p 5-10
19. **Gurovich, L. y Páez, C. 2002.** Uso del Riego Deficitario Controlado para Modificar la Calidad de los Vinos. Tópicos de Actualización en Viticultura y Enología 2002
20. **Hardie, W. y Considine, J.1976.** Response of grapes to water deficit stress in particular stage of development. Am, J. Enol. Viticult., Vol, 27, N°2, p55-60.

21. **Hernández, A.; 2000.** Introducción al Vino de Chile. Segunda Edición. 2000 pp 18 –22

22. **Holbach, B.; Marx, R. y Otteneder, H. 1997.** Office International de la Vigne et du Vin. Determination of nine characteristic Anthocyanins in Wine by HPLC.

23. **Johnston L. y Morris 1997.** HPLC, Analysis of Cabernet Sauvignon and Noble Wine Pigment Fractions. Journal of Food Science. Vol 62, nº4

24. **Lanaridis, P. y Bena-Tzourou, I. 1997.** Etude des variations des anthocyanes pendant la maturation des raisins de cinq cépages rouges, cultivés en Grèce. J. Int. Sce. Vigne, 1997, 31, Nº4, 205-212

25. **Mancilla, O.; Peña-Neira, A.; Prieto, C.; Araya, E. y Loyola, E.; 2001.** Symposium In Vino Analytica Scientia. Study of phenolic composition of grapes and wines of four Shiraz clones from Maule Valley (Chile). Bordeaux 14-16 Juin 2001.pp 178

26. **Martinez de Toda, M. 2001.** Viticultura de Calidad: Factores que afectan al contenido de Compuestos Fenólicos. Revista ACE de Enología. 2001

27. **Matthews, M.; Anderson, M. y Schultz, H. 1987.** Phenologic and growth responses to early and late season water deficits in Cabernet franc. Department of viticulture and enology, University of California, Davis, Ca, USA. Vitis 26, p147-160

28. **Matthews, M.; Ishii, R.; Anderson, M. y O' Mahony, M. 1990.** Dependence of Wine Sensory Attributes on Vine Water Status. J. Sci Food Agric 1990, 51, 321-335

29. **Monreal, J.; 2001.** Estudio preliminar de la composición antocianica de vinos comerciales jóvenes cv Cabernet sauvignon. Memoria Ing Agr Universidad de Talca. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 2001

30. **Ojeda, H.; 2002.** Tópicos de Actualización en Viticultura y Enología. En su: Ojeda, H. El uso de las Restricciones Hídricas en los Viñedos como Regulador de Rendimientos y Calidad. 2002, pp 140-157

31. **Peña, A.; 1999.** Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del Vino. En su: Peña, N. Compuestos Fenólicos en la Enología. Santiago, Chile, Universidad de Chile. pp. 1, 49-62
32. **Peña, A.; 2002.** Los Polifenoles y la Calidad del Vino. Vitivinicultura, año 1, N°1 Enero-Marzo pag 13-16 2002.
33. **Peynaud, E.; 1989.** Enología Práctica Conocimientos y Elaboración del Vino.
34. **Polifenoles en el vino:** la clave de su capacidad antioxidante. Boletín, Ciencia, Vino y Salud. www.bio.puc.cl/vinsalud/boletin/22polife. Volumen 2 (2), Mayo 1998
35. **Poni, S.; Lakso, A.; Turner, J. y Melious, R. 1993.** The effects of pre and post veraison water stress on growth and physiology of potted pinot noir grapevines at varying crop levels. Department of viticulture and enology, University of California, Davis, Ca, USA. Vitis 32, p 207-214.
36. **Ribereau y Gayon; 1982.** Polifenoles. Anlisis de vinos. Cap. XV. p 323
37. **Rojas, T; 2002.** Efecto de distintas combinaciones de reposición hídrica post-cuaja y post-pinta sobre la composición de mostos. Memoria Ing Agr Universidad de Talca. Facultad de Cs Agrarias. Escuela de Agronomía. 2002
38. **Reynolds, A. y Naylor, A. 1994.** Pinot noir and riesling grapevines respond to water stress duration and soil water-holding capacity. Hortscience, vol. 29 (12), December 1994. p1505-1510
39. **Rosillo, L.; Alonso, G.; Garijo, J. y Salina, M.; 1998.** Diferenciación de Variedades de uva Tinta (vitis vinifera) Según su Composición Antocianica. Viticultura y Enología Profesional N°56; 42-47, 1998
40. **Silva, E. 1999.** Taninos: Color y Aromas; su relación con el manejo del viñedo. Seminario innovaciones en viticultura. Centro Tecnológico de la Vid y el Vino. Universidad de Talca. p 66-67

41. **Sotomayor, J. y Lavín, A. 1996.** Secano interior riego en viñas. Serie Quilamapu N° 61. Instituto de investigación Agropecuaria. Centro experimental Cauquenes – Chile. p38

42. **Valls, J.; Lampreave, M.; Nadal, M. y Arola, L. 2000.** Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. Unidad de Enología. Dpto. de Bioquímica y Biotecnología. p 119

43. **Waterhouse, A. y Ebeler, S. 1999.** Phenolic Composition as Related to Red Wine Flavor. ACS Symposium series Chemistry of Wine Flavor. Capitulo 10 pag 124-141

44. **Williams, L.E y Matthews, M.A. 1990.** Grapevines, En: Irrigation of agricultural crops. Stewart y Nielsen (Eds.). Agronomy Monograph N° 33: 1019 – 1055.

7. ANEXOS

Anxo1. Distribución de los Tratamientos.

Esquema del ensayo

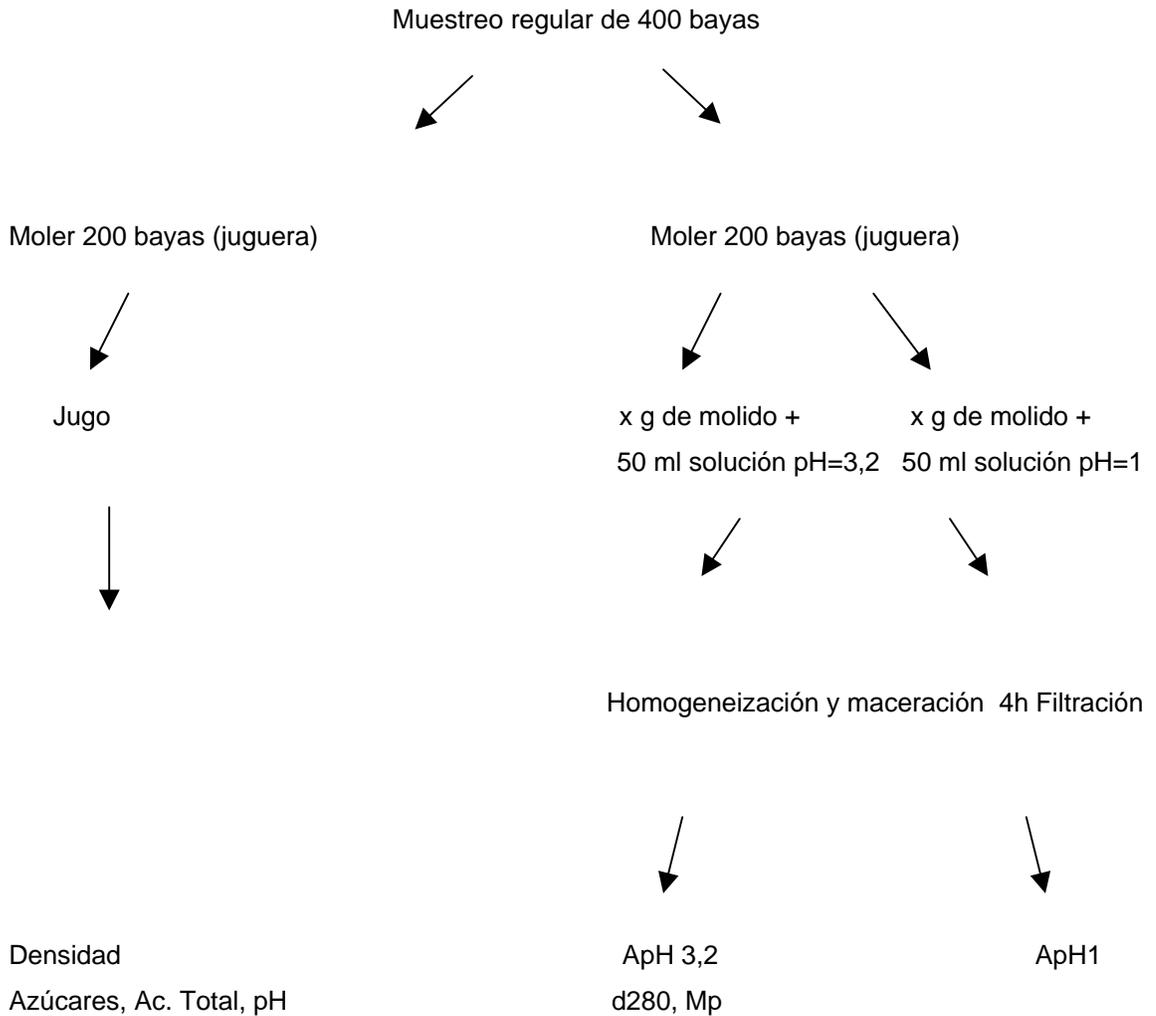
Hilera:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	T1R1	T6R1	T8R1	T2R1	T7R2	T8R2	T1R3	T7R3	T2R3
Parcela: Guía TDR →	1 · ·	4 · ·	7 · ·	10 · ·	13 · ·	16 · ·	19 · ·	22 · ·	25 · ·
	T5R1	T7R1	T4R1	T2R2	T3R1	T3R2	T8R3	T5R2	T9R2
Parcela:	2 · ·	5 · ·	8 · ·	11 · ·	14 · ·	17 · ·	20 · ·	23 · ·	26 · ·
	T9R1	T6R2	T4R2	T6R3	T1R2	T3R3	T4R3	T5R3	T9R3
Parcela:	3	6	9	12	15	18	21	24	27

Donde: T = tratamientos de riego (9 tratamientos)

R = repeticiones (3 repeticiones)

Anexo 2. Determinación de la Madurez Fenólica a través del Método de Glories.

Esquema del Método Glories de determinación de madurez fenólica



Fuente: Marquette, B.

EA representa el porcentaje de antocianos no extraíbles (%)

$$EA = \left(\frac{ApH1 - ApH3.2}{ApH1} \right) * 100$$

Mp representa el porcentaje de taninos en las semillas (%)

$$d280 = dApiel + dTpiel + dTpepas$$

$$dpiel = dApiel + dTpiel = ApH3.2 * 0.04$$

$$dTpepas = d280 - ApH3.2 * 0.04$$

$$Mp = \left(\frac{dTpepas}{d280} \right) * 100$$

Anexo 3. Metodología de la Composición del Vino

Taninos Totales (mg g de (+)catequina/L)

- En dos tubos de ensayo se coloca 4 ml de vino diluido 1/50, mas 2 ml de agua destilada y más 6 ml de HCL concentrado.
- Uno de los tubos se calienta a bañomaria a 100°C durante 30 min.
- Se deja enfriar en la oscuridad, pues los antocianidoles son inestables en la luz
- Se agrega en los dos tubos (calentado y testigo), 1 ml de alcohol etílico que intensifica y estabiliza el color. Se mide la absorbancia de los dos tubos, en relación al agua destilada, bajo 1 cm de espesor en cubeta de vidrio a 550 nm.
- La diferencia de densidad es proporcional, para las condiciones operatorias, a la concentración de antocianidinas formadas por la reacción y por lo tanto, de taninos.
- La concentración es obtenida a partir de una curva patrón establecida en las mismas condiciones. Si no se dispone de tanino, se puede utilizar la curva patrón establecida por Ribereau-Gayon y Stonestreet.
- La diferencia de densidad obtenida se multiplica por el factor 19,33 que tiene en cuenta la dilución y que da la concentración en g/L. Si la dilución es diferente, se debe modificar el factor.

Anexo 4. Metodología de la Composición del Vino

Antociano Totales

- En un erlenmeyer de 100 ml se mezclan 1 ml de la muestra de vino, 1 ml de alcohol ácido y 20 ml de ácido clorhídrico al 2%
- Una vez bien agitado, se toman 10 ml y se colocan en un tubo de ensayo.
- Se toman 10 ml del líquido del apartado 1) y se vierten en otro tubo de ensayo.
- A un tubo se vierten 4 ml de agua destilada.
- Después de 20 min. Se lee absorbancia en cubetas de vidrio o plástico de 10 mm de paso de luz y a 520 nm, de cada uno de los tubos, contra agua destilada.
- Se prepara una curva de calibración, en un matraz aforado de 100 ml, disolviendo 100 mg de clorhidrato de malvina con el alcohol diluido.
- Se prepara una serie de matraces de 50 ml a los que se les añade; 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.258 y 0.30 ml de la solución anterior de malvina. Igualmente otra serie de matraces con idénticas adiciones. Una serie de matraces se utiliza para la estandarización y la otra para la referencia.

Anexo 5. Metodología de la Composición del Vino

Indice de Taninos (%)

- A 5 ml de vino se le agregan 45 ml de etanol, luego de 24 hr. se centrifuga, después medir DO 280 nm previa dilución 1/10 a un recorrido óptico de 10 mm → d.
- Luego a 1 ml de vino de la muestra problema inicial se le agregan 90 ml de agua destilada mas 9 ml de etanol, se mide DO 280 nm sin dilución, con recorrido óptico de 10 mm → do.
- $I = ((do - d)/do) 100 = \text{Indice de Etanol}$

Anexo 6. Metodología de la Composición del Vino

Fenoles totales (mg o g de equivalente de ácido gálico)

- Se preparará una solución acuosa de ácido gálico, disolviendo en un matraz aforado de 100 ml, 100 mg de ácido gálico en alcohol, completando el volumen con el mismo disolvente.
- De la solución anterior se tomarán 10 ml y en un matraz aforado se diluyen con agua destilada de forma que cada ml corresponda a 0.1 mg de ácido gálico.
- En cuatro matraces aforados de 100 ml, se colocarán 5, 10, 15, 20 ml de solución anterior y se completa con agua destilada. Las concentraciones corresponden a 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg de ácido gálico por litro.
- Cada uno de las soluciones anteriores se pasará por el espectrofotómetro, en cubetas de 10 mm de paso de luz, a longitud de onda de 280 nm.
- Con los valores obtenidos de cada una de las soluciones se hará una curva patrón.
- La muestra de vino se diluye 100 veces, se completa a volumen con agua destilada.
- Se lee la densidad óptica de la muestra (absorbancia) y se compara con la gráfica, para determinar la concentración de polifenoles totales (es decir, se reemplaza el valor de la absorbancia obtenido en la muestra en la recta de calibrado obtenida con las soluciones de ácido gálico, obteniendo así la concentración de polifenoles totales en mg o g de equivalentes de ácido gálico (EAG) por litro de vino: gEAG/L). Estos valores en los vino tintos suelen ser de entre 3 a 5 g y en vinos blancos menores a 1.

Anexo 7. Condiciones de Operación

Cromatografía Líquida de Alta resolución HPLC

Intrumentos:

HPLC
Horno columna
Desgascificante
Columna Lichrospher 100 Rp-18 (5 µm) a (T° 40°C)
Precolumna
Software

Reactivos

Ácido Fórmico
Agua
Acetonitrilo (ACN)

solvente A: Agua/ác. Fórmico/ACN 87:10:3
solvente A: Agua/ác. Fórmico/ACN 40:10:50

El analisis por HPLC es llevado a cabo en las siguientes condiciones:

Inyección volumen 50 µl
Analisis T° 40°C
Run Time 45 min
Post time 5 min
Deteccion 518 nm

Time (min)	Solvente A % (v/v)	Solvente B % (v/v)
0	94	6
15	70	30
30	50	50
35	40	60
41	94	6

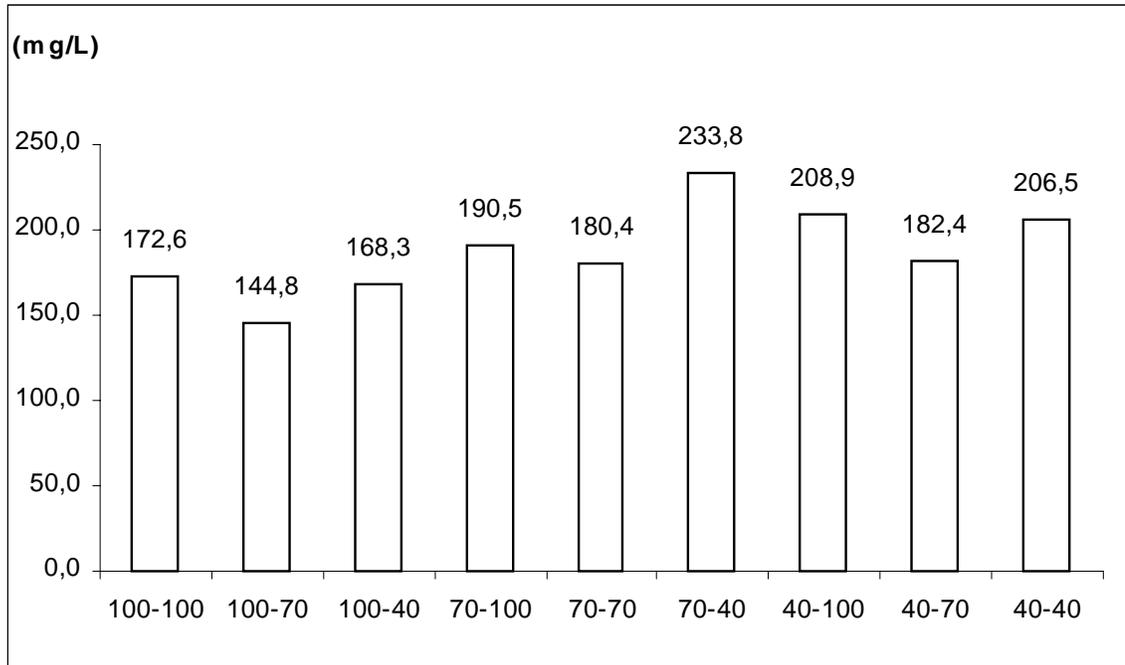
Se detectan 15 antocianinas siendo las siguientes:

Delfinidina-3-glucósido
Cianidina-3-glucósido
Petunidina-3-glucósido
Peonidina-3-glucósido
Malvidina-3-glucósido

Delfinidina-3-(6acetil)-glucósido
Cianidina-3-(6acetil)-glucósido
Petunidina-3-(6acetil)-glucósido
Peonidina-3-(6acetil)-glucósido
Malvidina-3-(6acetil)-glucósido

Delfinidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido
Cianidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido
Petunidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido
Peonidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido
Malvidina-3-(6-p-cumaril)-glucósido

Anexo 8. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la concentración de antocianinas individuales.



Anexo 9. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la concentración de antocianinas individuales.

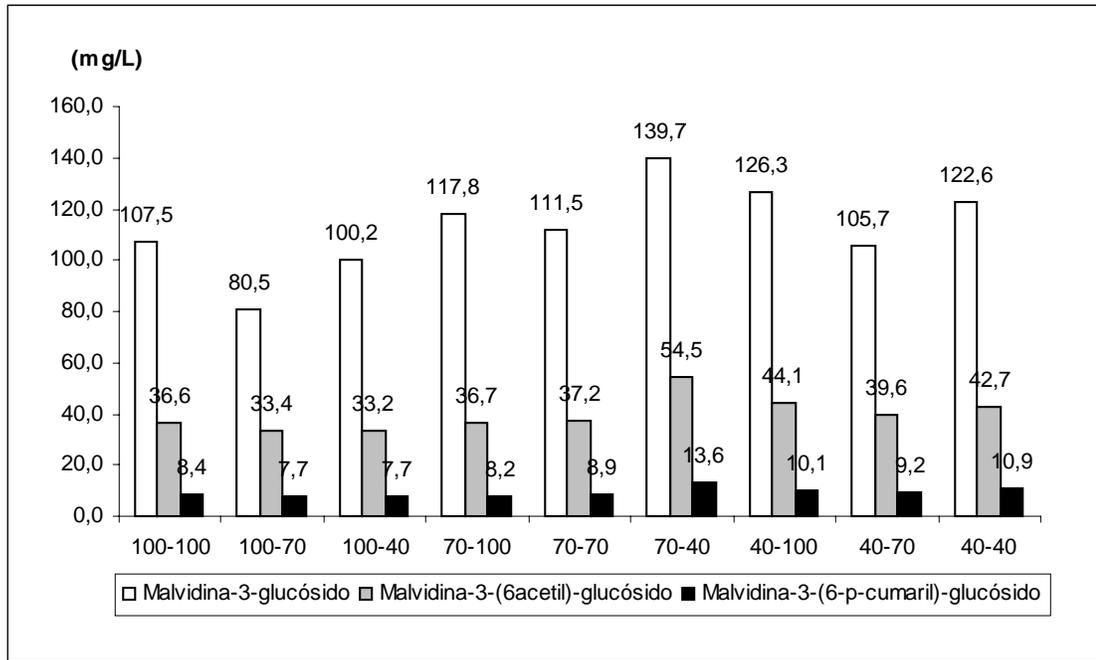


Figura 9.1. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la Malvidina glucosilada, acetilada y cumarilada para cada tratamiento.

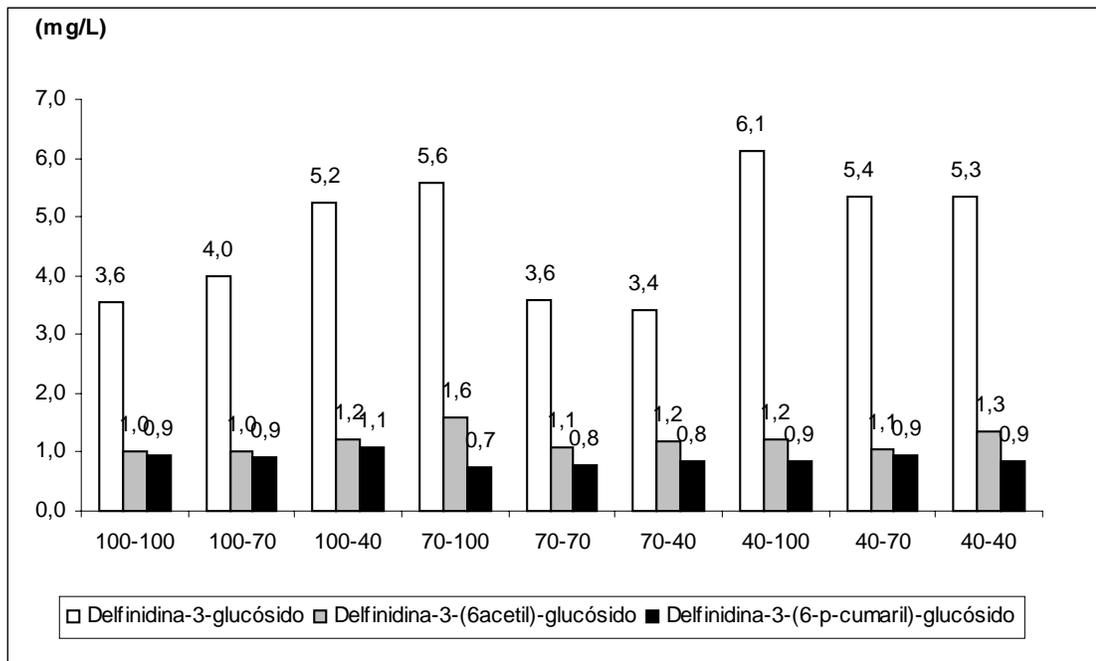


Figura 9.2. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la Delfinidina glucosilada, acetilada y cumarilada en cada tratamiento

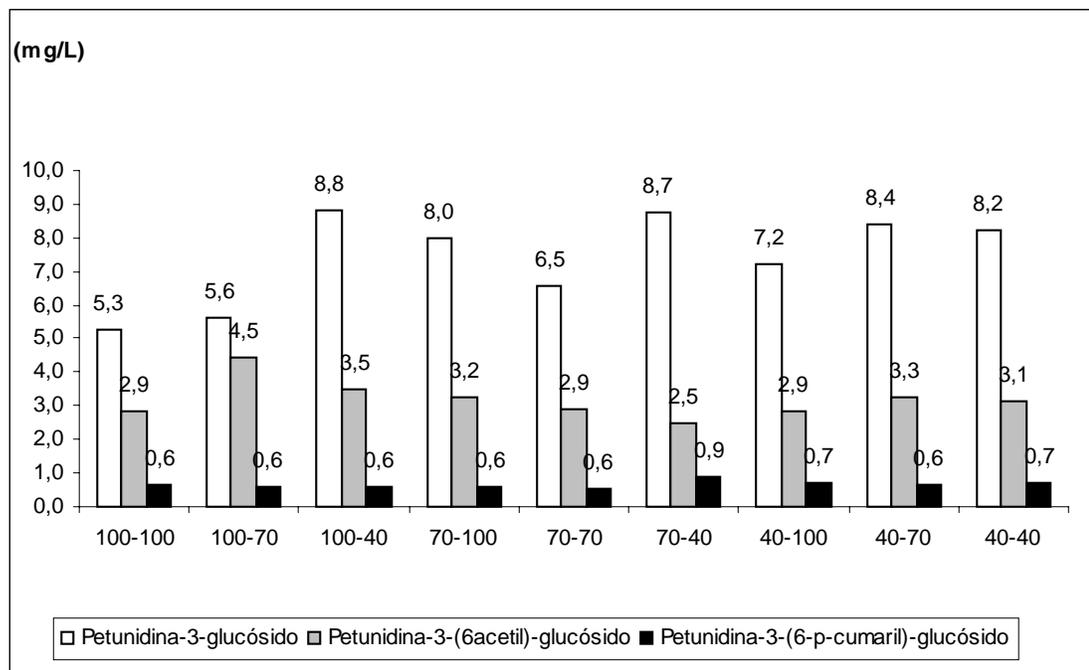


Figura 9.3. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la Cianidina glucosilada, acetilada y cumarilada para cada tratamiento.

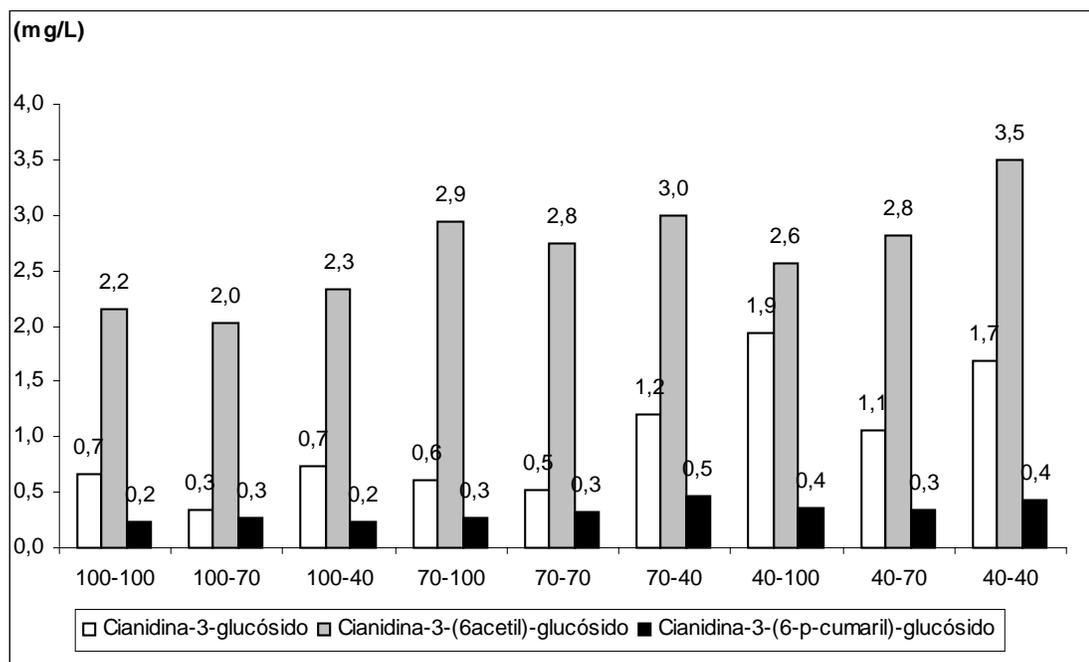


Figura 9.4. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la Petunidina glucosilada, acetilada y cumarilada en cada tratamiento

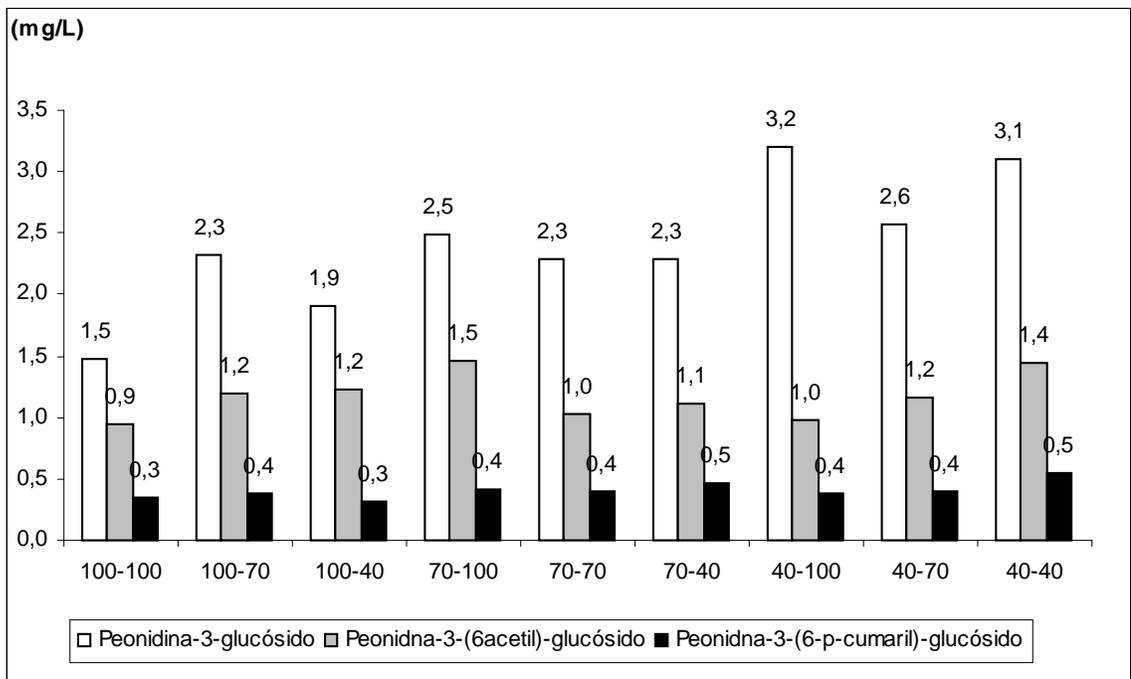


Figura 9.5. Influencia de diferentes regímenes hídricos en post cuaja y en post pinta sobre la Peonidina glucosilada, acetilada y cumarilada en cada tratamiento.

Anexo 10. Proporción de antocianinas acetiladas versus antocianinas cumariladas

Indice de Holbach	
100-100	4,14
100-70	4,25
100-40	4,18
70-100	4,51
70-70	4,09
70-40	3,83
40-100	4,19
40-70	4,14
40-40	3,89
Promedio	4,14