

2008



Ribera del Duero

PONENCIAS DEL VIII CURSO DE VERANO VITICULTURA Y ENOLOGÍA EN LA D.O. RIBERA DEL DUERO



DIRIGEN:

Agustín Alonso González
Consejo Regulador de la D.O. Ribera del Duero

Pilar Rodríguez de las Heras
Iltre. Ayuntamiento de Aranda de Duero



El Corazón del Duero



Consejo Regulador de la Denominación de Origen Ribera del Duero

www.riberadelduero.es | E-mail: info@riberadelduero.es | E-mail: experimentacion@riberadelduero.es
C/ Hospital, 6 | Tel. +34 947 54 12 21 | Fax +34 947 54 11 16 | 09300 ROA (Burgos)

VITICULTURA Y ENOLOGÍA
EN LA
D.O. RIBERA DEL DUERO

Primera edición: marzo, 2010

Edita: Consejo Regulador de la Denominación de Origen Ribera del Duero
C/ Hospital, 6
09300 ROA (Burgos)
Tel. +34 947 54 12 21
Fax +34 947 54 11 16
info@riberadelduero.es
experimentacion@riberadelduero.es
www.riberadelduero.es

Cordinador de textos: Alberto Tobes Velasco
Servicio de Experimentación y Ensayo

Maquetación e Impresión: Gráficas de La Ribera-Aranda de Duero
C/ Carquemada, 14
09400 Aranda de Duero (Burgos)

I.S.B.N.: 978-84-693-0310-8
Depósito Legal: BU-85-2010

Impreso en España - Printed in Spain

ÍNDICE

VITICULTURA

FORMACIÓN DEL VIÑEDO EN ESPALDERA: TIPOS, ALTURA Y EMPALIZAMIENTO

JESÚS YUSTE BOMBÍN

Doctor Ingeniero Agrónomo

DEPARTAMENTO DE VITICULTURA ITACYL – VALLADOLID 9

EXPERIENCIAS DE LA APLICACIÓN DE FITORREGULADORES PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA UVA

PEDRO MARTÍN PEÑA

Doctor Ingeniero Agrónomo

DPTO. DE PRODUCCIÓN VEGETAL Y RECURSOS FORESTALES. UNIVERSIDAD DE VALLADOLID 17

SEGUIMIENTO DE LAS AFECCIONES DE LA VID

IGNACIO ARMENDÁRIZ GONZÁLEZ

Doctor en Ciencias Biológicas

EQUIPO DE PROTECCIÓN VEGETAL. ITACYL 23

RECUPERACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VARIEDADES MINORITARIAS DE VID

JOSÉ ANTONIO RUBIO CANO

Doctor Ingeniero Agrónomo

DPTO. DE VITICULTURA. INSTITUTO TECNOLÓGICO AGRARIO DE CASTILLA Y LEÓN 31

CONTROL GENÉTICO DE CARACTERES DE CALIDAD EN LA VID

JOSÉ MIGUEL MARTÍNEZ ZAPATER

Doctor en Ciencias Biológicas

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA VID Y DEL VINO. CSIC. UNIVERSIDAD DE LA RIOJA 37

ENOLOGÍA

AROMAS DE REDUCCIÓN EN LOS VINOS: TRATAMIENTOS PREVENTIVOS Y CURATIVOS

ANTONIO TOMÁS PALACIOS GARCÍA

Doctor en Ciencias Biológicas

PROFESOR ASOCIADO DE LA UNIVERSIDAD DE LA RIOJA 49

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS VINOS EN BODEGA

JOSÉ CARLOS ÁLVAREZ RAMOS

Ingeniero Agrónomo. Enólogo

DIRECTOR TÉCNICO DE BODEGAS EMILIO MORO & CEPA 21 55



VINO, ANTIOXIDANTES Y SALUD

PILAR MUÑIZ RODRÍGUEZ

Profesora Titular de la Universidad de Burgos, Área de Tecnología de los Alimentos

ÁREA BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. DPTO. DE BIOTECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS 73

POLIFENOLES Y COLOR DE LOS VINOS TINTOS

CELESTINO SANTOS BUELGA Y SUSANA GONZÁLEZ MANZANO

GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN POLIFENOLES (GIP-USAL), FACULTAD DE FARMACIA, UNIVERSIDAD DE SALAMANCA 77

METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS SENSORIAL

M.^a LUISA GONZÁLEZ SAN JOSÉ

Doctora en Ciencias Químicas

PROFESORA TITULAR DE LA UNIVERSIDAD DE BURGOS, ÁREA DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS 85

GUÍA DE USO DE PRÁCTICAS ENOLÓGICAS

EVA NAVASCUÉS LÓPEZ-CORDÓN

Doctora en Ciencias Biológicas

ÁREA BIOTECNOLOGÍA AGROVIN 97

INFLUENCIA DE LA MICROOXIGENACIÓN SOBRE LA MATERIA COLORANTE Y LA ASTRINGENCIA DE LOS VINOS TINTOS

FERNANDO ZAMORA MARÍN

Doctor en Ciencias Químicas. Diplôme National d'Oenologue U. Burdeos

Grupo de Investigación en Tecnología Enológica (TECNENOL). Departamento de Bioquímica y Biotecnología.

FACULTAD DE ENOLOGÍA DE TARRAGONA. UNIVERSIDAD ROVIRA I VIRGILI 105



VITICULTURA

FORMACIÓN DEL VIÑEDO EN ESPALDERA: TIPOS, ALTURA Y EMPALIZAMIENTO

Jesús Yuste Bombín

Doctor Ingeniero Agrónomo. Dpto. Viticultura. ITACyL, Valladolid

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de las plantaciones de viñedo en los últimos años se ha llevado a cabo bajo la adopción del sistema de conducción en espaldera, alejándose del cultivo tradicional en España bajo la forma de conducción en vaso. La evolución experimentada hacia las formas de conducción en espaldera ha perseguido básicamente un mayor grado de mecanización que se dirige mayoritariamente a los aspectos de la poda y la recolección (Yuste 2000), aunque también a otros aspectos relacionados con los tratamientos fitosanitarios y las operaciones en verde (despunte, deshojado, aclareo).

Aunque una parte de las nuevas plantaciones se ha hecho en suelos más ricos y fértiles que los tradicionalmente vitícolas, y en muchos casos se cuenta con mayores recursos, fundamentalmente hídricos, el objetivo productivo se encamina con mucha frecuencia hacia la uva de calidad, superando el concepto del uso del sistema de conducción para obtener simplemente mayores rendimientos, para lo que hay que adentrarse en el ámbito del manejo del sistema de conducción, mayoritariamente la espaldera, que permita la obtención de vinos de mayor calidad, incluso contemplando en algunos casos cierto aumento de las producciones unitarias de uva.

El sistema de conducción en espaldera se define a través de diversos parámetros derivados de la poda, el sistema de empalizamiento y el manejo de la vegetación, lo que provocará la existencia de distintos tipos de espaldera y determinará su potencial productivo y cualitativo.

2. ESPALDERA: CONCEPTO DE SISTEMA DE CONDUCCIÓN Y OBJETIVO

La espaldera, como sistema de conducción, se define a partir del conjunto de operaciones que contribuyen a establecer la distribución de la superficie foliar y de los racimos de las cepas en el espa-

cio (Huglin 1986), por lo que es el resultado de la síntesis de dos grupos de operaciones:

- Modo de conducción: altura del tronco, tipo y nivel de carga de poda, empalizamiento (de sostén y de vegetación), y operaciones en verde.
- Características de la plantación: densidad de cepas por hectárea (separación entre filas y separación entre cepas), y orientación de las filas.

2.1. Concepto de espaldera

La espaldera es un modo de conducción provisto de un sistema de empalizamiento para conducir la vegetación en una dirección más o menos vertical, originando un tipo de vegetación lineal continua con una forma tendente a la constitución de un plano, el cual puede verse más o menos modificado y/o abierto dependiendo de la estructura del empalizamiento y del propio manejo del viñedo. En la mayoría de los casos, su estructura está formada, además del tronco, por cordones permanentes podados en pulgares o por varas de renovación anual, apoyados en un alambre de formación.

2.2. Objetivo de conducción

La conducción en espaldera debe orientar la dimensión y la distribución de la superficie foliar, como elemento básico del funcionamiento del viñedo, hacia los siguientes objetivos (Smart y Robinson 1991):

- Maximizar la superficie foliar y exponerla bien para adecuar su actividad fotosintética.
- Obtener una vegetación poco densa, con buena aireación, y evitar hojas ineficaces.
- Lograr un buen microclima luminoso de las hojas.
- Conseguir un adecuado microclima de racimos, para optimizar el color, la acidez y los aromas, y para reducir la incidencia de enfermedades fúngicas.
- Controlar el vigor, a través de la densidad de plantación y la carga de poda.

- Considerar la disponibilidad de agua para adecuar el consumo hídrico y que las hojas lleguen activas al período de maduración.

En principio, a mayor cantidad de hojas bien expuestas, más posibilidades fotosintéticas, pero también más consumo de agua. El equilibrio se alcanzará adecuando la superficie foliar de la espaldera a las posibilidades del medio, las exigencias de la variedad y los objetivos de la producción.

3. TIPOS DE ESPALDERA

La evolución de los sistemas de conducción hacia formas apoyadas, ha llevado a la simplificación de la denominación de los nuevos sistemas de conducción con el nombre de espaldera. Teniendo en cuenta las descripciones de la viticultura anglosajona (Freeman *et al.* 1992), hay que considerar por una parte el modo de formación, o *training*, que es el diseño y desarrollo de la estructura de las partes permanentes de la cepa (tronco y brazos), y por otra el tipo de empalizada, o *trellising*, que es la estructura que soportará las partes permanentes y el aparato vegetativo de dicha cepa.

Desde este punto de vista, en un principio podríamos denominar "emparrado" a todos los sistemas de vegetación apoyada, que tienen algún tipo de soporte con empaliamiento (*trellis*), reservando el nombre de "espaldera" para los sistemas de empaliamiento vertical con una forma de conducción en que la vegetación es guiada en un plano vertical. Por lo tanto, todas las espalderas serían "empalizadas", pero muchos sistemas de empaliamiento serían conocidos con el nombre de "emparrado", sin ser necesariamente un sistema de conducción en "espaldera", aunque exista una espaldera como soporte físico de empaliamiento.

Ahondando un poco más en estos términos, un sistema de conducción en espaldera podría ser empleado tanto para una formación del tipo de "cordón Royat bilateral", como para una "formación en cabeza con poda en Guyot doble". Por tanto, existe una gran diversidad de posibilidades para diseñar un sistema de conducción en espaldera, que básicamente podrían agruparse en los siguientes tipos: de vegetación ascendente ("espaldera clásica", vertical), y de vegetación dividida ascendente y descendente ("espaldera del tipo Scott Henry") (Smart

y Robinson 1991). El sistema de conducción con vegetación descendente sería la "cortina", en un principio no considerado espaldera, aunque podría serlo si la vegetación es guiada en un plano evitando que el conjunto de la superficie foliar permanezca libre.

Según los términos expuestos, las formas de empaliamiento en "T" no responderían al concepto de espaldera definido. Sin embargo, atendiendo a la denominación ampliamente extendida de espaldera, podría ser conveniente establecer dos tipos de espaldera dentro del grupo de vegetación ascendente:

- espaldera "abierta", que presenta una vegetación "voluminosa", que en muchos casos llega a ser ascendente y descendente, y que normalmente se produce por la utilización de soportes que separan ligeramente los alambres de vegetación, o por que la altura de postes y alambres es reducida, provocando la apertura, e incluso caída, de la superficie foliar.
- espaldera "vertical" propiamente dicha (*VSP, vertical shoot positioning*), que mantiene la vegetación en un plano vertical ascendente.

Aunque en la viticultura española encontramos en muchas zonas de cultivo más frecuentemente "espalderas abiertas", o "emparrados" en general, que "espalderas verticales", el objetivo de este trabajo se refiere fundamentalmente a la espaldera vertical.

4. COMPORTAMIENTO DE LA ESPALDERA EN SECANO Y REGADÍO

Los recursos del medio pueden ejercer una enorme influencia en el comportamiento de la espaldera, destacando entre ellos el papel fundamental que juega el régimen hídrico. Partiendo de esta premisa y teniendo en cuenta, por un lado, la inminente implantación del uso de sistemas de conducción en espaldera, y por otro lado, la extensión del uso del riego para el viñedo en espaldera, parece recomendable tener en cuenta los resultados de trabajos de investigación llevados a cabo sobre este tema en el ámbito de la D.O. Ribera del Duero, como la tesis doctoral "Comportamiento fisiológico y agronómico de la vid (*Vitis vinifera* L.) en diferentes sistemas de conducción en seco y regadío" (Yuste 1995).

El trabajo, con la variedad Tempranillo injertada sobre Richter 110, que abarca el estudio de dos sistemas de conducción, vaso y espaldera, sometidos a dos regímenes hídricos (secano y regadío), muestra entre otros resultados destacados, los que se pueden resumir a continuación.

La espaldera presentó mayores valores de área foliar, total y externa, y un mayor rendimiento en cosecha, favorecida, frente al vaso, por sus posibilidades en cuanto a geometría dirigida, conservación de pámpanos en conducción apoyada (que prácticamente impide la rotura mecánica de pámpanos a lo largo del ciclo), y una superior fertilidad en número de bayas por racimo.

Además de los diversos estimadores foliares (LAI o superficie foliar total, SA o superficie foliar externa, SA/LAI o relación entre las anteriores que indica el grado de amontonamiento de la vegetación), el conocimiento o la caracterización de la forma geométrica foliar (Figura 1), resulta necesaria para comprender la intercepción de luz, así como la respuesta fisiológica y productiva de la cepa condicionada por dicha intercepción. Así, la intercepción y la absorción de radiación PAR fue muy diferente en la espaldera que en el vaso. La espaldera, con orientación de filas Norte-Sur, presentó una curva diaria de absorción con dos máximos correspondientes a media mañana y a media tarde, momentos en los que más superficie foliar se encuentra expuesta de forma directa a la luz, con un mínimo relativo a mediodía solar. Por el contrario, el vaso presentó una curva diaria de absorción con un solo punto máximo, coincidente con el mediodía solar, y dos mínimos absolutos, al amanecer y al anochecer. La espaldera presentó, por tanto, valores más positivos a media mañana, en que la planta tiene una actividad fisiológica más intensa y a media tarde, tanto en secano como en regadío.

La actividad fisiológica a nivel de hoja externa mostró diferencias entre la espaldera y el vaso, inducidas por el efecto del área foliar en el estado hídrico, como relación entre la disponibilidad de agua y la demanda de ésta por las hojas de vid, encontrándose valores individuales ligeramente más negativos en la espaldera, que presentó mayor área foliar, que en el vaso, si bien el resultado de la planta en conjunto fue más favorable para la espaldera.

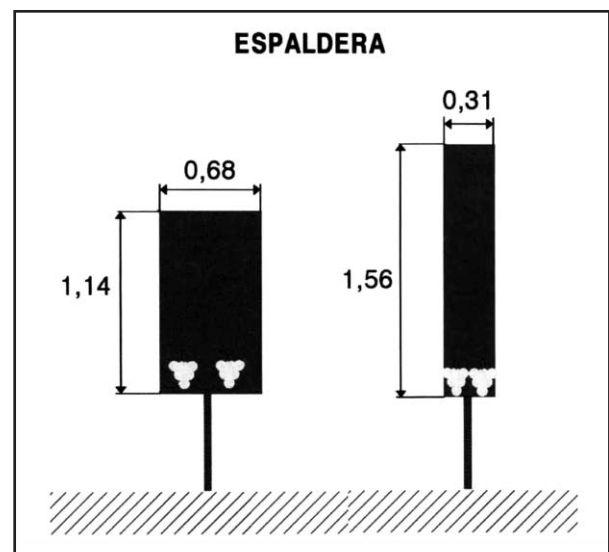


Figura 1. Estructura geométrica de dos tipos de espaldera (Yuste, 1995).

La composición del mosto varió poco con el sistema de conducción, sobre todo el contenido de sólidos solubles, mientras que se observó que tanto dicha concentración de sólidos solubles como la acidez total, en mayor cuantía, y el pH respondieron a los niveles de rendimiento en uva y desarrollo vegetativo alcanzados, con valores más bajos de azúcares, más altos de acidez y más bajos de pH observados algunos años en correspondencia con las cepas con mayores niveles de producción.

La interacción del sistema de conducción con el riego, aunque no ha sido muy importante, sí ha mostrado que algunos parámetros se ven modificados por el agua de riego de forma diferente en el vaso que en la espaldera. Así, la producción de madera de poda en secano fue mayor en la espaldera, pero al pasar a regadío, dicho parámetro fue mayor en el vaso, con la misma tendencia observada en lo referente a la radiación global absorbida.

En conclusión, la espaldera se presenta como un sistema de conducción que permite una mayor productividad del cultivo, que se ve reflejada en rendimientos más altos y sobre todo en una mayor producción global de azúcares, a pesar de que su balance de radiación global sea ligeramente inferior dentro del régimen hídrico de regadío que el del vaso, al contrario que en el régimen de secano, y de que la tasa fotosintética a nivel de hoja individual externa sea ligeramente inferior que en el vaso.

El manejo de la espaldera cuando se pretende obtener uva de calidad exige, primeramente, una adecuada y homogénea formación y un diseño apropiado de las dimensiones del sistema de apoyo, y posteriormente, una mayor dedicación que el vaso, sobre todo en lo referente a las operaciones en verde, con el fin de adecuarla a las exigencias ecofisiológicas y de ejercer un control de los rendimientos en aquellos medios cuyo potencial productivo sea excesivo, resultando un sistema que permite un nivel de mecanización mucho más alto que el vaso.

5. PODA DE FORMACIÓN EN ESPALDERA

La poda es la herramienta con que cuenta el viticultor para definir el sistema de conducción en espaldera, desde el inicio de la plantación, a través de la poda de formación, hasta el mantenimiento anual, a través de la poda en seco y de la poda en verde. La importancia de las operaciones de poda radica en las consecuencias determinantes que ésta tiene en el potencial productivo y cualitativo del viñedo a corto, medio y largo plazo. La poda, por tanto, sobre todo en su vertiente de ejecución en verde, constituye la técnica básica para lograr una adecuada formación de las cepas para su conducción en espaldera.

Uno de los aspectos fundamentales para conseguir un viñedo de calidad, que consecuentemente permita la producción de uva de alta calidad, es la homogeneidad, de ahí la conveniencia de llevar a cabo una formación óptima del viñedo a través de la poda.

La espaldera puede contemplar múltiples posibilidades de poda, dependiendo de la variedad, de los recursos del medio, de la disponibilidad de mano de obra y del grado de mecanización, que pueden ser enmarcadas en los tipos: corta, larga y mixta. El tipo de poda más difundido en el cultivo de la variedad Tempranillo es la poda corta, en pulgares, que se suele aplicar sobre cordones permanentes unilaterales o bilaterales, con el nombre de cordón Royat, aunque también se aplican en algunos casos los tipos de poda mixta Guyot (doble o simple) y Yuste.

Dado que en la Ribera del Duero, el sistema de conducción en espaldera más frecuente es el cordón

Royat bilateral, se presenta un esquema de formación, a través de las operaciones de poda y los periodos de ejecución pertinentes (Figura 2).

6. DIMENSIONES DE LA ESPALDERA: ALTURA DE EMPALIZAMIENTO

La intercepción de radiación solar por parte de la superficie foliar permite la actividad fisiológica de la planta. Dicha intercepción depende fundamentalmente de la cantidad de superficie foliar que se encuentra en el exterior del *canopy*. La superficie foliar externa es la responsable mayoritaria de la actividad fotosintética debido a la drástica disminución que experimenta la radiación solar al penetrar progresivamente en el *canopy*. Por tanto, puede considerarse que la superficie foliar externa del viñedo determina el potencial productivo del mismo (Schneider 1992).

Se puede afirmar que por cada gramo de uva obtenido bajo unas condiciones particulares se necesita una cierta superficie foliar que elabore los productos de síntesis indispensables para la maduración de los frutos, así como para asegurar un crecimiento y una acumulación de reservas adecuados (Casteran 1971, en Baeza 1994). En diferentes estudios se aportan valores que van desde 7 cm² de área foliar por cada gramo de uva (May *et al.* 1969) hasta 48 cm²/g según Chaves (1986). De manera general, los valores adecuados se suelen situar entre 10 cm²/g y 20 cm²/g (Figura 3), para condiciones de maduración favorables y poco favorables respectivamente (Champagnol 1984).

En una situación concreta de conducción en espaldera cuyas características permitan un desarrollo

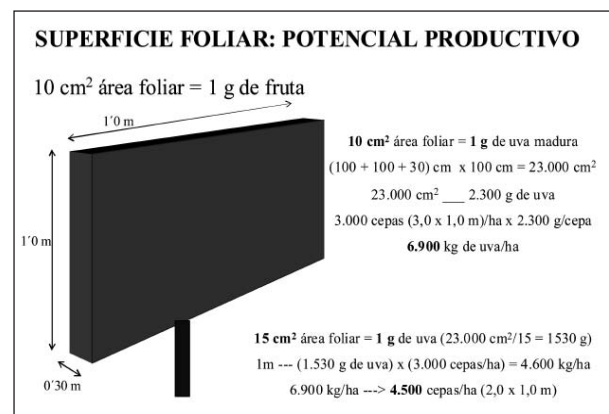


Figura 3. Estimación del potencial productivo basado en la superficie foliar.

FORMACIÓN DE ESPALDERA EN CORDÓN BILATERAL

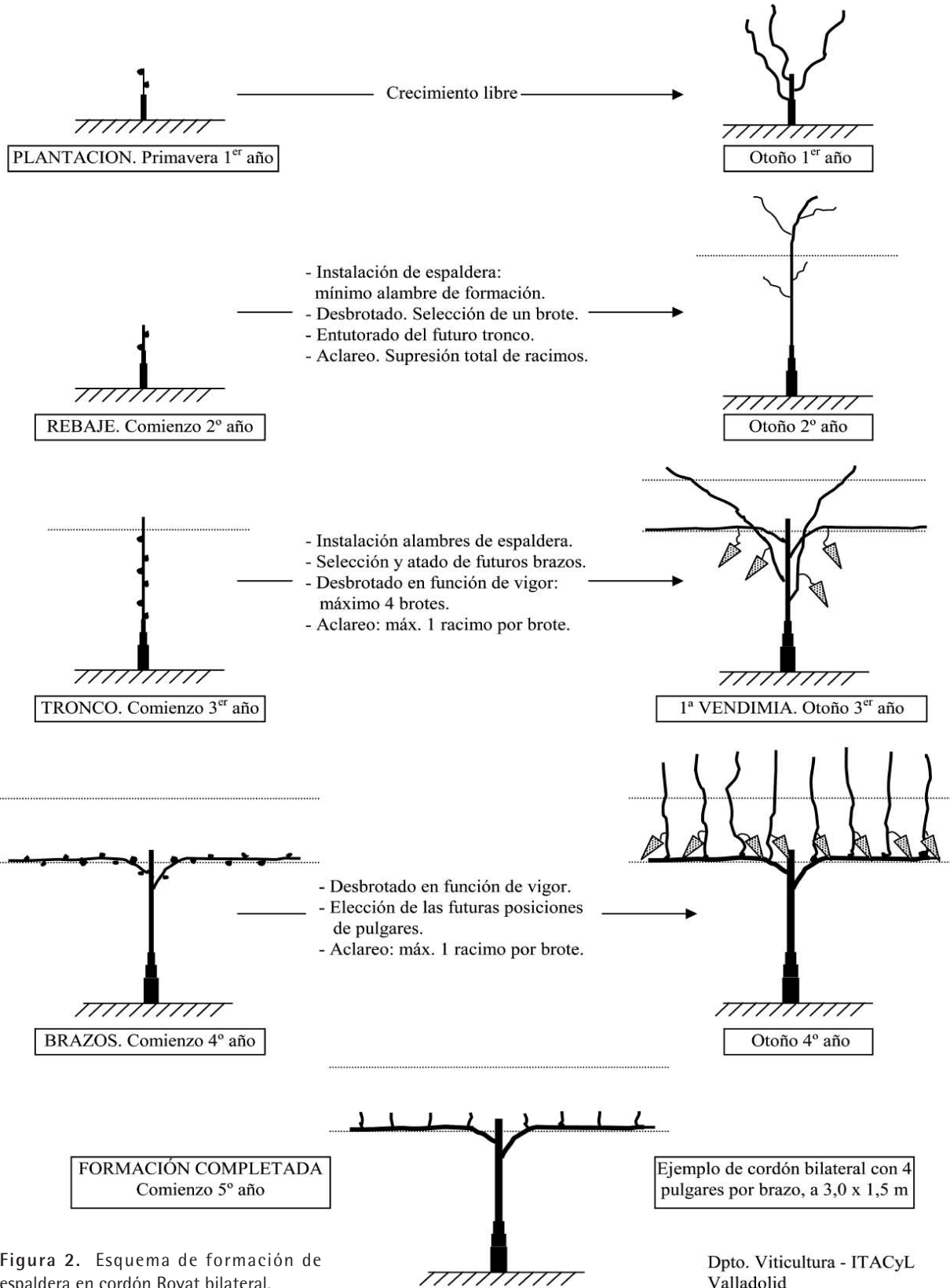


Figura 2. Esquema de formación de espaldera en cordón Royat bilateral.

de 2 m² de superficie foliar externa por metro lineal de fila de cepas, considerando que para que madure correctamente 1 kilo de uva sería necesario 1 m² de superficie foliar, o sea 10 cm²/g, el rendimiento de dichas cepas no debería sobrepasar los 2,0 kg de uva por metro lineal (Figura 3). De otro modo, el ajuste de dicho nivel de rendimiento se tendría que hacer a través del aclareo de racimos correspondiente en función del rendimiento que se hubiera estimado previamente.

El potencial productivo y cualitativo de la espaldera, por tanto, viene determinado por la superficie foliar del viñedo. Dicha superficie foliar del viñedo depende, por un lado, de las dimensiones lineales de la estructura foliar de la espaldera, y por otro, de la densidad de plantación del viñedo, o sea, de la distancia entre las filas de cepas, de manera que la superficie foliar por hectárea que se desarrolle de forma adecuada en la espaldera, limitará su potencial productivo en términos de producción de uva de calidad. En este sentido, se presentan, a modo de ejemplos, las figuras correspondientes a dimensiones concretas de la espaldera, considerando ambos factores citados, distancia entre filas y altura de espaldera (Figuras 4 a 6).

MANEJO DEL SISTEMA DE CONDUCCIÓN EN ESPALDERA

La eficacia del sistema de conducción en espaldera responde mayormente, como se ha podido vislumbrar, al diseño de dicha espaldera así como al manejo que se haga de dicho sistema, de manera que la espaldera tendrá un comportamiento que no está definido simplemente por el tipo de formación, sino que dependerá del manejo cultural que se aplique. Teniendo en cuenta que la espaldera es una alternativa creciente en la viticultura española, este sistema de conducción debe ser utilizado de la forma más adecuada posible, por lo que su uso deberá considerarse bajo tres grandes puntos de vista, que a modo de resumen se citan a continuación.

1. Dimensiones de la superficie foliar. La altura de formación y la altura total de la espaldera son parámetros decisivos en el diseño de la espaldera. Una vez definidos éstos, se debe tratar de conseguir un adecuado espesor de vegetación, que no sea excesivo; un número aceptable de pámpanos por metro lineal; la porosidad o

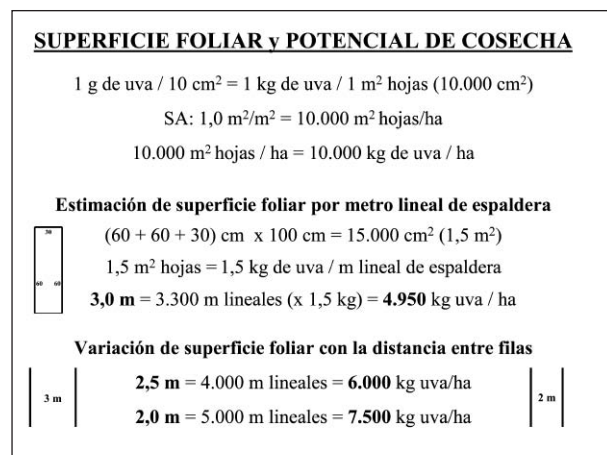


Figura 4. Modificación del potencial productivo a través de la distancia entre filas.

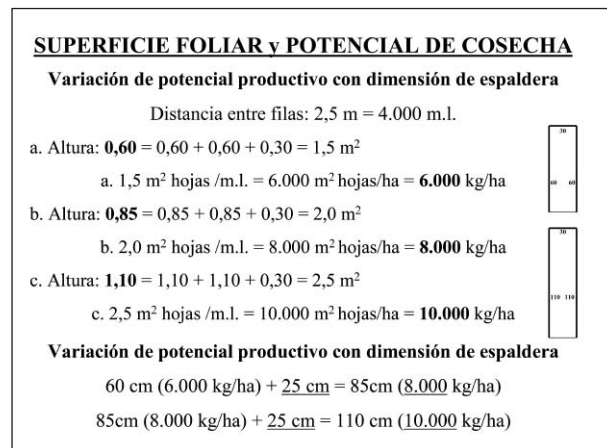


Figura 5. Modificación del potencial productivo a través de la altura de la espaldera.

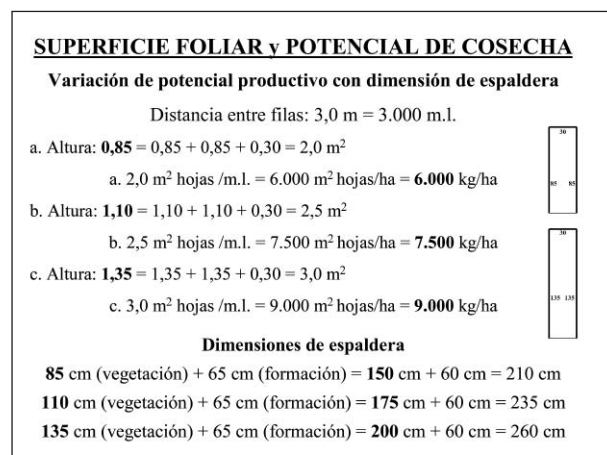


Figura 6. Modificación del potencial productivo y dimensiones de la espaldera.

existencia de pequeños huecos que mejoren el microclima de la cepa; y que haya continuidad del plano de vegetación en la línea.

2. Manejo del *canopy*. Las operaciones en verde (espergurado, desbrochado, guiado de pámpanos, despunte, deshojado, aclareo de racimos...) son fundamentales para conseguir las condiciones adecuadas para la superficie foliar y para la uva.
3. Técnicas de cultivo. La espaldera es un modo de conducción adecuado cuando el vigor es de bajo a moderado, pero puede resultar poco adecuado si el vigor es excesivo, por lo que éste debe ser un aspecto muy a tener en cuenta para conseguir un fruto de calidad. Para conseguir un buen control del vigor se deben considerar diversos factores, principalmente: tipo de suelo, densidad de plantación, tipo de portainjerto, gestión del riego, control de fertilización, empleo de cubiertas vegetales.

BIBLIOGRAFÍA

- Baeza, P. 1994. Caracterización fisiológica y agronómica de diferentes sistemas de conducción del viñedo (*Vitis vinifera* L.) en regadío. Tesis doctoral. U.P. Madrid. 209 pp.
- Champagnol, F. (1984). *Éléments de physiologie de la vigne et de viticulture générale*. Ed. F. Champagnol. Saint-Gely-du-Fesc. France. 351p.
- Chaves, M. (1986). *Fotosíntese e repartição dos productos de assimileção en Vitis vinifera L. Tesis Doctoral*. Universidad Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomía. 221 p.
- Freeman, B.M.; E. Tassie; M.D. Rebbechi. 1992. Training and trellising, p. 42-65. En: B.G. Coombe and P.R. Dry (eds.). *Viticulture. Volume 2, Practices*. Adelaide, Australia.
- Hidalgo, L. 1999. *Tratado de Viticultura*. 1172 pp. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- Huglin, P. 1986. *Biologie et écologie de la vigne*. 372 pp. Ed. Payot Lausanne. Technique et Documentation. Paris.
- Lissarrague, J.R. 1986. Estudio de los efectos del riego en la producción, desarrollo vegetativo, calidad del mosto y nutrición mineral en la vid. Tesis Doctoral. U.P. Madrid. 395 pp.
- May, P.; N.J. Shaulis, A. Antcliff (1969). The effect of controlled defoliation in the Sultana vine. *American Journal of Enology and Viticulture* 20, 237-250.
- Schneider, C. (1992). Quelles techniques de conduite adopter pour favoriser la qualité et maîtriser la production. *Site-vinitech*. Burdeos, 265-276.
- Smart, R.E.; M. Robinson. 1991. *Sunlight into wine: a handbook for winegrape canopy management*. 88 pp. Ed. Ministry of Agriculture and Fisheries. New Zealand.
- Yuste, J. 1995. Comportamiento fisiológico y agronómico de la vid (*Vitis vinifera* L.) en diferentes sistemas de conducción en secano y regadío. Tesis doctoral. U.P. Madrid. 280 pp.
- Yuste, J. 2000. Un nuevo sistema de poda mixta en cordón para variedades de fertilidad y producción limitadas: sistema Yuste. *Viticultura Enología Profesional* n° 70: 25-37.

EXPERIENCIAS DE LA APLICACIÓN DE FITORREGULADORES PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA UVA

Pedro Martín Peña

Doctor Ingeniero Agrónomo. Dpto. de Producción Vegetal y Recursos Forestales. Universidad de Valladolid

Las hormonas vegetales son sustancias no nutricias producidas por las plantas que, a baja concentración, son capaces de aumentar, inhibir o modificar cualitativamente el crecimiento, pudiendo ejercer su acción en un sitio diferente al que han sido sintetizadas (viajan por la savia). Se denominan reguladores del crecimiento o fitorreguladores a todas aquellas sustancias, sean naturales o no, que actúan en la planta de un modo análogo a como lo hacen las hormonas vegetales.

Las hormonas vegetales se clasifican tradicionalmente en cinco grupos químicos: auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno. Los tres primeros grupos se consideran promotores del crecimiento, mientras que las dos últimas sustancias son inhibitoras del crecimiento. Además de los incluidos en estos grupos, se han identificado otros productos con actividad hormonal, como son las poliaminas, el ácido jasmónico o los brasinosteroides.

Los procesos fisiológicos de las plantas son regulados por equilibrios hormonales específicos. La modificación de estos equilibrios mediante técnicas diversas presenta un gran potencial de utilización en agricultura. La localización de los genes para la síntesis de hormonas y el conocimiento de la regulación de su expresión, así como de los mecanismos bioquímicos de actuación de cada sustancia, pueden contribuir mucho a optimizar el uso de fitorreguladores como herramienta para mejorar las producciones y las calidades de las cosechas. Existen dos posibles vías de actuación: bien promover la síntesis endógena de las hormonas dentro de las plantas, o bien aplicar fitorreguladores de modo exógeno. En cualquier caso se podrían ejercer las siguientes acciones:

- Completar la dotación natural de las hormonas vegetales a cuyo grupo químico pertenecen.
- Estimular o inhibir la síntesis de las hormonas naturales.
- Interferir positiva o negativamente en la translocación de las hormonas.

- Aumentar o disminuir su acción.
- Acelerar o retrasar la destrucción final de las hormonas vegetales.

A pesar de su elevada potencialidad, la aplicación de fitorreguladores en las plantas, normalmente por vía foliar, presenta problemas importantes que restringen la generalización de su uso. Además de tener presente que los procesos biológicos están regulados por equilibrios hormonales y no por hormonas concretas, debemos considerar que los efectos de los fitorreguladores siempre van a ser variables en función de:

- El equilibrio hormonal existente en la planta en el momento de hacer el tratamiento (estado fenológico y fisiológico).
- La naturaleza del producto aplicado, dosis, estado de conservación del producto, mezclas...
- Variedad, vigor, estado de desarrollo y estado sanitario de las plantas receptoras.
- Forma de aplicación: maquinaria, uso de mojanete, zona de aplicación...
- Condiciones ambientales: temperatura, humedad, lluvia, viento.
- Estado de la cutícula de la hoja y/o del fruto.

Por todo ello, es imprescindible realizar estudios de detalle en condiciones ecofisiológicas concretas para poder determinar los momentos y cantidades óptimas de aplicación para cada aplicación específica. Estos estudios deben llevarse a cabo durante varios años, de modo que los resultados obtenidos sean repetibles, y se pueda evaluar correctamente el impacto de los fitorreguladores sobre las distintas componentes de la expresión vegetativa del viñedo y sobre su ciclo plurianual.

Entre las principales aplicaciones de fitorreguladores en viticultura se pueden destacar las siguientes:

- Promoción del enraizamiento de madera de multiplicación (auxinas).

- Regularización de la brotación en zonas con falta de horas de frío invernal (cianamida de hidrógeno).
- Retraso de la brotación para evitar heladas primaverales (hidracida maleica).
- Reducción del corrimiento constitucional o fisiológico (paclobutrazol).
- Aclareo de bayas y/o de flores (etefón, giberelinas).
- Supresión de semillas en variedades pirenas (giberelinas).
- Inducción de partenocarpia en variedades femeninas (giberelinas).
- Aumento del tamaño de las bayas en variedades apirenas y pirenas (auxinas, giberelinas).
- Incremento de la coloración de la uva en variedades tintas (liberadores y generadores de etileno).
- Retraso de la maduración (benzotiazol-2-ácido oxiacético).
- Modificación del índice de desprendimiento de los granos de uva en el racimo (etefón, metil jasmonato).
- Control del vigor (etefón, paclobutrazol).
- Defoliación (etefón).

En los últimos años venimos asistiendo a una transformación enorme en las técnicas de producción vitícola, con la sustitución de viñedos tradicionales en vaso por formas apoyadas, más mecanizables, la mejora de la calidad del material vegetal y de su estado sanitario, la incorporación del riego, etc. Estos cambios han modificado las características específicas de la vendimia alterando en muchos casos la vocación de las variedades tradicionales. Todos estos cambios, junto al incremento en los niveles de exigencia en las bodegas, que cada vez demandan un producto más diversificado, hace necesario reorientar la tecnología de la producción del viñedo.

Tomando como punto de partida la fisiología de la planta, se tiende a buscar un equilibrio entre desarrollo vegetativo y fructificación, debido a la gran dependencia que existe entre la productividad de la cepa y la calidad de la baya con la tasa de crecimiento y con la relación frutos/hojas. Esta armonía en la planta es complicada de alcanzar en zonas con factores limitantes para el cultivo de la viña, como ocurre en aquellas en que se dispone de una integral térmica anual escasa. Entre las técnicas de cultivo que se proponen para conseguir el equilibrio fructificación/vegetación y optimizar el proceso

de maduración de la uva destacan las operaciones de poda en verde (deshojado, orientación y eliminación de brotes, espergurado, aclareo de racimos y bayas, etc.) y la aplicación de productos hormonales o derivados de éstos.

En los últimos años el Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales de la Universidad de Valladolid ha desarrollado distintos proyectos de investigación sobre la aplicación de reguladores de crecimiento en el viñedo, con los objetivos de controlar el desarrollo vegetativo de las cepas y mejorar la calidad de la uva. Se comentan a continuación algunos resultados de estas investigaciones.

CONTROL DEL VIGOR DEL VIÑEDO MEDIANTE TRATAMIENTOS DE ETEFÓN

El etefón, CEPA o Ethrel, es un producto que aplicado sobre las plantas, se escinde en etileno, cloruro y fosfato en el interior de los tejidos vegetales. El etileno liberado incrementa la tasa respiratoria de las bayas, pero sin incrementar la permeabilidad de las membranas celulares (Szyjewicz et al, 1984). En numerosos trabajos se ha observado que la aplicación de etefón sobre los racimos, en el envero, son capaces de incrementar el contenido en polifenoles totales y antocianos en numerosas variedades de vid.

La respuesta de la uva a la exposición a etefón en distintos estados de desarrollo va a depender de la concentración endógena de ácido abscísico (ABA) que contenga la baya, que debe permanecer por encima de un cierto umbral antes de la liberación de etileno, para que las dos sustancias actúen sinérgicamente. Este umbral de ABA se logra en la Fase II del desarrollo de la baya. El ABA, que regula procesos como la latencia de las yemas o la apertura y cierre estomático, juega un papel muy importante en la maduración del fruto, con repercusiones claras en el metabolismo de los ácidos, o en la acumulación de materia colorante en variedades tintas.

El exceso de vigor produce graves problemas en el viñedo (figura 1) que acaban deteriorando el equilibrio entre producción y calidad de la uva. La aplicación de ácido abscísico y generadores de etileno como el etefón a la vegetación después del cuajado del fruto, promueve los procesos naturales de senescen-

EFECTOS DEL EXCESO DE VIGOR

- Desequilibrio vegetación/fructificación.
 - Retraso de la maduración
 - Falta de inducción floral
 - Corrimiento
- Microclima luminoso de hojas y racimos desfavorable
 - Menor rendimiento y calidad de la uva
- Mayor sensibilidad a plagas y enfermedades

Figura 1. Problemas que acarrea el exceso de vigor en el viñedo.

cia, provocando una cesación anticipada del crecimiento de los órganos verdes y una aceleración de los procesos fisiológicos y metabólicos implicados en la maduración del fruto. El posible adelanto de la maduración puede ser muy interesante en muchas zonas de cultivo castellano-leonesas donde la integral térmica es escasa y, con relativa frecuencia, la vendimia no acaba de culminar su punto de madurez.

En distintos trabajos (Delgado et al., 2004; Gallegos et al., 2006; González et al., 2005, 2006) se ha valorado el interés de la aplicación al viñedo cv. Verdejo de ácido abscísico y etefón sobre la conducción del follaje, el vigor y el rendimiento del viñedo, la composición de la uva y la calidad del vino. González et al. (2006) realizaron un ensayo de campo durante los años 2004 y 2005, en un viñedo vigoroso cv. Verdejo ubicado en la Denominación de Origen "Rueda" (figura 2). Se empleó un diseño de tipo factorial con los siguientes tratamientos en pulverización: etefón a todo el follaje 10 días después de cuajado (0, 400 y 800 ppm), etefón dirigido a los racimos en enero (0 y 1500 ppm). Los resultados mostraron que el peso de madera de poda no se veía afectado por los tratamientos de etefón en cuajado y en enero, aunque la aplicación en cuajado con dosis de 400 y 800 ppm reducía significativamente el número de esperguras por cepa respecto al control (figura 3).

Se comprobó que la pulverización del follaje con etefón, posterior al cuajado, era capaz de inhibir significativamente la brotación de las yemas prontas, y ejercer por lo tanto un efecto de "desnietado químico" en la variedad Verdejo (figura 4). La descompactación del follaje que ello supone podría mejorar, en principio, la iluminación de las hojas y el microclima de los racimos permitiendo producir, sobre todo en viñedos vigorosos, cosechas de mayor



Figura 2. Viñedo cv. Verdejo con exceso de vegetación.

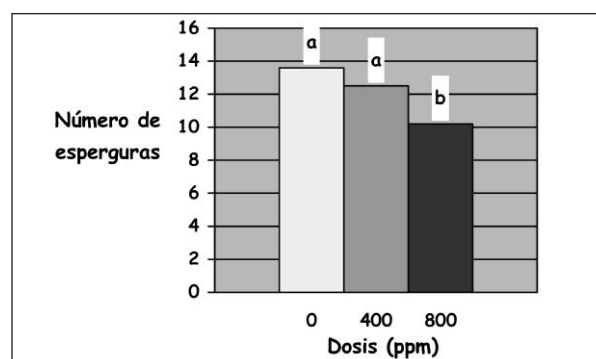


Figura 3. Número de chupones/cepa contabilizados en cada uno de los tratamientos de etefón en cuajado.

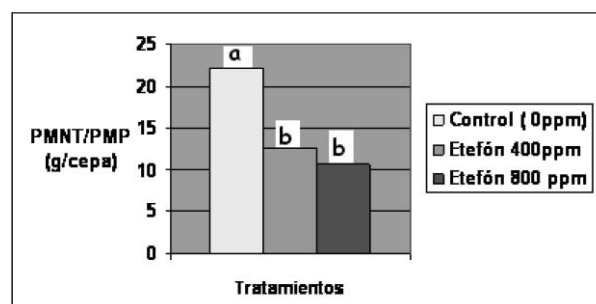


Figura 4. Comparación del peso de nietos respecto al peso total de madera de poda para los tratamientos en cuajado.

calidad. En el estudio realizado (González et al., 2006), sin embargo, los resultados no apuntan en esa dirección. Se observó que el etileno liberado por el etefón en los tejidos, producía un efecto depresivo intenso que se tradujo en una disminución de la superficie foliar total, los contenidos foliares de clorofila, y de la actividad fotosintética (tabla 1). Como consecuencia de esto, los tratamientos en cuajado disminuyeron el rendimiento del viñedo y el contenido en azúcares de la uva.

Dosis etefón cuajado (ppm)	Clorofila (mg cm ⁻²)	Fotosíntesis neta (mmol CO ₂ m ⁻² .s ⁻¹)	Incremento LAI entre cuajado y envero (%)
Año 2004			
0	46,86 a	15,30 a	11,80 a
400	37,54 b	14,01 ab	6,35 b
800	36,68 b	12,91 b	4,86 b
Año 2005			
0	45,06 a	19,08 a	9,48 a
400	39,45 b	15,67 ab	6,64 b
800	36,63 b	13,71 b	3,82 c

Tabla 1. Parámetros fisiológicos obtenidos en distintos tratamientos de etefón.

Dosis etefón envero(ppm)	Sólidos Solubles Totales (% Vol.)	pH	Acidez Total (g/L tartárico)	Índice madurez
Año 2004				
0	11,34 a	3,52 b	4,84 b	2,32 b
1500	11,25 a	3,66 a	5,66 a	2,00 a
Año 2005				
0	11,32 a	3,74 a	3,92 a	2,80 a
1500	11,31 a	3,71 a	4,23 a	2,67 a

Tabla 2. Composición del mosto en los ensayos de aplicación de etefón en los años 2004 y 2005.

Las aplicaciones de etefón sobre los racimos en envero tendieron a disminuir la concentración de ácidos en el fruto, sin modificar los contenidos en sólidos solubles. Así, los mostos procedentes de las uvas tratadas registraron valores más altos en la relación azúcar/acidez y en el pH que los controles (tabla 2), así como modificaciones significativas en la composición específica de los ácidos (datos no mostrados). El uso de etefón puede considerarse como una técnica interesante para acelerar el proceso de maduración de la uva cv. Verdejo, y modificar la relación entre concentraciones de ácido málico y tartárico en el mosto.

INCREMENTO DE LA COLORACIÓN DE LA UVA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ETANOL

El color es un aspecto fundamental de la calidad de la uva y el vino y, como tal, es un tema que preocupa mucho al sector vitivinícola, cada día más interesado en el desarrollo de técnicas que permitan

eleva los contenidos polifenólicos y de antocianos de las uvas y su extractabilidad. Una de estas técnicas es la utilización de generadores de etileno o sustancias (por ejemplo alcoholes) que, aplicadas sobre los frutos, promueven la síntesis natural de etileno en las plantas.

Chervin et al. (2001, 2002) demostraron que la pulverización de los racimos de la variedad Cabernet sauvignon con soluciones hidroalcohólicas de etanol al 5-10% v/v, al inicio de la maduración, produce una acumulación de antocianos en el fruto más intensa que en los testigos sin tratar, mejorando así sus características cromáticas. Con objeto de poder constatar este efecto en la variedad Tempranillo e identificar las mejores dosis y momentos de aplicación del producto, se realizó un experimento en la D.O. Ribera del Duero durante el año 2007 (González et al., 2009). Se pulverizaron soluciones hidroal-

cohólicas de etanol sobre la zona de los racimos en dos épocas distintas: final de envero (dosis de 0, 5 y 10% v/v), y 12 días antes de la vendimia (0 y 5 % v/v). Se controló el peso de 100 bayas y se hicieron análisis de mostos, (grado alcohólico probable, acidez total, índice de polifenoles totales y pH), análisis de hollejos, (polifenoles, antocianos y taninos totales), y se evaluaron las características cromáticas de la uva y los parámetros de copigmentación.

Los resultados no mostraron diferencias significativas en el peso de 100 bayas entre tratamientos, aunque las aplicaciones al 10% incrementaron la relación hollejo/pulpa más de un 15% frente a los testigos. La dosis del 5% no produjo cambios destacables en la composición de las bayas respecto a los controles en ninguna de las dos épocas de aplicación (tabla 3). Sin embargo, los tratamientos al 10% en envero aumentaron significativamente la tonalidad colorante de los mostos y la fracción de color debida al pigmento polimérico (tabla 4, figura 5).

Momento de aplicación	Grado alcohólico probable (% Vol.)	Acidez total (g/L tartárico)	pH	Potasio (ppm)
Control	13,2	6,8	3,5	847
Envero	13,3	6,9	3,4	907
Prevendimia	12,7	6,7	3,4	727

Tabla 3. Parámetros de composición del mosto de vendimia para los tratamientos con etanol al 5% v/v ensayados.

Dosis de Etanol (% v/v)	Índice de Polifenoles Totales	Intensidad Colorante	Tonalidad Colorante	b*	H*
0	18,7 a	7,75 a	0,51 b	1,29 b	2,7 b
5	19,3 a	7,90 a	0,51 b	1,60 ab	3,1 b
10	20,3 b	7,62 a	0,63 a	3,71 a	8,6 a

Tabla 4. Índices de polifenoles totales y características cromáticas del mosto de vendimia en los tratamientos de etanol en envero.

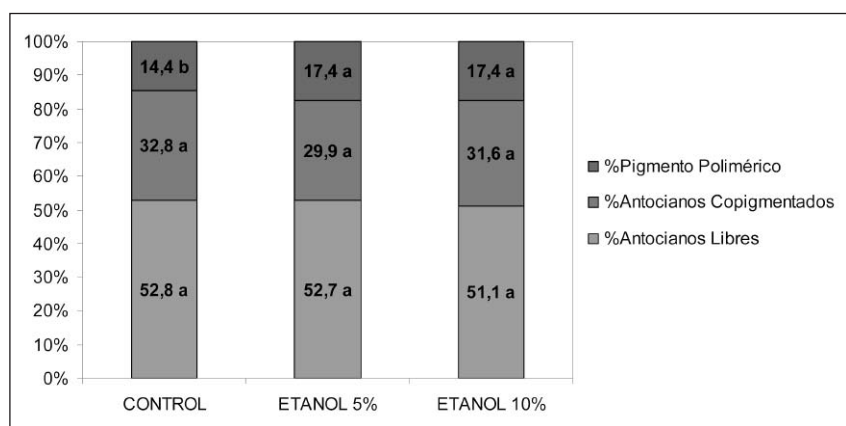


Figura 5. Porcentajes de color debido a la copigmentación, antocianos libres y pigmento polimérico para los tratamientos de etanol aplicados en envero.

BIBLIOGRAFÍA

CHERVIN, C., EL-KEREAMY, A., ROUSTAN, J.P., FARAGHER, J.D., LATCHÉ, A., PECH, J.C., BOUZAYEN, M., 2001. An ethanol spray at veraison enhances colour in red wines. *Austr. J. Grape and wine Research*. 7: 144-145.

CHERVIN, C., EL-KEREAMY, A., IBRAHIM, H., GARCÍA, F., DEDIEU, F., ROMIEU, C., OLLAT, N., ROUSTAN, J.P., 2002. Ethanol application at veraison decreases acidity in Cabernet Sauvignon Grapes. *Vitis*, 41 (3): 155-156.

DELGADO, R., GALLEGOS, J.I., MARTÍN, P., GONZÁLEZ, M.R., 2004. Influence of ABA and ethephon treatments on fruit composition of Tempranillo grapevines *Acta Horticulturae*, 640: 321-326.

GALLEGOS, J.I., GONZÁLEZ, R., GONZÁLEZ, M.R., MARTÍN, P., 2006. Changes in composition and colour development of Tempranillo grapes during ripening induced by ethephon treatments at veraison. *Acta Horticulturae* 727: 505-512.

GONZÁLEZ, R., GONZÁLEZ M.R., MARTÍN P., 2005. Influencia de la aplicación de ácido abscísico en la composición de la uva de la variedad Verdejo Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. ITACYL/GIENOL (eds.). Valladolid, pp. 11-12.

GONZÁLEZ, R., VILLALBA, P., GONZÁLEZ, M.R., MARTÍN, P., 2006. Control of vegetative growth of 'verdejo' grapevines with ethephon. 7th International Symposium on the plant hormone Ethylene. University of Padova Pisa, Italia.

GONZÁLEZ, R., GONZÁLEZ, M.R., UZQUIZA, L., MARTÍN, P., 2009. Improving the Colour of Tempranillo Grapes by Spraying Ethanol at Veraison and Pre-Harvest. 11th International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production. Bologna.

SZIJEWICZ, E., ROSNER, N., KLIEWER, W.M. 1984. Ethephon (2-Chloroethylphosphonic Acid, Ethrel, CEPA) in Viticulture- A review. *Am. J. Enol. Vitic.*, 35: 117-123.

SEGUIMIENTO DE LAS AFECCIONES DE LA VID

Ignacio Armendáriz González

Doctor en Ciencias Biológicas. Equipo de protección Vegetal. ITACYL

INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinifera*) es un cultivo milenario. Entre sus características cabe destacar la rusticidad; sus diferentes variedades, adaptadas a condiciones muy diferentes, son capaces de producir uvas en condiciones muy extremas.

Los productos obtenidos de la vid no se reducen a la uva de vinificación; se encuentran p.ej. la uva de mesa y la uva para alcohol. Dependiendo del destino se fijarán unos objetivos de calidad y cantidad, que serán más estrictos y controlados en las Denominaciones de Origen.

Las enfermedades más frecuentes en Castilla y León son el oidio (*Uncinula necator*), el mildiu (*Plasmopara viticola*), la Botrytis (*Botrytis cinerea*) y el complejo de enfermedades de la madera (yesca, eutipiosis y Petri).

Respecto a las plagas, las más importantes son la polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana*), el tornillo de la vid (*Xylotrechus arvicola*), los ácaros (*Calepitrimerus vitis*), el piral (*Sparganothis pilleriana*) y el topillo (*Microtus arvalis*).

Antes de intentar modelizar cualquier afección tenemos que conocerla profundamente. Entre otros aspectos necesitamos precisar el ciclo biológico, su variación a lo largo de distintas campañas, los enemigos naturales, la fenología del cultivo, los síntomas de la presencia y los daños de la afección, el umbral económico de intervención, los productos existentes y la legislación vigente.

Finalmente y desde el punto de vista del agricultor, el criterio último es el económico; qué beneficio proporciona el realizar un tratamiento, teniendo en cuenta el aspecto económico pero sin olvidar las consecuencias medioambientales y sanitarias. Los calendarios fijos de tratamientos y el consejo de los comerciales son cuestiones a matizar largamente.

MODELOS

La aparición de nuevas herramientas informáticas basadas en algoritmos matemáticos ha permitido cuantificar la relación entre los procesos de desarrollo biológico y las condiciones ambientales. Estos algoritmos son un avance más tras los cálculos de la integral térmica empleada para analizar la fenología de cultivos o plagas (número de grados de calor acumulados en la temperatura media diaria por encima de un umbral determinado) y tras las complejas ecuaciones basadas en múltiples datos climáticos para el cálculo, por ejemplo, de la evapotranspiración potencial.

El avance principal radica en la utilización de organigramas de flujo, necesarios dada la subdivisión de los procesos biológicos en varias etapas con diferentes necesidades ambientales y, por tanto, con distintos parámetros climáticos. Según van cambiando las condiciones ambientales y vegetativas el desarrollo de un ser vivo puede detenerse, potenciarse o proceder a la formación de ciertos órganos para facilitar su propagación, reproducirse sexualmente o formar estructuras resistentes que soporten las condiciones adversas. Los programas informáticos van analizando cada una de estas etapas y, tras asumir que se van completando, cambian las fórmulas empleadas de modo que puedan seguir analizando los procesos posteriores.

Interesa que el modelo sea sencillo, sobre todo desde el punto de vista del usuario, en lo referente a la introducción de datos. Estos van a estar relacionados fundamentalmente con la fenología del cultivo, el ciclo biológico del agente y la climatología.

Para la construcción del modelo se deben determinar cuáles son los factores más significativos y que aporten más solidez al conjunto. En el caso de los insectos, seres poiquilotermos, el factor principal es la temperatura, de tal manera que en ciertos intervalos el desarrollo de las fases guarda una relación lineal con la temperatura. En segundo lugar encontramos al agua en sus distintos aspectos de precipitación, humedad relativa, humedad en hoja, disponibilidad, etc.

Los modelos se han creado en condiciones de laboratorio y se han ajustado a los cultivos de diversos países y regiones. Por ello no se pueden aplicar directamente a cualquier zona y requieren un proceso de validación para ajustarlos a las condiciones particulares. Los desajustes entre el desarrollo supuesto por el modelo y los datos constatados serán debidos a que uno o varios parámetros necesitan ser ajustados. Es posible que estos desajustes se deban a valores no considerados o a las condiciones de cada parcela (orientación, variedad, patrón, vigor, inóculo inicial, etc.). Incluir estos parámetros complica más estos algoritmos y exigirá una introducción más laboriosa de datos por los usuarios, por lo que resulta más conveniente ajustar los modelos para su validación en cada zona sin aumentar los factores considerados. Debido a este proceso, una vez validado el modelo, éste será más seguro para aquellas parcelas que más se asemejen a la parcela del ensayo en la que se validó. Por ello el usuario debe estimar el nivel de confianza que le ofrece bajo sus condiciones particulares.

También hay que considerar que los desajustes se pueden deber a diferencias entre las condiciones ambientales medidas en el lugar en el que se desarrolla la enfermedad y las que se recogen en el lugar donde se localiza la estación meteorológica. Por ello, cuanto más se distancien los puntos de recogida de ambos datos, peor será la correlación entre los resultados obtenidos por el modelo y la realidad. Otra fuente de distorsión es la existencia de un microclima en el cultivo que no se va a ver reflejado en los datos de la estación.

No hay que perder de vista que el objetivo último en la práctica es predecir con suficiente antelación el final de un ciclo, cuando todavía está en una fase intermedia, disponiendo de tiempo para hacer un tratamiento y asegurando la eficacia del mismo. Dicho de otro modo tratar siempre cuando es razonable el hacerlo.

LAS ENFERMEDADES DE LA VID Y LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS

Como se puede comprobar en la abundante literatura existente los ciclos de las tres principales enfermedades de la vid (mildiu, oidio y botrytis) están asociados a las condiciones climáticas.

El **mildiu**, niebla o añublo (*Plasmopara viticola*) se transmite en forma de esporas por el viento o por las salpicaduras de la lluvia. Entra en la planta por los estomas o por pequeñas heridas, dado que no tiene estructuras para atravesar las barreras de la planta. Como ventaja respecto a otros hongos las esporas del mildiu (zoosporas) tienen movimiento propio mediante flagelos, pudiéndose desplazarse por medios acuosos, por lo que aumentan su capacidad de infección en condiciones de niebla, rocío o lluvia. En condiciones adecuadas de temperatura y presencia de medio acuoso durante un cierto número de horas, estas esporas penetran en el interior de hojas y pámpanos jóvenes. Una vez producida la contaminación se va desarrollando un micelio por el interior la planta, rompiendo paredes celulares y dando la sensación de que la hoja ha sido magullada por presión (coincide en ambas caras), lo que se denomina mancha de aceite. Este micelio encuentra una mayor dificultad al tener que atravesar el entramado de nerviaciones de las hojas, por lo que estas manchas al oscurecerse por necrosis celular adquieren apariencia poligonal, denominándose mildiu en mosaico. Este mismo proceso si se produce sobre las bayas de tamaño guisante o mayor se denomina mildiu larvado, adquiriendo las bayas primero tonos morados con depresiones en su superficie, para terminar pasificándose con tonos achocolatados. Otros síntomas habituales son la forma de S del raquis o la caída de los extremos de los pámpanos, conocida como forma de cayado.

El mildiu bajo las condiciones ambientales adecuadas para su reproducción asoma por los estomas de los órganos verdes, formando un fino terciopelo blanquecino que, al estar anclado en el interior del vegetal, no se desprende fácilmente al frotarlo con el dedo, diferenciándose por esto de otros hongos que se limpian fácilmente de la superficie del órgano atacado.

El tratamiento, ya sea sistémico o de contacto, debe ser previo a la germinación de las zoosporas para evitar la entrada del hongo en el interior de la planta. Por ello los modelos de desarrollo deben ir suponiendo el proceso vital del hongo y conseguir un paralelismo lo más parecido a la realidad en campo, para así poder dar el aviso al 70-80% del total de la secuencia. Un viticultor acostumbrado a tratar con frecuencia se beneficiará de este sistema, que tan sólo le recomienda el tratamiento ante un inminente ataque de la enfermedad.

Un método utilizado para anticiparse al primer ataque de mildiu es la detección del mismo en parcelas más sensibles sin tratamiento preventivo, o también la plantación de rosales en la cabecera de las líneas, dado que el desarrollo del mildiu en el rosal es más rápido. En determinadas zonas geográficas se utiliza un sistema de premios al viticultor que primero detecte el mildiu (DOGC, 2008), de modo que antes de este momento nadie comienza la campaña de tratamientos.

El primer calendario de incubación data de 1934 y se debe a Mueller y Sleumer. En 1978 se desarrollan los trabajos de Blaeser y Weltzien, que sirven de base de los posteriores.

Para el mildiu existen diferentes modelos de desarrollo, siendo el principal el Modelo del Estado Potencial de Infección o EPI (Strizyk, 1983). Este modelo trabaja desde octubre del año $i-1$ hasta septiembre del año i . Se comporta en dos fases correspondiendo la primera a la fase sexual y la segunda a la asexual. La primera fase, potencial o invernal, sucede de octubre a marzo y realiza el seguimiento de la maduración de las oosporas, siendo los factores climáticos más influyentes la temperatura y sobre todo la precipitación, tanto en cantidad como en distribución. La segunda fase, cinética o vegetativa, corresponde a la fase activa de la enfermedad en la que las oosporas van a germinar y liberar las zoosporas, siendo los factores climáticos más importantes una combinación adecuada de humedad relativa y de temperatura. Se trata de prever la agresividad del mildiu en el inicio de la fase vegetativa. Para ello se considera la pluviometría, T^a media y nº medio de días de lluvia mensual, desde octubre a marzo, acumulando valores de % de oosporas viables. Se obtienen unos porcentajes de riesgo:

Valores de -20 a 20 un riesgo muy bajo; de -20 a -10, débil; de -10 a -5, medio; de -5 a 5, importante, de 5 a 10 alto y de 10-20 muy alto.

Un modelo de seguimiento de la duración del periodo es el de incubación de Goidanich (1964), que se interesa por la 2ª fase del ciclo. Considera la duración del periodo de incubación y la T^a media, Humedad relativa media y lluvia. Para cada T^a hay un crecimiento del hongo dependiente de la Hr (alta o baja). Este proceso comienza a partir de una lluvia continua de > 10 litros. Cuando llega a 100 deben aparecer manchas y fructificación asexual y hay que intervenir antes de manera preventiva.

Tras la creación de estos modelos se han ido desarrollando otros que básicamente son modificaciones o adaptaciones a cada una de las zonas vitícolas.

El **oidio**, cenizo, ceniza, cenicillo, cendrada, sendreta, polvo, polvillo, lepra de la vid, malura vella, albarazo, etc. (*Uncinula necator*) llegó a España en 1850 y en pocos años se extendió a todas las comarcas como la "peste de la vid". Actualmente es endémico, existe en todas las parcelas, y tan sólo es necesario que las condiciones climáticas sean las adecuadas para que se produzca su desarrollo. Exige numerosos costes de prevención y puede suponer la pérdida total de la cosecha si se llega a consolidar un ataque fuerte. Su desarrollo se da bajo fuertes condiciones de humedad, necesitando tan solo unos 10 grados de temperatura.

Sus filamentos (hifas) avanzan superficialmente sobre los órganos verdes anclándose, como hacen las hiedras, con unas estructuras (haustorios) que les sirven también para absorber los nutrientes de la vid. El tratamiento, al encontrarse el hongo en superficie, puede realizarse con fungicidas de contacto, normalmente azufre en espolvoreo. Se detecta a simple vista por su aspecto de polvillo blanquecino grisáceo. Esta "ceniza" se desprende fácilmente frotando con el dedo y las manchas en hoja no tienen porqué coincidir en ambas caras, aunque sí puede haber un cierto amarilleamiento en la cara opuesta al hongo. También se aprecian los síntomas por el oscurecimiento provocado por un punteado que es la necrosis de las células en la zona de la picadura del haustorio. Estos oscurecimientos se manifiestan en la base del pámpano con diversos grados de intensidad; al principio como una mancha difusa avanzado desde un punto inicial formando un dibujo en forma de estrella o de cristal de hielo; luego la mancha se hace más densa y se oscurece y finalmente puede llegar a rodear todo el pámpano, como un anillo oscuro que dificulta la conducción de la sabia.

En racimo estas manchas afectan al raquis, desecándolo. En las uvas provocan unas heridas que al cicatrizar hacen perder elasticidad al hollejo, por lo que con el crecimiento de la baya se producen grietas longitudinales que dejan al descubierto pulpa y semillas.

El oidio puede dañar la superficie de la baya de forma casi imperceptible con bastante anterioridad al rajado de la piel durante el crecimiento del fruto.

Este tipo de control exige ser especialmente cuidadosos en la observación de estos síntomas, apenas apreciables en los periodos en los que se sabe que se puedan estar produciendo.

Llegado el otoño, con condiciones climáticas de menor temperatura, el micelio del oidio forma unas minúsculas esferas llamadas peritecas, que son las formas de resistencia durante el invierno, y permanece en hojas secas, cepas y suelo. En la primavera, tras periodos prolongados de humedad, se abren las peritecas de las que surgirán conidios provocando las primeras infecciones.

Entre los modelos destaca el de Gubler y Thomas (1998). Considera la liberación de esporas con humectación de hoja. Las infecciones secundarias de producen mayoritariamente entre 20 y 25°C. Con ello se puede calcular un índice de riesgo:

- 0-20%; prolongar intervalo de tratamientos
- 20-60%; mantener intervalo de tratamientos
- >60%; acortar intervalo, fungicidas.

La **botrytis** o podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) es un hongo cuyo ataque destruye ácidos y taninos en las bayas. A pesar de ello los ataques controlados en ambiente seco y fresco son utilizados para hacer vinos blancos en Sauternes (Francia) y en el Rin. Con las condiciones climáticas habituales de los viñedos de Castilla y León el hongo desarrolla conidióforos por lo que no se produce podredumbre noble, sino que las bayas atacadas se cubren de una pelusilla grisácea algodonosa que, con condiciones favorables, rápidamente provoca nuevas contaminaciones.

Puede atacar a todos los órganos verdes de la planta, aunque no es la situación más frecuente. Los daños realmente importantes se producen en las bayas, cuando finalizando su maduración se forman los azúcares y se produce la contaminación. El desarrollo de botrytis ocasiona pérdidas de peso y, fundamentalmente, deteriora la calidad de la uva para vinificación.

Su ataque se ve favorecido por daños en la superficie de las bayas y exposición de la pulpa a las esporas que siempre están en el ambiente. Las roturas de piel por ataque previo de oidio, los ataques de la larva de la polilla del racimo (*Lobesia botrana*) o el pedrisco son puntos de entrada para la enfermedad. También puede desarrollarse sobre racimos compac-

tos que llegan a producir expulsión de mosto por la unión de la baya con el pedicelo, o directamente sobre racimos débiles de piel fina. Las condiciones favorables para el hongo son lluvias o rocíos, mala ventilación, proximidad al suelo y mantenimiento de humedad en el interior del racimo, acompañadas de temperaturas de 13 hasta 35 °C.

Existen tratamientos sistémicos que evitan el desarrollo de la enfermedad pero, además de su alto precio, su persistencia puede ocasionar problemas en la fermentación del vino.

El interés de los modelos para el control de la podredumbre gris es menor que en el caso de mildiu y oidio, ya que los ataques son más predecibles. Este interés puede aumentar si se utilizan los datos climáticos de las predicciones meteorológicas, es decir se utilizan escenarios climáticos posibles que aún no se han producido. En este caso, a pesar de ser un modelo mucho menos fiable debido a lo errático de las lluvias, sí que se ganaría en fiabilidad a la hora de plantearse el riesgo en función de las condiciones futuras previstas de clima. Se puede llegar a estimar si el ataque de botrytis llegará antes de la fecha de maduración de la uva, circunstancia que aconsejará el tratamiento. Dando un paso más, incluso se pueden crear métodos combinados que calculen la evolución de la maduración de la uva en función del grado alcohólico probable de ese momento, y así determinar la conveniencia del tratamiento.

PLAGAS DE LA VID

Entre todas las plagas de la vid la que cobra mayor importancia por su extensión y por los daños ocasionados es la polilla del racimo, *Lobesia botrana*. En Santiago *et al.* (2007) se puede encontrar una recopilación de datos de esta plaga en Castilla y León durante los años 2000 a 2006. Por otra parte Coscollá (1997) es un libro básico para los interesados en esta plaga tan versátil.

El primer trabajo de modelización se debe a Stellwaag, en 1929, quien diseñó un ecoclimatograma o climodiagrama (Fig. 1), usando la temperatura y la humedad. Dichas gráficas separan en función de la temperatura y la humedad relativa las zonas en que *L. botrana* puede ejercer su actividad y, dentro de ellas, la zona de puesta máxima. Es en todo caso

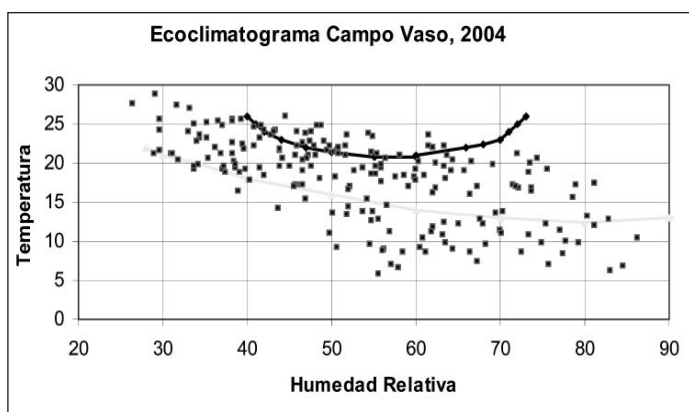


Figura 1. Ecoclimatograma para una parcela en Los Arribes. La línea clara nos delimita la zona de actividad de la polilla y la oscura la zona óptima de actividad. Cada punto refleja un día entre el 1 de abril y el 5 de octubre.

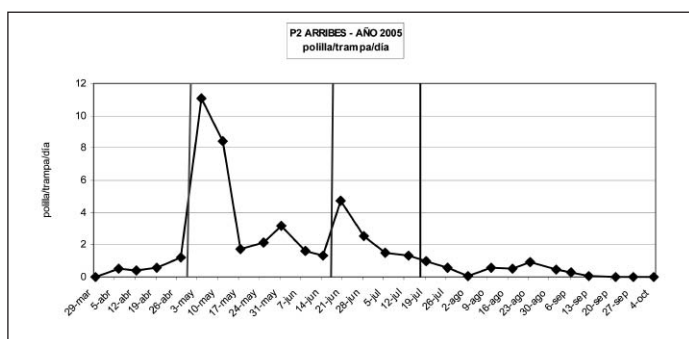


Figura 2. Curva de vuelo de polilla para una parcela de los Arribes, año 2005. Las barras verticales marcan las fechas estimadas para el máximo de vuelo de las tres generaciones según el modelo de Touzeau (1981). La diferencia es notable para la 3ª generación que se "atrassa" en 35 días.

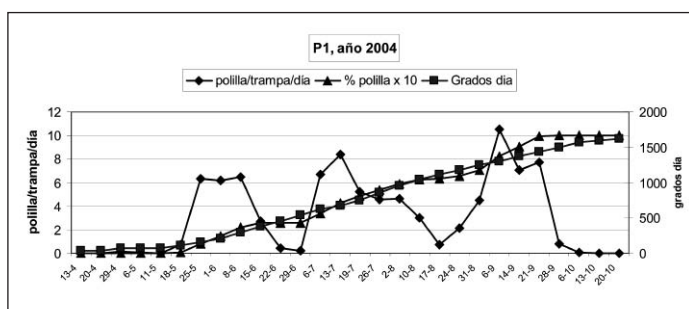


Figura 3. Curva de vuelo, grados-día acumulados y % de población de polilla acumulado. Las temperaturas máximas y mínimas diarias nos marcan los umbrales de actividad del insecto. En el caso de los adultos se considera el umbral de 10°C, por debajo del cual permanecen inactivos.

una primera aproximación, ya que usamos los valores medios diarios, lo cual nos indica que no sabemos qué porcentaje del día ha estado incluido dentro de un determinada categoría.

En un segundo paso Ruiz Castro (1943) calculó el desarrollo de la polilla a temperaturas diferentes, encontrando que

para ciertos márgenes existe una constante térmica, es decir, un factor que multiplicado por la temperatura permanece constante. Este hecho es común a otras especies de insectos, aunque la relación no siempre es lineal en toda la gama de variación, sino que se torna en exponencial, lo cual resta efectividad a los modelos lineales en temperaturas extremas y años climáticamente anormales.

Los modelos actuales se basan principalmente en integrales térmicas para cada fase de desarrollo del insecto. Se trata de conocer las temperaturas medias diarias, una vez establecido el umbral inferior de desarrollo (la temperatura por debajo de la cual el proceso está detenido). Las integrales térmicas están matizadas por otros factores como el período de protandria, el de oviposición, la duración de la puesta y otras variables climáticas como la temperatura y humectación, y su relación con la puesta y la inducción a la diapausia por el fotoperiodo.

El modelo base ha sido desarrollado en la región de Toulouse (Francia) por Touzeau en 1981 y necesita ser adaptado a otras condiciones geográficas. Tiene en cuenta los grados-día desde el 1 de enero para el primer vuelo; la puesta de la 1ª generación (condicionada por la protandria, previposición, longevidad de hembras, duración de la puesta, importancia de las puestas, escalonamiento de la puesta); la incubación de huevos; la evolución larvaria y ninfosis; la diapausia; el segundo vuelo; la puesta de 2ª generación (incubación, evolución, diapausia y ninfosis); el tercer vuelo; la puesta de 3ª generación y la incubación de huevos.

Desde el punto de vista práctico se usan unos grados-día fijos para predecir el máximo de vuelo de las tres generaciones (Fig. 2), encontrándose habituales discrepancias con los datos de campo.

El empleo de los grados-días nos muestra relaciones interesantes, como es p.ej. la correlación estrecha entre estos valores y el porcentaje de población de polilla (Fig. 3).

La Figura 4 indica cómo para la mayor parte del período de presencia de adultos las temperaturas son adecuadas.

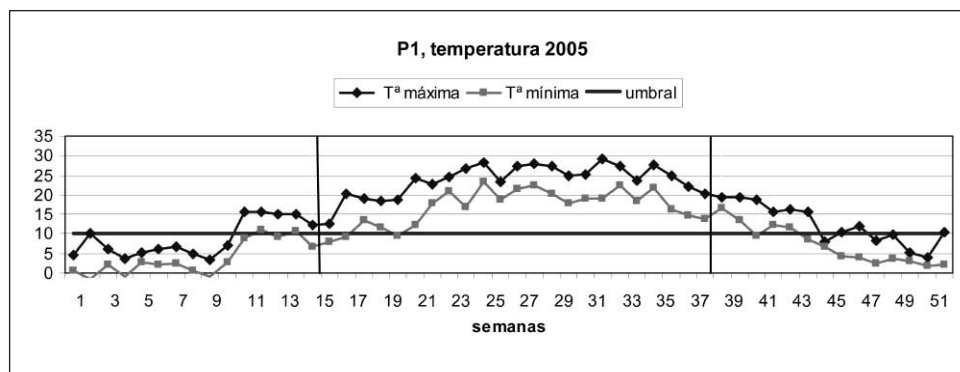


Figura 4. Umbrales de temperatura para la polilla de la vid en 2005 en los Arribes. Las barras verticales engloban el período de actividad de adultos detectado.

Posteriormente ha habido numerosas adaptaciones del modelo de Touzeau buscando la validación para zonas vitícolas muy diversas. En todo caso el uso de esta herramienta a la hora de tomar decisiones proporciona información cualitativa y debe siempre ir acompañado de las observaciones en campo.

RECOGIDA DE DATOS CLIMÁTICOS

Como se afirmó anteriormente la distancia entre el punto de recogida de datos climáticos y las cepas es un factor de distorsión. Además de la propia variación espacial se da el hecho de la existencia de un microclima en los cultivos, que actúan como barrera al viento, mantienen la humedad y disminuyen la insolación, factores que influyen directamente en plagas y enfermedades.

Los datos recogidos deben, por tanto, ser lo más próximos a los existentes en el lugar en el que se está desarrollando la afección, por lo que las estaciones meteorológicas que los registran deben tener unas condiciones particulares en función de cada cultivo sobre el que se instalen.

En el caso de carecer de una estación meteorológica propia se pueden usar los datos de las redes de estaciones públicas existentes. Las modernas tecnologías nos permiten crear una estación virtual en punto deseado, extrapolando los datos de estaciones reales próximas.

La validación se puede considerar terminada una vez que los resultados aportados por el modelo coincidan con el desarrollo real de la afección, con un nivel de fiabilidad preestablecido. El error cometido por el modelo se puede clasificar cualitativa-

mente en dos tipos; por exceso al dar aviso a pesar de no haber enfermedad o por defecto, al no dar aviso a pesar de haber enfermedad. A la hora de validar el modelo hay que tenerlo en cuenta, ya que a priori parece preferible que el modelo advierta por el lado de la seguridad, aún a riesgo de convertirse en un modelo catastrofista.

Por otra parte el aviso se debe dar con la antelación que dé un margen de tiempo al viticultor para realizar el tratamiento fitosanitario. En función de la tecnología que se aplique y del medio en el que se transmita la información habrá que advertir del riesgo con más o menos antelación.

DIFERENCIAS ENTRE LA UTILIDAD QUE APORTAN LOS MODELOS PARA CADA AFECCIÓN

En el caso del oidio, que en Castilla y León es una enfermedad que se trata de forma sistemática, se pueden ahorrar tratamientos fitosanitarios ya que el modelo nos informa de la inexistencia de riesgo en fechas en la que habitualmente se realizan los mismos.

En el caso del mildiu ocurre lo contrario, ya que en la mayoría de las zonas de Castilla y León aparece con una frecuencia de 8-10 años, sorprendiendo a viticultores, técnicos y sector comercial, por lo que los modelos podrán advertir de la existencia de la enfermedad antes de que los síntomas visibles anuncien su ataque con consecuencias catastróficas.

Hay que destacar que estos modelos trabajan sobre datos ciertos que ya se han producido y que su

objetivo no es la predicción de un futuro, sino la traducción de los datos climáticos a datos biológicos de desarrollo de una enfermedad. En el caso de la botrytis, sin embargo, sí que se pueden utilizar las previsiones meteorológicas calculando la fecha de vendimia y el riesgo de aparición de la enfermedad hasta esa fecha para así poder determinar la conveniencia del tratamiento antibotritico, que siempre debe respetar un plazo de seguridad.

En el caso de lobesia el modelo se constituye en una herramienta de apoyo a la toma de decisiones, basadas igualmente en las observaciones de campo.

CONCLUSIONES

Este breve recorrido por los modelos empleados en el seguimiento de algunas plagas y enfermedades de la vid, permite obtener una mejor perspectiva del hecho y extraer algunas conclusiones:

1. Los modelos pueden estar mejor o peor ajustados a la realidad, variando esta fiabilidad entre los años.
2. Es necesario un proceso de adaptación y validación de los modelos disponibles cuando se quieran aplicar a condiciones distintas a las de su creación.
3. El uso de los modelos se plantea como una herramienta de apoyo, pero nunca exclusiva. El seguimiento habitual de los cultivos y de sus incidencias sigue siendo estrictamente necesario.

AGRADECIMIENTOS

La parte experimental de este estudio se ha desarrollado al amparo del programa Interreg III-A quedando encuadrado en los proyectos MOABEPE / SP2.E37 / 02: "Identificación de los agentes patógenos y beneficiosos de los principales cultivos de las regiones fronterizas Tras Os Montes y Castilla y León para la realización de estrategias de control razonadas" y PIREFI/SP2.E82/03, "Estudio sobre protección integrada y recursos filogenéticos en cultivos tradicionales de las regiones de Tras os Montes y Castilla y León". Detrás de estos proyectos hay una larga lista de personas implicadas. A todos ellos gracias.

BIBLIOGRAFÍA

- Blaeser M y Weltzien HC. 1978. The importance of sporangia formation, distribution and germination in *Plasmopara viticola* epidemiology. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch.* 85 155-161.
- Coscollá, R. 1997. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.). Generalitat Valenciana. Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación. 613 pp.
- DOGC. Diario Oficial de la Generalitat de Catalunya. *ORDEN AAR/213/2008, de 6 de mayo, por la que se convocan los premios para la rápida detección del mildiu de la vid correspondientes al año 2008.*
- Goidanich, G. 1964. *Manuale di Patologia Vegetale.* p. 333. Edizioni agricole Bologna, Italy.
- Gubler, W. D. y C. S. Thomas. Control of grapevine powdery mildew using the UC Davis Powdery Mildew Risk Assessment Model. In: *Proceedings of the Third International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew.* Loxton, South Australia, Mar. 21-28, 1998. SARDI. Research Series No. 50: 133-134.
- Müller K. y Sleumer H. 1934. Biologische Untersuchungen über die Peronosporakrankheit des Weinstocks mit besonderer Berücksichtigung ihrer Bekämpfung nach Inkubationsmethode. *Z Wiss Landwirtsch* 79:509-576.
- Pérez-Sanz, R. Manzano, Y. Santiago, L. De La Iglesia, G. Campillo, C. Alberte, L. Miranda, J.S. Juárez, I. Armendáriz. 2008. Metodología para la Validación de Modelos de Desarrollo asociados al clima para el seguimiento del Mildiu, Oidio y Podredumbre Gris en Viñedos de Castilla y León. *Revista ITA*
- Ruiz Castro, A. 1943. Fauna entomológica de la vid en España. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas.* Madrid.
- Santiago Y. *et al.* 2007. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.) en Castilla y León: años 2000 a 2006. Publicaciones del ITACYL.
- Stelwaag, F., 1929. Neuere Erfahrungen in der biologischen Bekämpfung schädlicher Insekten. *Verth deuts. Ges. angew Ent.* 7 Mit. 31, 15-32.
- Strizyk, S. 1983. Modèle d'Etat Potentiel d'Infection. Application à *Plasmopara viticola*. *ACTA*, Paris. Association de Coordination Technique Agricole, Maison Nationale des Eleveurs, 1-46.
- Thomas CS, Gubler WD y Bettiga L. 1994. *Uncinula necator* ascospore release, viability and infection in field conditions in California. *Phytopathology* 81, 1182.
- Touzeau J. 1981. Modélisation de l'évolution de l'Eudemis de la Vigne pour la région Midi-Pyrénées. En : *Lutte Intégrée en Viticulture, IV Réunion plénière.* Gargnano, Italia, 10 al 12 de marzo de 1981. P: 26-30.

RECUPERACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VARIEDADES MINORITARIAS DE VID

José Antonio Rubio Cano

Doctor Ingeniero Agrónomo. Dpto. de Viticultura. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León

INTRODUCCIÓN

La viticultura de España y de Castilla y León evolucionó con un material vegetal que no tuvo problemas graves de conservación, (llevada a cabo en el propio viñedo, mediante su cultivo), hasta el siglo XIX. En aquel momento comenzó la aparición de varios problemas que redujeron notablemente las producciones durante los años centrales de dicho siglo. Los problemas se derivaron de la aparición de dos enfermedades terribles en aquel momento: el oídio y el mildiu, a las que se combatió intensamente y se intentó controlar, lográndose algunos años después. Sin embargo, fue a final del siglo cuando apareció una terrible plaga que cambió la viticultura europea para siempre: la filoxera.

La plaga arrasó progresivamente los viñedos de los distintos países de Europa, y España tampoco se libró de ella puesto que de manera progresiva los viñedos resultaron afectados en todo el país. Por otro lado, con la desaparición de tanta superficie de viñedo, probablemente se perdieron para siempre algunas variedades de vid que se habían cultivado hasta entonces. El problema se trató de solventar por diversos medios (productos químicos, plaguicidas, hibridaciones interespecíficas), que no resultaron satisfactorios, y finalmente se logró la solución a partir de la utilización como parte subterránea, de las cepas de especies americanas resistentes a la plaga.

A finales del siglo XIX, cuando la filoxera avanzaba por Europa causando la desaparición de miles de hectáreas de viñedo, además del enorme perjuicio y pérdidas económicas se producía a la vez una importante pérdida de material vegetal autóctono (posiblemente, muchas variedades locales). Esta pérdida, que pasaría más inadvertida frente a los problemas económicos ocasionados, suponía un problema que no se había producido con tal magnitud hasta entonces, como fue la fortísima erosión genética respecto al material de vid existente previamente hasta ese momento. Sin embargo, algunos viticultores y determinados científicos se percataron

de la gravedad del problema, pues no existía en general la conciencia actual de conservación. Se inició así la conservación e identificación de variedades autóctonas de vid en Europa y en España. La atención por la conservación que surgió en aquellos momentos, en colecciones de diverso tipo y con distinta envergadura, ha ido ganando importancia hasta llegar en la actualidad en modos de conservación más sofisticados, como son los Bancos de Germoplasma de Vid, u otro tipo de colecciones bien preparadas y organizadas.

En las últimas décadas, el sector vitivinícola ha gozado de un gran dinamismo, que entre otros aspectos ha provocado nuevas plantaciones con variedades muy difundidas, en general con menor variabilidad genética. Se van perdiendo o aislando un importante número de variedades que han sido relegadas en general, en unos años en que se apostó por variedades más productivas, a mediados del siglo pasado, o por variedades más reconocidas como ocurre en la actualidad. Por lo tanto se está produciendo una importante erosión genética, (pérdida de variabilidad), tanto intravarietal como intervarietales en la vid.

1. VARIEDAD CULTIVADA O CULTIVAR

Antes de continuar con procesos que conciernen a la recuperación de variedades, es necesario plantear la identidad del material con el que se trabaja. Se puede considerar como variedad, en sentido amplio, el conjunto de individuos, de genotipos, que tienen en común caracteres morfológicos y a veces también tecnológicos, y a su vez son diferentes de otros, que inducen a designarlos con el mismo nombre.

El Reglamento Técnico de Control y Certificación de Plantas de Vivero de Vid (RD 208/2003, BOE 25/II/2003 y Orden APA/2474/2006, BOE 31/VII/2006), define variedad, como un conjunto vegetal de un único taxón botánico, del rango más

bajo conocido, que pueda: definirse mediante la expresión de los caracteres resultantes de un determinado genotipo o de una determinada combinación de genotipos; distinguirse de cualquier otro conjunto vegetal mediante la expresión de uno de esos caracteres, como mínimo; y considerarse un entidad que por su aptitud para ser reproducido sin cambio alguno.

En viticultura, las variedades cultivadas no son variedades puras, ya que a lo largo de la historia han tenido lugar cruzamientos naturales, selecciones por parte de viticultores, mutaciones somáticas que han sido viables y posteriormente se han implantado, así como otros procesos culturales y naturales. Por tanto, podemos considerar a las variedades que se cultivan en los distintos países vitivinícolas como variedades población, con mayor o menor variabilidad intravarietal dependiendo de su historia a lo largo del tiempo. Tal como indicaron Ribéreau-Gayon y Peynaud (1982) una de las explicaciones de la variabilidad intravarietal es el origen policlonal de las poblaciones de cepas al que se ha aludido anteriormente, aunque las cepas de una misma variedad mantengan en las viñas una sorprendente homogeneidad fenotípica. Sin embargo, cuando se procede a un estudio más detallado de las características morfológicas, se encuentran ligeras diferencias entre algunas plantas de la misma variedad, ya que cuando las cepas están dispersas en distintas parcelas y en distintos ámbitos mediambientales, se produce una cierta variabilidad condicionada por el medio en cuanto a detalles de vigor o de intensidad en algunas características, como la intensidad de color en la sumidad, la presencia de mayor o menor pilosidad en distintos órganos, el tamaño de las hojas, de las bayas, pero siempre dentro de las características generales de esa variedad.

1.1. Variedades minoritarias

Se puede establecer una cierta clasificación entre las variedades dependiendo de su extensión y su origen, siempre por supuesto a riesgo de equivocarse y de no ser exhaustivo en el análisis. Así, dependiendo de la amplitud de su cultivo y de la zona vitivinícola determinada, se puede hablar de variedades muy extendidas, incluso en otros países y continentes de donde son originarias, o que incluso no se pueda precisar dicho origen y su cultivo esté ampliamente extendido. Es el caso de algunas varie-

dades europeas, como Cabernet Sauvignon, Pinot Noir, Chardonnay, Gewurztraminer, que en España se consideran foráneas.

Se puede distinguir otra categoría de variedades que se cultiven en un área determinada, más o menos extensa, incluso desde antes de la invasión de la filoxera, pudiéndose pensar que son originarias de esa zona, y que se han denominado habitualmente variedades autóctonas.

En el caso de las variedades autóctonas, es muy difícil establecer esa categoría para un gran número de variedades, puesto que es difícilísimo para muchas de ellas poder establecer su origen en una zona determinada. Por tanto se puede considerar de manera más acertada el término de variedades tradicionales, siempre en referencia a una zona vitivinícola concreta, como aquellas variedades cultivadas en dicha zona, adaptadas durante siglos a las condiciones de ese lugar, y que los viticultores han utilizado y conservado porque satisfacían sus expectativas: en particular, que producian y vegetaban correctamente en ese lugar concreto. En el caso de variedades (autéctonas) tradicionales, se podría considerar así las variedades Prieto Picudo, Rufete o Verdejo, pues están claramente diferenciadas desde gran antigüedad en sus zonas de cultivo.

Por último, se pueden distinguir variedades que se han cultivado desde hace muchos años en una zona, pero que por diversas circunstancias su cultivo no se ha extendido ni se cultivan en otros lugares, y en la actualidad se cultivan contando con pocas hectáreas o con cepas mezcladas con las de otras variedades en los viñedos, serían las variedades minoritarias, que dependiendo de la extensión de su cultivo pueden ser incluso locales. En Castilla y León se han localizado un gran número de este tipo de variedades, como Bruñal, Estaladiña, Tinto Jeromo o Verdejo Serrano.

Las variedades tradicionales muy localizadas en un lugar determinado, presentan diversos problemas que se resumen en el riesgo de su propia desaparición. La presión de los mercados y de los vinos producidos por variedades conocidas y apreciadas es muy fuerte sobre estas variedades, y en general en las nuevas plantaciones se sustituyen estas variedades minoritarias por otras más comerciales. Se añade otro problema, y es que muchas de estas variedades no están a menudo identificadas correc-

tamente, y frecuentemente no están reconocidas como variedades en el Registro de Variedades Comerciales (Chomé *et al.* 2003), por lo cual no pueden elaborarse comercialmente.

Se añade a este peligro de desaparición, que se produce una sostenida erosión genética de la vid, al perderse genotipos con determinadas cualidades, más o menos apreciadas según la época y los criterios, pero que se resume en pérdida de variabilidad que existe o existía. Por tanto, las variedades minoritarias constituyen una reserva de variabilidad genética de posible potencial futuro y de valor incalculable que hay que conocer y preservar.

1.2. Perspectivas en Castilla y León

En lo que se refiere a las posibilidades de localizar y recuperar variedades minoritarias en Castilla y León, se presenta una amplia gama de posibilidades, ya que esta región presenta gran diversidad orográfica, gran diversidad edafoclimática, y fruto de las citadas características diversas, cuenta con numerosas zonas vitivinícolas diferentes, ya que la vid es un cultivo muy extendido por toda la región. Se añade otro importante hecho que ha aumentado la riqueza varietal de la vid en Castilla y León, que es la existencia de varias rutas de comunicación y de peregrinación importantísimas (Camino de Santiago, Vía de la Plata, otras), que han favorecido los intercambios de material vegetal, su mezcla y su evolución en las comarcas y terrenos donde se asentaron, incluso hace siglos.

No obstante, también existe gran confusión en la nomenclatura, con la existencia de numerosas sinonimias y bastantes homonimias, que en un proceso bien planificado y bien llevado a cabo se deben ir resolviendo poco a poco.

2. RECUPERACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VARIEDADES MINORITARIAS DE VID

En las dos últimas décadas, y a la vez que se producía una intensa actividad y desarrollo en algunas zonas vitivinícolas españolas, se tomó en consideración de manera decidida la recuperación e identificación de variedades tradicionales y minoritarias, con programas y planes estatales y regionales de recuperación y conservación de las mismas.

En general, las instituciones y equipos de investigadores y técnicos que han iniciado trabajos de recuperación de variedades de vid, han seguido un proceso básico y común que consta de diferentes fases: localizar cepas pertenecientes a variedades tradicionales y minoritarias; identificar las que realmente son minoritarias y tienen interés por conservarse, descartando aquellas que sean cultivadas en otras zonas y cuenten con extensión de cultivo suficiente; y conservar las que se han considerado interesantes del mejor modo posible, que puede ser, atendiendo a la preparación y sofisticación de la conservación, desde parcelas y colecciones con distinta precisión en su identificación, hasta Bancos de Germoplasma de vid con controles muy rigurosos, desde el lugar de procedencia de cada accesión hasta la identificación ampelográfica y molecular.

Por último, a partir del momento en que se alcanza la última fase, se abre un posible proceso de utilización de las variedades, o de difusión, llegando incluso la posibilidad, si el número de individuos originales y la variabilidad de la variedad lo permite, a entrar en un posible proceso de Selección Clonal, que sería una garantía para la conservación y seguramente para el uso y la difusión de la variedad.

2.1. Procedimiento de trabajo

2.1.1. Prospección de la zona o zonas vitivinícolas

La prospección bien llevada a cabo requiere una planificación previa y un repaso de fuentes bibliográficas y de contactos directos con técnicos y viticultores de la zona. La historia de la zona, sus características orográficas y su desarrollo nos indicarán también si puede existir un número importante de variedades minoritarias.

Como ejemplo, en los trabajos llevados a cabo en Castilla y León por el Dpto. de Viticultura del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), ha constituido un importante punto de consulta la lista de variedades prefiloxéricas citadas por García de los Salmones (1914) en todas las provincias de la región.

Los pasos a seguir son los siguientes:

- Localización de parcelas con alta heterogeneidad varietal, que se encuentren dispersas geográficamente, en distintos lugares con condiciones edafoclimáticas distintas.

- Cepas. Localización visual in situ, de cepas a priori de variedades minoritarias, con técnicos, el viticultor propietario y otros de la zona, de tal manera que el nombre de cada posible variedad sea reconocido por viticultores y técnicos de manera unívoca. Se elaboran croquis exactos de la situación de cada cepa de cada variedad, y se procede al etiquetado de las cepas con el permiso del propietario de la viña. Se tratará en muchos casos de variedades con escasos individuos y dispersos en distintas parcelas, tratándose de localizar y marcar un número importante de cepas de cada posible variedad en distintas parcelas, y varios individuos separados entre sí dentro de la parcela, buscando en todos los casos la mayor variabilidad posible.

En este punto es estrictamente importante la escrupulosidad en la nomenclatura, de tal modo que varios técnicos y viticultores de distintas localidades denominen con el mismo nombre a la misma posible variedad, y por supuesto que el nombre se reconozca claramente y de manera unívoca y responda al que se usa en la zona. Por tanto, para avanzar a la siguiente fase, debe producirse y escogerse la unificación de la nomenclatura en la prospección para cada variedad.

En ese momento se procede a descartar las sinonimias claras y a excluir variedades que aunque tengan un nombre local distinto, realmente correspondan a variedades ampliamente cultivadas en el entorno o en otras zonas vitivinícolas. Se trata de un trabajo laborioso, ya que en todas las zonas vitivinícolas existe una gran proliferación de nombres, muchas sinonimias y algunas homonimias, ya que en el cultivo la vid, por su fácil propagación vegetativa, ha existido un intenso traslado de material de unas comarcas a otras.

Los nombres que se otorgaban al trasladar el material podían obedecer a errores en la grafía, a la zona de procedencia, a la persona que traía el material, o a características de la propia variedad, como la brotación, el color de hojas o pámpanos, el color o tamaño de la baya, así como a otras características peculiares de cada variedad.

A modo de ejemplo, se citan a continuación algunos nombres de variedades localizadas en los trabajos de prospección en Castilla y León:

Albillo, Aragonés, Blanco de España, Castellana Blanca, Gajo Arroba, Juan el Herrero, Redondal, Rojal, Temprano, Temprana Blanca, Teta de Cabra, Teta de Vaca, Tinta Basta, Tinta Fina, Tinto Jeromo, Tinto Madrid, Valenciana Blanca, Valenciana Tinta, Verdal, Verdejo Colorado, Verdejo Serrano.

2.1.2. Identificación

Antes de seguir adelante en el proceso, y con el fin de evitar posibles interferencias por parte de virus en alguno de los descriptores morfológicos que se estudiarán y para conservar y multiplicar posteriormente cepas totalmente sanas, se realiza el test serológico E.L.I.S.A. frente a los virus: entrenudo corto infeccioso (GFLV), enrollado serotipos 1, 2, 3 y 6 (GLRaV-1, 2, 3 y 6), jaspeado (GFkV) y mosaico arábico (ArMv), descartando los individuos positivos.

Se procede a partir de ese momento a la descripción ampelográfica a partir de los caracteres determinados por organismos oficiales internacionales (OIV y UPOV) durante al menos 2 años, frecuentemente 3 años. Paralelamente, se completa la descripción con una ficha detallada de cada posible variedad, con fotografías de la sumidad, de la hoja joven, del haz y del envés de la hoja adulta, del racimo y de la baya.

Se realiza la identificación molecular a partir de los marcadores moleculares denominados microsatélites (STMs). En general se realiza a partir de 6 microsatélites VVS2; VVMD5; VMD7; ssrVrZAG47; ssrVrZAG62; ssrVrZAG79, aunque en la actualidad y por parte de organismos oficiales se ha ampliado a 9 microsatélites.

La combinación de ambos métodos es precisa y necesaria, ya que además de la identificación molecular por medio de los microsatélites citados, es necesario acudir a la confirmación visual y ampelográfica en campo, y contrastar los resultados obtenidos por la caracterización genética. Como ejemplo, se citan a continuación algunas variedades cuyos microsatélites resultaron idénticos dos a dos, pero en las cuales varios descriptores ampelográficos, fundamentalmente el color de la baya, resultaron diferentes, por lo que resultan ser variedades distintas. Son Garnacha Tinta, distinta a Garnacha Rosa; Tinta de Toro (Tempranillo) distinta a Tinta de Toro Blanca, y Chasselas Dorée distinta a Chasselas Rose.

En la figura 1 se muestran las principales zonas vitivinícolas de Castilla y León, en la mayoría de las

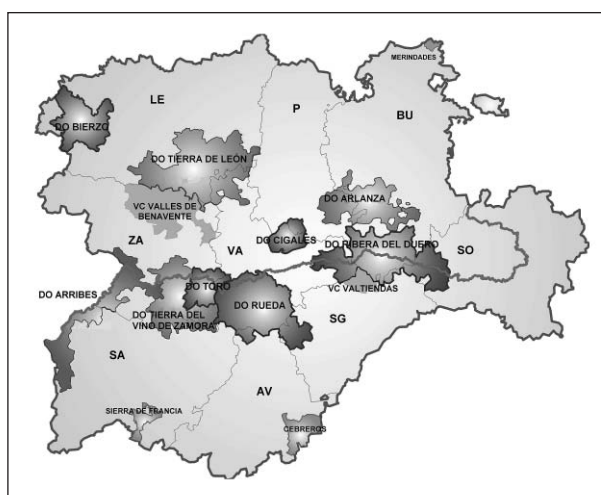


Figura 1. Principales zonas vitivinícolas de Castilla y León.

cuales se han llevado a cabo trabajos de prospección e identificación de variedades minoritarias por parte del ITACyL.

En referencia a la D.O. Ribera del Duero, se han obtenido algunos resultados, que se citan a continuación.

- * Se ha resuelto la homonimia que existía con la variedad denominada Albillo, cultivada preferentemente en Cebreros, Cigales y Ribera del Duero. Se trata de dos variedades totalmente distintas que se denominaban con el mismo nombre (Albillo). La variedad que se cultiva en Cigales y Ribera del Duero es la variedad Albillo Mayor, y la variedad que se cultiva en Cebreros es Albillo Real. Albillo Mayor y Albillo Real son dos variedades distintas que como tales están recogidas en el Registro español de variedades comerciales (Chomé *et al.* 2003).
- * Por otro lado, se han localizado entre otras algunas variedades (Pirulés Dorado, Pirulés Verde, Rojal, Temprana Blanca, Valenciana Tinta) que han resultado ser sinonimias de otras variedades conocidas. Son las siguientes:
 - Pirulés Dorado, Pirulés Verde, Rojal, es la misma variedad, y corresponde a la variedad Alarije (cuya sinonimia es Malvasía Riojana).
 - Valenciana Tinta es la variedad Bobal.
 - Temprana Blanca es la variedad Chasselas Dorée.

Por otro lado, para el conjunto de las zonas vitivinícolas de Castilla y León en las que se han realizado

prospecciones, que son las DDOO Arlanza, Arribes, Bierzo, Cigales, Ribera del Duero, Rueda, Tierra de León, Tierra del Vino de Zamora y Toro, la zona de Vino de Calidad Valles de Benavente y las comarcas Cebreros, Las Merindades y Sierra de Francia, los resultados obtenidos de forma general se muestran en la tabla 1.

	Nº cepas marcadas	Nº parcelas	Variedades localizadas	Variedades únicas
Total	686	203	183	26

Tabla 1. Número total de cepas escogidas y marcadas, de parcelas, de variedades minoritarias localizadas y de variedades no citadas ni identificadas anteriormente (posibles genotipos únicos) de las prospecciones llevadas a cabo por el Dpto. de Viticultura del ITACyL.

A la vista de los datos y resultados y a modo de resumen, se puede afirmar que en las zonas vitivinícolas de Castilla y León se encuentra todavía un patrimonio genético de inmenso valor, que es necesario en primer lugar conocer, para posteriormente conservar, y si es posible y el sector así lo requiriese, volver a utilizar. Existe un cierto número de variedades no descritas ni referenciadas anteriormente, que podrían constituir genotipos únicos. Algunas de las variedades identificadas constituyen un material de posible utilización y de diferenciación en sus zonas a partir de su descripción y conservación controlada.

No obstante, existe también un amplio número de sinonimias y algunas homonimias, a consecuencia del intercambio de material vegetal sin precisión en su nomenclatura, muchas de las cuales, a partir de la identificación de las variedades se han desentrañado ya o están en vías de aclararse, lo cual contribuirá a evitar confusiones que puedan perjudicar al sector vitivinícola.

3. CONSERVACIÓN DE VARIEDADES MINORITARIAS DE VID

La última fase del proceso, una vez que se ha identificado la variedad minoritaria, se está seguro de su correcta sanidad frente a virus, y se ha considerado que es importante su conservación, consiste en tomar varas o yemas de varias cepas de la variedad y conservarlas en el lugar elegido, que puede ser en macetas en umbráculos o en parcelas en campo.

Es muy posible que se esté de acuerdo en conservar, pero es necesario tener en cuenta que en el caso de de leñosas y en particular en vid, se trata de un mantenimiento muy costoso en cuanto a medios técnicos y humanos. Por lo tanto es pertinente hacer algunas preguntas para enfocar de manera correcta la adecuada conservación de un material genético valioso, y de tal manera que perdure en el tiempo: ¿Quién debe conservar?; ¿Con que fines?; ¿Se obtiene o se obtendrá algún beneficio?; ¿Merece la pena conservar mal?; ¿Es riguroso?

Según dimensión y objetivos, existen distintos tipos de colecciones y de parcelas de conservación, como pueden ser colecciones particulares en viñedos adyacentes a explotaciones, en el entorno de bodegas, etc., o colecciones en centros oficiales, escuelas de capacitación agraria, fincas de entidades, etc. En los casos anteriores además de conservar puede haber un interés de mostrar y en algunos casos de caracterizar.

El modo más completo y riguroso de conservación de material de vid es en los Bancos de Germoplasma de Vid, cuyo objetivo es conservar, ordenar, identificar, diferenciar y caracterizar de modo científico el material genético de vid que pueden ser variedades, portainjertos, híbridos u otros materiales del género *Vitis* de interés. Los B.G.V. tienen normas precisas, documentadas por organismos internacionales (IPGRI, UPOV y OIV 1997) dentro de la conservación de los recursos fitogenéticos.

El Banco de Germoplasma de Vid de Castilla y León (BGV-CyL) conserva gran parte de las variedades a las que se ha hecho alusión anteriormente, así como un amplio conjunto de clones de variedades tradicionales de Castilla y León. En la actualidad se sigue incorporando material de vid de manera continua, por lo que para su pervivencia es necesaria una planificación adecuada con el mantenimiento previsto y posible, la documentación rigurosa en cuanto a nomenclatura, origen y características de cada variedad, una evaluación permanente del germoplasma a conservar, el mantenimiento correcto en cuanto a sanidad de todo el material, y la disponibilidad práctica para multiplicar el material que en un momento concreto demande el sector.

Por otro lado no cabe duda de que la mejor manera de conservar una variedad es su utilización y su cultivo por parte de los viticultores. A partir de un pro-

ceso de recuperación como el que se ha descrito, partiendo de material con las debidas garantías sanitarias, se podría multiplicar material de una determinada variedad y si su calidad lo permite, llegar a difundirse en una o varias zonas.

Por otro lado, si existe la posibilidad, el mejor modo de seguir el proceso de recuperación y utilización de una variedad minoritaria, es enlazar con un proceso de **Selección Clonal**, si la variabilidad inicial de la variedad así lo permite, ya que realmente a largo plazo garantizará la supervivencia de la variedad. En el caso de variedades minoritarias de Castilla y León, tras su localización e identificación, y puesto que presentan una amplia variabilidad intravarietal, las variedades Bruñal, Bastardillo Chico, Rufete y Tinto Jeromo han comenzado un proceso de Selección Clonal.

BIBLIOGRAFÍA

Chomé, P., Sotés, V., Benayas, F., Cayuela, M., Hernández, M., Cabello, F., Ortiz, J., Rodríguez-Torres, I. y Chaves, J. 2003. Variedades de vid. Registro de variedades comerciales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. Madrid (España). 303 pp.

García de los Salmones, N. 1914. Memoria general de las sesiones del congreso y ponencias presentadas. Congreso Nacional de Viticultura. Imprenta Provincial. Pamplona (España), p. 512-533.

Ribéreau-Gayon, J. y Peynaud, E. 1982. Ciencias y Técnicas de la viña. Tratado de ampelología. Edit. Hemisferio Sur, S.A. Buenos Aires (Argentina). 671 pp.

IPGRI, UPOV y OIV. 1997. Descriptores para la vid (*Vitis* spp.). Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales, Ginebra, Suiza / Oficina Internacional de la Viña y del Vino, París, Francia / Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia.

CONTROL GENÉTICO DE CARACTERES DE CALIDAD EN LA VID

José Miguel Martínez Zapater

Doctor en Ciencias Biológicas. Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino. CSIC. Universidad de La Rioja

INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinifera* L.) es la única especie del género *Vitis* que persiste de forma silvestre y cultivada en el área mediterránea. Desde el descubrimiento de la fermentación del zumo de uva y de sus propiedades euforizantes hace más de 8000 años, el cultivo de la vid y la cultura del vino se extendieron por el Mediterráneo desde oriente a occidente. La gran diversidad que muestran las variedades cultivadas de vid con uvas de múltiples formas, colores, sabores y usos, sugiere que en este viaje a occidente los genotipos domesticados inicialmente hibridaron de forma espontánea tanto entre ellos como con las poblaciones silvestres locales. Además, dado que la forma de garantizar el tipo varietal es la multiplicación vegetativa, se observan con frecuencia variaciones somáticas que, si son de interés, son "clonadas" y multiplicadas por el viticultor. Por tanto, las variedades que hoy conocemos son el resultado de la selección que a lo largo de siglos de cultivo han ejercido los viticultores sobre las vides que se han ido generando, mediante hibridación y mutación somática.

A pesar del interés del cultivo de la vid y de su relevancia económica no sólo en la producción vinícola sino también de fruta, existe muy poca información sobre el control genético de los caracteres que son importantes para el productor, el bodeguero o el consumidor. La eficacia en el desarrollo de futuras variedades de uva de mesa o de vinificación, o incluso en la selección de nuevos clones, depende de la información disponible sobre el control genético de los caracteres de interés.

En este capítulo resumiremos la información disponible sobre el origen y la evolución de las variedades de vid que se cultivan en la actualidad, y describiremos el control genético de dos caracteres de la baya, el color y la apirenia, que son importantes para la calidad del fruto en uva de vinificación y en uva de mesa respectivamente. Asimismo, comentaremos la información disponible sobre los mecanismos moleculares que son responsables de la variación genética para estos caracteres.



Figura 1. Lianas de *Vitis vinifera* subespecie *sylvestris* (flechas rojas) en un bosque de ribera en La Rioja.

BIOLOGÍA DE LA VID

La vid (*Vitis vinifera* L.) es la única especie del género *Vitis* nativa de la región euroasiática. Todavía pueden identificarse dos formas de esta especie, una forma silvestre cuyas poblaciones se localizan en humedales y bosques de ribera y que los taxónomos identifican como *Vitis vinifera* subespecie *sylvestris*, y una forma cultivada, que agrupa a las variedades cultivadas, bajo la denominación botánica de subespecie *sativa*. Existe controversia sobre si debe mantenerse esta consideración de subespecies dado que la diferenciación morfológica observada, a la que nos referiremos más adelante, es producto del proceso de domesticación (This et al., 2006), y no de un proceso evolutivo.

Aunque estamos acostumbrados a observar la vid en el viñedo, en la naturaleza las vides presentan un hábito de crecimiento muy distinto. Las vides son lianas leñosas que en los bosques de ribera trepan hasta la canopia del bosque donde florecen y fructifican (Figura 1). Las formas silvestres son dioicas, es decir, existen plantas masculinas con flores unisexuales masculinas, y plantas femeninas con flores femeninas que producen frutos pequeños y negros agrupados en pequeños racimos. La dioecia impide la autofecundación y por ello, todas las plantas de vid son altamente heterocigóticas. Las poblaciones de vides

silvestres son cada vez más escasas y de menor tamaño en la región euroasiática, y en muchas áreas geográficas esta forma silvestre está en peligro de extinción. Ello es consecuencia de la degradación de su medio natural y de la expansión de plagas como la *Phylloxera* y patógenos como el oidio y el mildiu, que además de atacar a la vid cultivada, también contribuyen a diezmar las poblaciones silvestres (Arrigo and Arnold, 2007).

HISTORIA DE LA DOMESTICACIÓN

La historia del proceso de domesticación de la vid se va reconstruyendo en base a restos arqueológicos del uso de esta especie por las poblaciones humanas. Los restos más antiguos pertenecen al Paleolítico superior, y consisten en acumulaciones de semillas de vid que ponen de manifiesto la recolección y el consumo de frutos por parte de poblaciones de cazadores y recolectores (McGovern, 2003). No es hasta el Neolítico cuando se encuentra evidencia de la elaboración de vino en restos de vasijas. Los yacimientos más antiguos en los que se han detectado estos restos son los de Haji Firuz Tepe, en las montañas de la región transcaucásica que se encuentran actualmente en el norte de Irán, y tienen una antigüedad de entre 7400 y 7000 años (McGovern et al., 1986). A partir de estos sucesos primigenios de domesticación, la viticultura se habría extendido por toda Mesopotamia, y hace 5000 años se detecta ya en el antiguo Egipto (McGovern, 2003). Posteriormente, fenicios y griegos, mediante el establecimiento de sus colonias y el comercio en el mar Mediterráneo, y más tarde los romanos, extenderán la cultura del vino y la viticultura en toda la región mediterránea y en Europa central. Existen evidencias arqueológicas de que una vez desarrollado el sistema de reproducción vegetativa por esquejes en la antigua Mesopotamia (Zohary and Hopf, 2000), los plantones de vid domesticados en las regiones transcaucásicas comenzaron a diseminarse primero hacia Egipto y posteriormente hacia Occidente (McGovern 2003). Sin embargo, no se puede descartar que la transmisión de la cultura del vino y la diseminación de genotipos de vid de interés, no fuera también acompañada con sucesos de domesticación local como veremos posteriormente.

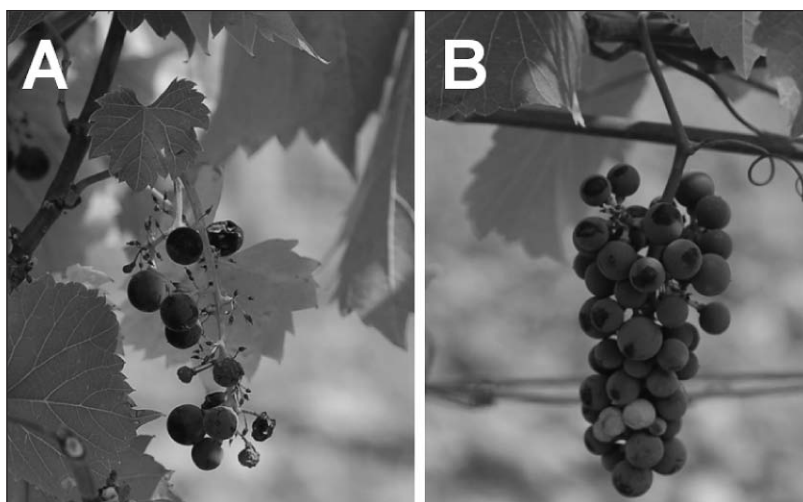


Figura 2. Efecto del sexo de la flor en el cuajado del fruto. A) Genotipo silvestre de flores femeninas. B) Genotipo de flores hermafroditas.

PROCESO BIOLÓGICO DE DOMESTICACIÓN

En el inicio de todo proceso de domesticación, existen una serie de caracteres que se seleccionan de forma automática o inconsciente por el agricultor por el mero hecho de recolectar y volver a sembrar o a plantar el material recolectado. Un avance crucial en la domesticación de las especies leñosas como la vid, fue el desarrollo de la técnica del esquejado, que permite la multiplicación vegetativa (Zohary and Hopf, 2000). En plantas leñosas de tiempo de generación largo, esta técnica permite mantener los caracteres de la planta seleccionada, que si se propagara por semillas, segregarían como consecuencia de la meiosis. Esta tecnología seguramente, permitió propagar un mayor número de plantas femeninas productoras de fruta que masculinas, y fue una herramienta de selección de las primeras variantes que se identificaron en la naturaleza o que aparecieron en viñedos primitivos. Posiblemente el hermafroditismo fue uno de los caracteres que fue seleccionado de forma inconsciente en distintos lugares y genotipos. En flores hermafroditas se asegura la producción de frutos, que no depende de la polinización cruzada (Figura 2). De hecho, la mayor parte de las variedades cultivadas que han llegado a nuestros días son hermafroditas. Otros caracteres como el tamaño de los racimos y de las uvas, han sido seleccionados de forma consciente por el viticultor, que escoge para propagar las plantas más productivas. De igual manera, variaciones que afectan al color, la forma, el aroma o la presencia de semillas han sido

seleccionados conscientemente por los viticultores a lo largo de la historia del cultivo.

Como consecuencia, si comparamos las variedades cultivadas de vid con sus formas silvestres, encontramos cambios morfológicos importantes que afectan al sexo de las flores, al tamaño de bayas y racimos, al tamaño y forma de las hojas, al tamaño y forma de las semillas, al contenido en ácidos orgánicos, en azúcares, o incluso a la capacidad de germinación de las semillas, dado que las formas cultivadas han ido acumulando mutaciones deletéreas que afectan a su capacidad germinativa (This et al., 2006).

GENÉTICA DE LA DOMESTICACIÓN

A la vista de los datos arqueológicos y de la diseminación posterior de material vegetal de vid por todo el Mediterráneo en dirección Este-Oeste, se puede pensar que las variedades de esta especie que han llegado a nuestros días derivan de aquel suceso inicial de domesticación, en lo que se conoce como la hipótesis de Noé (Olmo, 1976). Sin embargo, también cabe proponer que, en los miles de años de historia del cultivo, se hayan producido otros sucesos de domesticación y/o de hibridación de formas silvestres y cultivadas, a lo largo de toda el área geográfica en la que conviven o han convivido poblaciones silvestres y variedades cultivadas (Figura 3). Es lo que se denomina como hipótesis del origen múltiple (Mullins et al., 1992).

Puesto que estas hipótesis generan expectativas distintas con respecto a la variación genética de las vides cultivadas, y a su relación con las poblaciones silvestres a lo largo del área de distribución de la especie, podemos valorar cada una de ellas. Según la hipótesis de Noé, si las variedades actuales derivasen de un único suceso de domesticación y de la posterior diseminación y diversificación de las plantas domesticadas por toda el área mediterránea, cabría esperar que: I) presentaran unos niveles de variación genética menores que el que se encuentra en el conjunto de la especie, II) estuvieran más relacionadas genéticamente con las poblaciones silves-

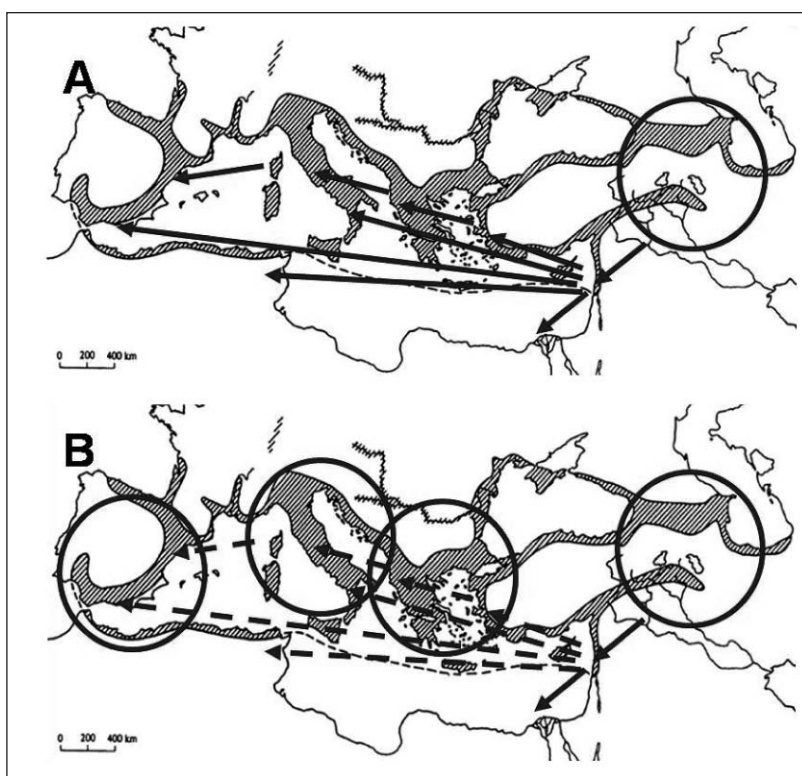


Figura 3. Hipótesis sobre el origen genético de la vid cultivada. A) Hipótesis de Noé. B) Hipótesis del origen múltiple. Los círculos representan posibles sucesos de domesticación.

tres de la región transcaucásica que con otras poblaciones de formas silvestres mediterráneas. Por el contrario, según una hipótesis de origen múltiple, el conjunto de formas o variedades cultivadas debería presentar: I) una diversidad genética muy próxima a la que se encuentra en la especie, y II) las variedades de cada región geográfica estarían más relacionadas genéticamente con las formas silvestres de la zona, que con las poblaciones silvestres de la región transcaucásica.

En realidad, un análisis fenotípico comparativo, da una idea de que la diversidad morfológica de las variedades cultivadas es muy amplia. Así, Negrul identifica tres morfotipos diferenciados o *proles* entre las variedades cultivadas (*occidentalis*, *pontica* y *orientalis*), con distinta distribución geográfica y que podrían representar distintos orígenes (Levadoux, 1956). Además, cuando se utilizan marcadores genéticos nucleares, como microsatélites, se comprueba que las formas cultivadas de una determinada región, tienden a estar siempre más relacionadas entre sí que con las formas cultivadas de otras regiones (Sefc et al., 2000), y también con formas silvestres locales (Grassi et al., 2003).

<p>A</p> <p>Airen Albariño Albillo Cariñena/Mazuelo Garnacha Graciano Macabeo/Viura Mencía Monastrell Moristel Parellada Pinot Noir Prieto Picudo Tempranillo Touriga Nacional Syrah Verdejo Xarello</p>	<p>B</p> <p>Aglianico Batuta negra Bogdanusa Bogos zerva Brujidera Dominga Muscat of Alexandria Treixadura</p> <hr/> <p>Ahmeur bou Ahmeur Aledo Chardonnay Corinfesto Gouais Gamay Italia Merlot Sultanina</p> <p>C</p>	<p>D</p> <p>Aleatico Barbera Cabernet Franc Cabernet Sauvignon Cornalin Gewurztraminer Malvasía Lanzarote Rojal Sangiovese Sauvignon Blanc Semillon Teroldego Trebiano Toscano Vermentino Viognier</p>
---	---	---

Figura 4. Variedades representativas de los cuatro clorotipos más comunes en la vid A, B, C y D.

El estudio de la diversidad genética a nivel del genoma cloroplástico, es el que recientemente ha aportado más información a favor de la hipótesis del origen múltiple (Arroyo et al., 2002 y 2006). El genoma del cloroplasto se encuentra en general muy conservado en la vid, y un amplio análisis de diversidad nucleotídica consiguió identificar ocho clorotipos de los cuales sólo cuatro (A, B, C y D) se encuentran con frecuencias superiores al 5% (Arroyo et al. 2006). Cuando se analiza la presencia de estos clorotipos en poblaciones naturales de vid, desde la Península Ibérica hasta el Oriente Medio, se observa que algunos de ellos tienen una marcada distribución geográfica. Así por ejemplo, el clorotipo A, se localiza en Europa Occidental y en el Magreb en el Norte de África, pero no se ha detectado en Oriente Próximo ni en Oriente Medio, mientras que con el clorotipo C ocurre al contrario.

La distribución de clorotipos en las formas silvestres, permite contrastar las hipótesis sobre la domesticación de la vid analizando los clorotipos de las formas cultivadas en cada región. Así, se observa cómo hasta un 75% de las variedades de vid cultivadas en la Península Ibérica son portadoras de cloroplastos de tipo A, mientras que la gran mayoría de las variedades orientales, entre ellas por ejemplo muchas de las variedades clásicas de uva de mesa presentan el clorotipo C (Figura 4).

El cloroplasto se hereda en la vid por vía materna, por lo que no puede llegar a una forma cultivada vía polinización cruzada con formas silvestres, sino solamente mediante semilla o esqueje procedente de una forma silvestre. Estos resultados soportan por tanto la existencia de sucesos de domesticación secundaria en la región occidental del continente europeo, y más concretamente en la península ibérica (Arroyo et al., 2006).

EL ORIGEN DE LAS VARIETADES ACTUALES

A la vista de lo expuesto anteriormente, la historia de las formas cultivadas de vid que se cultivan actualmente tiene sus raíces en formas silvestres de procedencias tanto orientales como

occidentales. Estas formas se han mantenido y disminuido mediante propagación vegetativa como esquejes. Por otra parte, el manejo del viñedo no siempre ha sido como lo conocemos en la actualidad, en que cada genotipo suele estar claramente parcelado. El cultivo de la vid ha mezclado generalmente distintas formas varietales por motivos históricos, productivos o de uso y es muy posible que en viñedos prefilloxéricos la germinación de semillas y el desarrollo de nuevas plantas de vid a partir de hibridaciones espontáneas, haya sido hasta cierto punto común (This et al., 2006). De hecho, para muchas de las variedades actuales, cuyos orígenes podrían estar en la Edad Media, todavía pueden identificarse las variedades progenitoras de las que descenden por hibridación espontánea. Este origen que se identificó por primera vez, mediante el uso de marcadores genéticos de tipo microsatélite, para la variedad Cabernet Sauvignon, descendiente de Cabernet Franc y Sauvignon Blanc (Bowers and Meredith, 1997). Posteriormente, se han detectado un gran número de variedades, en todas las regiones vitícolas, que parecen estar emparentadas en primer grado (Bowers et al., 1999; Santana et al., 2010). Quizás un caso particularmente interesante es el del origen de las variedades criollas en Sudamérica, a partir de las variedades que fueron implantadas allí en el Siglo XVI (Milla Tapia et al., 2007). Estas variedades, que han podido ser identi-

Variedad criolla	Parental 1	Parental 2
Torrontés Sanjuanino (Argentina)	Listán Prieto	Moscatel de Alejandría
Torrontés Riojano (Argentina)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Criolla San Juanina (Argentina)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Cereza (Argentina, Uruguay)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Viña Antigua Negra (Chile)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Torontel (Chile)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Uva del Padre (Chile)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Criolla Mediana (Argentina)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Rosa del Perú tipo 2 (Perú)	Listán Prieto	M. de Alejandría
Huasquina Pisquera (Chile)	Listán Prieto	M. de Alejandría
País homónimo (Chile)	Listán Prieto	??
Italiona	??	M. de Alejandría
Quebranta (Perú)	Listán Prieto	Negramole

Tabla 1. Pedigrí de las variedades criollas.

ficadas como Listán Prieto, Negramole (ambas sólo cultivadas en las Islas Canarias en la actualidad), y Moscatel de Alejandría, han adoptado diferentes nombres en distintas regiones Sudamericanas y, mediante hibridaciones espontáneas, han dado lugar a variedades criollas de interés en la producción de Pisco y de vinos de calidad (Tabla 1).

Es sólo a partir del Siglo XIX cuando en vid los mejoradores comienzan a realizar cruzamientos dirigidos. Un ejemplo es la generación de las variedades tintoreras a partir de cruzamientos de Henri Bouschet (Viala and Vermorel 1909; Cabezas et al., 2003). Por tanto a partir de selecciones iniciales y posteriores sucesos de hibridación espontánea o dirigida y selección, se ha llegado al desarrollo de las variedades cultivadas que se cultivan actualmente. Este proceso ha supuesto un enorme coste de pérdida de diversidad genética, dado que la especie original prácticamente ha desaparecido como consecuencia de los problemas que se citaron anteriormente, y el número de genotipos varietales en cultivo es cada vez menor. Ello hace que resulte extremadamente importante el mantenimiento del acervo genético de esta especie, tanto de sus formas silvestres como cultivadas, en los bancos de germoplasma.

ORIGEN DE LA VARIACIÓN GENÉTICA

Como hemos visto hasta ahora, el hecho de que las variedades cultivadas de vid tengan un origen genético tan amplio, explicaría en parte la gran diversidad fenotípica que se observa tanto entre variedades de uva de vinificación como de uva de mesa. Si consideramos además que cada variedad es heterocigótica para cerca del 80% de los marcadores moleculares analizados, los fenómenos de recombinación y de segregación cromosómica que se producen en cada cruzamiento, son

suficientes para generar la gran diversidad fenotípica que puede observarse en cada progenie, bien resulte de la autofecundación de una variedad, o del cruzamiento entre dos variedades independientes. De hecho, la mejora genética de uva de mesa se basa en gran medida en la producción de híbridos F_1 y en la selección entre ellos de nuevos fenotipos de interés.

Por otra parte, en la vid, como en otras especies leñosas que se propagan vegetativamente, este sistema de multiplicación permite acumular y mantener

mutaciones que afectan a distintas líneas celulares y que pueden tener efectos importantes en el fenotipo de la planta. Debido a la reproducción vegetativa mediante esquejes o injerto de yemas, tras suficientes ciclos de multiplicación, una variedad es un conjunto de clones que presentan distintas variantes génicas en estado de quimera. Como se muestra en la Figura 5, en el meristemo apical de un sarmiento se pueden distinguir hasta tres líneas celulares (L1, L2 y L3). Estas líneas se mantienen independientes dado que por los planos de mitosis, una célula de una determinada línea siempre da lugar a células de la misma línea. La línea L1 es responsable de la diferenciación de la epidermis de todos los órganos de la planta, y una mutación que se produzca en una célula meristemática L1 puede extenderse a una parte de la planta o a toda la planta y, por multiplicación de

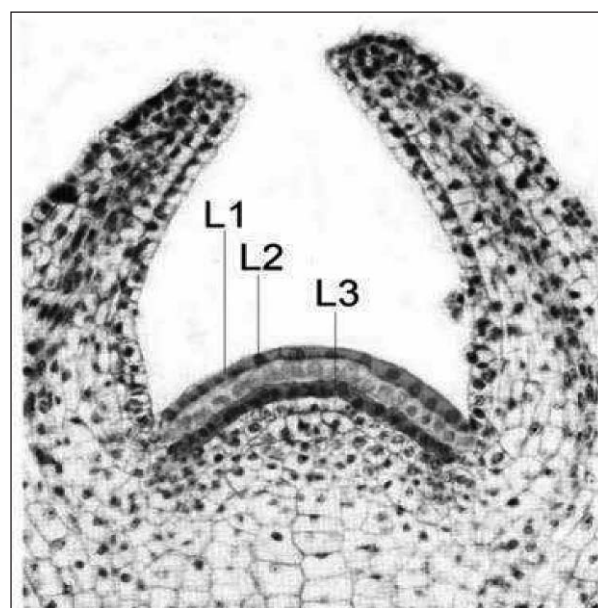


Figura 5. Líneas celulares en el meristemo apical del tallo.

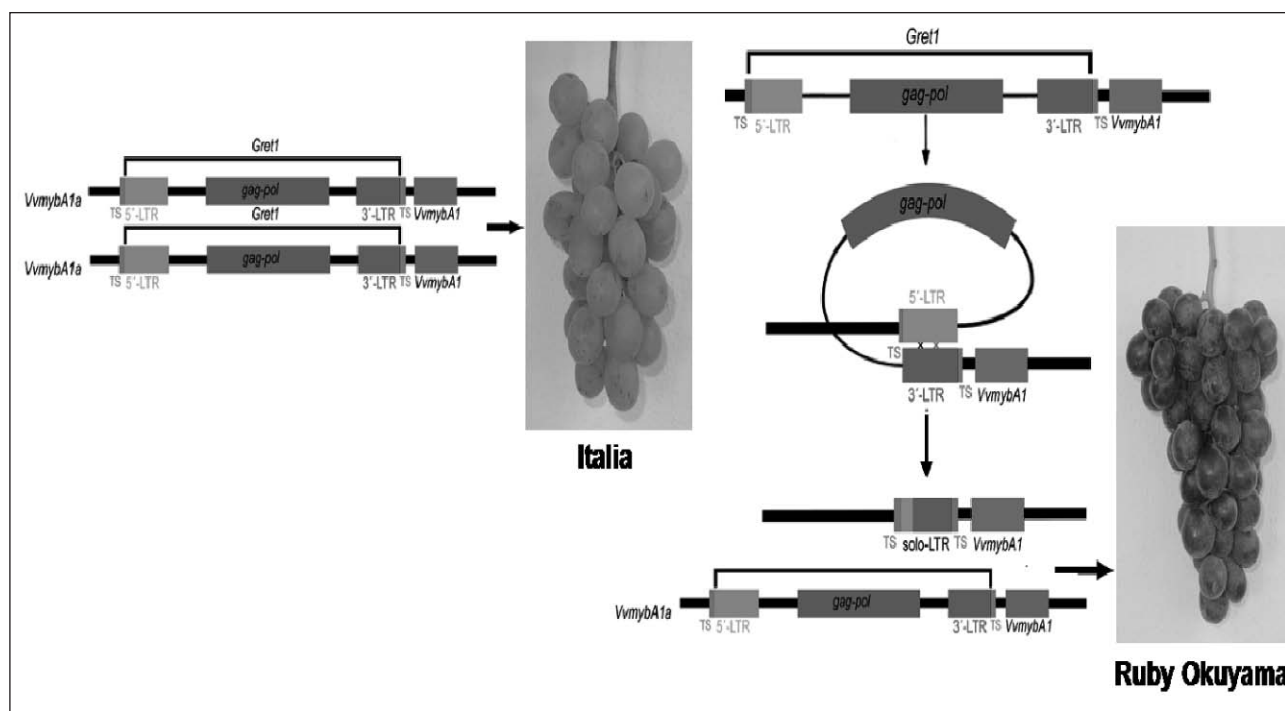


Figura 6. Generación de variantes somáticas de uva roja (Ruby Okuyama) en la variedad blanca Italia. La variedad Italia es homocigota para la inserción de *Gret1* en el promotor de *VvMybA1*. La recombinación de *Gret1* en uno de los dos alelos provoca la salida del elemento retrotransponible dejando detrás un único LTR que permite cierta expresión de *VvMybA1*, que da como resultado un nivel reducido de síntesis de antocianos y una coloración roja.

sus yemas, dar lugar a otras plantas portadoras de la misma mutación. La línea celular L2 es responsable de la diferenciación de algunos de los tejidos celulares internos de los distintos órganos de la planta, como puede ser el mesofilo de las hojas o los gametos. Esta particularidad hace que las mutaciones que se producen en la L2 pueden pasar a los gametos y, a través de ellos, a la siguiente generación sexual de la planta, algo que no ocurre en el caso de que las mutaciones afecten a las otras líneas celulares.

La selección clonal en vid y también en otras especies leñosas, se basa en explotar esta variación espontánea que, independientemente de la línea celular en la que produzca, se puede mantener mediante propagación vegetativa. Como vamos a ver, esta variación que podemos denominar somática, ha estado en el origen de algunas de las variantes génicas ampliamente utilizadas en la mejora genética de la vid y mejor conocidas hasta el momento.

CONTROL GENÉTICO DEL COLOR

El color es uno de los caracteres más conspicuos de la uva y de suma importancia para la elaboración del vino. El color de la uva se debe a la acumulación

de pigmentos antocianos en hollejo o exocarpo de la baya. En la vid existe una gran variación genética para este carácter, no sólo entre distintas variedades sino, frecuentemente, dentro de la misma variedad, como consecuencia de mutaciones somáticas. El análisis del control genético del color de la baya, ha identificado un locus de efecto mayor en el grupo de ligamiento 2 de la vid que explica la mayor parte de la variación fenotípica para este carácter (Lijavetzky et al., 2006). Se trata de un locus complejo constituido por un conjunto de tres genes que codifican factores de regulación transcripcional de la familia MYB que participan en la regulación de la ruta de síntesis de antocianos (Walker et al., 2007). Para dos de estos genes (*VvMybA1* y *VvMybA2*), se ha demostrado su implicación funcional en el color de la baya (Kobayashi et al., 2004; Walker et al 2006). Diversos trabajos han mostrado que las variedades de uva blanca suelen ser homocigotas para mutaciones tanto en *VvMybA1* como en *VvMybA2*. Por otra parte, la presencia de un elemento retrotransponible *Gret1* en la región promotora de *VvMybA1*, y la excisión de la mayor parte de este elemento mediante recombinación de sus "Long Terminal Repeats" (LTRs), permite recuperar

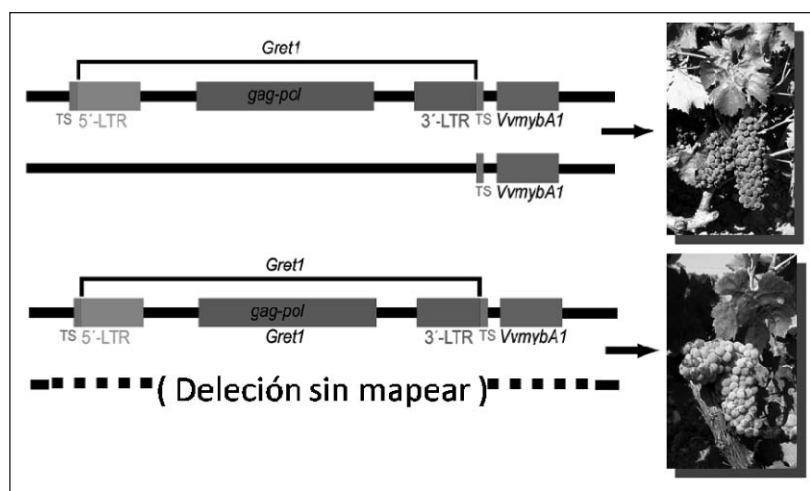


Figura 7. Generación de variantes somáticas de uva blanca a partir de variedades tintas de vinificación. La variedad tinta es heterocigótica para un alelo de inserción de *Gret1* en *VvMybA1*. Como consecuencia de una deleción se pierde el alelo funcional.



Figura 8. Variación en el tamaño de las semillas y esbozos seminales en variedades de uva apirena.

una cierta función de *VvMybA1*, provoca la coloración roja de la piel de la uva. Estas variantes rojas suelen ser variantes somáticas y aparecen con cierta frecuencia en variedades de uva de mesa, o en variedades orientales blancas como la variedad Moscatel de grano pequeño (Figura 6).

Por otra parte, en variedades de vinificación es frecuente encontrar variantes somáticas con pérdida completa del color de la uva, o con uvas de color gris. Esta variación se produce en variedades que son heterocigóticas para alelos nulos en *VvMybA1* y *VvMybA2*, y se deben a la pérdida de los alelos funcionales por deleción. Si la deleción afecta únicamente a la L1 obtenemos el fenotipo gris, mientras que cuando la deleción afecta tanto a la L1 como a la L2 tendríamos un fenotipo de uva blanca (Figura 7). Esta variación somática ocurre de manera espontánea y ha permitido seleccionar variedades blancas en fondos varietales de interés a lo largo de

la historia del cultivo, por ejemplo en Pinot, en Cabernet Sauvignon, Garnacha, Cariñena y más recientemente en Tempranillo (Kobayashi et al., 2005; Walker et al., 2006; Lijavetzky et al. 2008).

CONTROL GENÉTICO DE LA APIRENIA

La apirenia o ausencia de semillas es un carácter de calidad en la uva de mesa. Se conocen dos tipos de apirenia, la partenocarpia y la estenospermocarpia. La partenocarpia consiste en el desarrollo del fruto en ausencia de polinización. Estos frutos carecen de semillas y esbozos seminales aunque presentan el inconveniente de que, en general, son frutos de escaso desarrollo. Se trata de la apirenia de las variedades tipo Corinto que se utilizan para la producción de pasas de pequeño tamaño.

En las variedades que presentan estenospermocarpia, tiene lugar la polinización y la formación de embriones viables. Sin embargo, el desarrollo de las semillas aborta antes de llegar a término y se forman esbozos seminales de distinto tamaño y evolución, dependiendo del genotipo y de las condiciones ambientales. La estenospermocarpia ha aparecido en varias ocasiones como variación somática en distintas variedades de uva de mesa. La más conocida es la de la variedad turca Sultanina, que mediante hibridación sexual se ha utilizado ampliamente para el desarrollo de variedades de uva de mesa sin semillas.

El análisis genético ha permitido confirmar la hipótesis de la existencia de un locus de efecto mayor (*SDI*) (Bouquet y Danglot, 1996), que se ha localizado en el grupo de ligamiento 18 y que explica la mayor parte de la variación en el tamaño de la semilla o esbozo seminal (Cabezas et al. 2006). El alelo de este locus que determina la estenospermocarpia, es un alelo dominante y su efecto se ve modificado por alelos con efectos aditivos en al menos tres loci adicionales con efecto menor, en distintas posiciones del genoma. Prácticamente todas las variedades apirenas de uva de mesa derivadas de programas de mejora genética son portadoras de este alelo dominante en el locus *SDI* que, aunque no se ha identificado el gen o genes res-

ponsables, se puede seguir y seleccionar en los cruzamientos mediante marcadores genéticos ligados genéticamente.

FUTURO

La mayor parte de los caracteres agronómicos y de calidad que pueden ser de interés en la mejora genética de la vid, son caracteres cuantitativos y su control genético es más complejo del de los caracteres aquí descritos. Esta complejidad y la necesidad de analizar progenies de vid lo suficientemente grandes hace que, hasta el momento, exista poca información sobre el control genético de estos caracteres excepto en aquellos casos en los que se ha podido identificar la presencia de loci de efecto mayor, como el color o la apirenia que acabamos de describir, o en algunos otros casos relativos a genes de resistencia a plagas y enfermedades (Martínez Zapater et al., 2010). Afortunadamente, el conocimiento del genoma de la vid está impulsando la investigación en la genética de esta especie, y es de esperar, que en los próximos años aumente exponencialmente el conocimiento del determinismo genético de los caracteres relevantes en esta especie. Esta información facilitará y acelerará el diseño y ejecución de programas de mejora genética para el desarrollo de nuevas variedades y clones.

BIBLIOGRAFÍA

- Arrigo N, Arnold C (2007) Naturalised *Vitis* rootstocks in Europe and consequences to native wild grapevine. *PLoS ONE* 2(6): e521.
- Arroyo García A, Lefort F, de Andrés MT, Ibañez J, Borrego J, Jouve N, Cabello N, Martínez Zapater JM (2002) Chloroplast microsatellite polymorphisms in *Vitis* spp. *Genome* 45: 1142-1149
- Arroyo-García R, Ruiz-García L, Bolling L, Ocete R, López MA, Arnold C, Ergul A, Söylemezo lu G, Uzun HI, Cabello F, Ibañez J, Aradhya MK, Atanassov A, Atanassov I, Balint S, Cenis JL, Costantini L, Gorislavets S, Grando MS, Klein BY, McGovern PE, Merdinoglu D, Pejic I, Pelsy F, Primikirios N, Risovannaya V, Roubelakis-Angelakis KA, Snoussi H, Sotiri P, Tamhankar S, This P, Troshin L, Malpica JM, Lefort F, Martínez-Zapater JM (2006) Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular Ecology* 15: 3707-3714.
- Bouquet A, Danglot Y (1996) Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 35: 35-42.
- Bowers JE, Meredith CP (1997) The parentage of a classic wine grape. Cabernet Sauvignon. *Nature Genetics* 16: 84-87.
- Bowers J, Boursiquot JM, This P, Chu K, Johansson H, Meredith C (1999) Historical genetics: the parentage of Chardonnay, Gamay, and other wine grapes of northeastern France. *Science* 285: 1562-1565.
- Cabezas JA, Cervera MT, Arroyo R., Ibañez J., Rodríguez-Torres I., Borrego J., Cabello F., Martínez-Zapater JM, (2003) Garnacha and Garnacha Tintorera: Genetic relationships and origin of teinturier varieties cultivated in Spain. *American Journal of Enology and Viticulture* 54: 237-243.
- Cabezas JA, Cervera MT, Ruiz-García L, Carreño J, Martínez-Zapater JM (2006) A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine. *Genome* 49: 1572-1585.
- Grassi F, Labra M, Imazio S, Spada A, Sgorbati S, Scienza A, Sala F (2003) Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 107, 1315-1320.
- Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Hirochika H (2004) Retrotransposon-induced mutations in grape skin colour. *Science* 304:982-982.
- Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Hirochika H (2005). Association of VvMybA1 gene expression with anthocyanin production in grape (*Vitis vinifera*) skin-color mutants. *Journal Japanese Society Horticultural Sciences* 74: 196-203.
- Levadoux L (1956) Les populations sauvages de *Vitis vinifera* L. *Annales d'Amélioration des Plantes* 6: 59-118.

- Lijavetzky D, Ruiz-García L, Cabezas JA, De Andrés MT, Bravo G, Ibáñez A, Carreño J, Cabello F, Ibáñez J, Martínez-Zapater JM (2006) Molecular genetics of berry colour variation in table grape. *Molecular Genetics and Genomics* **276**: 427-435.
- Lijavetzky D, Cabezas JA, Bravo G, Ibáñez A, Martínez de Toda F, Martínez García J, Vicente-Renedo T, Cabello F, Martínez Zapater JM (2008) Genética del color de la uva. *Vinoteq* ago-oct: 18-21.
- Martínez-Zapater JM, Carmona MJ, Díaz-Riquelme J, Fernández L, Lijavetzky D, (2010) Grapevine Genetics after the Genome Sequence: Challenges and Limitations. *Australian Journal Grape Wine Research* (in press)
- McGovern PE, Voigt MM, Glusker DL, Exner LJ (1986) Neolithic resinated wine. *Nature*, **381**, 480-481.
- McGovern PE (2003) *Ancient Wine: the Search for the Origins of Viniculture*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Milla Tapia A, Cabezas JA, Cabello F, Lacombe T, Martínez-Zapater JM, Hinrichsen P, Cervera MT (2007) Determining the Spanish origin of representative ancient American grapevine varieties. *American Journal Enology and Viticulture* **58**: 242-251.
- Mullins MG, Bouquet A, Williams LE (1992) *Biology of the Grapevine*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Olmo HP (1976) *Evolution of Crop Plants* (ed. Simmonds NW), pp. 294-298. Longman, London.
- Santana JC, Heuertz M, Arranz C, Rubio JA, Martínez-Zapater JM, Hidalgo E (2010) Genetic structure, origins and relationships of grapevine cultivars from the Castilian Plateau (Northern-Central Spain). *American Journal of Enology and Viticulture* (in press).
- Sefc KM, Lopes MS, Lefort F *et al.* (2000) Microsatellites variability in grapevine cultivars from different European regions and evolution of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, **100**, 498-505.
- This P, Lacombe T, Thomas MR (2006) Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics* **22**, 511-519.
- Viala J, Vermorel V, (1909) *Ampélographie* (1901-1910). Masson et Cie, Paris.
- Walker AR, Lee E, Robinson SP (2006) Two new grape cultivars, bud sports of Cabernet Sauvignon bearing pale-coloured berries, are the result of deletion of two regulatory genes of the berry colour locus. *Plant Molecular Biology* **62**: 623-635.
- Walker AR, Lee E, Bogs J, McDavid DAJ, Thomas MR, Robinson SP (2007) White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes. *Plant Journal* **49**: 772-785
- Zohary D, Hopf M. (2000) *Domestication of plants in the Old World*. 3rd ed. Oxford University Press, Oxford, UK.



ENOLOGÍA

AROMAS DE REDUCCIÓN EN LOS VINOS: TRATAMIENTOS PREVENTIVOS Y CURATIVOS

Antonio Tomás Palacios García

Doctor en Ciencias Biológicas. Profesor Asociado de la Universidad de La Rioja

RESUMEN

Los problemas de aparición de aromas de reducción en los vinos es el más frecuente de todos los defectos que pueden aparecer durante la vinificación o en la etapa de maduración del vino. Los tratamientos existentes en la actualidad no son suficientes para resolver el problema de forma satisfactoria, debido a que el cobre aportado queda disuelto, provocando modificación de las sensaciones tánicas hacia sensaciones táctiles agresivas. Un nuevo tratamiento ha sido evaluado en base a la aportación de cobre quelado de forma natural en fracciones minerales y de levadura, lo que permite eliminar los aromas azufrados y el cobre al mismo tiempo, desapareciendo de forma eficaz dichos aromas de reducción al trasegar el vino.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas organolépticos más frecuentes en los vinos de calidad es la presencia de compuestos azufrados y los defectos de reducción que estos conllevan, por lo que es necesario encontrar formas preventivas y curativas para evitar su presencia. Estos problemas provocan pérdidas de calidad inasumibles en un sector en el cual debe primar la calidad de forma prioritaria para poder ser competitivo.

Los trabajos de investigación y estudios realizados sobre estos compuestos y los defectos que provocan, deben ayudarnos a comprender su génesis y evolución para poder influir y controlar su formación. El principal concepto que debemos conocer y manejar para evitar que los compuestos azufrados causen defectos organolépticos de reducción en los vinos, es el potencial de oxidorreducción y el oxígeno disuelto.

Los tratamientos actuales para la eliminación de estos defectos del vino son escasos y muy agresivos, por lo que están muy legislados y controlados. Existe un nuevo tratamiento aparecido recientemente que está basado en la aplicación de fracciones de

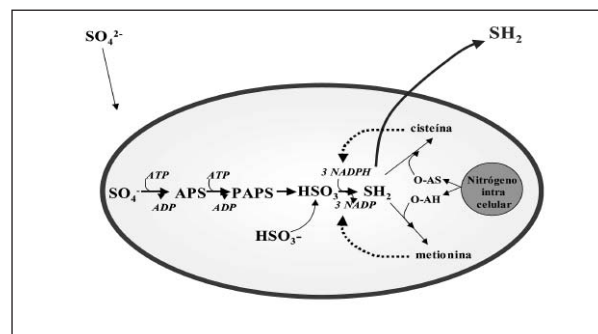


Figura 1. Metabolismo de la cisteína por *S. cerevisiae* y formación de SH₂.

levaduras inactivas específicas con un sistema natural de fijación de cobre. De esta forma, el cobre en el vino, debido al pH, se encuentra con una sola valencia libre, que es la que reacciona con los grupos azufrados de los compuestos en cuestión, pudiendo ser eliminados por precipitación.

Ciertos compuestos azufrados (en particular aquellos que poseen la función tiol) participan positivamente en el aroma varietal en vinos de ciertas variedades de *Vitis vinifera*, como el Sauvignon blanc. Pero más generalmente, los derivados azufrados se caracterizan por provocar olores nauseabundos y por tener umbrales de detección extremadamente bajos. Son conocidos bajo el nombre de mercaptanos y sulfuros. Los principales son el SH₂, metanotiol y etanotiol, junto con sus productos de oxidación, los disulfuros, que causan paradójicamente los problemas más graves de aromas de reducción.

El principal origen de estos compuestos azufrados es la producción de SH₂ durante la fermentación alcohólica. Este compuesto es inevitablemente producido por la levadura de forma muy relacionada con el metabolismo proteico durante la fermentación alcohólica. Pero existen dos vías bien establecidas para el origen de estos compuestos, una enzimática (sulfato reductasa) y otra química, el azufre elemental proveniente de los tratamientos de la viña y de la adición de SO₂, que pueden llevar a la formación de SH₂, (ver figura 1).

La adición de nutrientes nitrogenados para prevenir la formación de SH_2 se practica corrientemente en los mostos provenientes de regiones cálidas. En efecto, en presencia de una fuente de nitrógeno fácilmente asimilable, la levadura no libera más SH_2 a partir de los aminoácidos azufrados. Por último, en el almacenamiento de los vinos, hay que tener en cuenta la presencia eventual de productos azufrados de origen térmico. Esto ocurre en el caso de vinos blancos que sufren una disminución del potencial redox por iluminación y fotoreducción de ciertos precursores, originándose compuestos azufrados.

2. PRÁCTICAS ENOLÓGICAS Y REDUCCIÓN EN EL VINO

El trabajo que se debe realizar para evitar estos defectos, empieza ya en el control de la materia prima, evitando el abuso del azufre en los tratamientos fitosanitarios y el abuso del abonado con potasio, que lleva a mostos y vinos con un pH más elevado.

En la bodega debemos ayudar a las levaduras para que realicen la fermentación alcohólica en las mejores condiciones ambientales posibles, evitando que recurra a rutas metabólicas de expresión de estrés. Para ello, el sulfitado de la vendimia debe ser el mínimo imprescindible y este debe ser acorde al pH del mosto. Se debe corregir la acidez de la vendimia entre 4.6 y 5.4 g/L expresados en ácido tartárico, llevar a cabo un control térmico de la fermentación y realizar una corrección nutricional de NFA en el mosto y gestionar el aporte de oxígeno.

Si a pesar de todo este trabajo realizado, aparecen defectos de reducción al final de la fermentación alcohólica, se torna imperativo el trasiego y la separación definitiva de las borras gruesas y finas, ya que estas en principio tienen carácter reductor y pueden tener actividades enzimáticas residuales (sulfito-reductasa), principalmente en el caso de levaduras que han sufrido carencias nutricionales.

Los tratamientos disponibles para la eliminación de compuestos azufrados actualmente son dos. La primera técnica curativa que se utiliza comúnmente es sencilla y lógica, consiste en aumentar el potencial de oxidorreducción con aireación mediante un trasiego del vino en contacto con el aire. Es relativamente fácil eliminar el SH_2 , debido a su volatilidad

mediante trasiego y aireación. Es muy diferente para el metanotiol, etanotiol y sobre todo metionol, pues estos compuestos son mucho más pesados y no tan volátiles.

Esta técnica solo será válida en el caso de defectos organolépticos de reducción producidos por el SH_2 . Si aparecen descriptores como ajo, cebolla, col cocida, judías verdes, etc., debidos a la presencia de mercaptanos y sulfuros, esta técnica no será suficiente, incluso puede resultar contraproducente, ya que puede inducir por oxidación a la formación de sulfuros y disulfuros, con olor muy desagradable y con umbrales de percepción muy bajos.

La única técnica curativa existente hasta el momento relativamente efectiva cuando aparecen problemas de reducción serios, se basa en la aplicación de derivados de cobre. El cobre se añade al vino en forma de sulfato de cobre o citrato de cobre (no permitido por la OIV), el cual reacciona con el SH_2 para dar sulfuro de cobre. El cobre añadido en forma de sulfato también reacciona con los mercaptanos, excepto en el caso de los disulfuros, por lo que los defectos pueden volver a aparecer si estos se hidrolizan en el tiempo, lo que es fácilmente posible en el periodo de maduración y comercialización del vino.

Estos tratamientos suelen ser efectivos y comunes en las bodegas, pero cuentan con varios inconvenientes. El más importante de ellos es que dejan muchos iones de cobre en disolución en el vino. El cobre reacciona rápidamente con los compuestos fenólicos, provocando modificaciones organolépticas en la textura de los taninos, además de sequedad y sensaciones metálicas y astringentes. El cobre también es un catalizador de procesos oxidativos, acortando la vida útil del producto. Su utilización está además regulada por la OIV, con una dosis máxima de 1 g/hL y siempre y cuando el vino no supere el límite legal de 1 mg/L.

Un exceso de cobre en el vino, sobre todo en el caso de vinos blancos, puede producir una quiebra cúprica si el contenido de cobre es superior a 0.7 g/L. La quiebra cúprica se basa en una foto-oxidación provocada por la luz en presencia de cobre y provoca la precipitación de compuestos pardo-rojizos totalmente inadmisibles en el caso de vinos blancos. Por otro lado, un exceso de cobre en un vino es muy difícil eliminar posteriormente, siendo necesaria la

utilización del ferrocianuro potásico, es decir, una clarificación azul, con los riesgos que esto implica.

Para corregir los defectos de reducción expuestos a lo largo de este trabajo, existe un tratamiento basado en un componente fijador de cobre en las fracciones de levadura inactiva, para eliminarlo por precipitación cuando ha capturado los compuestos que aportan los aromas azufrados. Las primeras pruebas de este producto a nivel mundial se realizaron en España y los resultados obtenidos se muestran a continuación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

3.1. Efecto sobre el color y parámetros químicos

El nuevo tratamiento para la eliminación de aromas reducidos se ensayó por primera vez en una bodega de la D.O. Navarra. El tratamiento se llevó a cabo sobre dos vinos reducidos. Uno de los vinos era mezcla de dos variedades, Merlot y Tempranillo de 2006 y el segundo, un Tempranillo de maceración carbónica del mismo año. Los ensayos se realizaron sobre un volumen de 2.000 L en depósitos de acero inoxidable. Se mantuvo el tratamiento a dosis de 25 g/hL durante una semana de contacto. Lo primero que se observó después del tratamiento, fue una mejora organoléptica al desaparecer los aromas de reducción. Posteriormente se realizó un estudio del efecto sobre el color y los parámetros químicos para verificar la influencia del tratamiento sobre estos parámetros. No existieron diferencias entre la Intensidad Colorante (IC) del vino antes y después del tratamiento.

Por otra parte, sería contraproducente que los parámetros químicos fundamentales del vino cambiaran de forma sustancial después del tratamiento. En el ensayo se observó que no hay diferencias, por lo que se puede afirmar que el tratamiento no produce cambios en las propiedades químicas del vino, (ver tabla 1).

Sin embargo, si que preocupaba de manera especial lo que ocurría con la concentración final de cobre en el vino después del tratamiento. Este elemento fue analizado entonces por absorción atómica, viéndose que no se producían incrementos de dicho metal en el vino.

Datos analíticos	MT sin tratar	MT tratado	T sin tratar	T tratado
Grado alcohólico (%v/v)	13,83	13,84	12,87	12,87
Acidez Total Tartárica (g/L)	4,7	4,7	4,5	4,5
pH	3,95	3,95	3,79	3,79
Acidez volátil Acética (g/L)	0,53	0,51	0,38	0,38
Anhidrido sulfuroso libre (mg/L)	16	16	10	11
Azúcares reductores (g/L)	2	2,2	1,8	1,8
Acido málico (g/L)	0,1	0,1	0,1	0,1
Intensidad Colorante (A420+A520+A620)	11	11,16	4,75	4,77
Índice Polifenoles Totales (A280)	64	65	29	29

Tabla 1. Efecto sobre los análisis químicos básicos (Merlot-Tempranillo 2006 y Tempranillo maceración carbónica 2006 de la D.O. Navarra) después del tratamiento.

3.2. Efecto sobre los aromas varietales

Una de las preocupaciones era saber que ocurría con los aromas afrutados provenientes de ciertos compuestos volátiles azufrados que son considerados positivos, como por ejemplo tioles que dan aromas de frutos cítricos en la variedad Sauvignon blanc. Para verificar organolépticamente este hecho, se realizó un ensayo en un vino blanco de la variedad Viognier. El vino testigo tenía algunas notas minerales de reducción y era vegetal en boca. El vino tratado era muy intenso en nariz, con carácter varietal y complejo. En boca era suave y con acidez envolvente, glicérico y mucho cuerpo. El tratamiento había entonces funcionado de forma correcta.

3.3. Efecto sobre la fracción aromática

El tratamiento se ensayó también en vinos con crianza en roble que no eran aptos para su embotellado y comercialización según los técnicos de la bodega. Se trataba de un vino blanco Viura-Malvasía fermentado en barrica de roble americano 2006, un vino joven de maceración carbónica Tempranillo 2006 y un vino tinto Tempranillo despalillado 2005 criado en barrica durante cuatro meses. Estos tratamientos se realizaron durante una semana.

Es interesante observar los resultados de los análisis de la fracción aromática. En las figuras 2 y 3 se muestran las concentraciones de algunos aromas agrupados por familias. En la figura 2 arriba, podemos ver que en la variación de algunos aromas, como terpenos, lactonas y alcoholes superiores, no hay apenas cambios después del tratamiento. En la misma figura y abajo, podemos observar lo mismo, pero con otro tipo de aromas, como aldehídos y

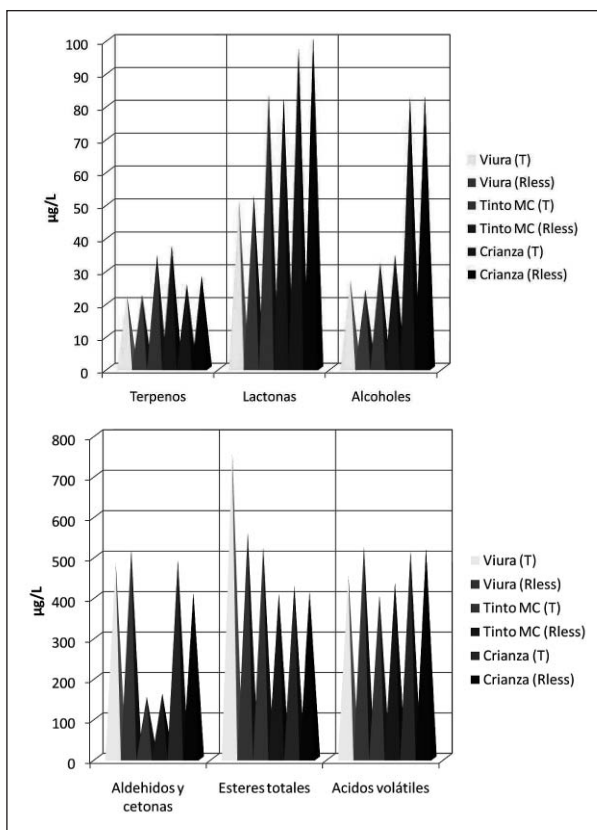


Figura 2. Representación de algunos compuestos aromáticos de los tres vinos de la D.O.Ca. Rioja antes y después del tratamiento (Viura-Malvasía 2006, Tempranillo maceración carbónica 2006 y Tempranillo crianza en bodega 2005).

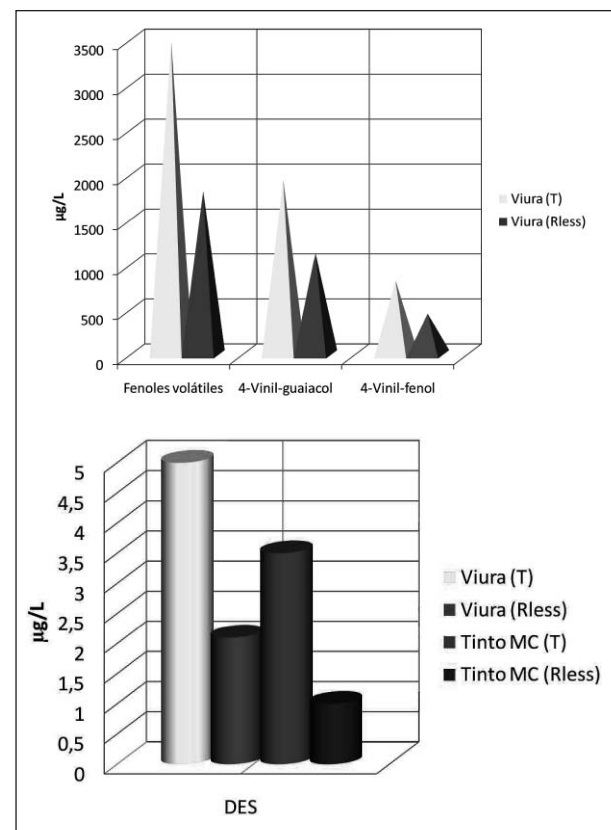


Figura 3. Representación de la concentración de vinil-fenoles (Viura-Malvasía 2006) y dietil-sulfuro (Viura-Malvasía 2006 y Tempranillo maceración carbónica 2006) en la D.O.Ca. Rioja antes y después del tratamiento.

cetonas, ésteres totales y ácidos volátiles. Tan solo parece haber una pequeña reducción en los ésteres durante el tratamiento del vino blanco.

Con los estudios de la fracción aromática, se pudo observar un fenómeno muy interesante en el tratamiento del vino blanco y fue una fuerte reducción de los compuesto fenólicos volátiles del tipo vinil-fenol (2-vinil-fenol y 2-vinil-guaiacol), responsables de ciertos aromas desagradables en vinos blancos por aportar aromas de plástico, caucho, humo, aromas de medicamento y farmacia, entre otros, (ver figura 3 arriba).

Pero dentro de los resultados más sorprendentes, se encuentra la disminución de los aromas reducidos, como se puede observar en la figura 3 abajo, donde se representa el dietilsulfuro, que aporta aromas muy negativos de ajo y cebolla en vinos evolucionados. Se observa una disminución de más del 50% en este compuesto. También disminuye el 2,6-dimetoxifenol, aunque aquí no se representa.

3.4. Comparación del tratamiento con los métodos tradicionales

El nuevo tratamiento se comparó con el tratamiento de sulfato y citrato de cobre en una bodega se Rioja Alavesa en un vino reducido de la variedad Tempranillo del 2006.

En cuanto a los parámetros químicos analizados, únicamente se han observado diferencias importantes del cobre final a nivel de los parámetros químicos analizados (ver tabla 2). El tratamiento con sulfato de cobre es el que más cobre libera, llegando a incrementarse este elemento por encima de los límites legales permitidos, mientras que el citrato apenas liberó cobre, dada la baja dosis con la que se utilizó. El nuevo tratamiento solo incrementó el cobre en el vino en 0,1 mg/L, lo que no genera ninguna situación de riesgo de quiebra ni de perjuicio organoléptico.



	12,96	12,95	12,9	13,96
Grado alcohólico % vol	12,96	12,95	12,9	13,96
Acidez total g/L	4,6	4,7	4,6	4,7
pH	3,73	3,72	3,72	3,73
AV g/hL	0,45	0,46	0,45	0,45
SO ₂ libre mg/L	25	27	26	26
Azúcar residual g/L	2	1,9	2	1,8
Acido málico g/L	0,1	0,1	0,1	0,1
Cobre mg/L	0,54	2	0,5	0,44

Tabla 2. Efecto sobre los parámetros químicos en los vinos del ensayo de Tempranillo D.O.Ca. Rioja 2006) después del tratamiento con cobre quelado en comparación con los tratamientos tradicionales.

4. CONCLUSIONES

1. El nuevo tratamiento ha demostrado sobrada eficacia para resolver problemas de reducción en todos los ensayos realizados en bodega. La principal ventaja del sistema en comparación con las técnicas existentes, es la eliminación de los compuestos azufrados responsables de los aromas reducidos en los vinos y del cobre aportado.
2. Solo hay una familia de compuestos volátiles que han sufrido una modificación significativa, los fenoles volátiles y más concretamente el 4-vinilfenol y el 4-vinilguaiacol en los vinos blancos.
3. No hubo efecto en otros parámetros químicos importante de cara a la integridad del vino. Tan solo se observó una disminución en el sulfuroso libre y total.
4. Como resultado de los tratamientos podemos decir que resalta el afrutado del vino y atenúa gustos herbáceos y vegetales. En caso de vinos con crianza en madera, ennoblece su impacto, principalmente en su fase retronasal. Los taninos se vuelven más dulces y suaves en boca.
5. Estos resultados hacen prever que el nuevo tratamiento es una herramienta enológica interesante para eliminar aromas azufrados en los vinos una vez producidos, pero también puede ser útil en tratamientos preventivos frente la reducción en vinos embotellados con tapón de rosca, prevención de reducción en vinos «no filtrados», prevención de la aparición de aromas

fenolados y animales por ataque de *Brettanomyces* en vinos blancos, además de ser una aplicación interesante en vinos ecológicos.

BIBLIOGRAFÍA

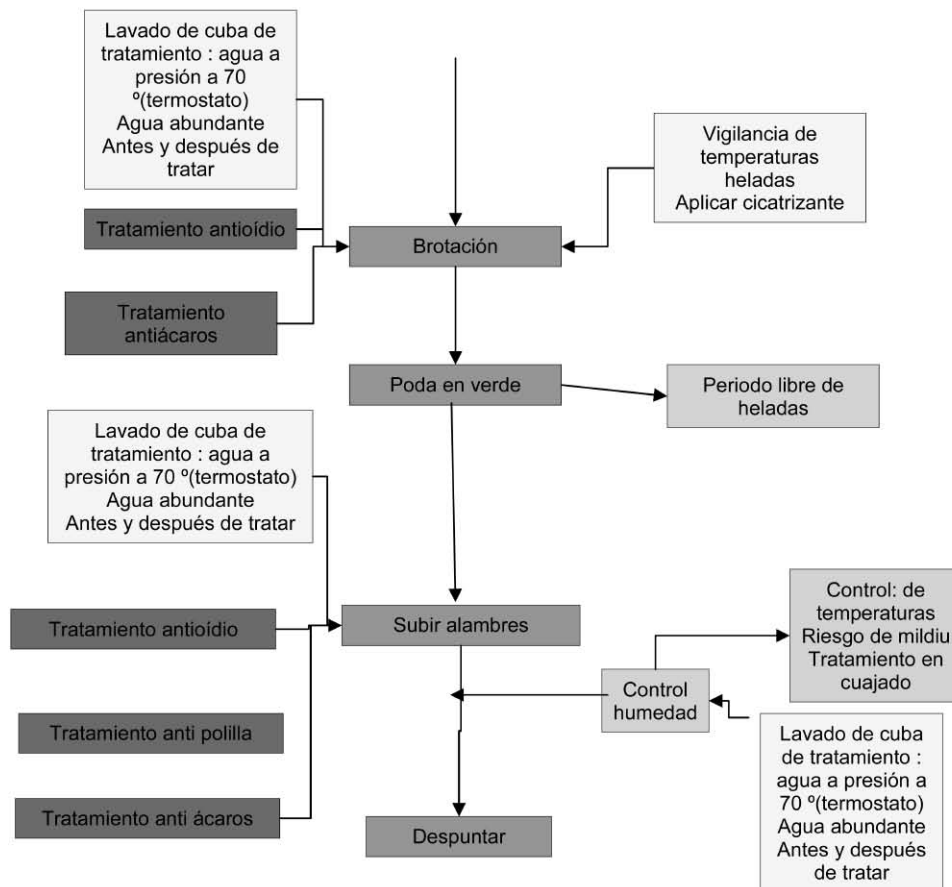
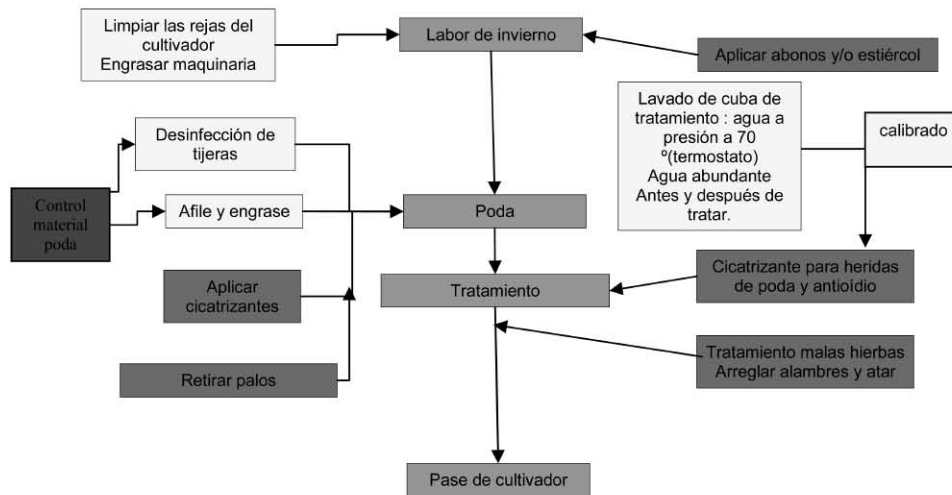
- Escudero, A.; Campo, E.; Fariña, L.; Cacho, J.; Ferreira, V.; Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *J. Agric. Food Chem.* 2007.
- Cacho, J.; La percepción de notas aromáticas de vino y el efecto de ciertas moléculas volátiles. *ACE Revista de Enología.* 2006.
- Cacho, J.; El aroma de los vinos: retos y soluciones del análisis sensorial. *ACE Revista de Enología.* 2006.
- Otín, N.; Caracterización química del aroma de vinos de alta calidad. Contribución al análisis y caracterización de importantes aromas tiólicos del vino. *Tesis Doctoral de la Universidad de Zaragoza.* 2006.
- Campo, E.; Ferreira, V.; Escudero, A.; Cacho, J. Prediction of the wine sensory properties related to grape variety from dynamic-headspace gas chromatography-olfactometry data. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 5682-5690.
- Cullere, L.; Escudero, A.; Cacho, J.; Ferreira, V. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 1653-1660.
- Marti, M. P.; Mestres, M.; Sala, C.; Busto, O.; Guasch, J. Solidphase microextraction and gas chromatography-olfactometry analysis of successively diluted samples. A new approach of the aroma extract dilution analysis applied to the characterization of wine aroma. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 7861-7865.
- Lopez, R.; Aznar, M.; Cacho, J.; Ferreira, V.; Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass-spectrometric detection. *J. Chromatogr., A.* 2002, 966 (1-2), 167-177.
- Aznar, M.; López, R.; Cacho, J.; Ferreira, V.; Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-Olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 2924-2929.
- Ferreira, V.; Lopez, R.; Cacho, J.; Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *J. Sci. Food Agric.* 2000, 80 (11), 1659-1667.
- Mestres, M.; Busto, O.; Guasch, J. Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. *J. Chromatogr., A.* 2000, 881 (1-2), 569-581.
- Antonio Palacios; Carlos Suárez; Luis Otaño; Adriana Laucirica; Francisco Peña.; Defectos en cata del vino aparecidos durante la crianza y la conservación del vino en bodega. *Universidad de la Rioja. Dto. Agricultura y Alimentación.* 2005.
- Antonio Palacios; Carlos Suárez; Luis Otaño; Adriana Laucirica; Francisco Peña.; Defectos en cata del vino aparecidos durante la fermentación del vino en bodega. *Universidad de la Rioja. Dto. Agricultura y Alimentación.* 2005.
- Ribéreau-Gayon P.; *Tratado de Enología. Química del vino, estabilización y tratamientos.* 2003. Ed. Mundi Prensas.
- Blouin, J.; *Analyse et composition des vins. Comprendre le vin.* 2003. Ed. La Vigne.
- Flanzy, C.; *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos.* 2000. AMV Ediciones.

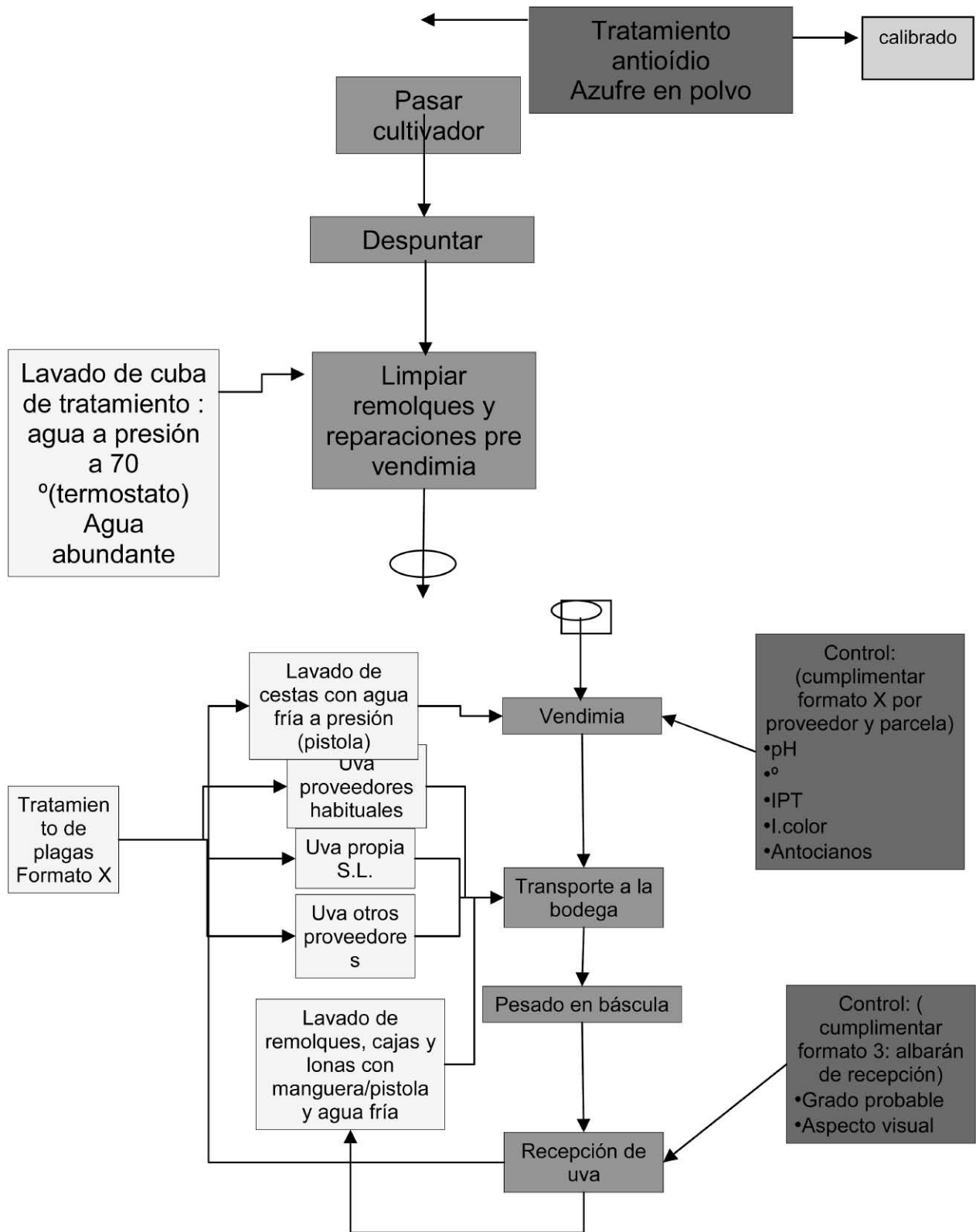
ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS VINOS EN BODEGA

José Carlos Álvarez Ramos

Ingeniero Agrónomo. Enólogo. Director Técnico de Bodegas Emilio Moro & Cepa 21

TRAZABILIDAD Y PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL EN LA VIÑA





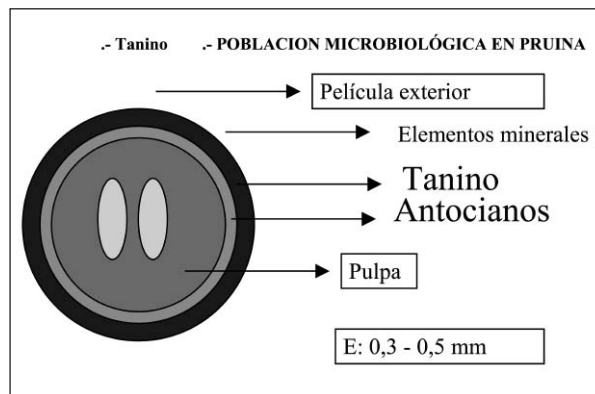
MEDIDAS CORRECTORAS DURANTE LA PRODUCCIÓN DE UVA

1. CONTROL DE PARÁMETROS FÍSICOS

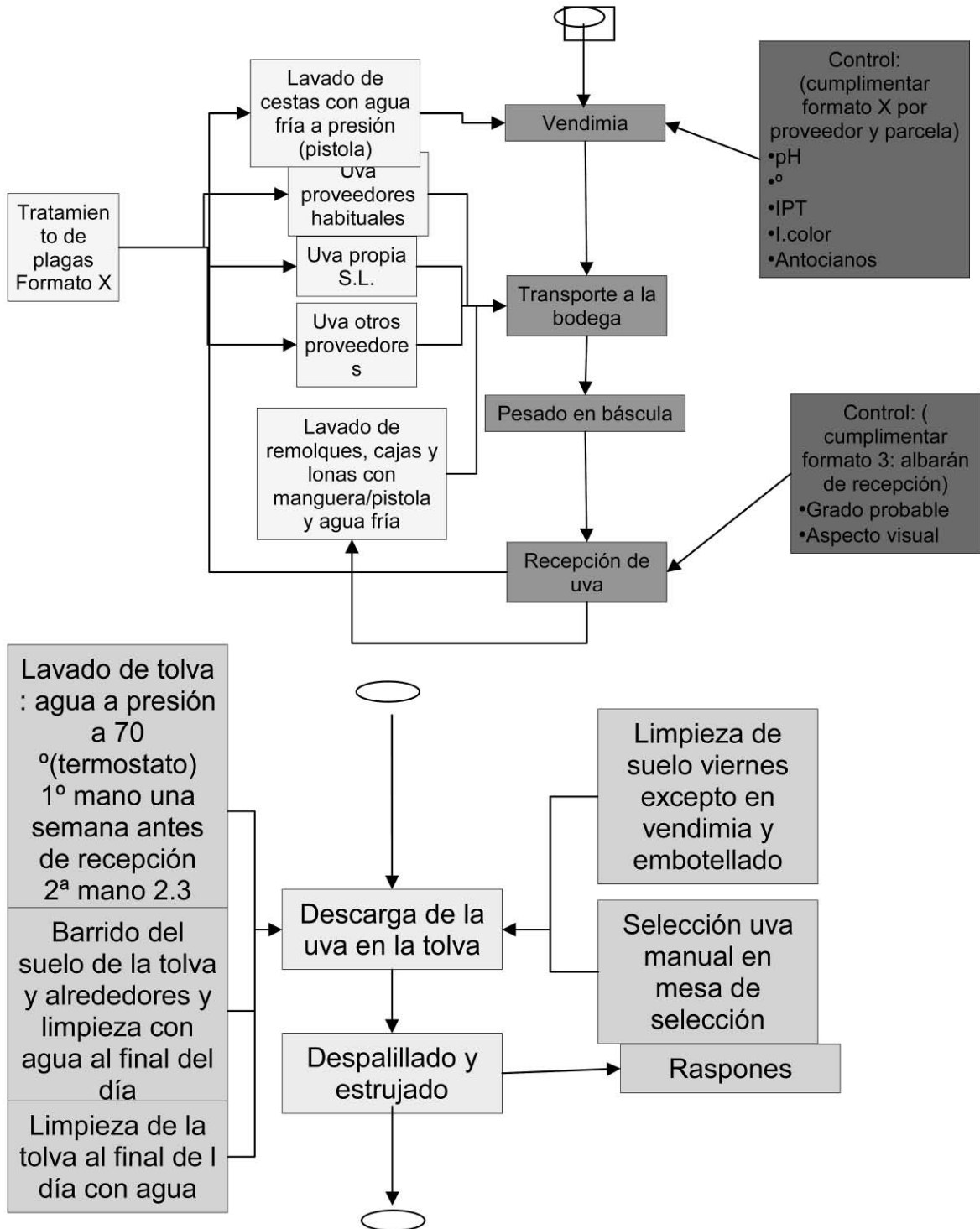
- 1) Realizar análisis visuales del cultivo.
- 2) Realizar un seguimiento de las curvas de temperatura y humedad, para predecir el momento óptimo de aplicar los tratamientos anti-criptogámicos (Oídio y Mildiu).
- 3) Establecer cada año los diagramas hombro-térmicos para controlar los procesos de maduración.
- 4) Establecer un equilibrio entre la superficie foliar y el número de racimos por medio de la poda y el aclareo.
- 5) Realizar las labores culturales de la forma más correcta posible.

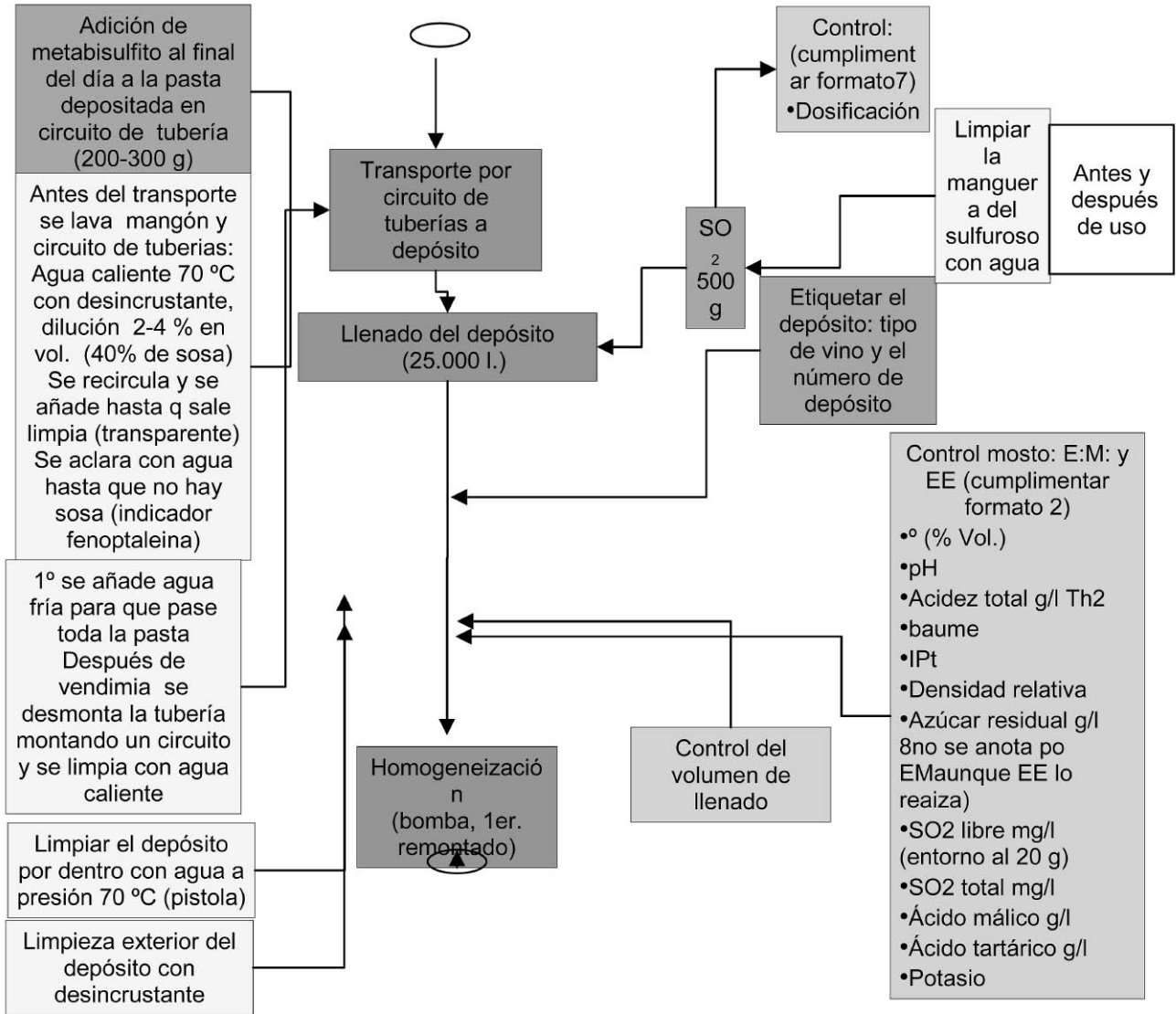
2. CONTROL DE PARÁMETROS QUÍMICOS

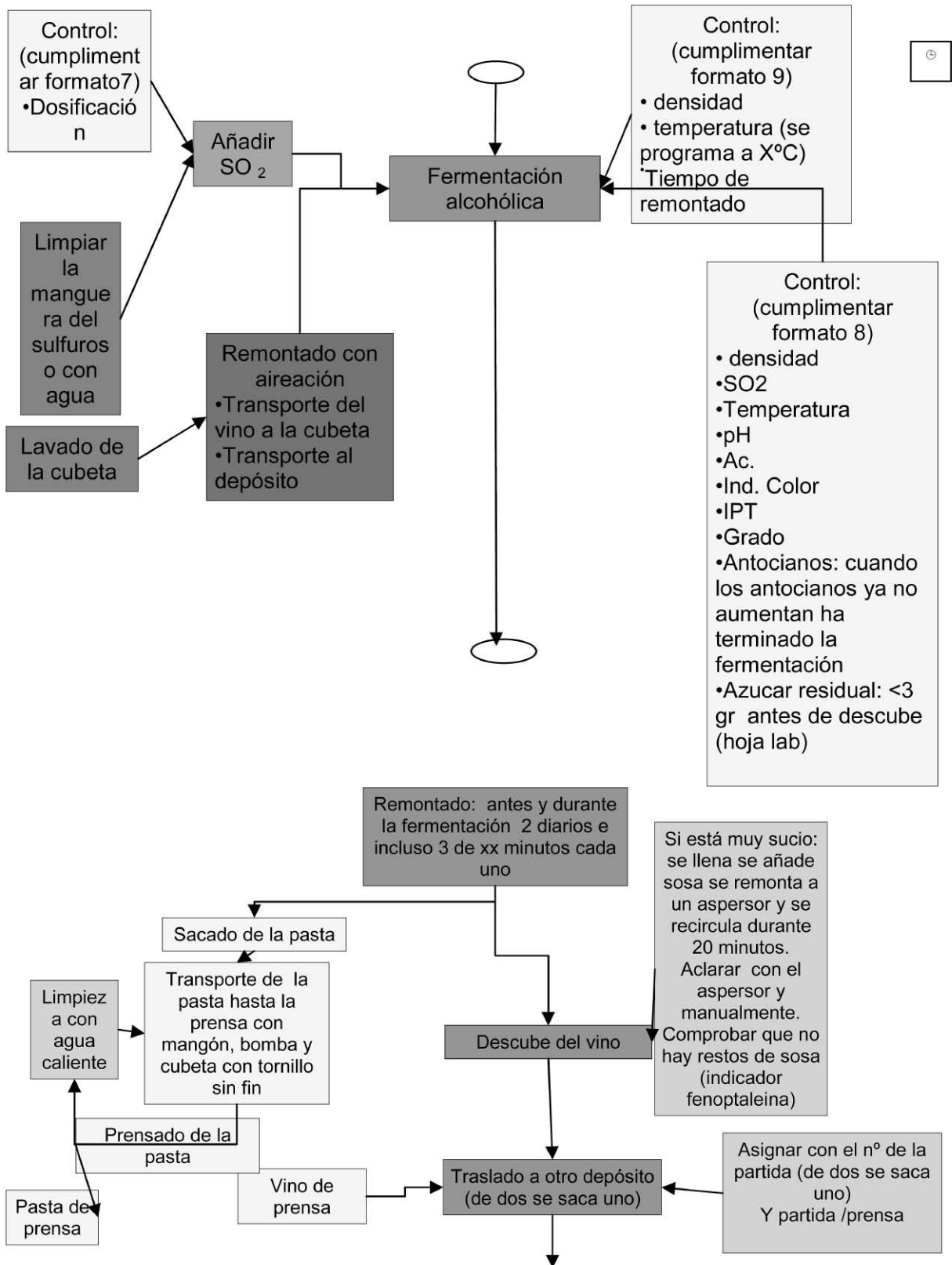
- 1) Aplicación de fitosanitarios en los momentos más apropiados, teniendo en cuenta los plazos de seguridad y su posible impacto sobre el medio ambiente.
- 2) Aplicación racional de los tratamientos herbicidas contra malas hierbas, teniendo cuidado de que su aplicación no afecte a las partes verdes del cultivo.
- 3) Mantener un equilibrio de los componentes minerales del suelo por medio de abonados correctores de carencias, aportando al suelo, exclusivamente, los minerales necesitados por la planta en cada uno de sus estados vegetativos.
- 4) Realizar los controles del índice de madurez, analizando:
 - Grado alcohólico.
 - Acidez total.
 - Acidez málica.
 - pH.
 - Antocianos.
 - K - N.
 - Azúcares.
 - Tanino.

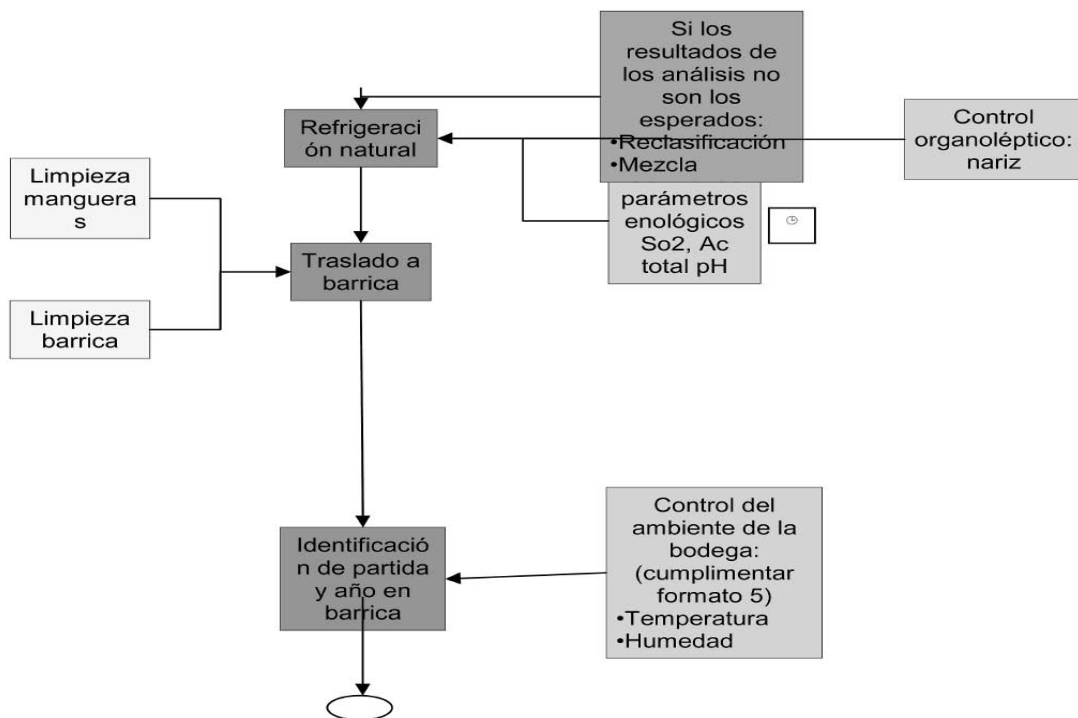
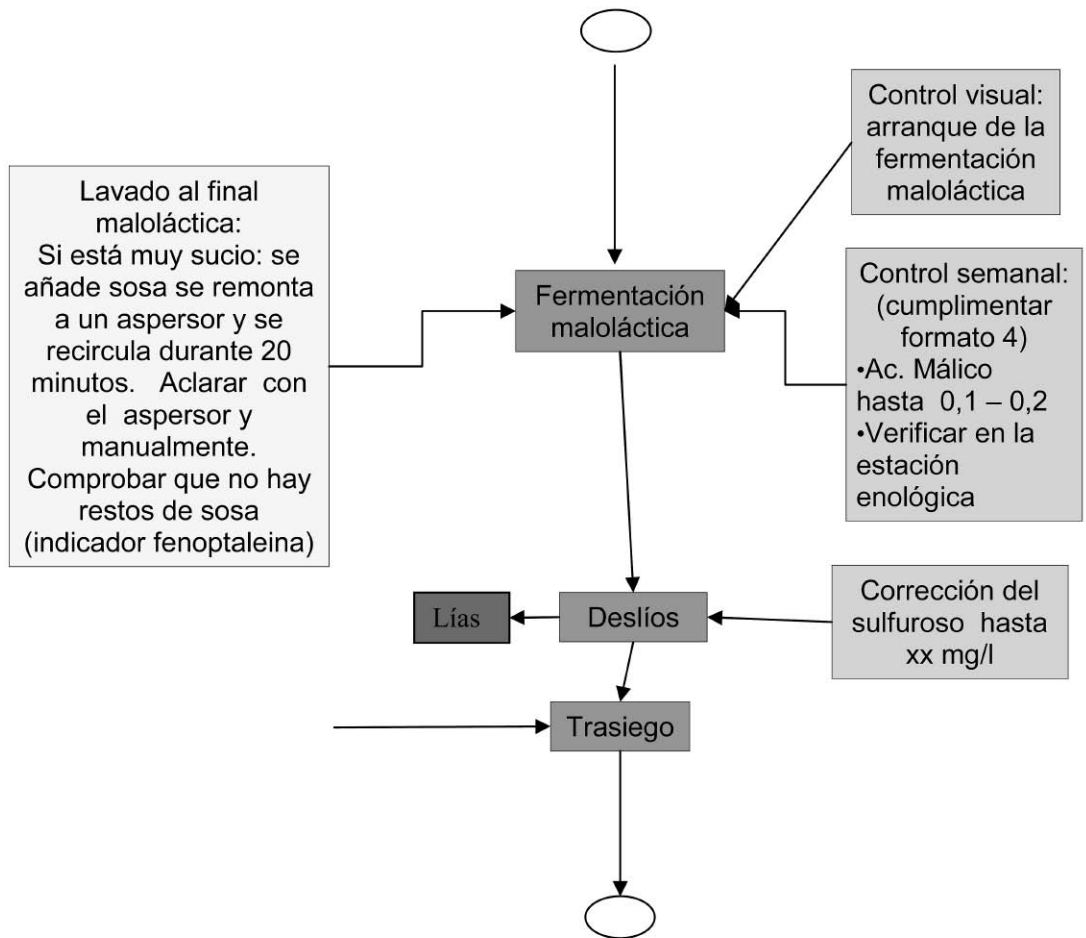


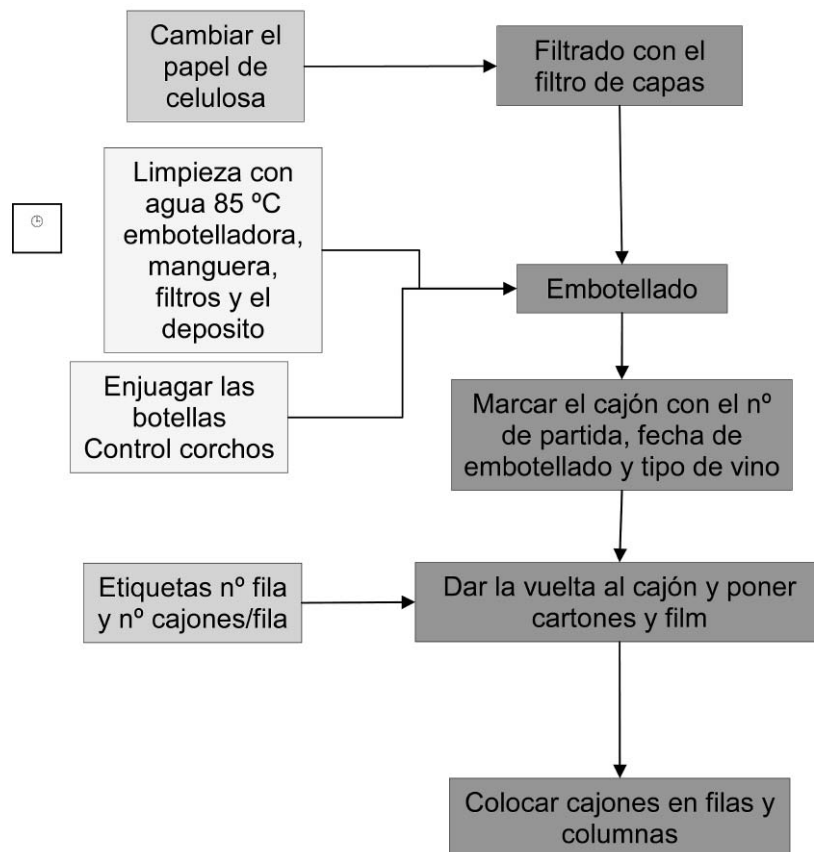
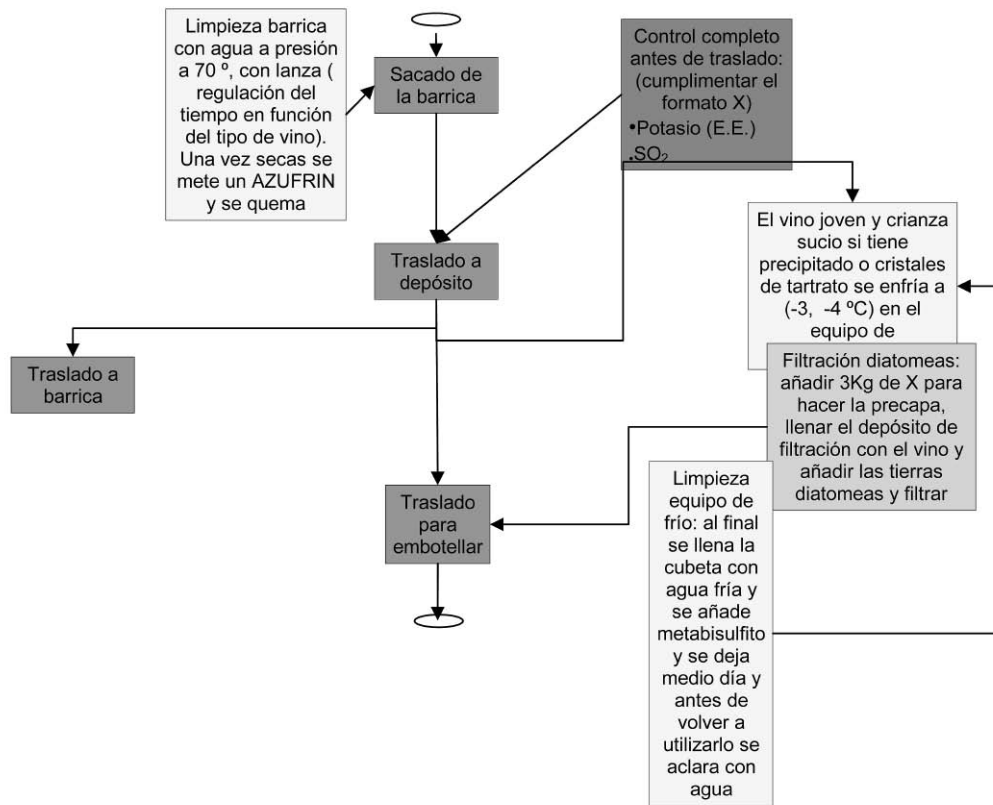
TRAZABILIDAD Y PUNTOS CRITICOS DE CONTROL EN BODEGA

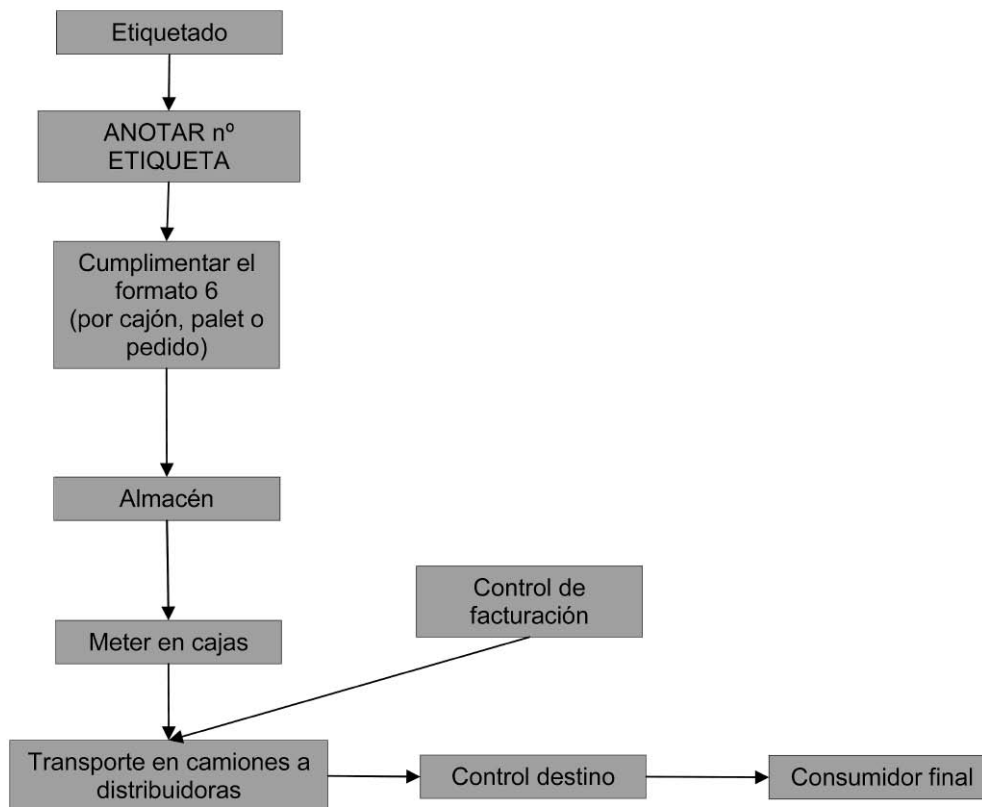












ANÁLISIS DE RIESGOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN

FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA SECUNDARIA: El vino aparece turbio en su conjunto, con ligero depósito en el fondo de la botella y partículas en suspensión. Al abrir la botella se observa presencia de anhídrido carbónico. A la nariz presenta el aroma inconfundible de los vinos en fermentación, apreciándose al paladar el característico picor del carbónico. Estamos ante una fermentación alcohólica secundaria que se produce al transformar las levaduras restos de azúcares que no habían sido desdoblados en la primera fermentación.

QUIEBRA FÉRRICA: El vino presenta turbidez y un ligero depósito que puede ser de color blanco, azul o incluso negro. A veces se observa en la superficie del vino un leve velo de reflejos metálicos, que se debe a la materia colorante parcialmente modificada. Bajo la acción del oxígeno, el hierro del vino, que se encuentra en forma Fe^{++} (ferrosa), pasa a forma Fe^{+++} (férrica), con elevación del potencial de oxidorreducción. (REDOX).

El Fe^{+++} , con algunos componentes del vino, forma compuestos insolubles que dan lugar a tres tipos de enturbiamientos:

- Precipitado blanquecino cuando se combina con iones bifosfato.
- Precipitado azul al insolubilizarse su combinación con los taninos.
- Depósitos más o menos coloreados de negro, producto de la insolubilización del Fe^{+++} con la materia colorante.

Si bien el hierro existe de forma natural en el vino, es su exceso aportado en el curso de la elaboración por contacto con materiales de este metal, el causante, bajo la acción del oxígeno, de la formación de compuestos insolubles en forma coloidal cuya floculación conduce a las quiebras férricas.

QUIEBRA OXIDÁSICA: En los tintos el vino toma color marrón, formándose una película irisada con reflejos metálicos, así como depósitos también de color chocolate. El contacto con el aire les da características de vinos aireados, con sabores a cocido, pasado, meloso.

La quiebra oxidásica se debe a la acción de las enzimas oxidásicas, fundamentalmente de la Lacasa, presente en las uvas afectadas de Botrytis y se manifiesta al contacto con el aire. En este proceso se produce la oxidación de los grupos difenoles, dando ortoquinonas inestables que, al polimerizarse rápidamente, originan compuestos de color marrón o parduzco que pueden llegar a coagular precipitando.

Este accidente puede darse en vinos jóvenes que han sido embotellados, a pesar de tener la quiebra en potencia. Basta la aireación durante la operación de embotellado para que, pasados uno o dos días, el vino se presente alterado, si la dosis de sulfuroso no es suficiente. A veces, la quiebra no se manifiesta hasta el momento de abrir la botella, al contacto brusco con el aire o después de permanecer cierto tiempo el vino servido en la copa.

QUIEBRA PROTEICA: Enturbiamiento, que puede ir seguido de depósito, que presenta aspecto algodonoso y que aparece al enfriar a temperatura cercana a la de congelación del vino.

Corresponde a la insolubilización de sustancias albuminoideas que se encuentran en el vino en estado coloidal. Las bajas temperaturas provocan enturbiamientos debido a la coagulación y floculación de los prótidos.

A veces el exceso en materia proteica proviene del empleo en grandes dosis de clarificantes proteicos, problema del sobreencolado. En su caso extremo podría dar incluso lugar a olores propios de putrefacción de la materia nitrogenada.

El olor pútrido también puede provenir de la permanencia prolongada del vino sobre las lías producidas en la floculación que sigue a un encolado.

PRECIPITACIÓN DE BITARTRATO POTASIO: Sin alteración en el color ni en la limpidez del aspecto, se presenta un depósito cristalino de color más o menos rojizo en vinos tintos. A veces se aprecia gustativamente una ligera disminución de la acidez, pero en la mayoría de los casos el sabor es normal.

Las sales de bitartrato potásico, que forman parte de la composición normal de los vinos, pueden insolubilizarse y precipitar en forma de cristales cuando se produce un descenso de temperatura.

El depósito cristalino desaparece al elevarse la temperatura o simplemente atemperando la botella en agua caliente.

Este fenómeno se suele dar en vinos jóvenes, embotellados precozmente y que no han sido estabilizados mediante tratamiento por frío en bodega.

PRECIPITACIÓN DE MATERIAS COLORANTES INSOLUBILIZADAS: En vinos tintos jóvenes puede producirse enturbiamiento y formación de poso de color rojizo cuando se introduce una botella en el refrigerador. Esta alteración se debe a que los tintos jóvenes tienen parte de su materia colorante en estado coloidal, que se encuentra en forma soluble a temperatura normal y se insolubiliza a bajas temperaturas con formación de turbidez.

Este fenómeno suele presentarse con frecuencia en vinos embotellados sin tratamiento de estabilización.

En vinos tintos de cierta edad se suele formar un depósito de color rojo ladrillo que se adhiere al vidrio de la botella, mientras que por el contrario el aspecto es limpio y el color normal, dentro de los tonos teja que les son característicos.

En boca suelen presentar características de suavidad conseguida en el proceso de maduración. En el transcurso de los procesos de crianza y envejecimiento, la materia colorante de los vinos experimenta procesos de evolución bastante complejos, que pueden finalizar con insolubilización y floculación de parte de los componentes responsables del color de los vinos.

Estos depósitos deben considerarse como normales por el consumidor y no como alteración.

GRASA: El vino presenta al principio aspecto opalescente, pudiendo llegar a enturbiarse y, en el trasvase a la copa, fluye silenciosamente, como si fuera aceite.

A la nariz no presenta olores anormales y a la boca se aprecia el carácter untuoso y suave del aceite, pero con sensación de estar insípido y sin relieve, como fatigado.

Esta alteración, conocida con el nombre de "grasa", produce vinos ahilados y suele coincidir con la fermentación maloláctica. En circunstancias hasta ahora no definibles, algunas bacterias anaeróbicas

robias del género *Euconostoc* se rodean de una sustancia mucilaginosa, la dextrana, que agrupa las bacterias unas con otras, dando al vino aspecto de aceite.

SULFUROSO: Vinos con aspecto límpido y color normal.

La nariz ofrece el característico olor del anhídrido sulfuroso, mal llamado olor a azufre, que puede llegar a ser picante y sofocante si se agita la copa.

En la boca la sensación desagradable apreciada por nariz se refuerza por vía retronasal. El vino aparece como duro.

El sulfuroso es un auxiliar imprescindible en la elaboración de vino por sus propiedades como antiséptico, antioxidante y como mejorante gustativo, siempre que se utilice en dosificación adecuada.

Los aportes excesivos hacen desmerecer al vino tanto por las características negativas del sulfuroso como porque no deja aflorar las cualidades de aroma y sabor del vino.

SULFHÍDRICO y MERCAPTANO: Aspecto normal en la fase visual, con fuerte olor a huevos podridos, que puede evolucionar en determinados casos a olores aliáceos.

La apreciación gustativa confirma la impresión olfativa.

Es frecuente encontrar en vinos nuevos olor a sulfhídrico, olor a huevos podridos, debido a la presencia de azufre en los mostos. Dicha presencia puede deberse a:

- Tratamientos anticriptogámicos tardíos en el viñedo.
- Caída de azufre derretido en el depósito al quemar una PASTILLA DE AZUFRE.
- Compuestos azufrados presentes en los mostos.

El origen de la formación del SH₂ se atribuye a las siguientes causas:

- Las levaduras son capaces de producir SH₂ a partir del azufre elemental o de compuestos azufrados. La razón biológica parece estar en la utilización del azufre como oxidante en vez del oxígeno, representando una forma de respiración.
- Ciertas bacterias producen SH₂ a expensas de cistina y cisteína de mostos y vinos.

- Por reacción de los vinos, sobre todo de los más ácidos, con materiales de hierro y otros metales.

El contacto con las lías que contengan compuestos azufrados en medio reductor, y con restos de levaduras ricas en azufre.

Con frecuencia el olor a sulfhídrico en los vinos jóvenes se elimina con simple aireación, respondiendo a la presencia de compuestos azufrados reducidos, que dan el característico olor a huevos podridos.

Más peligroso es el olor a mercaptano que se forma al reaccionar el sulfhídrico con el alcohol etílico, dando el sulfuro de etilo, conocido como etilmercaptano, compuesto muy estable que comunica olor aliáceo, corrompido, pútrido.

PICADO: Vino de aspecto normal, que al final de la alteración puede llegar a enturbiarse. Olor característico a vinagre, presentando sabor agrio desagradable y cierta dureza y aspereza.

Los responsables de esta alteración son las bacterias aerobias del género *Acetobacter*, que son capaces de oxidar el alcohol etílico a ácido acético, reacción que va acompañada por una parcial esterificación que produce acetato de etilo.

El olor de los vinos picados se debe al acetato de etilo, mientras que el sabor agrio y la dureza hay que achacarlos al acético.

OXIDADO: En los tintos vira hacia color ladrillo. La nariz aprecia pérdida de aromas primarios, afrutados, con aparición de olores de maderización, incluso de enranciamiento.

A la boca se presentan desvaídos, con gusto de cocidos y débil acidez. Esta alteración se debe a la acción del oxígeno.

En las reacciones de oxidación intervienen, como catalizadores, la Tirosinasa (enzima oxidante que varía con la variedad), y las sustancias fenólicas y el alcohol como fracción oxidable.

El olor a maderizado puede aparecer sin necesidad de paso por madera y se liga a la presencia de acetaldehído.

Después de un trasiego, de una filtración o de un embotellado en que la aireación ha sido importante, el vino aparece como fatigado, con caracteres gustativos muy deficientes.

Sin embargo, cierto reposo y la presencia de sulfuroso devuelven al vino sus primitivas virtudes.

AMARGOR: Los vinos se presentan turbios, ofreciendo los tintos un depósito de materia colorante. El color evoluciona hacia tonos marrones.

El olor se percibe normal o ligeramente acetificado. El sabor adquiere un amargor desagradable que puede aparecer en vinos de dos y tres años después de embotellados.

El sabor amargo, ligado con fenómenos de enturbiamiento, se debe al ataque de la glicerina efectuado por bacterias lácticas. El proceso, en su primera fase, es de naturaleza microbiológica, con descomposición de la glicerina y formación de acroleína y ácidos volátiles.

En una segunda fase, de naturaleza química, se forman los compuestos amargos por la unión de la acroleína con taninos y antocianos del vino.

Cuando los vinos presentan cierto sabor amargo, pero aparecen con aspecto limpio, se debe al paso de principios amargos, contenidos en pepitas y hollejo, al vino, por presiones excesivas en la elaboración.

La Botrytis también deja principios amargos en el mosto, así como las sales de hierro y cobre.

GERANIO: Aspecto límpido y color normal con olor que recuerda claramente al del geranio. El gusto no presenta sabor anormal, pero por vía retronasal se percibe el olor característico de la planta citada.

Los intentos por reemplazar el anhídrido sulfuroso, o al menos reducir su dosis, por otros productos, han llevado a la utilización del ácido sórbico normalmente en forma de sorbato potásico.

En los casos en que el ácido sórbico se presenta en el vino, en ausencia o dosis insuficientes de SO₂, puede ser descompuesto por bacterias del género *Euconostoc* que lo metabolizan en 2-4 hexadienol, cuyo componente aromático se identifica con el olor del Geranio Pelargonio.

MOHO: Aspecto limpio y color normal. Olor característico a moho, a humedad, que se confirma y refuerza a la degustación. Cualquier superficie enmohecida puede transmitir al vino el olor a moho.

Este accidente puede provenir de vendimias enmohecidas por circunstancias climáticas anómalas, impregnándose el vino de este olor desagradable durante la fermentación. Otro material que puede transmitir olor a moho a los vinos es el corcho, cuando es atacado por hongos actinomicetos.

PETRÓLEO: Aspecto y color normal. La apreciación olfato-gustativa se ve molestada por un olor que recuerda el del petróleo.

El vino capta con suma facilidad los olores ambientales.

No debe descartarse la posibilidad de que la parafina de la cara interior del corcho pueda ser degradada por acción microbiana, dando compuestos más simples de olor a petróleo.

RIESGOS QUE PUEDE SUFRIR EL VINO UNA VEZ EMBOTELLADO:

SUCIEDAD: Ofrecen color y aspecto normales, si bien presentan partículas de formas irregulares, bien en suspensión o sobrenadando.

Las impresiones gustativas se suelen presentar normales.

Las partículas pueden provenir de residuos de suciedad en botellas mal lavadas, caso cada vez menos frecuente, de restos no eliminados de productos clarificantes o de porciones de corcho desprendidas del tapón en el embotellado.

Cuando el fenómeno se observa sólo en una botella es excusable, no así generalizado a lotes completos, pues da idea de poco cuidado en las operaciones de embotellado.

FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA: El aspecto visual es normal, si exceptuamos la presencia de finas burbujas de carbónico que se sitúan en el disco que forma el líquido en el cuello de la botella.

A la nariz puede apreciarse cierto aroma láctico mientras gustativamente se deja sentir el picor característico del anhídrido carbónico.

En determinadas circunstancias favorables de pH, temperatura y sulfuroso, las bacterias lácticas degradan el ácido málico, de sabor áspero, agresivo, comunicando a veces sensación gustativa de "verdor", y lo transforman en ácido láctico, de sabor más suave y delicado, con desprendimiento de carbónico y alguna formación de ácidos volátiles. Se

aprecia una ligera disminución en el brillo del vino, mayor suavidad y una impresión general de vino más maduro.

CORCHO: El color se presenta sin modificación y el aspecto es limpio y normal, aunque ocasionalmente pudieran observarse partículas de polvo de corcho o incluso de mayor tamaño.

Olor característico de corcho, confirmado cuando el vino pasa a la boca por vía retronasal. No se aprecia sabor a corcho. Evidentemente este defecto se debe al empleo de corchos de mala calidad que pueden transmitir olores especiales al vino.

Los corchos muy porosos o aquellos cuyos poros han sido tapados con polvo de corcho causan frecuentes problemas.

Los pliegues o arrugas en el corcho, debido a falta de elasticidad intrínseca, exceso de diámetro, deficiencias en el calibrado del cuello de la botella o a la mecánica de la máquina encorchadora pueden hacer que el hermetismo del cierre no sea perfecto, provocando pérdida de vino o infección bacteriana.

En el caso de salida de líquido por el pliegue del corcho, el vino podría atacar al plomo de la cápsula formándose acetato de plomo que pasaría a la botella.

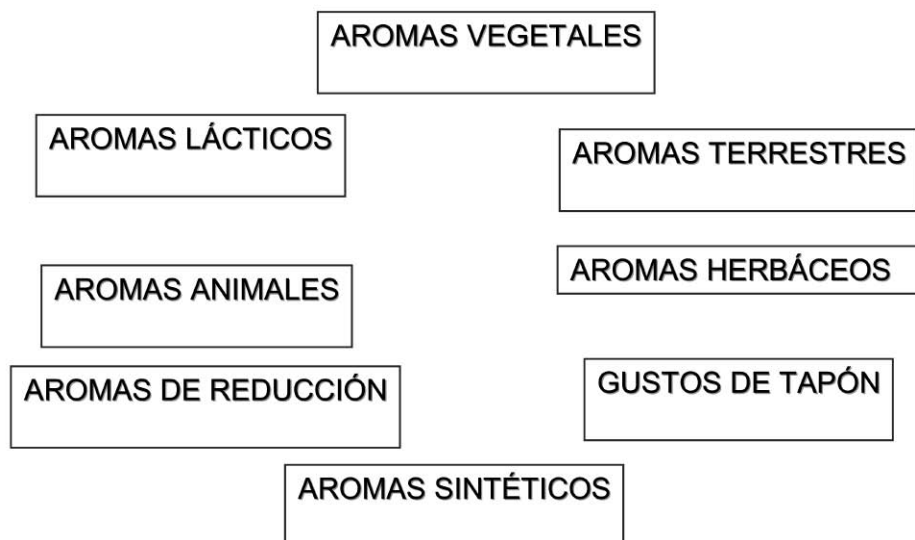
FLORES DEL VINO: El vino presenta en su superficie un velo blanquecino o rosáceo en el caso de vinos tintos, más o menos espeso, que puede sumergirse provocando enturbiamiento. El color puede atenuarse ligeramente, sobre todo en vinos tintos en que pueden aparecer reflejos amarillentos.

En la nariz presentan síntomas de oxidación del alcohol, dominando el olor del acetaldehído.

A la boca dan sensación de estar planos, sosos, como si el vino hubiera sido aguado. Esta enfermedad, conocida como "flor" o "nata", está causada principalmente por microorganismos del género *Cándida*, levaduras incapaces de fermentar el azúcar, pero sí de atacar al alcohol, a los ácidos fijos, a la glicerina y a los ésteres volátiles.

La "flor" aparece en botellas mal taponadas, en el espacio entre líquido y tapón.

PRINCIPALES CONTROLES PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD



AROMAS VEGETALES

ORIGEN: Viñedo - uva.

ASOCIADOS A:

- **Falta de madurez: Climatologías adversas desde el enero**
 - Verduras frescas, pimiento.
- Mecanismo de aparición:
 - cosechas anticipadas.
- Compuesto responsable
 - 3-isobutil-2metoxipirazina (IBMP).
 - * Umbral de percepción: 2 – 15 ng/L.
- Prevención
 - Cata de uva, seguimiento de los niveles de málico.
 - Madurez de la pepita.
 - Maceraciones cortas.

AROMAS HERBÁCEOS

ORIGEN: Viñedo - uva.

ASOCIADOS A:

- **Elementos verdes y fuertes niveles de extracción:**
 - Hierba recién cortada, pámpano.
 - Almendras amargas.
- Mecanismo de aparición
 - Vendimia con hojas, pedicelos etc.
- Compuesto responsable
 - Hexanol-1.
 - * Umbral de percepción: > 10 mg/L.
- Prevención
 - Madurez adecuada.
 - Evitar rotura de pepitas.
 - Mesa de selección y separación de elementos verdes.

AROMAS TERRESTRES

ORIGEN: Viñedo - uva.

ASOCIADOS A:

- **Enfermedades criptogámicas:**
 - Aromas fenólicos y/o yodados.
 - Moho, tierra húmeda, remolacha, champiñón.
- Mecanismo de aparición
 - Penicillium sp. Y Botrytis cinerea.
- Compuesto responsable
 - 0-cresol, Geosmina, 2-metil-isoborneol.
 - 2-isopropil 3-metoxipirazina, 1-octen, 3-one.
 - * Umbral de percepción: > 10 mg/L.
- Prevención
 - Tratamientos fitosanitarios adecuados.
 - Aclareos severos y selección de uva.
 - Clarificación de mostos y maceraciones cortas.

AROMAS SINTÉTICOS

ORIGEN: Etapa pre-fermentativa y fermentativa.

ASOCIADOS A:

- **Alteraciones microbiológicas:**
 - Agrio, picado, goma, pegamento.
 - Manzana verde, amargo.
- Mecanismo de aparición
 - Acetobacter sp. Levaduras Kloequera.
 - Schizosaccharomyces, bact. lácticas.
- Compuesto responsable
 - A. acético, Acetato de etilo.
 - Acetaldehido.
 - * Umbral de percepción: según tipo de vino desde ml/l a g/l.
- Prevención
 - Evitar estrés de levaduras: nutrición.
 - Aclimatación progresiva.
 - Gestión de las dosis de Sulfuroso.
 - Evitar oxidaciones.

AROMAS DE REDUCCIÓN

ORIGEN: Etapa pre-fermentativa y fermentativa.

ASOCIADOS A:

- **Alteraciones microbiológicas o químicas:**
 - Cebolla cocida, ajo, coliflor, patata.
 - Aceituna, judía verde, cereal.
- Mecanismo de aparición
 - Deficiencia de nitrógeno.
 - Residuos de fitosanitarios azufrados.
- Compuesto responsable
 - Etil-mercaptano, metil-mercaptano.
 - Sulfuro de etilo, s. de dietilo, dis.de etilo, dis. de dietilo, sulfuro de carbono.
 - * Umbral de percepción: según tipo de vino desde decenas de ppb.
- Prevención
 - Evitar estrés de levaduras: nutrición.
 - Gestión del Sulfuroso y del % de lías.
 - Aireación suficiente y nivel óptimo de N.

AROMAS LÁCTICOS

ORIGEN: Etapa pre-fermentativa y fermentativa.

ASOCIADOS A:

- **Metabolismo bacteriano (láctico)**
 - Mantequilla, avellanas.
 - Leche agria, yogurt, queso rancio.
- Mecanismo de aparición
 - Altos niveles de A. málico.
 - Restos de málico o FML inacabadas.
- Compuesto responsable
 - Diacetilo, Lactato de etilo.
 - Ácido isovalérico.
 - * Umbral de percepción: según tipo de vino desde decenas de mg/l.
- Prevención
 - Evitar malo-alcohólicas.
 - Siembra para FML.
 - Nutrición en FML.

AROMAS ANIMALES

ORIGEN: Etapa de crianza.

ASOCIADOS A:

- **Desarrollo de Brettanomyces y otros**
 - Cuero, tinta, cuadra, sudor de caballo.
 - Estiércol, orín de ratón, pelo.
- Mecanismo de aparición
 - Mal manejo microbiológico.
 - Bajos niveles de SO₂, Acidez y alto pH.
- Compuesto responsable
 - 4 etil fenol.
 - 4 etil guayacol.
 - * Umbral de percepción: según tipo de vino desde 100 de µg/L.
- Prevención
 - Análisis en viñedo – gestión micro oxígeno.
 - Secar bien los vinos.
 - Escrupulosas medidas de higiene-desinfección.
 - Nivel de sulfuroso molecular >0.6 mg/L.

GUSTOS DE TAPÓN

ORIGEN: Etapa de conservación - envejecimiento.

ASOCIADOS A:

- **oxidación**
 - Ropa húmeda.
- **Tapón contaminado**
 - Corcho, suciedad, súber, moho.
- **Contaminación ambiental**
 - Tratamientos con bromofenol, presencia de Cl.
- Mecanismo de aparición
 - Contaminación fungica del súber.
 - Uso de agentes con bromofenol o clorados.
 - Mal manejo de la humedad en bodega.
- Compuesto responsable
 - Triclorofenol.
 - Tricloroanisol.
 - Tribromofenol.
 - * Umbral de percepción: según tipo de vino desde 5 µg/L.
- Prevención
 - Evitar productos clorados.
 - Realizar controles periódicos ambientales.
 - Control de la humedad relativa en naves.
 - Control de lotes de tapones.

CONCLUSIONES

- OBTENER UN PRODUCTO SANO.
- MANTENER LAS CARACTERÍSTICAS VARIETALES Y AUTOCTONAS.
- OBTENER VINOS MAS PUROS Y NOBLES.
- AFRONTAR LAS EXIGENCIAS DE UN MERCADO CADA VEZ MÁS EXIGENTE.

VINO, ANTIOXIDANTES Y SALUD

Pilar Muñiz Rodríguez

Profesora Titular de la UBU, Área de Tec. de los Alimentos. Área Bioquímica y Biología Molecular. Dpto. de Biotecnología de los Alimentos

En la actualidad cada vez son más los estudios dirigidos hacia los hábitos alimenticios que están considerados como preventivos de enfermedades como las cardiovasculares o el cáncer. Así la llamada "dieta mediterránea" que incluye un consumo moderado de vino, es considerada una dieta saludable como consecuencia de su alto contenido de antioxidantes, los cuales disminuyen el estrés oxidativo implicado en distintas enfermedades. Entre los estudios que relacionan el vino y los efectos beneficiosos para la salud, está la denominada "paradoja francesa", que constituyó un punto de partida, ya que relación un riesgo bajo de padecer enfermedades cardiovasculares en la población francesa a pesar de un elevado consumo de grasas saturadas de origen animal.

Entre los compuestos saludables del vino están los compuestos fenólicos, que por su capacidad antioxidante inhiben o previenen el estrés oxidativo relacionado con los procesos asociados a enfermedades coronarias y cáncer.

El oxígeno está asociado a las condiciones de vida aeróbica, representa la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular, al mismo tiempo que entraña un peligro potencial debido a las especies características paramagnéticas de este gas, responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de una alta reactividad, conocidos como especies oxigénicas reactivas (ROS).

Los principales radicales libres son las especies oxigénicas reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS). Entre estas especies reactivas cabe destacar los radicales como el ión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxilo (OH), alcoxilo (RO \cdot), peroxilo (ROO \cdot) y oxido de nitrógeno (NO), y los no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singlete (1O_2) y peroxinitrito (ONOO \cdot). Junto a los radicales del oxígeno existen otros derivados o centrados en átomos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, azufre, cloro, etc., que indiscutiblemente contribuyen a la propagación y mantenimiento de nuevas reacciones que

conducen a la formación de radicales. Estas especies reactivas se pueden generar endogenamente o exógenamente.

Endógenamente a través de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, por las células fagocitarias (neutrófilos, monocitos o macrófagos), que utilizan el sistema de la NADPH oxidasa generando directamente $O_2^{\cdot-}$. La autooxidación de compuestos de carbono reducido como los aminoácidos, proteínas, lípidos, glúcidos y ácidos nucleicos, da lugar también a la formación de estos compuestos. Otra vía de generación de radicales libres endógena, es a través de la activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario celular, como la hipoxantina y xantina oxidasa, aldehído oxidasa, monoamino oxidasa, ciclooxigenasa, lipoxigenasa, originan también radicales libres.

Los agentes exógenos, también pueden contribuir a un incremento de los radicales libres. Por ejemplo, el humo del tabaco, radiación electromagnética, luz solar, ozono, xenobióticos que producen radicales libres durante su detoxificación por el citocromo P450, agentes contaminantes, aditivos, etc.

Aunque a pequeñas concentraciones los ROS son necesarios para el buen funcionamiento celular, a altas concentraciones pueden interactuar con las diferentes biomoléculas (lípidos, proteínas y DNA) y son la causa del daño celular.

Debido a la potencial alta toxicidad de los radicales libres como las especies oxigénicas reactivas (ROS), los organismos aeróbicos, adaptativamente, han desarrollado numerosos mecanismos de defensa. Estos mecanismos de defensa radican en el aporte de mecanismos antioxidantes que las células han desarrollado contra la acción de estas especies oxigénicas reactivas. Cuya finalidad o estrategia antioxidante corre a cargo de mecanismos enzimáticos y de estructuras moleculares, capaces de metabolizar las especies oxigénicas reactivas a estructuras más estables, o interactuar con estas para su neutralización. Los mecanismos de defensa endógenos se pueden clasificar en

función de su mecanismo de acción como primarios, y secundarios o de reparación, y en función de su naturaleza como enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa), o no enzimáticos (ac.úrico, bilirrubina, glutatión, etc.).

Bajo ciertas circunstancias, los antioxidantes endógenos sintetizados en los organismos aeróbicos no previenen completamente del daño provocado por las especies reactivas "in vivo", y se hace necesario el aporte de sustancias a través de la dieta. Así, los antioxidantes exógenos son aquellos que provienen directamente de la dieta como las vitaminas C y E, los carotenoides, los compuestos fenólicos, y ciertos minerales fundamentalmente.

En los últimos años han cobrado especial interés la capacidad antioxidante que presentan determinados polifenoles, especialmente flavonoides, presentes en diferentes vegetales. Estas sustancias se forman en el reino vegetal a partir de la fenilalanina y la tirosina, combinados con unidades de acetato. La estructura básica está formada por un anillo bencénico A, unido a un heterocíclico C, el cual en el C2 se une a un grupo fenil como sustituyente. La estructura química de los compuestos fenólicos, es la que les confiere su capacidad para actuar como captadores de radicales libres. El tipo de compuesto, el grado de metoxilación, y el número de grupos hidroxilo, son algunos de los parámetros que determinan esta actividad antioxidante. Hoy en día ya se conocen más de 5000 flavonoides diferentes entre ellos los flavonoles, flavanoles, antocianidinas, flavonas, flavanonas.

Los efectos sobre la salud de los antioxidantes presentes en los alimentos dependen de su biodisponibilidad. Estudios actuales respecto a absorción, metabolismo y secreción son bastante controvertidos, en definitiva se carece de estudios concluyentes. Generalmente la absorción y metabolismo de los polifenoles está influenciados por su solubilidad, y por tanto por su estructura química. La mayoría de los monómeros y oligómeros pequeños son solubles en agua y también en lípidos, mientras que los grandes polímeros son menos solubles. También es importante el grado de glicosilación y conjugación con otros polifenoles, así las catequinas y catequina-galatos no están glicosilados y se absorben directamente en el intestino delgado, mientras que algunas flavonas y los flavonoles glicosilados deben ser previamente hidrolizadas hasta agliconas por las bacterias del intestino. Aunque existen algunas

excepciones como la quercetina, glucósido que parece absorberse mejor que la aglicona. A pesar de todas las limitaciones, determinados estudios han permitido demostrar que los flavan-3-ol, flavonoles, antocianos y estilbenos son absorbidos por el cuerpo humano.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL VINO

La capacidad antioxidante del vino depende, fundamentalmente, de su contenido fenólico, que además de jugar un papel importante en la calidad del vino (contribuyendo al color y a la astringencia), según su naturaleza pueden tener un interés nutricional.

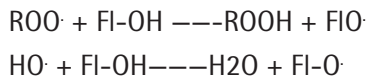
Pueden proceder de la uva que contiene compuestos no flavonoideos en la pulpa y flavonoideos en los hollejos, semillas y raspones, o de los procesos de elaboración y envejecimiento, originados por hidrólisis, polimerizaciones y condensaciones de los anteriores.

Los polifenoles del vino pueden clasificarse en 2 grandes grupos en función del número de anillos fenólicos, los no flavonoideos y los flavonoideos. Los compuestos no flavonoideos más conocidos y abundantes son los ácidos fenólicos y sus derivados, y los estilbenos, y entre los flavonoideos, los antocianos y los flavan-3-ol, aunque se encuentran otros grupos minoritarios como flavonoles, flavonoles y algunas flavonas.

La concentración y variedad de polifenoles en el vino depende de numerosos factores, la variedad de vid y el tipo de vino, clima y terreno, etc. En general, los polifenoles del vino se encuentran muy abundantes en vinos tinto (1000-4000 mg/L) y en menor cantidad en vinos blancos (200-300 mg/L). El mayor contenido fenólico de los vinos tintos, está correlacionado con una mayor capacidad antioxidante, que llega a ser de algunos órdenes de magnitud más potentes que el vino blanco.

Para medir el potencial antioxidante de un compuesto puro o de un alimento, se utiliza el término capacidad antioxidante total. La captación de radicales es el principal mecanismo de acción de los antioxidantes en los alimentos, lo que ha permitido desarrollar métodos en los que se mide la capacidad antioxidante a través de la estabilización de radicales libres sintéticos generados en medios acuosos, o en solventes orgánicos polares, como el metanol.

El mecanismo de la actividad antioxidante de los flavonoides parece ser doble al actuar como captadores de radicales libres, y por la capacidad de quelar iones metálicos, reduciendo así la peroxidación inducida por metales. Como secuestradores de radicales libres por sus grupos fenólicos, son capaces de donar hidrógenos actuando como secuestrador de radicales libres con la formación de radicales fenoxil flavonoides menos reactivos:



Como quelantes actúa inactivando iones a través de su acomplejamiento suprimiendo la reacción de Fenton.

En la actualidad es sabido que el vino presenta una importante capacidad antioxidante que ha sido evaluada "in vitro", y en algunos casos mediante ensayos "in vivo", que además han permitido atribuir determinadas funciones a cada uno de los grupos de compuestos fenólicos. Sin embargo, se hace necesario un estudio sobre la biodisponibilidad así como su distribución y localización subcelular. Ciertos compuestos fenólicos poliméricos que presentan una baja actividad "in vitro", pueden sin embargo, contribuir a la capacidad antioxidante del plasma después de su transformación metabólica en compuestos más simples después de ser absorbidos.

La capacidad antioxidante del plasma, ha sido utilizada como medida de biodisponibilidad de antioxidantes presentes en los alimentos en estudios de intervención. Actualmente la determinación de la capacidad antioxidante del plasma tras la ingesta de vino se realiza con métodos diversos, que demuestran un incremento de la misma después de la ingesta de vino, y en algunos, se correlaciona con un incremento en compuestos fenólicos.

EFFECTOS BENEFICIOSOS DEL CONSUMO MODERADO DEL VINO SOBRE LA SALUD

El consumo de vino aparece asociado en la prevención de las enfermedades cardiovasculares, del cáncer y de determinadas enfermedades neurodegenerativas.

Vino y enfermedad cardiovascular

El programa Monica (Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease, 1961) de la OMS, confirmó que la incidencia de muertes provocada por enfermedades cardiovasculares era mucho más baja en Francia que en otros países industrializados, aún siendo elevados el consumo de grasas saturadas y los niveles de colesterol en sangre. Esto se denominó la "Paradoja Francesa" (Renaud y Lorgeril, 1992), y asocia la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares con una ingesta moderada de vino.

La implicación del vino en la defensa de este tipo de enfermedades se da en tres de sus manifestaciones, enfermedad cardíaca, cerebrovascular y enfermedad cardiovascular periférica. Numerosos ensayos "in vitro" e "in vivo", sugieren que los compuestos fenólicos del vino juegan un importante papel en el inicio y progresión de la aterosclerosis. Los mecanismos implicados en este proceso, se relacionan con una función antitrombótica y un mantenimiento de la función endotelial. Efectos que llevan a cabo los antioxidantes mediante la prevención de la oxidación de las LDL, inhibiendo factores de transcripción o receptores de membrana relacionados con la proliferación de las células musculares lisas, etc.

Vino y cáncer

La carcinogénesis tiene lugar como resultado de la acción de agentes químicos o biológicos que inducen cambios a nivel genético, en cualquiera de sus etapas (inicio, promoción o progresión). El desarrollo del cáncer se desencadena por un daño provocado a nivel celular sobre el ADN de una célula normal, y una expansión de las células dañadas originándose una multiplicación acelerada que se denomina proliferación celular. Posteriormente se forma un tumor que puede extenderse hacia todo el organismo desencadenando una metástasis.

La importancia de las dietas ricas en antioxidantes como factores protectores contra la aparición de enfermedades neoplásicas ha sido puesto de manifiesto a través de distintos estudios.

El vino es uno de los componentes de la dieta mediterránea cuyo consumo moderado está relacionado con la prevención de algunos tipos de cáncer como el del tracto digestivo, pulmón, colon, linfoma de non-Hodking, etc. Esos efectos son atribuibles a los poli-

fenoles que pueden actuar a través de distintos mecanismos bioquímicos como antioxidantes y scavenger de radicales libres. En la actualidad, la acción de los radicales libres en el proceso de carcinogénesis es un hecho conocido y suficientemente demostrado, tanto a nivel experimental como práctico. El papel de los radicales oxigénicos en la iniciación, en la promoción, y en la progresión tumoral es un hecho bastante conocido y puesto de manifiesto mediante múltiples observaciones experimentales. La importancia de las dietas ricas en antioxidantes como factores protectores contra la aparición de enfermedades neoplásicas también ha sido puesto de manifiesto a través de distintos estudios.

Otros mecanismos a través de los cuales actúan los polifenoles son la inducción de apoptosis, inhibición síntesis del DNA, y modulación de las vías de transducción de señal por alteración de la expresión de

enzimas clave como ciclooxigenasas y proteína quinasas. La administración de vino desalcoholizado a ratones, resultó en la inhibición de la formación de tumores a través de alguno de estos mecanismos.

Entre los distintos compuestos polifenólicos presentes en el vino tinto, el resveratrol es el polifenol anticancerígeno más efectivo. Distintos estudios *in vitro* e *in vivo*, demuestran su capacidad de prevenir los distintos pasos de la carcinogénesis, y puede mediar respuestas diferentes en varios tejidos y órganos. Así, ha sido observado que el resveratrol inhibe cambios celulares asociados con la iniciación, promoción y progresión de tumores, inhibe la formación de radicales libres, además de presentar actividad antimutagénica, apoptótica y antiinflamatoria, induce la diferenciación de células osteoblasticas, reduce la formación de tumores de piel, inhibe el crecimiento celular de hepatomas en ratas modelo, etc.

POLIFENOLES Y COLOR DE LOS VINOS TINTOS

Celestino Santos Buelga y Susana González Manzano

Grupo de Investigación en Polifenoles (GIP-USAL). Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca

1. EL COLOR DEL VINO TINTO

El color del vino tinto está determinado por componentes fenólicos extraídos de la uva, principalmente antocianos y flavanoles (catequinas y taninos condensados o proantocianidinas). El color rojo-púrpura inicial de los vinos tintos jóvenes se debe a los antocianos, sustancias químicamente inestables que, a lo largo de la vida del vino, experimentan una serie de reacciones que conducen a su progresiva desaparición, a la vez que se forman nuevos compuestos con características sensoriales diferentes a la de los compuestos originales. Así, es habitual un desplazamiento del color hacia tonos teja o pardos y una suavización en la astringencia. El tipo de procesos que participan en estos cambios y la extensión en que se producen, están influidos por distintos factores, entre los que se cuentan las características internas del vino, (composición, pH, actividad microbiana, contenido de SO_2 , etanol,...) y las condiciones de elaboración y conservación (barricas, temperatura, disponibilidad de oxígeno,...).

Los antocianos son estructuralmente dependientes de las condiciones y composición del medio en el que se encuentran. En medios acuosos o hidroalcohólicos están sometidos a equilibrios dependientes del pH. Cuando la acidez es alta, existen en forma de cationes flavilio rojos; a medida que el pH aumenta sufren una rápida reacción de transferencia del protón que conduce a bases quinoidales azuladas, así como un proceso de hidratación que da lugar a estructuras hemiacetal incoloras en equilibrio dependiente de la temperatura con formas calcona (Figura 1).

La proporción en que se encuentra cada una de estas estructuras está determinada por el pH y en disoluciones débilmente ácidas, como es el vino, predominarían las formas incoloras. Por otra parte, los sulfitos forman también aductos incoloros con los antocianos, lo que ofrece una razón adicional para la decoloración de los mismos en el vino. Sin embargo, aún en estas circunstancias desfavorables,

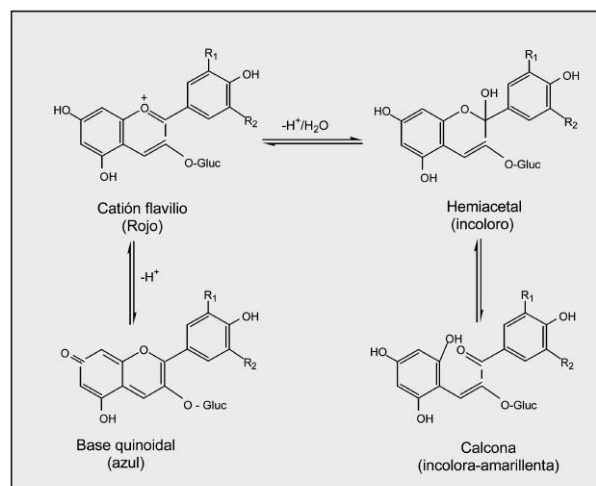


Figura 1. Equilibrios entre formas estructurales de los antocianos.

los vinos tintos continúan mostrando un color rojo más o menos intenso, indicando que en los mismos deben existir mecanismos para la estabilización del color. Es generalmente asumido que el color del vino tinto se asegura a través de dos procesos de estabilización: la conversión de los antocianos a otros pigmentos más estables, y los procesos de interacción entre antocianos y otros componentes del vino. Este segundo tipo de procesos, denominados colectivamente copigmentación, tendría particular importancia en vinos tintos jóvenes, mientras que el primero adquiriría progresivamente un mayor papel a medida que el vino envejece.

2. COPIGMENTACIÓN

El fenómeno de copigmentación se produce por la interacción no covalente entre formas coloreadas de los antocianos y otras moléculas presentes en el medio, denominadas genéricamente copigmentos. Los complejos formados adoptan una estructura de tipo "sandwich" que protege a los cromóforos flavilio del ataque nucleofílico del agua, limitando de este modo la formación de formas hemiacetal incoloras. El resultado final es que las disoluciones de antocia-

nos mostrarían un color más intenso del que teóricamente podría esperarse de acuerdo al pH del medio. Este fenómeno ha sido largamente estudiado en sistemas modelo, y es bien conocido que juega un papel determinante en el color de flores de y frutos, pero su influencia sobre el color de los vinos tintos no está igualmente bien establecida, aunque habitualmente se asume que debe ser importante para la definición del color en los vinos tintos jóvenes. Se ha señalado que podría llegar incluso a contribuir en más del 50% al color expresado en este tipo de vinos, en función del tipo de cofactores presentes, los cuales podrían tener tanta o más importancia para la definición del color que los propios antocianos (Darias-Martin et al., 2007, Schwarz, et al., 2005).

Se distingue entre *auto-asociación*, cuando en las interacciones sólo están implicados antocianos, y *copigmentación*, cuando los antocianos se asocian con otras moléculas. Existe un tercer tipo de copigmentación, la *intramolecular*, en la cual los cromóforos antociánicos se estabilizan por interacción con otras partes de su misma molécula, aunque la misma sólo sería importante en antocianos que contienen varios grupos acilo aromáticos, ausentes en *Vitis vinifera*. De acuerdo con Boulton (2001), la copigmentación intermolecular constituiría el principal mecanismo implicado en la estabilización del color en los vinos tintos jóvenes, mientras que la auto-asociación tendría un papel mucho menos relevante. En ensayos realizados en nuestro laboratorio en sistemas modelo se concluyó que la auto-asociación podía ser responsable de entre el 8% y el 60% del aumento de absorbancia observado en las disoluciones de antocianos solos, dependiendo del tipo y la concentración de los antocianos implicados (González-Manzano et al., 2008). La influencia de la auto-asociación sobre el color de los antocianos disminuye pero es aún evidente en presencia de flavanoles como copigmentos, en la cual predominaría el efecto de la copigmentación intramolecular (González-Manzano et al., 2009). Se debe tener en cuenta, por otra parte, que en los vinos pueden existir distintos tipos de copigmentos y que las concentraciones de antocianos son muy variables, lo que debe afectar en la extensión de cada proceso, auto-asociación y copigmentación, y su influencia relativa sobre la expresión final del color.

A lo largo de la vida del vino se produce un descenso en las concentraciones tanto de antocianos

como de copigmentos, de manera que la extensión de la copigmentación disminuye progresivamente hasta dejar de tener importancia para el color. En ensayos realizados con vinos de las variedades Cencibel, Cabernet-Sauvignon y Syrah, Herminos et al. (2005) estimaron que la copigmentación explicaba el 32-45% del color de los vinos recientemente elaborados y el 20-34% después de 3 meses, para ser apenas observada después de 9 meses (0-5%). Sin embargo, en vinos canarios de Listán Negro y Negramoll, Darias-Martin et al. (2007) calcularon que la influencia de la copigmentación sobre el color era aún significativa al cabo de 2 años, situándose en torno al 19%. Resultados similares fueron encontrados por Lorenzo et al. (2005), quienes estimaron que después de 9 meses en barrica la copigmentación todavía explicaba un 18% de la expresión del color. Las diferencias entre ensayos y autores podrían tener su origen en las distintas variedades y procesos de vinificación utilizados en cada caso, que llevan a diferencias en el tipo y concentración de antocianos y copigmentos presentes, haciendo que varíe la extensión de los procesos de copigmentación.

La copigmentación no sólo afectaría a la expresión del color en los vinos, sino que también influiría sobre su estabilidad, ya que los compuestos fenólicos implicados en la misma participarían menos en reacciones de oxidación o polimerización que conducen a la pérdida de antocianos (Boulton, 2001). Por otra parte, se ha sugerido que la copigmentación podría actuar como una primera etapa en la formación de nuevos pigmentos, determinando tanto el tipo de productos formados como sus niveles (Brouillard y Dangles, 1994). También se ha sugerido que este proceso podría favorecer una mayor extracción de pigmentos desde la uva al mosto, ya que, al retenerse pigmentos en los complejos de copigmentación, se desplazarían los equilibrios de cesión haciendo que se cediera más cantidad de compuestos desde la uva (Boulton, 2001).

3. TIPOS DE COPIGMENTOS

Aunque se conocen muchas sustancias que pueden actuar como copigmentos potenciales de antocianos, incluyendo alcaloides, bases xánticas, aminoácidos, nucleótidos o carbohidratos, en el caso del vino sólo podría esperarse que actuaran como tales

algunos componentes fenólicos y, en particular, flavonoles, flavanoles y derivados hidroxicinámicos. En distintos ensayos realizados en sistemas modelo se ha observado que, en general, los flavonoles se comportan como mucho mejores copigmentos que los flavanoles, mientras que los ácidos hidroxicinámicos tendrían un comportamiento intermedio (Asen et al., 1972; Brouillard et al., 1991; Gómez-Míguez et al., 2006).

Los contenidos de flavonoles en los vinos tintos jóvenes oscilan desde niveles traza a valores en torno a los 100 mg/L, dependiendo de las características de la uva y del tipo de proceso de vinificación. No obstante, sus concentraciones caen rápidamente y al cabo de 9 meses sólo queda del 50% al 80% de sus niveles originales (Hermosín et al., 2005). Los ácidos hidroxicinámicos (ácidos cafeico, cumárico o ferúlico), existen en el vino como consecuencia de la hidrólisis de los ésteres hidroxicinamoyltartáricos de la uva (ácidos caftárico, cutárico o fertárico) y pueden también ser liberados a partir de la madera de las barricas y, en menor extensión, de la hidrólisis de los antocianos acilados; sus concentraciones totales en los vinos tintos estarían en el mismo orden de magnitud que los de flavonoles (algunas decenas de mg/L). Por el contrario, los flavanoles (catequinas y proantocianidinas) son compuestos mucho más abundantes en los vinos tintos, con contenidos que pueden alcanzar varios cientos de mg/L, o estar incluso en el nivel de g/L, si se considera la no bien cuantificada fracción de proantocianidinas polímeras. De esta manera, a pesar de ser peores copigmentos que flavonoles o hidroxicinamatos, se asume que, de manera general, los flavanoles juegan un papel clave en los procesos de copigmentación y definición del color en los vinos tintos. Por otra parte, se debe de tener en cuenta que la mayoría de estudios sobre copigmentación de flavanoles para actuar como copigmentos se han llevado a cabo básicamente con compuestos monómeros (catequinas) y dímeros, existiendo un mayor desconocimiento sobre la capacidad de los compuestos con mayor grado de polimerización para actuar como copigmentos de antocianos. Son, por tanto, necesarios más estudios para concluir sobre la eficacia de los flavanoles presentes en los vinos para intervenir en procesos de copigmentación, especialmente cuando la importancia de los taninos para el color y la estabilidad de los vinos tintos es un hecho empíricamente asumido en Enología.

El enriquecimiento de los vinos mediante adición de determinados copigmentos, sobre todo ácidos hidroxicinámicos y flavonoles, ha sido ensayado por algunos autores (Bloomfield et al., 2003; Darias-Martín et al., 2001, 2002; Schwarz *et al.*, 2005) con resultados variables y no siempre satisfactorios. Hay que tener presente, sin embargo, que esta práctica contaría con limitaciones de tipo legal. También se han estudiado los efectos sobre el color de la suplementación pre-fermentativa de las pastas con semillas de uva con el objeto de forzar la extracción de proantocianidinas (Canals et al., 2008; Kovac et al., 1995). Se observó que esta práctica conducía a un aumento y estabilización en el color, aunque éstos eran, en general, modestos y, además, los beneficios se perdían si se empleaba una cantidad elevada de semillas, debido seguramente a la adsorción de antocianos sobre las mismas. Otra estrategia que se ha sugerido para favorecer los fenómenos de copigmentación es la co-fermentación de distintos tipos de uvas, de modo que las posibles deficiencias de copigmentos de unas pudieran ser suplidas por las otras. Resultados interesantes al respecto fueron obtenidos por Lorenzo et al. (2005) con mezclas de uvas '*Monastrell*', '*Cabernet Sauvignon*' y '*Merlot*'. No obstante, esta práctica cuenta con la dificultad de ajustar las fechas de vendimia, debido a las diferencias existentes en la maduración de las distintas variedades de uva. Igualmente, tanto la co-vinificación como otras estrategias de suplementación, podrían no siempre ser recomendables, por las repercusiones que puede tener sobre otras características de los vinos, ya que no sólo el color se vería afectado, sino también la astringencia, el sabor, el equilibrio redox o la tipicidad.

La mayor o menor capacidad de los distintos componentes de la uva para actuar como copigmentos de antocianos, no asegura necesariamente una adecuada estabilidad en el color. En estudios en sistemas modelo, se ha observado que aunque los flavonoles son buenos copigmentos, inducen lo que se podría denominar un efecto "puro" de copigmentación, y su influencia va declinando progresivamente a medida que disminuye su concentración en los vinos. Sin embargo, los ácidos hidroxicinámicos y los flavanoles, con el tiempo son capaces de reaccionar con los antocianos dando lugar a nuevos pigmentos que contribuyen a mantener el color de los vinos (Gómez-Míguez et al., 2006; Hermosín et al., 2005).

A la vista de todo lo anterior, queda claro que a pesar de lo avanzado en el conocimiento de la copigmentación y sus implicaciones sobre el color y otras propiedades de los vinos, son aún necesarios más estudios para concluir sobre la eficacia como copigmentos de los distintos componentes de la uva, los tipos y concentraciones de antocianos, las proporciones relativas entre antocianos y copigmentos idóneas para favorecer el proceso y, en definitiva, sobre las mejores estrategias para implementar todos estos conocimientos y obtener vinos con un color adecuado y estable.

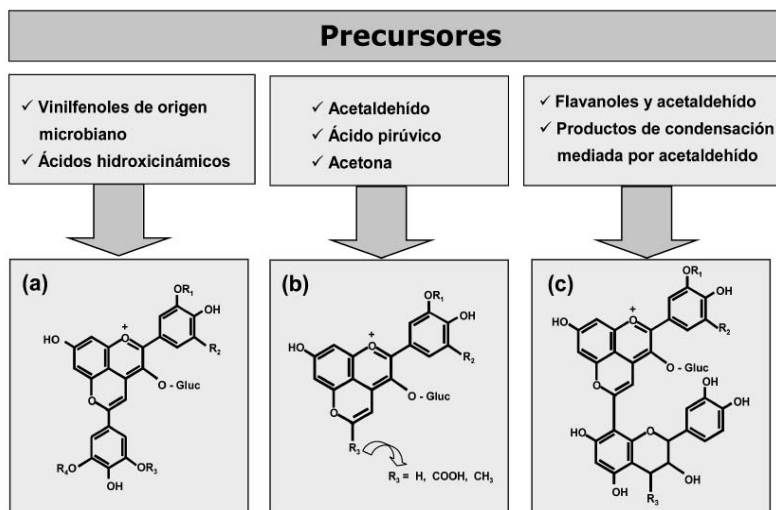


Figura 2. Principales tipos de piranoantocianos.

4. PIGMENTOS DE NUEVA FORMACIÓN

Es un hecho bien conocido que a lo largo de la vida del vino se produce un cambio en el color desde tonos rojos-púrpura, característicos de los vinos jóvenes, hacia tonalidades rojo-ladrillo, anaranjadas o incluso pardas, que se observan en los vinos envejecidos. Este cambio se explica por el progresivo desplazamiento de los antocianos por nuevos pigmentos. En la práctica enológica es habitual referirse a estos pigmentos como "pigmentos polímeros", asumiéndose que derivan de la reacción entre antocianos y taninos. En los últimos años se han identificado una diversidad de pigmentos de nueva formación en los vinos, aunque la mayoría de ellos son moléculas de tamaño molecular no muy elevado. Los pigmentos derivados de antocianos más habitualmente encontrados en los vinos tintos pertenecen a la familia de los "piranoantocianos" (Figura 2). Algunos autores han estimado que los compuestos de esta familia podrían contribuir hasta en un 50% a la materia colorante en vinos envejecidos (Boido et al., 2006). Otro grupo de pigmentos también detectados comúnmente en los vinos tintos son los que derivan de la condensación entre antocianos y flavanoles mediada por acetaldehído (Figura 4), aunque los niveles de los mismos que se han encontrado en los vinos son habitualmente bajos. Otra familia de pigmentos aún peor representados serían los productos de la condensación directa antociano-tanino (Figura 5). De manera general, los niveles de nuevos pigmentos que se han cuantificado en los vinos son aparentemente demasiado bajos para

justificar el color de los mismos. No obstante, el hecho de que se trata de compuestos menos sensible al efecto decolorante de la baja acidez y del SO_2 y, por tanto, capaces de mostrar una mayor expresión de color en las condiciones existentes en los vinos, al contrario de los antocianos, podría explicar en parte esta contradicción. En todo caso, una parte significativa del color de los vinos tintos maduros y envejecidos, se encuentra aún sin explicar satisfactoriamente.

5. PIRANOANTOCIANOS

Este tipo de pigmentos contiene en su estructura un anillo piránico adicional sobre las posiciones 4 y 5 de la estructura de los antocianos, y derivan de la reacción entre antocianos y distintos precursores que pueden ser productos del metabolismo microbiano (por ejemplo, ácido pirúvico, acetaldehído o vinilfenoles), compuestos cedidos por la uva o las barricas (ácidos hidroxicinámicos), o productos formados de reacciones químicas que tiene lugar en los vinos (vinil-flavanoles).

Los primeros piranoantocianos descritos fueron las denominadas "vitisinas A y B" (Figura 2b) formadas por reacción entre antocianos y ácido pirúvico y acetaldehído, respectivamente (Bakker et al., 1997). Este tipo pigmentos serían formados en fases tempranas de la vinificación, cuando la actividad de levaduras es alta y también la concentración de antocianos, por lo que no es de esperar que muestren gran influencia

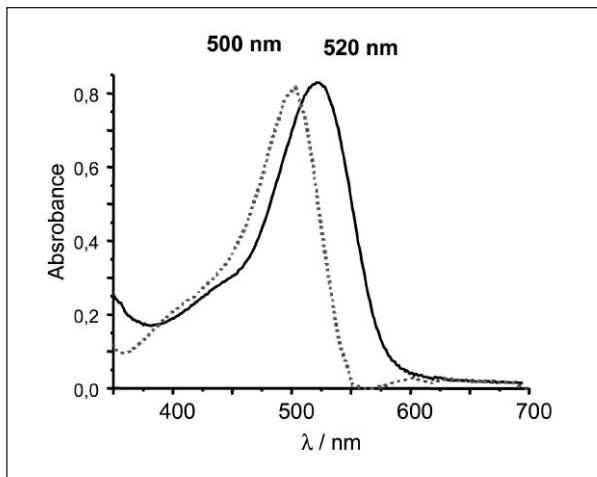


Figura 3. Espectros en la región del visible de un antociano (línea continua) y un piranoantociano (línea de puntos).

sobre el color en esta etapa. Los hidroxifenil-piranoantocianos (Figura 2a), en cuya formación intervienen ácidos hidroxicinámicos (Schwarz y Winterhalter, 2003) o vinilfenoles (Fulcrand et al., 1996), y los flavan-piranoantocianos, derivados de vinil-flavonoles (Figura 2c) liberados en la degradación de productos de condensación mediada por acetaldehído (Francia-Aricha et al., 1997; Mateus et al., 2002b), aparecerían en fases más avanzadas de la vida del vino y podrían ya tener una mayor influencia sobre el color. Estos pigmentos se caracterizan por poseer un espectro de absorción con máximos en la región del visible desplazados hipsocrómicamente (20-40 nm) con relación a los antocianos (Figura 3). De este modo, su color es más anaranjado, por lo que se supone que podrían contribuir a los tonos teja característicos de los vinos envejecidos. Se trata, por otra parte, de compuestos más resistentes contra la decoloración por el aumento de pH y la presencia de sulfitos, debido a que la sustitución del C4 del antociano les confiere protección contra el ataque nucleofílico del agua o del SO_2 .

6. PIGMENTOS DERIVADOS DE LA CONDENSACIÓN MEDIADA POR ACETALDEHÍDO ENTRE ANTOCIANOS Y FLAVANOLES

El acetaldehído es capaz de inducir la condensación entre flavanoles (catequinas y procianidinas) y antocianos, dando lugar a estructuras enlazadas a través de puentes etilo (Figura 4). En este tipo de reacciones se forman nuevos pigmentos de tipo

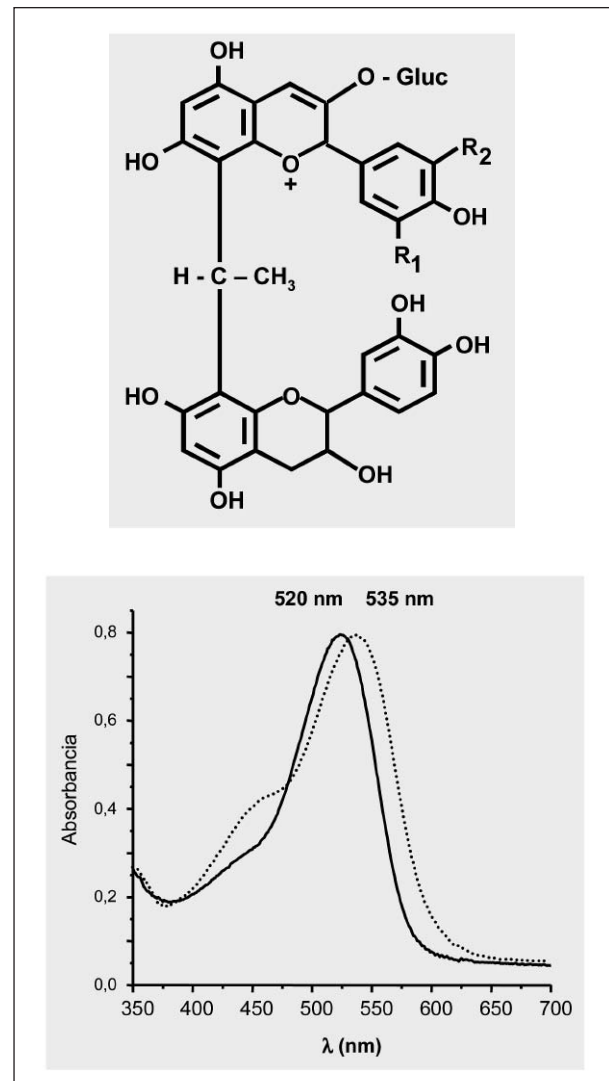


Figura 4. Estructura de un pigmento de condensación mediada por acetaldehído entre un antociano y un flavanol y espectros en la región del visible de un antociano (línea continua) y un pigmento condensado (línea de puntos).

antociano-etil-flavanol que poseen un espectro de absorción cuyo máximo en la región del visible está desplazado batocrómicamente con relación al de los antocianos (Figura 4), por lo que presentan tonalidades más violáceas. Son, además, pigmentos parcialmente resistentes a la decoloración por el aumento de pH y la presencia de sulfitos (Escribano-Bailón et al., 2001).

Cuando la disponibilidad de acetaldehído es alta, los productos formados en estas reacciones progresan rápidamente hacia estructuras de mayor tamaño hasta alcanzar un tamaño crítico por encima del cual precipitan. Este proceso resulta más rápido (se

encuentra más favorecido) cuanto más bajo es el pH. En los vinos se generan cantidades importantes de acetaldehído durante la fermentación alcohólica, por lo que es de esperar que se formen este tipo de productos de condensación, lo que contribuiría a explicar en parte las pérdidas de materia colorante que por precipitación se producen en esta etapa de la vinificación. En fases posteriores de la vida del vino se puede producir también acetaldehído durante la fermentación maloláctica, así como por oxidación del etanol, aunque las cantidades formadas serían más bajas y la disponibilidad de acetaldehído limitada, por la existencia de un pH más elevado y la presencia habitual de sulfitos.

Los niveles de pigmentos de tipo antociano-etil-flavanol detectados en los vinos son habitualmente bajos, lo que se explica por su limitada estabilidad química, al sufrir una fácil ruptura del puente etilo, liberando etil-flavanoles reactivos que se implicarían en la formación de nuevos condensados, que eventualmente precipitarían, o podrían también reaccionar de manera alternativa con los antocianos para dar lugar pigmentos flavan-piranoantociano (Figura 2c) más estables, pero con características cromáticas diferentes (Francia-Aricha et al, 1997; Mateus et al., 2002b). Aunque los bajos niveles de estos pigmentos habitualmente encontrados en los vinos hacen suponer que los mismos no tienen una influencia directa importante en la definición del color, no existe la menor duda acerca de su importancia en la evolución del mismo, tanto por su contribución a las pérdidas de antocianos por precipitación, como por su implicación en la formación de pigmentos de tipo flavan-piranoantociano.

7. PIGMENTOS DE CONDENSACIÓN DIRECTA ANTOCIANO-FLAVANOL

La formación de distintos productos resultantes de la condensación directa entre antocianos (A) y flavanoles (F) había sido ya hipotetizada por Jurd (1969), aunque hasta fecha más reciente no se han aportado evidencias firmes sobre algunos de los compuestos formados. Se han descrito dos tipos de productos de: (1) pigmentos con estructura F-A⁺ (Salas et al., 2004a) en los cuales el antociano en

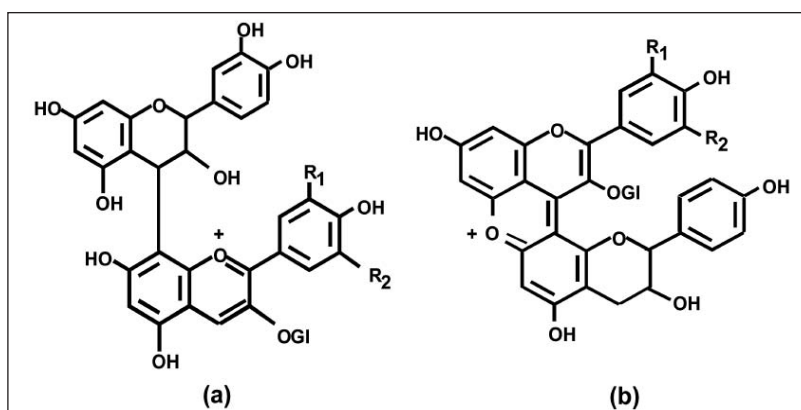


Figura 5. Estructuras de (a) pigmento de condensación directa flavanol-antociano (F-A⁺), y (b) pigmentos de tipo xantilio.

forma flavilio está unido a través de su C6 o C8 a la posición C4 de un flavanol (Figura 5a), y (2) aductos A-F (Remy et al., 2000), donde el antociano se une por su carbono C4 a las posiciones C6 o C8 de un flavanol. Este último tipo de compuestos serían incoloros, aunque se podrían reorganizar para dar lugar a estructuras de tipo xantilio (Figura 5b) de tonalidad amarillenta (Dueñas et al., 2006). Los pigmentos F-A⁺ presentan características cromáticas similares a las de los antocianos y estarían también sujetos a cambios de color en función del pH y de la presencia de sulfitos (Salas et al., 2004b). En todo caso, todos estos tipos de pigmentos parecen encontrarse en cantidades muy bajas en los vinos (Alcalde-Eon et al., 2006; Boido et al., 2006), por lo que no se espera que puedan contribuir como tales en gran medida a la definición del color.

8. OTROS PIGMENTOS

Además de los anteriores, se han descrito otras familias de pigmentos, como las denominadas "Portisinas", que resultan de la reacción entre piranoantocianos y vinilflavanoles (Figura 6a) y que muestran características cromáticas singulares, con un espectro de absorción con máximo en el visible desplazado hacia longitudes de onda altas con relación a los antocianos que les confiere un color más azulado (Oliveira et al., 2006). Este tipo de pigmentos sólo se han detectado hasta el momento en vinos fortificados, como los vinos de Oporto (Mateus et al., 2003). Otro tipo de pigmentos que se han encontrado en vinos son las "oaklinas", que resultan de la reacción entre catequinas y aldehídos liberados de la madera. Este tipo de pigmentos poseen estructuras que

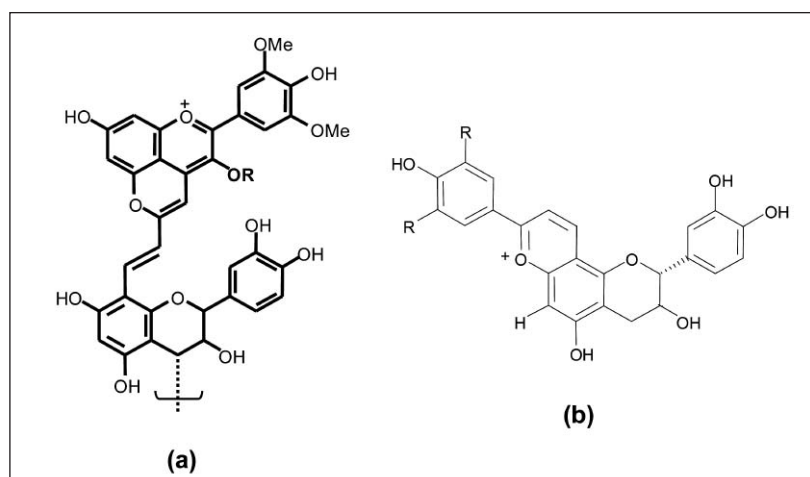


Figura 6. Estructuras de pigmentos de tipo "portisina" (a), y "oaklina" (b).

recuerdan a los antocianos (Figura 6b) y presentan tonalidades rojas o rojo-anaranjadas, aunque su color está menos influido por las variaciones de pH (Sousa et al., 2005). Igualmente también se han identificado antocianos oligómeros (Salas et al. 2005). Todos estos pigmentos se han detectado en concentraciones residuales y, con el estado actual de los conocimientos, no se les puede suponer una importancia real en la definición de los vinos tintos.

COMENTARIO FINAL

Aunque en los últimos años se ha avanzado notablemente en el conocimiento de los procesos que determinan el color de los vinos tintos y la descripción de nuevos pigmentos, aún no es posible establecer una correlación clara entre la composición fenólica, ya provenga de la uva o sea resultado de reacciones posteriores, y el color de los vinos tintos. Existen aún muchas lagunas en el conocimiento de la materia colorante de los vinos y de los mecanismos que determinan la expresión y evolución del color, por lo que se debe seguir profundizando en el estudio de los mismos, con el objetivo final de obtener vinos con un color adecuado y estable.

AGRADECIMIENTOS

El grupo de Investigación en Polifenoles (GIP-USAL) está financiado por la *Junta de Castilla y León* (programa de apoyo a los Grupos de Investigación de Excelencia, GR133) y el Programa *Consolider-Ingenio 2010* del MICINN (FUN-C-FOOD, CSD2007-00063).

BIBLIOGRAFÍA

- Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailon, M. T., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C. (2006). Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing - A comprehensive study. *Analytica Chimica Acta*, 563, 238-254.
- Asen, S., Stewart, R. N., Norris, K. H. (1972) Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effects on color. *Phytochemistry*, 11, 1139-1144.
- Bakker, J., Bridle, P., Honda, T., Kuwano, H., Saito, N., Terahara, N., Timberlake, C. F. (1997). Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry*, 44,: 1375-1382.
- Bloomfield, D. G., Heatherbell, D. A., Nikfardjam, M. S. P. (2003). Effect of *p*-coumaric acid on the color in red wine. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 53, 195-198.
- Boido, E., Alcalde-Eon, C., Carrau, F., Dellacassa, E., Rivas-Gonzalo, J.C. (2006). Aging effect on the pigment composition and color of *Vitis vinifera* L. cv Tannat wines . Contribution of the main pigment families to wine color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6692-6704.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 67-84.
- Brouillard, R., Dangles, O. (1994). Anthocyanin molecular-interactions - the first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food Chemistry*, 51, 365-371.
- Brouillard, R., Wigand, M. C., Dangles, O., Cheminat, A. (1991). pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine-derivatives. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, 1235-1241.

- Canals, R., Llaudy, M. C., Canals, J. M., Zamora, F. (2008). Influence of the elimination and addition of seeds on the colour, phenolic composition and astringency of red wine. *European Food Research and Technology*, 226, 1183–1190.
- Darias-Martín, J., Carrillo, M., Díaz, E., Boulton R. B. (2001). Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chemistry*, 73, 217–220.
- Darias-Martín, J., Carrillo-Lopez, M., Echavarri, J. F., Diaz-Romero, C. (2007). The magnitude of copigmentation in the colour of aged red wines made in the Canary Islands *European Food Research and Technology*, 224, 643–648.
- Darias-Martín, J., Martín-Luis, B., Carrillo-Lopez, M., Lamuela-Raventos, R., Díaz-Romero, C., Boulton R. B. (2002). Effect of caffeic acid on the color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2062–2067.
- Dueñas, M., Fulcrand, H., & Cheynier, V. (2006). Formation of anthocyanin-flavanol adducts in model solutions. *Analytica Chimica Acta*, 563, 15–25.
- Escribano-Bailon, T., Alvarez-Garcia, M., Rivas-Gonzalo, J. C., Heredia, F. J., Santos-Buelga, C. (2001). Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin 3-O-glucoside and (+)-catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1213–1217.
- Francia-Aricha, E. M., Guerra, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buelga, C. (1997). New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2262–2266.
- Fulcrand, H., Cameira Dos Santos, P. J., Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., Fabre-Bonvin, J. (1996). Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1*, 735–739.
- Gómez-Míguez, M., Gonzalez-Manzano, S., Escribano-Bailon, M. T., Heredia, F. J., Santos-Buelga, C. (2006). Influence of different phenolic copigments on the color of malvidin 3-glucoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5422–5429.
- González-Manzano, S., Santos-Buelga, C., Dueñas, M., Rivas-Gonzalo, J. C., Escribano-Bailón, M. T. (2008). Colour implications of self-association processes of wine anthocyanins. *European Food Research and Technology*, 226, 483–490
- Gonzalez-Manzano, S.; Duenas, M.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Escribano-Bailon, M.T.; Santos-Buelga, C. (2009). Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *Food Chemistry*, 114, 649–656.
- Hermosin, I., Sanchez-Palomo, E., Vicario-Espinosa, A. (2005). Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chemistry*, 92, 269–283.
- Jurd, L. (1969). Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20, 191–195.
- Kovac, V., Alonso, E., Revilla, E. (1995). The effect of adding supplementary quantities of seeds during fermentation on the phenolic composition of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46, 363–367.
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G. L., Salinas M. R. (2005). Effect of Red Grapes Co-winemaking in Polyphenols and Color of Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7609–7616.
- Mateus, N., Silva, A. M. S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C., de Freitas, V. (2002b). Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2110–2116.
- Mateus, N., Silva, A. M. S., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buelga, C., de Freitas, V. (2003). A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1919–1923.
- Oliveira, J., Santos-Buelga, C., Silva, A. M. S., de Freitas, V., Mateus, N. (2006). Chromatic and structural features of blue anthocyanin-derived pigments present in Port wine. *Analytica Chimica Acta*, 563, 2–9.
- Remy, S., Fulcrand, H., Labarbe, B., Cheynier, V., Moutounet, M. (2000). First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin-tannin reactions. *J Sci Food Agric*. 80: 745–751.
- Salas, E., Atanasova, V., Poncet-Legrand, C., Meudec, E., Mazauric, J. P., Cheynier, V. (2004a). Demonstration of the occurrence of flavanol-anthocyanin adducts in wine and in model solutions. *Analytica Chimica Acta*, 513, 325–332.
- Salas, E., Le Guerneve, C., Fulcrand, H., Poncet-Legrand, C., Cheynier, V. (2004b). Structure determination and colour properties of a new directly linked flavanol-anthocyanin dimer. *Tetrahedron Letters*, 45, 8725–8729.
- Salas, E., Dueñas, M., Schwarz, M., Winterhalter, P., Cheynier, V., Fulcrand, H. (2005). Characterization of pigments from different high speed countercurrent chromatography wine fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4536–4546.
- Schwarz, M., Picazo-Bacete, J. J., Winterhalter, P., Hermosin, I. (2005). Effect of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after the addition of copigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8372–8381.
- Schwarz, M., Winterhalter, P. (2003) A novel synthetic route to substituted pyranoanthocyanins with unique colour properties. *Tetrahedron Letters*, 44, 7583–7587.
- Sousa, C., Mateus, N., Perez-Alonso, J., Santos-Buelga, C., de Freitas, V. (2005). Preliminary study of oaklins, a new class of brick-red catechin-pyrylium pigments resulting from the reaction between catechin and wood aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9249–9256.

METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS SENSORIAL

M.^a Luisa González San José

Doctora en Ciencias Químicas. Profesora Titular de la Universidad de Burgos. Área de Tecnología de los Alimentos

DESARROLLO DEL ANÁLISIS SENSORIAL Y SU RECONOCIMIENTO COMO RAMA CIENTÍFICA

El Análisis Sensorial tuvo que recorrer un arduo camino hasta alcanzar el reconocimiento como disciplina científica, y no fue precisamente su aplicación en el campo de los alimentos lo que más impulsó su desarrollo. Sin embargo, hoy en día el Análisis Sensorial es reconocido como una disciplina analítica más, y su aplicación en el análisis de los alimentos (Análisis Sensorial de Alimentos, ASA), es una herramienta imprescindible para la industria alimentaria. Los profesionales dedicados al ASA tienen un gran reconocimiento en las industrias del sector y sus conocimientos son imprescindibles en numerosos aspectos de la producción, abarcando desde investigaciones básicas al desarrollo de nuevos productos, e incluyendo la evaluación de materias primas, procesos, estudios de reducción de costes y optimización de productos, estudios de mercado y de expectativas de los consumidores, etc., sin embargo no siempre ha sido así.

Tomando como base, entre otros, los trabajos de Duran y Costell (1981), la evolución del Análisis Sensorial puede dividirse en cuatro etapas que se corresponden más o menos con el desarrollo de la propia industria alimentaria. La primera etapa corresponde al periodo de la industria alimentaria "artesanal". En este momento, la calidad sensorial tiene una gran importancia pero se "evalúa" basándose en la opinión (preferencia o gusto) de una persona, muy frecuentemente la del fabricante o el dueño de la empresa. Con el desarrollo industrial, llegaría un periodo en el que la calidad sensorial pierde importancia. En esa época la producción masiva al menor coste eran las preocupaciones principales. La calidad se centra en la conformidad y cumplimiento de parámetros químicos, físicos y microbiológicos, dejándose de lado las características sensoriales. En ese entorno, la evaluación sensorial se consideraba secundaria y pierde protagonismo frente a la evaluación instrumental. A partir de

los años 50, con la mejora de los niveles de vida y según se van saciando las necesidades de abastecimiento básicas, la calidad sensorial de los alimentos va recuperando protagonismo e importancia. Con ello, aparece la necesidad de establecer métodos para una evaluación adecuada. Por primera vez se plantea formalmente que sean los individuos los instrumentos de medida, lo que lleva a establecer unas pautas mínimas de actuación y la necesidad de ampliar conocimientos sobre la percepción sensorial, los estímulos, los receptores y la comunicación verbal de las sensaciones. Así, se comienzan a definir los atributos a considerar, como el aspecto y las propiedades asociadas (tamaño, color, forma), el gusto (sabor y olor) y la textura. Se desarrollan las primeras pruebas sensoriales y se adaptan y aplican al control de la calidad de los alimentos. En esta etapa es cuando empieza el desarrollo de la metodología sensorial y, por tanto, podría considerarse que es el inicio del Análisis Sensorial propiamente dicho. A pesar de los esfuerzos por reglar este análisis, en esos años la comunidad científica sigue considerando que los datos sensoriales no eran científicamente válidos, se dudaba de su fiabilidad y reproducibilidad, debido a la componente subjetiva que se consideraba anexa a toda evaluación sensorial. Por todo ello, la evaluación sensorial se consideraba como una técnica auxiliar, de apoyo a la interpretación de los resultados analíticos instrumentales. Sin embargo, en esta época ya se reconoce la importancia de las propiedades sensoriales para la calidad de los alimentos. Por ello, es el momento del auge de los equipos imitativos, instrumentos que imitan el proceso de evaluación humana (ver, oler, morder, masticar, presionar, etc.) pero que dan valores numéricos "objetivos". En paralelo se comienza con los estudios que permitan establecer correlaciones entre las medidas instrumentales y las respuestas sensoriales, así como se extiende la preocupación por el adecuado tratamiento de los datos, y comienzan a desarrollarse de forma más intensa diversos estudios sobre los métodos estadís-

ticos más adecuados para aplicar a los datos procedentes de las evaluaciones sensoriales.

Llegados los años 70 se produce definitivamente el desarrollo del análisis sensorial. Con el avance del conocimiento en las áreas de las ciencias de los alimentos, la fisiología, la psicología, la sociología, etc., se está en condiciones de establecer las bases científicas que permitan reconocer al análisis sensorial como una disciplina científica más.

Un hecho importante es que en esta época se revisa y modifica el concepto clásico de Calidad Sensorial, llegándose a la concepción de que ésta no es una característica propia del alimento, sino el resultado de la interacción entre el alimento y el hombre, y que depende no sólo de la clase e intensidad del estímulo, sino también de las condiciones fisiológicas, psicológicas y sociológicas de la persona o grupo de personas que lo evalúa. Puesto que el hombre es el único capaz de evaluar y expresar esa interacción, la evaluación, medida, y análisis de la calidad sensorial, debe realizarse por éste, quedando los métodos instrumentales como herramientas auxiliares, útiles para cuantificar y controlar las características o propiedades de los alimentos que originan el estímulo percibido por el hombre.

A partir de entonces, el análisis sensorial experimenta un desarrollo importante y rápido. Las dudas relativas a la "objetividad" de los datos obtenidos con esta técnica, quedan superadas por numerosos trabajos que demuestran que los sentidos pueden ser educados, pudiéndose llegar, a través del entrenamiento, a la obtención de paneles de cata que aporten datos concordantes, repetitivos, reproducibles y fiables, con rangos de error similares a los de otras técnicas analíticas.

Es interesante señalar que aunque el análisis sensorial fue reconocido como una disciplina científica en los 70, Durán y Costell en sus trabajos de los 80, manifestaban que en esos años, aún era relativamente necesario y frecuente, sobre todo en España, un continuo esfuerzo de los científicos y usuarios de esta técnica para demostrar su valía y adecuado funcionamiento. Parte de este escepticismo, derivaba del desconocimiento de la metodología de aplicación del análisis sensorial. Hoy en día, 30 años después, aún se encuentran sectores escépticos, pero son menos numerosos y habituales. Por otra parte, debe reconocerse que probablemente no todo lo que

se denomina análisis sensorial realmente lo sea, ya que no se desarrolla de forma adecuada, ni aplica una metodología bien definida y validada.

Desde la década de los 90 del siglo XX, y sobre todo durante la primera década del siglo XXI, se han producido diversos acontecimientos de gran valía para la innovación y modernización de este tipo de análisis. Entre ellos cabe destacar el desarrollo de aplicaciones informáticas para automatizar la recogida de datos y para facilitar su tratamiento. Así se ha favorecido el desarrollo de las pruebas especiales como los perfiles dinámicos y los estudios de la variaciones tiempo/intensidad, así como el desarrollo de pruebas descriptivas de perfil libre, entre otros. Además, desde los 90 y cada vez más, se considera muy valioso y casi imprescindible que los equipos sean multidisciplinares, incorporando psicólogos, neurólogos, fisiólogos, junto a los químicos, tecnólogos de alimentos, etc. Los avances del conocimiento sobre la percepción sensorial (*recuerde que el premio Nobel de 2004 de medicina recayó sobre investigaciones sobre al respuesta de los receptores olfativos*), en todas sus facetas: estímulos, receptores, respuesta e interpretación cerebral, factores de interacción, etc., son de gran ayuda para la correcta planificación de las pruebas sensoriales y para la correcta interpretación de las respuestas de los individuos. Además la conjunción de toda esta información acentúa las bases científicas que avalan y soportan las pruebas sensoriales, haciéndolas cada vez menos discutibles.

Las últimas décadas han sido también tiempos de reflexión y revisión de las normas, adaptándolas a los nuevos conocimientos. Desde 1992 son varias las normas internacionales vinculadas al análisis sensorial que han sido revisadas y actualizadas; y en la última década se han revisado y redactado un total de 12 nuevas normas generales. Además es reseñable que se está trabajando intensamente en la adaptación de los equipos, métodos y laboratorios de análisis sensorial, a las exigencias de la acreditación y certificación, como por ejemplo las de la norma ISO 17045. Este hecho es de gran importancia por múltiples motivos y para múltiples sectores, entre los que se encuentra el alimentario. Los procesos de acreditación de paneles no son fáciles, como no lo son tampoco para laboratorios convencionales, pero son factibles y son una herramienta para cumplir con los protocolos de la reglamentación vigente aplicable a

todos los productos con un marchamo de calidad diferenciado, y sobre todo para las Denominaciones de Origen y las Indicaciones Geográficas Protegidas.

EL ANÁLISIS SENSORIAL

La colectividad científica y los especialistas en análisis sensorial manejan habitualmente varias definiciones de esta técnica. Una de las definiciones más sencillas de análisis sensorial es la de la norma ISO 5492:92, que regula el vocabulario sobre Análisis Sensorial, que lo define como el "*examen de las propiedades organolépticas de un producto realizable con los sentidos*". A pesar de la sencillez de esta definición, en ella se encierran los principios esenciales de la metodología analítica que rige el análisis sensorial. El examen implica la indagación y estudio de las cualidades de una cosa, en este caso el examen se centra en las cualidades o propiedades organolépticas, que son las propiedades de los productos que pueden ser percibidas por los sentidos. Por tanto, quedan definidos los instrumentos de medida que son los sentidos, los parámetros a evaluar que son las propiedades sensoriales, e implícitamente se señala la necesidad de realizar la evaluación bajo unas condiciones bien definidas en el método con el que se lleva a cabo el examen.

Es importante considerar que la evaluación sensorial persigue evaluar, analizar, interpretar, y en su caso cuantificar, las sensaciones producidas por el producto objeto de estudio. En este contexto, la interpretación de los datos es primordial, y debe regirse por un adecuado tratamiento estadístico. Se hace necesario llegar a conclusiones libres de interpretaciones incorrectas, siendo los propios datos y su análisis un factor crítico, ya que los datos provenientes de observaciones humanas arrastran gran variabilidad intrínseca, debida a multitud de factores que les influyen, muchos de ellos incontrolables.

Los resultados del análisis sensorial deben de encerrar fiabilidad, exactitud y sensibilidad, evitando los falsos positivos e intentando que el error de la varianza sea el mínimo posible. Todo ello se consigue evitando al máximo las inferencias e interferencias de factores exógenos, de tal modo que la evaluación sensorial se centre en los factores de interés y se aisle de las perturbaciones. Además, se deberá usar el tipo de prueba, así como el tipo de jueces, necesarios y adecuados a cada caso, escogiendo pruebas y jueces válidos para el

fin propuesto. Por tanto, como en cualquier otra evaluación analítica, se deben seguir unas pautas establecidas y cumplir con unos requisitos de selección, validación y verificación, es decir, seguir una metodología bien definida y específica.

METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS SENSORIAL

Actualmente, es bastante amplia la bibliografía disponible sobre análisis sensorial, su desarrollo y aplicaciones, siendo muy numerosos los tratados que se centran en el análisis sensorial de los alimentos. Además, existe diversa normativa nacional e internacional que regula el adecuado desarrollo de esta técnica analítica, especialmente en el área de los alimentos. Probablemente las normas de uso más extendidas sean las internacionales ISO, adaptadas por las legislaciones de los distintos países, ya sea en forma de normas nacionales como las UNE, en el caso de España, o las EN europeas. Así, la norma ISO 6658:2005, y su equivalente española la UNE-ISO 6658:2008, contienen la información (Guía) General de la Metodología del Análisis Sensorial, enfocada en la evaluación de alimentos. El vocabulario queda regulado en la UNE 87001:1994 correspondiente a la ISO 5492:1992. Las condiciones que debe cumplir una sala de cata se definen, entre otras, en la norma UNE 87004:1979. Las normas UNE-ISO 13300-1 y 13300-2, regulan lo referido al personal de los laboratorios de análisis sensorial, y las UNE 87024-1:1995 (ISO 8586-1:1993) y la UNE-EN ISO 8586-2:2009 (ISO 8586:2008) regulan todo lo relacionado con la selección y entrenamiento de jueces. Además existen normas que regulan el desarrollo de cada tipo de prueba, como se irá indicando, otras que regulan el uso de determinados utensilios, y otras de aplicación en el análisis de productos concretos, alimentos y no.

Independientemente de la existencia de normas reguladoras de aspectos concretos, es importante recordar que el análisis sensorial, como disciplina científica reconocida, se desarrolla siguiendo los principios básicos del método científico. Por tanto, la metodología que lo rige se corresponde o es similar a la de cualquier otro experimento analítico realizado con rigor científico, y comprende las cinco fases clásicas: planteamiento, planificación, realización, análisis de los datos y establecimiento de con-

FASES	OBJETIVOS	ACCIONES
PLANTEAMIENTO	Definir objetivo perseguido.	Recabar toda la información de interés.
PLANIFICACION	Establecer el diseño experimental a seguir.	Todas las necesarias para llegar a establecer el diseño experimental: selección prueba y jueces; determinar fechas de análisis, número de muestras y/o series por sesión, etc.
REALIZACION	Desarrollar adecuadamente la prueba planificada.	Todas las necesarias para llevar a cabo la prueba sensorial: preparación muestra y sala, desarrollo ficha de cata, convocar a los jueces, instruirles, motivarles, etc.
ANALISIS RESULTADOS	Extraer la información que se deriva de los datos obtenidos.	Análisis estadístico adecuado al diseño experimental planificado.
ESTABLECIMIENTO CONCLUSIONES	Dar respuesta al objetivo planteado.	Interpretar los resultados acorde con el diseño experimental planificado.

Tabla 1. Fases de la metodología aplicada en análisis sensorial con sus objetivos y acciones principales.

involucrados en la consecución del mismo, y recoger cuanta información sea pertinente. Así se hace necesario tener en cuenta la información que se desea y el uso que se hará de ella; el nivel de confianza que se quiere alcanzar; las propiedades sensoriales implicadas; el tipo, naturaleza y cantidad de muestra disponible; la disponibilidad de jueces, tipo, número, y cuanta información de interés puede recabarse ya sea sobre las muestras, como la forma de consumo, conservación, fecha de recepción o elaboración, tiempo disponible para el análisis, etc., como del tipo de prueba a desarrollar, recabando datos de trabajos previos similares desarrollados / publicados por otros autores.

El análisis sensorial tiene dos objetivos principales:

1.- Diferenciar productos



2.- Describir productos

Cualitativo: presencia de atributos.
Cuantitativo: presencia de atributos y cuantificación de ellos.

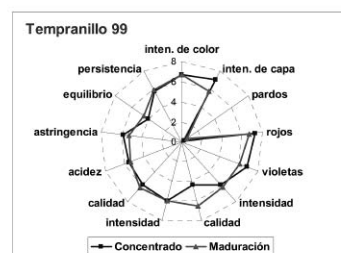


Figura 1. Objetivos principales del Análisis Sensorial.

En principio, se pueden definir dos tipos de objetivos, discriminar y describir (figura 1). Discriminar, como su nombre indica, es establecer diferencias entre las muestras, quedándose en la evaluación de su existencia (pruebas de diferencias), o profundizando en el sentido de la diferencia (ordenación), e incluso llegando hasta la cuantificación de la diferencia (uso de escalas). Al describir se seleccionan las características sensoriales que mejor definen al producto y que suelen ser las que definen su calidad. Este hecho puede permitir diferenciarlo de otros, caracterizándolo.

Algunos ejemplos vinculados al sector vitivinícola son los siguientes:

Detectar diferencias globales entre vinos de distintos depósitos, de uvas de distintas parcelas, vinos de distintas añadas, zonas, etc.

Detectar sentido de la diferencia: ver qué vino gusta más/menos; cuál es más/menos intenso en aroma, color, etc.

Evaluar la magnitud de la diferencia: cuanto más/menos gustan unos vinos u otros; cuánto más/menos intensa es una característica concreta como la astringencia, el equilibrio, la persistencia, etc.

clusiones. Estas fases, por separado, se ocupan de aspectos particulares, todos ellos esenciales para el éxito de la prueba y estudio sensorial (Tabla 1)

El primer paso para el adecuado desarrollo de un análisis sensorial es determinar el objetivo del mismo. Si bien ésta es la acción principal de la fase del planteamiento no es la única, ya que definido el objetivo, se deben considerar todos los factores

Las aplicaciones posteriores pueden ser numerosas, como tomas de decisiones sobre tipos de depósitos, levaduras, enzimas, clarificantes, tipos de barricas, etc., es decir sobre todos los factores "perturbadores" que puedan estar implicados en los cambios o diferencias detectadas, así como de las no detectables, que a veces son igualmente interesantes.

Establecido el objetivo y recabada la información pertinente, la siguiente acción es establecer de forma concreta las condiciones idóneas para el desarrollo del análisis sensorial planteado. Esto es, se planifica el diseño experimental que regirá el desarrollo del análisis, y que es el principal objetivo de la fase de planificación. El diseño experimental engloba todos los planes y la secuencia de etapas para organizar, llevar a cabo y analizar los resultados de una prueba, persiguiendo conseguir la máxima información con el menor número de datos y eliminando o minimizando la interferencia de los factores externos ajenos al estudio. Para ello debe tener en cuenta diversas consideraciones de interés relacionadas con la respuesta sensorial. Así, por ejemplo, debe considerarse la fatiga y la adaptación, que dependen no sólo del grado de entrenamiento del catador, sino también y casi principalmente, de las características del producto a evaluar. Alimentos con estímulos muy potentes fatigan más rápidamente, lo que reduce el número de muestras que pueden ser evaluadas en cada sesión, así como eliminan o reducen la posibilidad de hacer varias series en una sesión. Por otra parte, debe considerarse que la repetición de las pruebas con las mismas muestras puede producir adaptación y, por tanto, respuestas falsas. Por estas mismas razones, si se opta por pruebas con muestras control, se debe asumir que esto reduce el número de muestras problema a evaluar.

Las acciones principales vinculadas a la fase de planificación, son la elección del tipo de prueba y del tipo de jueces más adecuados para cada diseño experimental.

La elección de la prueba depende de numerosos factores, pero los más importantes son la Información buscada y el número de muestras. Si lo que se

Tipo de prueba	Nombre de la Prueba	Norma de referencia
Discriminatorias		
Diferencias	Prueba pareada	UNE-ISO 5495:2009 = ISO 5495:2005 y ISO 5495:2005/cor. 1/2006.
	Prueba Triangular	UNE-ISO 4120:2008 = ISO 4120:2004
	Prueba Dúo-Trio	UNE87010:1993 = ISO10399:1991
	Prueba "A" "noA"	UNE87016:1986/ Carpenter et al., 2000
	Prueba Dos en Cinco	Carpenter et al., 2000
	Prueba de elección forzosa una en tres (EFA-3)	UNE-ISO 13301:2007 = ISO 13301:2002
Ordenación ó de Categorías	Clasificación por Ordenación	UNE 87023:1995 y UNE 87023:1995 ERRATUM:2005 / Carpenter et al., 2000
	Estimación Magnitud	UNE 87030 :2002/ ASTM E1697 :1995
	Escalas Respuestas Cuantitativas	UNE-ISO 4121 :2006 = ISO 4121 :2003
Descriptivas	Perfil de Textura	UNE 87025:1996
	Evaluación Multivariante de un Perfil QDA (patentado)	UNE 87027:1998
		Stone et al. 1974, comercializa Tragon
Hedónicas	Aceptación	En general, se desarrollan aplicando alguna de las pruebas discriminatoria
	Preferencias	

ASTM = American Society for Testing and Materials. Philadelphia, USA.

Tabla 2. Clasificación de las pruebas sensoriales según objetivos generales, y normas que regulan su aplicación.

busca es diferenciar, deben aplicarse pruebas discriminatorias, si el objetivo es describir el producto, se tienen que usar pruebas descriptivas, que adecuadamente tratadas pueden dar también información discriminatoria. Por otra parte, si se trabaja con dos muestras, se usarán pruebas de diferencias, y con más de dos de ordenación. Las pruebas descriptivas pueden aplicarse a una, dos o más muestras, estando limitadas por la fatiga de los jueces.

Las pruebas discriminatorias son un amplio conjunto de pruebas diseñadas para detectar diferencias. Engloban a las pruebas de diferencias propiamente dichas, y las de ordenación o de categorías.

Las pruebas de diferencias han sido diseñadas para trabajar únicamente con dos muestras, y sólo ponen de manifiesto la existencia de diferencia, y como mucho el sentido de la misma. Estas pruebas implican la evaluación de una única propiedad de los productos. Esta propiedad puede ser una característica sensorial particular o el conjunto de ellas, así puede ser por ejemplo la intensidad de color u olor, o la intensidad de aroma, o la valoración global de las sensaciones bucales.

Son varias las pruebas de diferencias que se aplican en análisis sensorial, la mayoría de ellas están regladas por normas de reconocimiento internacional (Tabla 2), o referenciadas en tratados sobre análisis sensorial.

Las pruebas de ordenación o de categorías se caracterizan por distribuir las muestras en grupos o categorías previamente establecidas. La distribución se hace en función de un determinado parámetro sensorial, lo que lleva implícito determinar un orden de la diferencia y, por tanto, indicar el sentido de la misma. Al igual que en las pruebas de diferencias, los jueces ordenan en función de un único atributo, o bien de la sensación global. Se distinguen dos tipos: las de clasificación simple, en las que las categorías usadas son solamente nominales, y las de clasificación con ayuda de escala, en las que las categorías constituyen una escala de intervalos, ordinal semántica o numérica (puntuaciones). Estas pruebas trabajan con más de dos muestras, lo recomendable es de tres a nueve dependiendo de las características de las mismas. El número de muestras por sesión depende de la naturaleza de la muestra y está limitado por la fatiga de los jueces. El tipo de escala a utilizar quedará bien definida desde el inicio (planificación) y condiciona el tipo de prueba.

Las pruebas que usan escalas evalúan puntuando o calificando, por tanto permiten no sólo saber el sentido de la diferencia sino que también cuantificarla. Las escalas que se pueden usar son las de intervalo, las proporcionales y las ordinales, también denominadas escalas de calidades. Las primeras, son aquéllas en las que los tramos se escogen de manera que a intervalos iguales corresponden diferencias de percepción iguales, (por ejemplo, escalas de temperatura °C y °F), mientras que en las escalas proporcionales los intervalos (valores), se establecen de tal modo que a cocientes iguales de los valores corresponden cocientes iguales de percepción. Ambos tipos de escalas son difíciles de conseguir en el análisis sensorial, por eso, en la práctica las escalas de intervalo se definen con sustancias de referencia de concentraciones distintas, a las que se le otorgan puntuaciones (escala numérica), o se asocian a un conjunto de expresiones categorizadas (escala semántica o nominal), o se hacen ambas cosas (escalas mixtas numérica y semántica). Se puede definir cada punto (escala estructurada), sólo algunos puntos (escala incompleta), o únicamente los extremos (escala no estructurada) (Figura 2). Las escalas proporcionales suelen necesitar el uso de

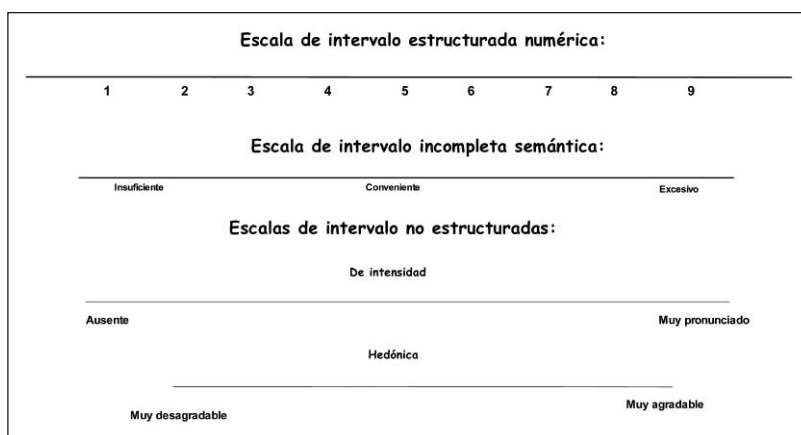


Figura 2. Ejemplos de tipos de escalas de intervalo.

muestras de referencia respecto a las cuales se valoran las muestras problema.

Las escalas ordinales están constituidas por números enteros, cada uno de ellos corresponde a una clase y los tramos superiores de la escala designan la mayor calidad o intensidad. La amplitud de la escala es variable, depende del objetivo y debe fijarse previamente. Las habituales son de tres a nueve puntos según se desee afinar en las categorías. Usualmente combinan escala numérica con categorías semánticas o nominales. Un ejemplo es la escala de dureza Mohs, en la que cada punto de dureza está definido por un valor y una sustancia patrón. Así, el valor 1 corresponde al talco y el 10 al diamante. El principal inconveniente de estas escalas es que no suele ser fácil encontrar los patrones y términos apropiados para construir escalas aplicables a las propiedades sensoriales. Además, en este tipo de escalas los datos no representan situaciones globales, es decir, el valor 4 no implica el doble de intensidad que el 2, ni diferencias numéricas iguales entre pares de muestras distintas implican igual diferencia de sensación. Por todo ello, se usan menos que las de intervalo para cuantificar propiedades, sin embargo se emplean frecuentemente para calificar o clasificar por calidades y preferencias.

La selección de los atributos que describen y caracterizan un producto, así como la cuantificación de los mismos implica el desarrollo de pruebas descriptivas. Dentro de este grupo están la denominada prueba descriptiva simple y la descriptiva cuantitativa o perfil sensorial.

La primera recibe su nombre por ser una simple descripción de los atributos individuales que inciden o

denotan la calidad global del producto a evaluar. Son la base o la fase inicial de los perfiles sensoriales, que se definen como las pruebas de evaluación de las propiedades organolépticas de un producto, de forma reproducible, usando términos seleccionados de un glosario previamente establecido mediante pruebas descriptivas simples. Los atributos seleccionados se evalúan aplicando escalas de intensidad, siendo el resultado el *perfil sensorial* del producto. Dado el carácter cuantitativo y el uso de escalas, estas pruebas pueden englobarse dentro del grupo de las pruebas que usan escalas, pero en un formato multivariante o multiparamétrico. Los atributos seleccionados pueden serlo del conjunto de atributos sensoriales de los productos o de grupos de ellos, como en el caso del perfil olfato-gustativo o del de textura.

Los tratados de análisis sensorial suelen mostrar un grupo de pruebas denominado pruebas afectivas o hedónicas, cuyo objetivo es la evaluación del agrado de los *consumidores* por un producto. Este grupo engloba a las pruebas de aceptación y a las de preferencia. La diferencia entre ellas es que la aceptación es un hecho no comparativo, cada producto se acepta o rechaza y se puntúa de forma independiente de los demás y se pueden otorgar puntuaciones iguales. Sin embargo, la preferencia implica comparación y ordenación por grados de satisfacción que son los que marcan la preferencia. La preferencia, por tanto, conlleva otorgar puntuaciones distintas y ordenadas. Además, la preferencia se lleva a cabo siempre entre dos o más productos, mientras que la aceptación puede ser evaluada sobre un único producto. Las pruebas afectivas se utilizan en el estudio de mercados y en el desarrollo de nuevos productos. Estas pruebas deben realizarlas un elevado número de consumidores, recomendándose un mínimo variable según fuentes entre 100 y 500. Estas pruebas se desarrollan aplicando modalidades o protocolos de las pruebas de diferencias y de categorías u ordenación, no tienen una sistemática propia, y en definitiva su objetivo es discriminante, diferenciar por grados de aceptación, por lo que en sentido *senso* estricto, no son realmente un tipo específico de pruebas.

La interpretación adecuada de los resultados obtenidos de las distintas pruebas sensoriales depende, entre otros parámetros, del tipo de jueces que las hayan desarrollado, condicionando este hecho el

número de datos necesarios para que la prueba sea fiable y con validez estadística. Es por ello que el tipo de jueces también debe establecerse en la fase de planificación.

Existen varios tipos de jueces que dependiendo de los textos, se agrupan o dividen en diversas categorías. Según las normas ISO y la respectiva UNE existen dos grandes grupos de jueces, los no entrenados o jueces legos, entre los que se encuentran los consumidores, y los jueces entrenados, entre los que se distinguen tres niveles: catadores o jueces seleccionados y que han recibido un periodo de entrenamiento hasta alcanzar unas habilidades sensoriales adecuadas; expertos o jueces expertos, aquéllos que han demostrado agudeza en trabajos de panel y buena memoria sensorial a largo plazo; y jueces expertos especializados, aquéllos que tienen un conocimiento adicional especial en un campo o producto particular.

La formación de un panel de jueces entrenados es una tarea ardua, compleja y que implica gran inversión de tiempo (en torno a un valor medio mínimo de año y medio). El entrenamiento hasta el nivel de catadores comprende las etapas de preselección, selección, entrenamiento propiamente dicho y la comprobación y verificación final. En la preselección, realizada por entrevistas, se tiende a primar el interés personal, la motivación y el tiempo disponible sobre las habilidades sensoriales. La selección se orienta a comprobar la normalidad fisiológica de los candidatos y a evaluar las habilidades sensoriales, diferenciadoras, descriptivas, etc. Es, como su propio nombre indica, en la fase de entrenamiento en la que se incide en el desarrollo y mejora de la habilidad individual para reconocer, identificar y cuantificar los atributos sensoriales, así como en familiarizar a los jueces con la metodología del análisis sensorial, su vocabulario, etc. Indiscutiblemente en esta fase se trabaja continuamente la memoria sensorial, ampliando y reforzando la innata de cada juez. Además, como implica un continuo contacto con el jefe del panel y otros catadores, permite evaluar y en su caso reforzar las habilidades sociales, y sobre todo la comunicación.

Dado que el periodo de entrenamiento es prolongado, aunque variable dependiendo de los catadores y del nivel de confianza que se quiera alcanzar, es necesario disponer de suficiente cantidad de muestras y sobre todo de referencias estables en el tiempo.

La comprobación es una actividad periódica y necesaria para garantizar la fiabilidad de los resultados. El análisis estadístico de la variabilidad de la opinión de cada catador informa sobre su consistencia, y el estudio de la variabilidad de las calificaciones medias del equipo informa del funcionamiento y consistencia del mismo.

La selección final de los integrantes del panel de catadores dependerá de los resultados alcanzados en relación con los porcentajes de aciertos o respuestas correctas en el reconocimiento de sensaciones, pruebas de diferencias, uso de las escalas, etc. Los niveles exigibles dependen del intervalo de confianza fijado, pero en cualquier caso los catadores siempre deben ser regulares en las respuestas correctas.

Se recomienda que el número de jueces seleccionados sea superior al deseado, entre 1,5 y 2 superior, con el fin de cubrir el absentismo ocasional.

Es importante señalar que para disponer de paneles de expertos y de expertos especializados se requieren entrenamientos mucho más prolongados, intensos y complejos que los necesarios y conducentes al nivel de catadores. El nivel de experto se suele alcanzar tras años de entrenamiento, y para mantenerse en él o avanzar hacia la especialización, se recomienda ejercitarse diariamente, y catar y memorizar datos de todos los tipos de productos en los que se desea llegar a ser expertos. Así las sesiones de entrenamiento específico para la formación de jueces expertos, implican fomentar un amplio conocimiento de productos concretos, incluyendo las técnicas de producción, presentación, comercialización, etc., y no sólo de sus características sensoriales, incluidos los defectos. Además los jueces expertos deben aprender el uso de escalas comunes para todo el panel, olvidándose de sus valoraciones personales. Esto se consigue con las denominadas "catas de armonización", importantísimas e imprescindibles para obtener un panel válido. Estas sesiones a veces son complicadas de desarrollar, sobre todo si el panel de expertos se quiere formar con expertos ya formados, cuya formación ha sido independiente e incluso personalizada, y no se ha realizado bajo la tutela de un mismo director de panel y de unos criterios homogéneos. En estos casos son muy importantes las habilidades sociales del director del panel, que debe conseguir la armonización. Es importante que el juez experto entienda que la

escala común es de uso dentro del panel, y que si el prefiere usar sus propias escalas cuando actué fuera del mismo puede hacerlo, pero en panel debe respetar las escalas y criterios comunes.

Una vez finalizados los periodos de entrenamiento los jueces expertos alcanzan su calificación si muestran: repetibilidad y reproducibilidad en los datos cuantitativos; consistencia y armonización; detección de defectos sin errores; dominio del vocabulario adecuado y capacidad de describir adecuadamente. El histórico de cada juez se guarda para comprobar todos estos datos en futuras sesiones de control. La calificación puede perderse en cualquier momento, en su caso es necesario volver a entrenarse hasta volver a alcanzar los requisitos exigidos para obtenerla.

Son numerosos los textos en los que pueden encontrarse programas de selección y entrenamiento de catadores, que aunque variables coinciden bastante entre sí. Como ya se ha señalado previamente las normas ISO 8586-1:1993, 6658:2005 y 8586:2008, presentan propuestas reguladas para la selección y entrenamiento de catadores y jueces expertos.

Planificado el análisis sensorial, la siguiente fase es llevarlo a cabo, es decir le sigue la realización. En esta etapa se debe prestar especial atención al control y anulación de todos aquellos factores que puedan condicionar la respuesta sensorial haciendo que pierda su fiabilidad y por tanto la validez de los datos obtenidos. Así, se controlan los aspectos ambientales y los funcionales. Sólo en el caso de que el nivel de entrenamiento de los jueces no coincida con el grado necesario para el desarrollo de un determinado tipo de análisis, la fase de realización deberá empezar por la selección y entrenamiento de los jueces hasta el nivel necesario. Es relativamente habitual que, incluso disponiendo de jueces entrenados, la realización conlleve alguna sesión de evaluación o control.

La mejor forma de controlar los factores ambientales es desarrollar el análisis sensorial en locales especialmente diseñados para ello, la sala de cata, cuyas características quedan recogidas en diversas normas como la UNE 87-004-79 (España) o la NF-V09-105-1972 (Francia), etc. que en resumen indican que la sala de cata debe ser un local aislado de perturbaciones olorosas y sonoras, bien ventilado e iluminado, con control de temperatura y humedad.

Asistir con puntualidad
No consumir, al menos 30 minutos antes de la prueba, ningún producto con sabores fuertes. Ejemplos: chicle, regaliz, caramelos, café, té o tabaco
En su aseo personal y de vestuario no se aplicará el mismo día de las sesiones productos cosméticos (jabones, lociones, cremas, perfumes, desodorantes, etc.) de olores muy intensos o residuales. Si fuera necesario cambiarán su ropa antes de entrar en la sala de cata (empleados de producción, zonas de almacén de olores extraños, etc.)
Estar descansado, dispuesto y con la mente despejada
No participar en la prueba si está en las condiciones siguientes: gestación, resfriado, congestión nasal, dolor de cabeza, usando fármacos. En su caso, informar al analista sensorial ó al director del panel de estas circunstancias

Tabla 3. Algunas normas generales que deben cumplir los miembros de paneles de cata: catadores y expertos.



Fotografía 1. Imágenes de la sala de cata normalizada de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Burgos, Área de Tecnología de los Alimentos. a) Vista general, b) catadores evaluando muestras.



Fotografía 2. Sesiones conjunta de consenso y armonización de jueces. a) Situación favorable, una sala con mesa común para todos. b) Situación poco favorable, usando la propia sala de catas.

Por otra parte y para mantener un ambiente libre de interferencias odorantes, es apropiado que los jueces se abstengan de usar cosméticos u otros productos de olor intenso los días de cata y, que se cambien de ropa si fuera necesario, antes de acudir a la sesión de análisis sensorial (Tabla 3).

La sala de cata está constituida por un conjunto de cabinas individuales en los que los jueces trabajan aislada pero confortablemente (Fotografía 1). Las cabinas presentan trampilla de entrega de muestras, pilas, juegos de luces, etc. Adyacente a la sala de cata suele situarse la cocina o zona de preparación de las muestras, que debe estar bien aislada y separada de la sala de cata para evitar contactos con los estímulos antes de comenzar con el análisis.

En algunas ocasiones, como pueden ser las catas de armonización, las sesiones de cata se desarrollan de modo especial, trabajando todos los catadores en conjunto. Estas sesiones están encaminadas al comentario de resultados, intercambio de ideas, establecer consensos, criterios comunes, etc. Estas sesiones se realizan en salas de reunión, o espacios comunes donde poder trabajar en conjunto cómodamente. La sala de cata resulta poco adecuada para trabajar en común porque está diseñada para todo lo contrario (Fotografía 2).

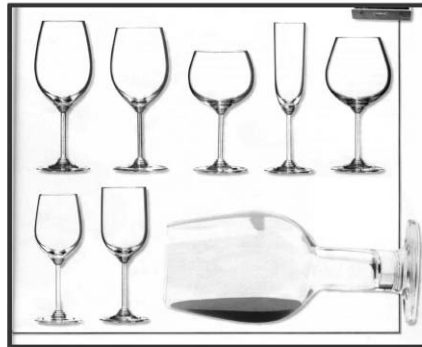
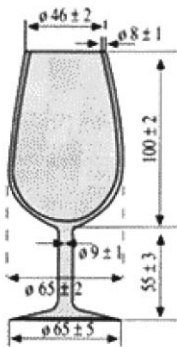
Los aspectos funcionales o prácticos implican entre otras cosas:

- La preparación adecuada de las muestras.
- La preparación de la ficha de cata.
- Preparar las cabinas con todo lo necesario.
- Convocar con tiempo y adecuadamente a los jueces.

Es esencial que las muestras sean representativas del producto a evaluar, y que se presenten del modo más



Fotografía 3. Ejemplos de materiales para la presentación de muestras. a) No reutilizables. b) Reutilizables.



Fotografía 4. Ejemplos de copas de vinos que se emplean para la evaluación sensorial de vinos por distintas entidades y comités de cata. a) Catavinos normalizado. b) Copas varias.

homogéneo posible, asegurando la uniformidad entre las sub-muestras que se entregan a los distintos catadores. Se debe enmascarar, siempre que no sea objeto de evaluación, cualquier heterogeneidad que pueda influir en la respuesta como el color (luces de colores), la turbidez (vasos y copas opacas), etc.

Las muestras se evaluarán en las condiciones preestablecidas, bien definidas y siempre iguales para todos los catadores y sesiones.

Las muestras siempre irán codificadas, usándose códigos que no influyan en la decisión y que no permitan identificarlas. Se indican como idóneos los códigos de tres dígitos ya sean numéricos o alfanuméricos. El orden de presentación lo determinará el tipo de prueba, pero en general siempre se respetan los principios de igualdad de oportunidades para todas las muestras.

Frecuentemente los recipientes en que se presentan las muestras son de un sólo uso (Fotografía 3). Los colores de éstos no deben interferir en la evaluación, por lo que los más usados son blancos. Si se emplean materiales reutilizables deben lavarse con-

venientemente para evitar toda interferencia de muestras anteriores. Se prestará especial atención a la eliminación total del detergente y se usarán, en la medida de lo posible, jabones de olor neutro. Cuando existan recipientes normalizados deberían usarse, es el caso de la copa para la evaluación del aceite de oliva (UNE-ISO 16657:2007), o de la cata de vino (UNE 87022:1992, correspondiente a la ISO 3591:1977) (Fotografía 4). Sin embargo a veces estos no se usan, como ocurre en algunas catas vinos, porque son muchos los expertos que señalan que el diseño de esta copa no es muy adecuado para la correcta evaluación de las características olfativas. Por ello existen en el mercado multitud de tipos de copas (Fotografía 4) que se están empleando por distintos comités de cata. Si la intención es acreditar la metodología empleada todo será más fácil si se usan los materiales normalizados. En su defecto, se deberá justificar la homogeneidad de los recipientes escogidos, así como su disponibilidad y continuidad en el tiempo.

Por otra parte, los resultados sólo serán comparables, sin error, con los de paneles que hayan trabajado con recipientes similares.

Es importante evitar cualquier contaminación de la muestra, por lo que pueden utilizarse auxiliares para cubrir las muestras mientras se sirven o hasta su análisis. Por ejemplo vidrios de reloj sobre las copas de vino. También, es necesario considerar y tener a disposición los útiles que permitan, en su caso, calentar/enfriar la muestra y mantener la temperatura habitual de consumo. Se pueden instalar placas calefactoras o enfriadores en las cabinas, así como usar recipientes metálicos, etc.

Respecto a los parámetros informativos, hay que señalar que algunas normas y normativas vigentes (pliegos de las denominaciones de origen, por ejemplo), determinan las fichas de cata que deben emplearse en el desarrollo de pruebas concretas o, al menos, dan las pautas de cómo deben ser esas fichas.

La ficha de cata es el formulario de respuestas, es decir, el documento donde el juez debe emitir su juicio sobre el producto evaluado. Suele ir encabe-

zada por el tipo de prueba a realizar, seguido de un apartado para que el catador indique sus datos y anote los de la sesión (día y hora). A continuación suele aparecer un texto con información concisa y clara sobre lo que el catador debe hacer y de cómo hacerlo, incluye información sobre las pautas de ingesta, el orden de cata y los tiempos de espera entre muestras, etc. Las últimas instrucciones suelen ser las que indican como dar/anotar la respuesta.

TIPOS DE PRUEBAS	PRUEBAS	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
DISCRIMINATORIAS	DIFERENCIAS A / no A ORDENACIÓN	T Students , ANOVA. Análisis de χ^2 Análisis de varianza de Friedman
DESCRIPTIVAS	Simple Perfil libre Perfil cuantitativo	Análisis estadístico descriptivo: frecuencias Pro-cluster Análisis de varianza y Análisis multivariante
HEDÓNICAS	Diferencias Ordenación hedónica	Igual a discriminatoria

Tabla 4. Tipos de análisis estadísticos más frecuentes en análisis sensorial.

Es importante resaltar que, cuando no se utilizan fichas estandarizadas, es necesario que éstas se confeccionen de tal modo que la información lleve al juez de forma ordenada y clara, sin dar lugar a dudas o interpretaciones ambiguas, de tal modo que, si el director del panel no estuviera presente en la sala, el catador pudiera realizar la prueba sin ningún problema, siguiendo las instrucciones recogidas en la ficha de cata.

Otro aspecto práctico importante es la hora a la que se realiza la cata, que debe ser distante de los momentos del día de hambruna y los de saciedad, ya que ambos influyen en las respuestas de los jueces. Por ello, es conveniente que el análisis sensorial se lleve a cabo alejado de las franjas horarias de las comidas principales del día. Además, se ha comprobado que la máxima agudeza sensorial se tiene a media mañana. Acorde con este hecho los jueces se abstendrán de consumir productos al menos una hora antes de la cata (Tabla 3).

Habitualmente, la sesión de análisis sensorial comienza por una información oral de lo que se va a realizar, que repite la información recogida en la ficha de cata. Antes de que el juez comience su análisis, se debe comprobar que tiene a su alcance todo lo que necesita para llevarlo a cabo, incluyendo el material que le permita dejar anotada su valoración, (teclado en cabinas informatizadas y material de escritura en las no informatizadas).

Antes de que el juez abandone el local se debe comprobar que ha registrado su respuesta y que lo ha hecho del modo adecuado. Es importante, también, comprobar o recabar información, en la medida de lo posible, del interés de los catadores en continuar participando en las sesiones de cata y motivarles de algún modo. A este respecto, debe

considerarse que sesiones de catas demasiado largas o frecuentes aburren, dan malos resultados y conducen al abandono del panel.

Una vez desarrollada la prueba, la etapa siguiente es la recopilación de resultados y su análisis, tras lo que se finalizará con el establecimiento de las conclusiones que serán una respuesta al problema u objetivo inicialmente planteado. Los datos que se obtienen del análisis sensorial deben ser tratados por las técnicas estadísticas planificadas en el diseño experimental. Los principales tratamientos estadísticos que se aplican se muestran de modo resumido en al tabla 4.

Las conclusiones se derivan de los resultados estadísticos pero no directamente. Es decir, la significación estadística de los resultados debe ser interpretada en función del problema planteado y entonces se emite el informe o conclusión final.

BIBLIOGRAFÍA

- Carpenter RP, Lyon DH y Hasdell TA. 2000. *Análisis Sensorial en el desarrollo y Control de la Calidad de Alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza. España.
- Durán L y Costell E. 1981. El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos: Introducción. *Revista de agroquímica y tecnología de alimentos*, 21(1): 1-10

GUÍA DE USO DE PRÁCTICAS ENOLÓGICAS

Eva Navascués López-Cordón

Doctora en Ciencias Biológicas. Área Biotecnología Agrovin

Se consideran prácticas enológicas a todos aquellos tratamientos aplicados sobre el mosto o vino durante el proceso de vinificación. En nuestras latitudes están sometidos a la legislación comunitaria (UE), y adscritos a las normas del Codex Enológico Internacional, publicados por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV).

El objeto del presente trabajo es poner de manifiesto aquellas prácticas o tratamientos de autorización más reciente o controvertida entre los distintos países. Para ello se adjunta una Lista comparativa de prácticas enológicas entre la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), la Unión Europea, según los Reglamentos (CE) nº606/2009 y nº423/2008 y la Directiva 2007/68/CE (normativa etiquetado de productos alimentarios), y los Estados Unidos de América, en representación de los países vitivinícolas del Nuevo Mundo. [El Curso de Verano Técnica Vitivinícola en la Ribera del Duero, tuvo lugar en Julio 2008, para esta publicación se ha actualizado el texto con el nuevo Reglamento Europeo relativo a prácticas enológicas autorizadas (CE nº 606/2009) y el Código Internacional de Prácticas Enológicas de la OIV, en su edición de 2010].

En general las prácticas enológicas autorizadas responden a inquietudes técnicas y/o comerciales del Sector Vitivinícola. Sin embargo, en muchos casos la autorización va con posterioridad a su empleo, (es el caso de los derivados de roble, o las manoproteínas). En otros casos están autorizadas prácticas obsoletas (tratamiento con isotiocianato de alilo), o impracticables, como en el caso de la ureasa.

Observando las prácticas autorizadas a nivel mundial, la Unión Europea presenta las condiciones más restrictivas para el empleo de tratamientos, en relación con las recomendaciones de la OIV, y sobre todo con países como Estados Unidos, Chile, Nueva Zelanda o Australia. Estos países por el contrario establecen más exigencias en la analítica de los vinos importados.

ELIMINACIÓN DE PROBLEMAS DE REDUCCIÓN: DERIVADOS DE COBRE

La aplicación de sulfato y recientemente citrato de cobre, tiene como objeto la eliminación de los desagradables olores azufrados en el vino. La producción de SH_2 y derivados (mercaptanos), tiene su origen en la fermentación alcohólica, y está directamente relacionada con carencia de nitrógeno asimilable y falta de elementos nutrientes como el aminoácido arginina o el ácido pantoténico (Vit B5). La adición de sales de cobre es una práctica de acción curativa, aunque de aplicación limitada (0,1g/Hl) y efecto desigual, ya que elimina sulfhídrico y mercaptanos, por unión del azufre a sulfato cúprico (CuS), pero no elimina disulfuros. Además, se trata de un tratamiento poco selectivo, ya que reacciona también con compuestos interesantes (derivados tiólicos), que disminuyen del espectro aromático del vino. También presenta un impacto sobre la longevidad del vino: Cu^{2+} es un oxidante fuerte. Para resolver el problema desde un punto de vista preventivo se puede emplear sales de amonio (tratamiento autorizado, pero limitado a un máximo de 1g/hl en la UE, no así en otros países), o pantotenato y aminoácidos (no autorizada en al UE, si en Estados Unidos, Chile, Nueva Zelanda, y Australia, entre otros).

TROZOS DE MADERA DE ROBLE

Las virutas o chips de *Quercus ssp.* Están autorizadas en Europa desde el 2006, en los países del nuevo mundo se viene empleando desde hace muchos años. En España, los vinos de Denominaciones de Origen que lleven el distintivo de *Crianza*, *Reserva* y *Gran Reserva*, deben de tener un envejecimiento exclusivo en barricas de madera de roble, y únicamente se deja a criterio de la DO la utilización de trozos de roble para vinos de añada. Aunque algunas denominaciones de origen se resisten a su empleo, es indudable que esta práctica enológica, en su ámbito de producción, se ha demostrado una herramienta fundamen-

tal para competir en los mercados exteriores, donde países como Australia o Chile llevan ventaja manifiesta en experiencia y trayectoria.

El envejecimiento "con" madera puede ser una buena alternativa frente al costoso envejecimiento "en" madera. [Efectivamente, se puede estimar que el coste de envejecimiento de un vino en bodega de roble francés asciende a 0,67€/botella (sin valorar el tiempo), en roble americano 0,34€/botella, y el empleo de derivados de roble no llegaría a suponer un coste de 0,02 €/botella].

No supone fraude, mientras no se indique crianza en bodega. Entre sus ventajas está el bajo coste en mano de obra, la posibilidad de tratar grandes volúmenes, y el mayor control que tiene el enólogo sobre el aporte de madera.

PREPARACIONES ENZIMÁTICAS

Quizá sea en este apartado donde haya más diferencia entre las diferentes legislaciones y recomendaciones. Existe unanimidad en cuanto a la posibilidad de tratamiento con enzimas pectolíticas para clarificación de mostos, pero la UE no lo autoriza expresamente en vinos. Las actividades secundarias celulasa y hemicelulasa, imprescindibles para la maceración en vinificación de tintos no están autorizadas por la UE, aunque la OIV si estima su empleo conveniente. Nuevamente no existe restricción alguna en los países del Nuevo Mundo. Estos países consideran también el empleo de proteasa, como actividad adicional para facilitar la rotura de las proteínas de la membrana vacuolar de las células del hollejo.

Los tratamientos combinados de glucosa oxidasa y catalasa, tienen como objetivo la reducción del contenido en etanol en vinos por vía enzimática, degradando parte de la glucosa del mosto en ácido glucónico. Es una respuesta a la demanda del consumidor de vinos menos alcohólicos. Aunque no está optimizado su empleo, (es un tratamiento agresivo y muy oxidante), se puede emplear ya en Estados Unidos, mientras que ni Europa ni la OIV lo considera de momento.

Un caso contrario sería la aplicación de ureasa, que tiene como objetivo la degradación de urea para evitar las concentraciones de carbamato de etilo. Es una práctica autorizada en todo el mundo pero no empleada.

MANOPROTEÍNAS DE LEVADURAS

Las manoproteínas, como estabilizante frente a precipitaciones tartáricas y proteicas, están autorizadas recientemente por la Unión Europea (2006), aunque la OIV consideraba su empleo cinco años antes (Oeno 4/01). En total hicieron falta diez largos años de estudio para poder aplicarlas en bodega, siendo sin embargo un producto orgánico y natural, derivado de las propias levaduras fermentativas, y cuyo efecto era más que probado, pues es la base de técnicas enológicas tan antiguas como la crianza sobre lías.

DIMETIL DICARBONATO (DMDC)

Se trata de un tratamiento autorizado tanto por la OIV, la UE, como en los países del Nuevo Mundo. Se emplea como conservante, por ser efectiva frente a bacterias lácticas y sobre todo frente a levaduras. Es muy eficiente frente a refermentaciones y contaminación por *Brettanomyces*. Tras su aplicación se hidroliza rápidamente en CO₂ y metanol, por lo que su efectividad sólo está comprobada cuando se realiza en recipientes de pequeño volumen (botella). Se trata de compuesto químico de síntesis, muy tóxico por contacto, inhalación e ingestión. Sin embargo, en vinos dulces está autorizado como tratamiento por la UE desde 1988, y en vinos de más de 5g/l desde el 2005.

TRATAMIENTOS QUE HAN DE FIGURAR EN EL ETIQUETADO

Según la normativa europea (2007/68/CE), el empleo de determinados tratamientos precisa mención en el etiquetado, a partir del 31 de Mayo del 2009. Estos son:

- Derivados lácteos: caseinatos potásico / caseína / leche / lactoalbumina
- Derivados de huevo: ovoalbumina (clara de huevo)/ lisozima
- Derivados de azufre: estimando un máximo en sulfuroso recientemente revisado a la baja (Reglamento (CE) N° 606/2009) de 200mg/L, en blancos y rosados, 150mg/L, en tintos. En vinos con más de 5g/l de azúcares residuales: 250mg/L (blancos y rosados) y 210mg/L (tintos). Para vinos espumosos es de 185mg/L.

La lisozima, fue autorizada por la UE como conservante en 2001, después de varios años de estudio, aunque su empleo era habitual en otras industrias alimentarias. Uno de los objetivos de su utilización es de indudable interés higiénico sanitario ya que combate la presencia de aminas biógenas producidas por bacterias lácticas y es una alternativa al SO₂, por lo que contribuye a reducir su nivel en vino. Sin embargo, al tener que figurar su empleo en la etiqueta como posible alérgeno, disuadirá a los enólogos de su empleo habitual.

Leyenda: AV – Autorizado en vino. AM – Autorizado en mosto. AMV – Autorizado en mosto y vino.

Referencias:

- Su empleo precisa mención en el etiquetado, a partir del 31 de Mayo del 2009, según Directiva 2007/68/CE.



BIBLIOGRAFÍA

California Administrative Code, Title 17. Public Health, Division 1. State Department of Health Services, Chapter 5. Sanitation (Environmental), Subchapter 2. Foods and Drugs, Group 2. Definitions and Standards, Article 14. Wine Standards and Prohibited Practices, §17010

Code of Federal Regulations Title 27 Part 24 – Wine

Código Internacional de Prácticas Enológicas de la OIV, edición 2010.

Directiva 2007/68/CE, etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimentarios.


Reglamento (CE) N° 479/2008 por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola.,

Reglamento (CE) N° 606/2009, relativo a las categorías de productos vitivinícolas, las prácticas enológicas y las restricciones aplicables.

LISTA COMPARATIVA DE PRÁCTICAS ENOLÓGICAS
Entre la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), la Unión Europea y los Estados Unidos de América
 Actualizado con Reglamentos (CE) N°606/2009 y N°423/2008 y Directiva 2007/68/CE (normativa etiquetado)




OBJETIVO	TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	OIV	UE	USA
Acidificación	ácido fumárico				AV @: 3.0 g/L
	ácido láctico		AMV ② Máximo 4 g/l (aumento máximo de acidez total considerando la suma de todos los ácidos añadidos).	AMV ② Máximo 2,5 g/l (aumento máximo de acidez total considerando la suma de todos los ácidos añadidos).	AV
	ácido málico L (-) o DL		AMV ② Máximo 4 g/l (aumento máximo de acidez total considerando la suma de todos los ácidos añadidos).	AMV ② Máximo 2,5 g/l (aumento máximo de acidez total considerando la suma de todos los ácidos añadidos).	AMV
	ácido tartárico		AMV ② Máximo 4 g/l (aumento máximo de acidez total considerando la suma de todos los ácidos añadidos).	AMV ② Máximo 2,5 g/l (aumento máximo de acidez total considerando la suma de todos los ácidos añadidos).	AMV
Clarificación	alginato de calcio		AV	AV Espumosos	AV
	alginato de potasio		AV	AV Espumosos	AV
	caseinatos potásicos	Su uso implica mención en el etiquetado(CE)	AMV		
	caseína	Su uso implica mención en el etiquetado(CE)	AMV	AMV	AV
	cola de pescado		AV	AMV	AV
	dióxido de silicio		AMV	AMV	AMV
	gelatina alimentaria		AMV	AMV	AMV
	goma arábiga		AV ①: 0.3 g/L	AV	AMV ①: 0.24 g/L
	leche/lactoalbúmina	Su uso implica mención en el etiquetado(CE)	AV	AMV	AV ①: 0.2% v/v



OBJETIVO	TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	OIV	UE	USA
	materias proteicas de origen vegetal	Trigo o guisante (UE, OIV)	AMV	AMV	
	ovoalbúmina (clara de huevo)	 Su uso implica mención en el etiquetado(CE)	AV	AMV	AV
	silicato de aluminio	caolín	AV	AMV	AMV
	sulfato de hierro	bentonita	AMV	AMV	AMV
	Compuestos de clarificación de uso clásico (diatomea, celulosa, etc.)		AMV	AMV	AV ①: 0.022 g/L
	Quitosano/ quitina glucano	Origen fúngico	AMV ①: 100g/HI		AMV
Decolorantes	polivinilpirrolidona (PVPP)	Secuestrante de taninos	AV	AMV	AMV ①: 7.19g/L
	carbones de uso enológico		AMV	AMV ①: 100g/HI	AMV ①: 3.0 g/L
Desacidificación	bacterias lácticas	NO OGM (UE, OIV)	AV	AMV ①: 80g/HI	AV
	carbonato de potasio		AMV		AMV ∇ acidez = 5 g/L
	tartrato neutro de potasio		AMV	AMV	
	bicarbonato de potasio		AMV	AMV	AMV
	carbonato de calcio		AMV	AMV	AMV ∇ acidez = 5 g/L
Desodorizante	preparado homogéneo de ácido tartárico y de carbonato de calcio			AMV	
	sulfato de cobre		AV	AV	AV
	citrato de cobre		①:1g/HL②: 1 mg/L	①:1g/HL②: 1 mg/L	①:6 mg/L: 0.5mg/L
	cloruro de plata		AV		
Elaboración	trozos de madera de roble	Quercus ssp.	AV	AMV >95% >2mm	AV

OBJETIVO	TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	OIV	UE	USA
	acetaldehído				AV ①: 300 ppm ②: 0
	Ácido metatartárico		AV ①: < 10g/HI	AV ① : 100mg/l excepto por necesidades técnicas específicas (art. 42.3)	AMV Max 35% del total acidez = 5 g/L No aplicable bajo las leyes del Estado de California
	Agua				AV ① 1.2 g/L
	corcho (granulado)				AV
	resina de <i>Pinus halepensis</i>			AM Vinos «retsina»	AMV
	mosto de uva concentrado			AMV	
	mosto de uva concentrado rectificado			AMV	
	Sacarosa			AM	AMV No aplicable en el Estado de California
	tanino		AMV	AMV	AMV ①: 3.0 g/L (tinto) ①: 0.8 g/L (blanco) ⑦= 150 mg/L
	Vino con alcohol añadido o destilados				AMV Destilados sólo para vinos
	Oxígeno		AMV	AMV	AMV
	Catalasa				AV
	glucosa oxidasa	Disminución del rendimiento alcohólico			AV
	Proteasa	Procedente de <i>Aspergillus niger</i>			AMV
Enriquecimiento					
Enzimas					

OBJETIVO	TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	OIV	UE	USA
Fermentación	beta-glucanasa	Procedente de <i>Trichoderma harzianum</i> (UE)	AMV	AMV	AMV
	Pectolíticas (PG,PE,PL)	Procedente de <i>Aspergillus niger</i>	AMV	AM	AMV
	Carbohidrasa		AV		AM
	Celulasa, hemicelulasa	Procedente de <i>Aspergillus niger</i>	AM		AMV
	Ureasa	Procedente de <i>Lactobacillus fermentum</i> (UE) Aplicación permitida cuando urea > 1%	AV ⓪: 80-100mg/L	AV ⓪: 75mg/L ⓷0	AV
	glicosidasa		AMV		
	Antiespumante	Ácido oleico (mono y di-glicérido) dimetilpolisiloxano polioxietilén 40 monoestearato sorbitan monoestearato	AM		AM ⓪: 0.018 g/L AM AM AM
	lías frescas			AV ⓪: < 5%	
	bisulfito de amonio	Antiséptico Solución sulfurosa (NH4 HS03)	AM	AM ⓪: 0.2 g/l	
	clorhidrato de tiamina		AMV Espumoso ⓪: 0.6 mg/l	AMV Espumoso ⓪: 0.6 mg/l	AV
	paredes celulares de levadura		AM ⓪: 40 g/HL	AMV ⓪: 40 g/HL	AMV
	harina de soja				AV
	levaduras de vinificación	NO OGM (UE, OIV)	AMV	AMV	AMV
	fosfato de amonio	nutriente			AMV espumosos
fosfato diamónico (DAP)	nutriente	AM	AMVEspumosos	AMV espumosos	
sulfato de amonio	nutriente	AM	AMV Espumosos		
sulfito de amonio	Antiséptico (NH4)2 SO3	AM ⓪: 0.3 g/L	AM ⓪: 0.2 g/l	AM	

OBJETIVO	TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	OIV	UE	USA
Conservante	disulfito de amonio (metabisulfito amonico)	Idem metabisulfito K	AM		
	ácido sórbico		AV ①: < 0.2g/L	AMV ②: 0.2 g/L	AV ②: 0.3 g/L
	anhídrido sulfuroso	 Su uso implica mención en el etiquetado(CE)	AMV	② Blancos y rosados: 200mg/L Tintos: 150mg/L Vinos con más de 5g/l de azúcares residuales: 300mg/L Cavas: 170mg/L	AMV AV
	Argón		AMV	AMV	AMV
	Nitrógeno		AMV	AMV	AMV
	bisulfito de potasio	Idem metabisulfito K	AMV	AMV	AMV
	dimetil dicarbonato (DMDC)	Vinos con > 5 g/l Azúcares. Recipientes de menos de 60 litros	AV	①: 200 mg/L ②: 0	AV AV
	dióxido de carbono		AMV	AMV	AMV
	anhídrido sulfuroso, también llamado dióxido de azufre, de bisulfito de potasio o de metabisulfito de potasio, también llamado disulfito de potasio o piro-sulfito de potasio	 Su uso implica mención en el etiquetado(CE)	AMV	② En sulfuroso: Blancos y rosados: 200mg/L Tintos: 150mg/L con más de 5g/l de azúcares residuales: 250mg/L (blancos y rosados) 210mg/L (tintos) Espumosos: 185mg/L AMV	AMV AV ②: 0
	isotiocianato de ajo				
	Lisozima	 Su uso implica mención en el etiquetado(CE)	AMV	①: 500 mg/L	AMV ①: 500 mg/L
	sorbato potásico		AV		AMV ②: 0.2 g/L
	ácido ascórbico		AMV	①: 250 mg/L ②: 250 mg/L Sólo L-ascórbico	AMV ①: 250 mg/L ②: 0.3 g/L AMV

OBJETIVO	TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	OIV	UE	USA
Secuestrante	ferrocianuro de potasio		AV	AV ②: 0	
	Compuesto a base de ferrocianuro	Complejos secuestrantes			AV ②: 1 ppm
	fitato de calcio		AV	AV ①: 8g/HI	
	ácido cítrico		AV	AV ②: 1 g/L	AV 0.7g/L
	Copolímeros adsorbentes (PVI/PVP)	Reducción contenido de Cu, Fe y metales pesados	AMV ①: 50g/HI	AMV ①: 50g/HI	
Estabilización	tartrato de calcio		AV	AV ①: 200 g/hl	
	bitartrato de potasio			AV	AV ①: 4.19 g/L
	manoproteínas de levaduras		AV	AV	
	Goma de celulosa (CMC)		AV Blancos y rosados ①: 10g/HI	AV Todos los vinos ①: 10g/HI	
Otros	sulfato de calcio	Sólo vinos dulces "tipo sherry"			AV
	citrato de potasio				AV No permitido de V. vinífera
	Etilmaltol				AV No permitido para V. vinífera
	Maltol				AV No permitido para V. vinífera

INFLUENCIA DE LA MICROOXIGENACIÓN SOBRE LA MATERIA COLORANTE Y LA ASTRINGENCIA DE LOS VINOS TINTOS

Fernando Zamora Marín

Doctor en Ciencias Químicas. Diplôme Nacional d'Oenologie U. Burdeos. Grupo de Investigación en Tecnología Enológica (TECENOL). Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Facultad de Enología de Tarragona. Universidad Rovira i Virgili

La crianza del vino en barricas de roble es un fenómeno realmente complejo en el que participan diversos procesos mediante los cuales el vino se transforma, ganando complejidad y estabilidad [8]. En la Figura 1 se presenta un esquema que trata de sintetizar el conjunto de procesos que tienen lugar durante la crianza [3,11].

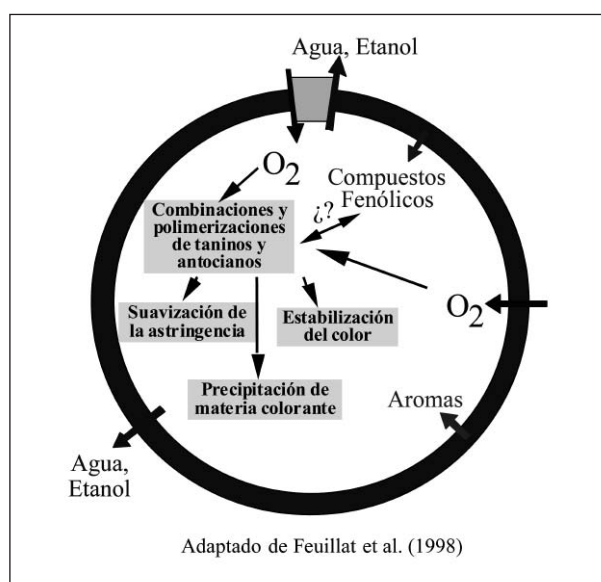


Figura 1. Influencia de la crianza en barrica sobre la evolución del vino tinto.

En primer lugar, el roble aporta al vino aromas y compuestos fenólicos que mejoran su calidad aromática y gustativa. Por otra parte, la crianza en barricas permite una oxigenación moderada que tiene lugar a través de la misma porosidad de la madera, a través de las juntas interduelas y/o a través del esquivo [10,13]. Esta microoxigenación natural proporciona el sustrato necesario para que las reacciones de polimerización y combinación de los antocianos y las procianidinas tengan lugar [3,6]. De este modo se producirá una estabilización del color del vino y una suavización de la astringencia [7]. Así mismo se producirá una cierta precipitación de parte de la materia colorante del vino, evitando que esta parte inestable del color precipite

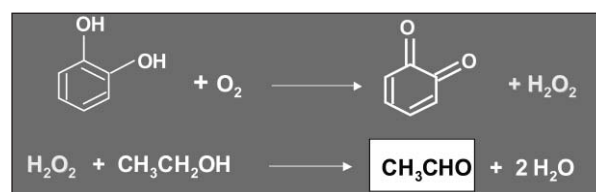


Figura 2. Formación de etanal a partir de etanol.

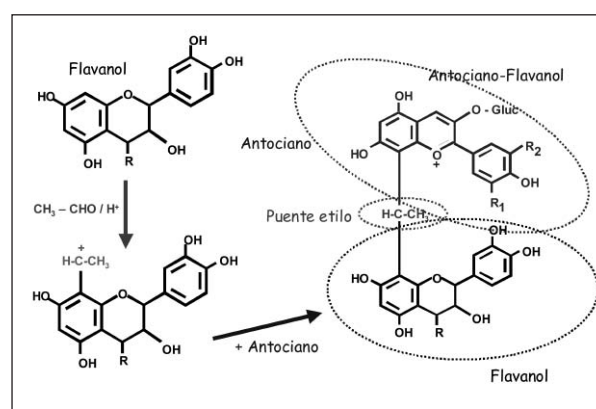


Figura 3. Reacciones mediadas por el etanal: Combinación entre antocianos y flavanoles.

después en la botella [8,13]. De hecho Louis Pasteur, ya en 1866 [5], describió esta función del oxígeno en su famosa obra "Études sur le vin", diciendo *C'est l'oxygène qui fait le vin; c'est par son influence qu'il vieillit.*

Pero, ¿Cómo actúa el oxígeno?. La Figura 2 muestra el mecanismo químico por el que el oxígeno provoca la formación de etanal (Singleton, 1987) [9].

Una vez formado el etanal, éste puede actuar mediante diversas reacciones que originan la combinación entre los antocianos y los flavanoles, entre flavanoles, e incluso entre los propios antocianos. Las Figuras 3, 4 y 5 ilustran estos mecanismos de reacción [7,8,12,13].

Para muchos autores, estas uniones mediadas por los puentes etilo son estables y serían la razón química por la cual los vinos que son criados en barricas o

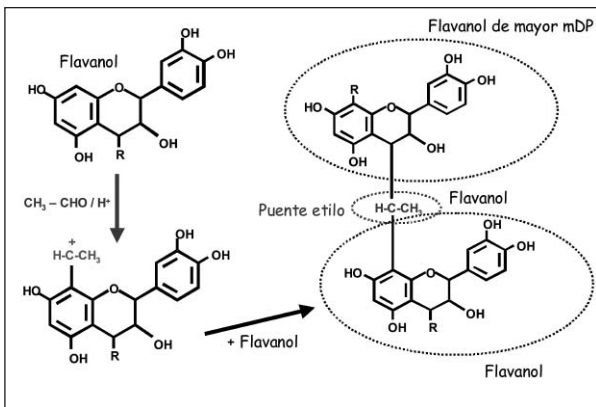


Figura 4. Reacciones mediadas por el etanal: Combinación entre flavanoles.

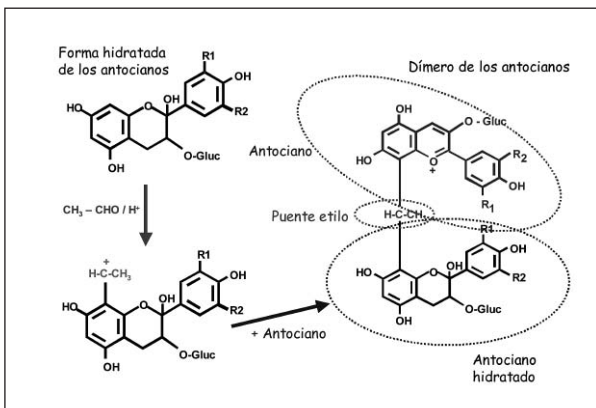


Figura 5. Reacciones mediadas por el etanal: Combinación entre antocianos.

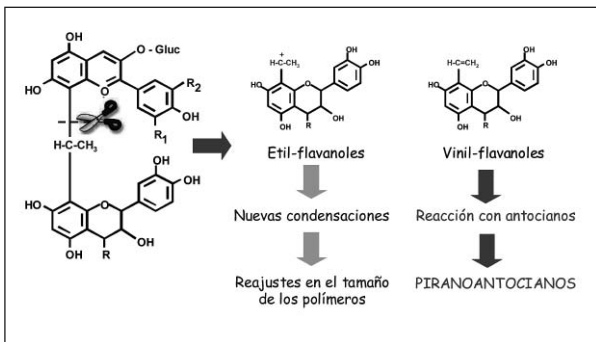


Figura 6. Inestabilidad de los puentes etilo.

microoxigenados dan lugar a una estabilización del color y a una disminución de la astringencia.

No obstante, recientemente, se ha descrito que los puentes etilo son inestables [2]. La Figura 6 muestra cuales son las consecuencias de la inestabilidad de estas uniones mediadas por el etanal [2,13].

La ruptura de estos puentes etilo originaría etil-flavanoles que darían lugar a nuevas uniones con otros antocianos y/o flavanoles, lo que generaría reajustes

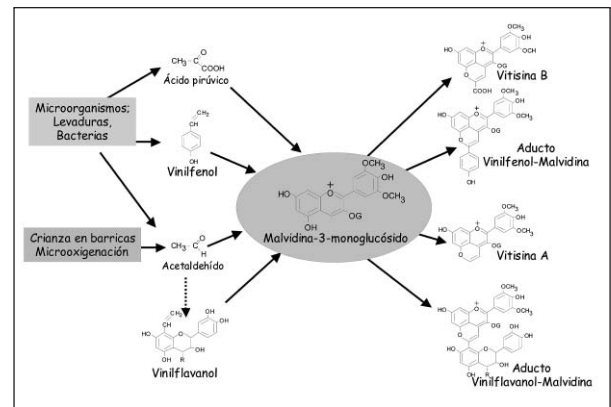


Figura 7. Posibles mecanismo de formación de los piranoantocianos.

● Unión antociano-flavanol	<ul style="list-style-type: none"> ¿Estabilización del color? Disminución de la astringencia
● Unión flavanol-flavanol	<ul style="list-style-type: none"> Polymerización Precipitación ¿Astringencia?
● Unión antociano-antociano	<ul style="list-style-type: none"> ¿Aumento del color? ¿Estabilización del color?
● Formación de piranoantocianos	<ul style="list-style-type: none"> ¿Aumento del color? ¿Estabilización del color?

Figura 8. Consecuencias de las reacciones mediadas por el etanal.

en el tamaño de los polímeros. Por otra parte, también existe la posibilidad de que se generasen vinilflavanoles que podrían reaccionar con los antocianos originando nuevos pigmentos, los piranoantocianos. Estos piranoantocianos son unos pigmentos que presentan una gran estabilidad química, son resistentes a la decoloración con el dióxido de azufre, apenas varían su coloración por las variaciones del pH y son abundantes en los vinos añejos. La Figura 7 ilustra cuales son los principales piranoantocianos y cuales pueden ser sus vías de síntesis en el vino.

Como se puede ver en esta figura, la síntesis de la Vitisina A y de los aductos Vinilflavanol-Malvidina se verían favorecida por la presencia de etanal en el vino y por tanto sería de esperar que su presencia se incrementase en aquellos vinos criados en bodega o microoxigenados.

Un resumen de las consecuencias de todo lo expuesto se muestra en la Figura 8.

De todo lo expuesto hasta el momento se deduce que el oxígeno participa claramente en toda una serie de reacciones entre antocianos y flavanoles que se traducen en una estabilización de la materia

colorante y una disminución de la astringencia. Aún así, es necesario señalar que verdaderamente no conocemos completamente los mecanismos químicos de las reacciones que genera el oxígeno en el vino ni sus consecuencias organolépticas. Sin embargo, el empirismo demuestra que tanto la permanencia del vino en las barricas y la consiguiente asimilación del oxígeno que ello comporta, transforma la estructura fenólica del vino y produce grandes beneficios en sus aspectos sensoriales.

Por esta razón, y especialmente debido al alto coste de la crianza del vino en barricas, se generó la necesidad de buscar técnicas alternativas que condujeran a la estabilización del color y a la suavización de la astringencia, sin los onerosos gastos que el uso de barricas implica.

Fruto de todo ello nació la técnica de la microoxigenación [1,4]. Esta técnica consiste en algo tan simple como tratar de reproducir e incluso acelerar el proceso natural que tiene lugar en las barricas de roble. Tan sólo se trata de administrar la dosis de oxígeno adecuada al vino para generar todas aquellas reacciones que hemos descrito y de este modo lograr nuestros propósitos de una manera más económica y rápida [1,4,12,13].

La tabla 1 muestra algunos de los primeros resultados que se mostraron sobre la aplicación de la microoxigenación.

Los resultados de esta experiencia son sin lugar a dudas espectaculares. A continuación les mostraremos algunos de los resultados que hemos obtenido en nuestro grupo de investigación al aplicar la microoxigenación a diferentes vinos y bajo diversos diseños experimentales. La Figura 9 sintetiza el primero de los experimentos.

Los resultados que se obtuvieron fueron muy claros tal y como refleja la Figura 10.

	Vino Control	Vino microoxigenado (5 meses)	
		1 ml.l ⁻¹ .mes ⁻¹	3 ml.l ⁻¹ .mes ⁻¹
Intensidad colorante	8,2	10,7	16,4
Tonalidad	0,67	0,62	0,59
Antocianos totales mg/l)	612	566	417
Índice de PVP (%)	31	33	47
Índice de HCl (%)	20	25	40
Taninos (g/l)	4,9	4,4	3,8
Etanol	13	19	33

Adaptado de Boulet y Moutounet, 2000

Tabla 1. Influencia de la microoxigenación sobre el color del vino.

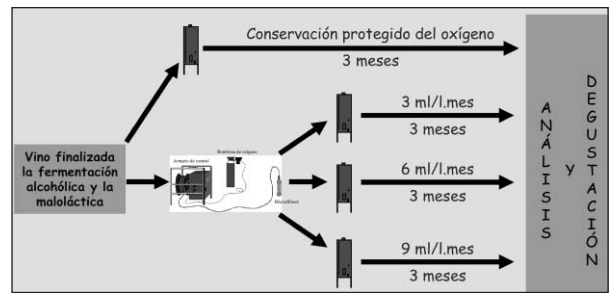


Figura 9. 1.ª experiencia: Cabernet Sauvignon DO Penedès; cosecha 2005.

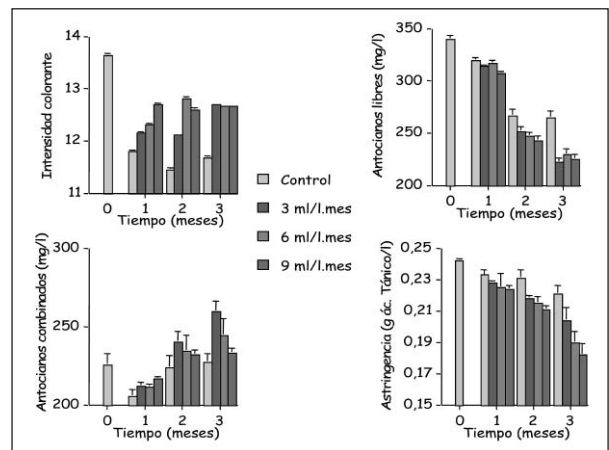


Figura 10. Resultados de la primera experiencia.

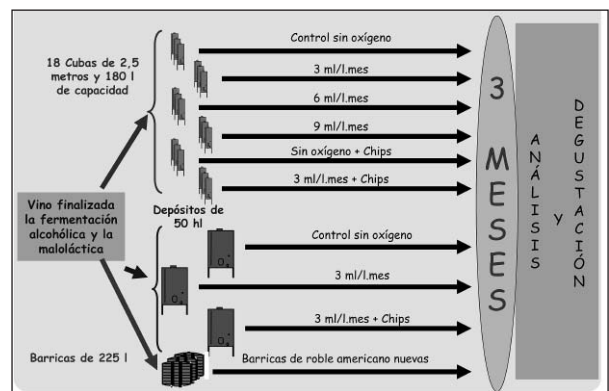


Figura 11. Experiencia 2: Merlot DO Penedès; cosecha 2006.

Tal y como se puede ver en la Figura 10, la microoxigenación aumentó la intensidad colorante del vino, incrementó la combinación de los antocianos con los flavanoles y disminuyó la astringencia del vino. En esta experiencia se comprobó también la existencia de una clara relación entre la dosis de oxígeno administrada y los efectos obtenidos.

La Figura 11 muestra la segunda experiencia que se realizó.

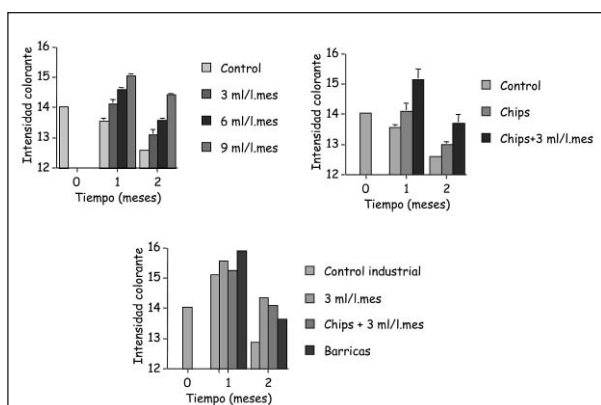


Figura 12. Influencia de la microoxigenación y de la adición de chips, tanto a escala piloto como a escala industrial sobre el color del vino; Comparación con la crianza tradicional en barricas.

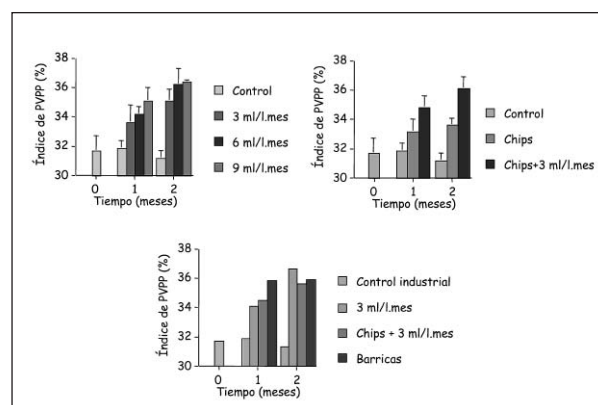


Figura 13. Influencia de la microoxigenación y de la adición de chips, tanto a escala piloto como a escala industrial sobre la combinación de los antocianos; Comparación con la crianza tradicional en barricas.

Esta experiencia, mucho más completa que la anterior, se halla aún en fase de desarrollo y tiene un planteamiento doble. Por una parte se trabaja a escala piloto con triplicados que otorgan validez estadística al experimento, y por otra se trabaja a escala industrial, lo que confirma la verdadera aplicabilidad de la técnica. Los resultados más interesantes se sintetizan en las Figuras 12 y 13.

Como se puede ver, en esta experiencia la microoxigenación incremento claramente el color del vino y se verificó que a mayor dosis mayor era el efecto. Paralelamente se pudo comprobar que la adición de chips de roble americano también favorecía el color del vino, y que la aplicación conjunta de chips y de oxígeno producía efectos aditivos. Estos resultados, obtenidos a escala piloto y por triplicado eran similares a los que se obtenían a escala industrial y muy similar a los que se observan en crianza en barricas de roble americano nuevas.

Paralelamente, la combinación de los antocianos con los flavanoles, determinada mediante el índice de PVPP indicaba que la microoxigenación, tanto a escala industrial como a escala piloto, aumentaba significativamente. Por otra parte, la presencia de chips, y especialmente la combinación de los chips y la microoxigenación, también aumentaba la combinación de los antocianos con los flavanoles, siendo estos resultados muy similares a los que se obtienen mediante crianza en barrica de roble americano nuevo.

El conjunto de estos datos confirma claramente el interés de la técnica de la microoxigenación como alternativa a la crianza del vino en barricas de roble.

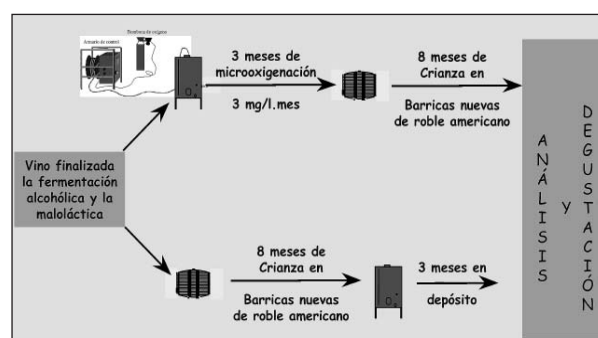


Figura 14. Experiencia 3: Cabernet Sauvignon DO Tarragona; cosecha 2004.

No obstante, la microoxigenación es una técnica que también puede ser utilizada como complemento de la crianza del vino en barricas. La Figura 14 muestra un último experimento en el que se pretende verificar si la microoxigenación también puede ser útil para suavizar la astringencia de vinos muy duros antes de entrar en crianza tradicional. La Figura 14 ilustra el diseño experimental.

En este caso, una parte de un vino realmente muy astringente, fue directamente enviada a barricas para su crianza durante 8 meses, mientras que otra parte del mismo vino era microoxigenada durante 3 meses y después criada en barricas similares durante el mismo tiempo. Finalmente los vinos fueron analizados y degustados. La figura 15 ilustra los resultados obtenidos.

Como se puede ver, la aplicación de la microoxigenación antes de la crianza se tradujo en una pequeña pérdida de color y en un claro aumento de la

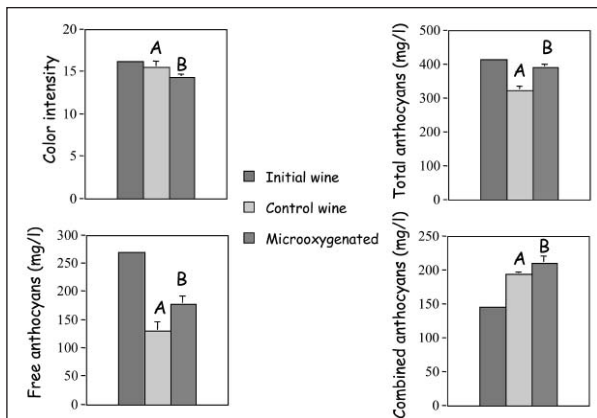


Figura 15. Influencia de la microoxigenación antes de la crianza sobre el color y los antocianos del vino.

combinación de los antocianos con los taninos. No se observaron sin embargo variaciones significativas en los niveles de piranoantocianos (datos no mostrados). En cambio, si que se detectó un ligero aumento de la polimerización de los taninos y sobre todo una importante disminución de la astringencia del vino. Asimismo, se pudo verificar que la aplicación de la microoxigenación antes de la crianza conducía a vinos en los que la expresión de la madera era mucho más nítida.

Podemos por tanto concluir, que la microoxigenación permite reproducir los procesos de estabilización del color y de suavización de la astringencia, que se desarrollan de forma tradicional durante la crianza del vino en las barricas, y que por tanto, esta técnica puede ser utilizada como su alternativa. Asimismo, la microoxigenación también puede ser una técnica interesante como complemento para la crianza tradicional en aquellos vinos que fuesen realmente muy astringentes.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado en sus inicios por la CICYT (AGL2007-66338).

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ducournau, P.; Laplace, J. (1993) Patente 93.11073. República Francesa.
- [2] Escribano-Bailón, T., Alvarez-Garcia, M., Rivas-Gonzalo, J.C., Heredia, F.J., Santos-Buelga, C. Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde mediated condensation between malvidine 3-o-glucoside and (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 1213- 1217.
- [3] Feuillat, F., Keller, R., Masson, G. y Puech, J.L. (1998) Bois de chêne. En *Enoología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Ed Claude Flançy, Lavoisier, París. pp 1002-1027.
- [4] Moutounet, M., Ducournau, P., Chassin, M. y Lemaire, T. (1995) Appareillage d'apport d'oxygène aux vins. Son intérêt technologique. *Enoología* 95, 5ème Symposium Internationale d'Enoología, Ed. Lavoisier, Paris, 411-414.
- [5] Pasteur, L. (1866) *Études sur le vin*. Imprimerie Impériale, Masson, Paris.
- [6] Pontallier, P., Salagoity, M.H. y Ribéreau-Gayon, P. (1982) Intervention du bois de chêne dans l'élevage des vins rouges. *Conn. Vigne Vin*, 16, 45-61.
- [7] Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. Y Dubourdieu (1999) Phenolic Compounds. En *Handbook of enology, Vol 2 The chemistry of wine, Stabilization and treatments*. John Wiley & sons, Ltd, Chichester, pp 129-186.
- [8] Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. Y Dubourdieu (1999). Aging red wines in vat and barrel: Phenomena occurring during aging. En *Handbook of enology, Vol 2*. John Wiley & sons, Ltd, Chichester, pp 353-391.
- [9] Singleton, V.L. (1987) Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: observations and practical implications. *Am. J. Enol. Vitic.*, 38, 69-76.
- [10] Vivas, N. (1997) Recherches sur la qualité de chêne français de tonnellerie et sur les mécanismes d'oxidoreduction des vins rouges au cours de leur élevage en barriques. Tesis doctoral. Universidad de Burdeos II.
- [11] Zamora, F. (1999) La madera de roble y su incidencia sobre las características organolépticas de los vinos de crianza. En *La estabilidad del color en los vinos tintos nuevos*. Ed. Ayuntamiento de Haro, Haro, 1999, pp 9-36.
- [12] Zamora, F., Cabanillas, P., Canals, J.M., Rozès, N. y Arola, L. (2001) Influencia de la microoxigenación en el color y las características organolépticas de los vinos tintos. *Tecnol. Vino*, 2, 51-55.
- [13] Zamora, F. (2003) *Elaboración y crianza del vino tinto; Aspectos científicos y prácticos*. Ed. AMV ediciones y Mundiprensa, Madrid.



El Corazón del Duero

