

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**ESTUDIO DE LAS TÉCNICAS CULTURALES EN LA MODIFICACIÓN
DEL MICROCLIMA DE LA CANOPIA Y EL RACIMO Y SU
INFLUENCIA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA UVA
Y EL MOSTO EN *CV. TANNAT***

por

Günter Rolando ELERD SIMONET

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2010**

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. (MSc) Gerardo Echeverría

Ing. Agr. (PhD) Milka Ferrer

Ing. Agr. (PhD) Gustavo González

Fecha:

Autor:

Günter Rolando Elerd Simonet

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos que en forma directa e indirectamente hicieron posible la realización de este trabajo:

- al Director de esta tesis Ing. Agr. Gerardo Echeverría, por aceptar este trabajo y por toda la ayuda brindada durante todo el proceso.
- a toda la gente de Viticultura que ayudaron tanto en el trabajo de campo, en el laboratorio, como el apoyo posterior y sus sugerencias: Milka Ferrer, Gustavo González, Álvaro Montaña, Julia Salvarrey, Guzmán Favre, Gianfranca Camussi, Diego Piccardo Nestor Merino, Rusley Avondet y Mercedes Fourment.
- a Gonzalo Cagnoli y Luis Muñoz por su apoyo invaluable tanto en el trabajo de campo como en el de laboratorio.
- a la Cátedra de Botánica, principalmente al Sr. Ren por su gran aporte en el trabajo de laboratorio.
- al establecimiento “Viñedos Luis Alberto Varela”, por ofrecer el material en donde se realizó el ensayo de campo.
- a Vivienne Gepp, por su gran colaboración en la interpretación de los resultados.
- Alejandra Borges, por sus aportes en la parte del análisis estadístico.
- a todos mis amigos y compañeros de Facultad, por ayudarme a transitar en todo el proceso de la facultad y su apoyo anímico.
- a mi familia, por su perseverancia y paciencia, para que al final, pudiera llegar a la meta.
- a Fernanda Zaccari e Iris Scatoni, por el aporte de ideas.
- a los profesores de Fruticultura por contagiarme el sabor de la fruta.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACION	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VIII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRAFICA</u>	4
2.1 DESCRIPCIÓN VARIETAL.....	4
2.1.1 <u>Historia del cultivar <i>Tannat</i></u>	4
2.1.2 <u>Características botánicas y ampelográficas</u>	6
2.1.3 <u>Características productivas y respuesta fisiológica</u>	7
2.1.4 <u>Características de la uva y el vino</u>	7
2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA PODREDUMBRE GRIS.....	8
2.2.1 <u>Síntomas</u>	10
2.2.2 <u>Desarrollo epidemiológico de la podredumbre gris</u>	11
2.2.3 <u>Circunstancias favorables</u>	13
2.2.3.1 Condiciones climáticas.....	13
2.2.3.2 Características del suelo.....	15
2.2.3.3 Sistemas de conducción y estructura del follaje.....	15
2.2.3.4 Riego.....	16
2.2.3.5 Sensibilidad y receptividad de la vid.....	16
2.2.3.6 Tipo de poda.....	18
2.2.3.7 Intervenciones del viticultor.....	18
2.2.4 <u>Estrategias y medios de control</u>	19
2.2.4.1 Control químico.....	19
2.2.5 <u>Métodos complementarios al control químico</u>	20
2.2.5.1 Deshojado.....	20
2.2.5.2 Aplicaciones de calcio.....	21
2.2.5.3 Deshojado precoz.....	23
2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA PODREDUMBRE ÁCIDA.....	24
2.3.1 <u>Manifestación de la podredumbre ácida</u>	24
2.3.2 <u>Daños</u>	25
2.3.3 <u>Epidemiología de la podredumbre ácida</u>	25
2.3.3.1 Los microorganismos responsables.....	25
2.3.3.2 Las drosófilas, vectores de los agentes de la enfermedad.....	26
2.3.3.3 La epidemia es explosiva en tiempo cálido y húmedo.....	27

2.3.4	<u>Circunstancias favorables a la podredumbre ácida</u>	27
2.3.5	<u>Protección contra la podredumbre ácida</u>	28
2.4	MICROCLIMA DEL RACIMO.....	28
2.4.1	<u>Deshojado</u>	29
2.4.1.1	Objetivos.....	29
2.4.1.2	Práctica.....	30
2.4.1.3	Influencia del deshojado en la capacidad productiva de la planta.....	31
2.4.1.4	Influencia del deshojado en los parámetros físicos de la uva y en la composición de la uva y el mosto.....	32
2.4.1.5	Influencia del deshojado en el desarrollo de <i>Botrytis sp.</i>	36
2.4.1.6	Influencia del deshojado en el quemado de las bayas por el sol	37
2.4.2	<u>Tratamientos con calcio foliar</u>	37
2.4.2.1	Función del calcio en la pared celular.....	37
2.4.2.2	Efecto del calcio en hongos patógenos.....	42
2.5	METABOLISMO DEL CALCIO.....	45
2.5.1	<u>Vía del fenilpropanoide</u>	45
2.5.2	<u>Ciclo metabólico e interacciones del calcio</u>	46
2.5.3	<u>El rol del AIA</u>	51
2.5.4	<u>Interacción del calcio y los estreses con el etileno</u>	51
2.5.5	<u>Actividad de la peroxidasa</u>	53
2.5.6	<u>Movilidad en el xilema y floema</u>	54
2.6	PARAMETROS FÍSICOS DE LA UVA Y COMPOSICIÓN DEL MOSTO.....	62
2.6.1	<u>Sólidos solubles</u>	62
2.6.2	<u>Acidez total</u>	63
2.6.3	<u>PH</u>	64
2.6.4	<u>Compuestos fenólicos</u>	65
2.6.5	<u>Composición del hollejo</u>	69
3.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	71
3.1	CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL VIÑEDO.....	71
3.1.1	<u>Descripción del viñedo</u>	71
3.1.2	<u>Tratamientos fitosanitarios</u>	71
3.2	DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS DEL ENSAYO Y FENOLOGÍA.....	72
3.2.1	<u>Fertilidad de yemas</u>	72
3.2.2	<u>Seguimiento fenología</u>	72

3.3 DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO.....	73
3.3.1 <u>Diseño experimental</u>	73
3.3.2 <u>Tratamientos</u>	74
3.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES.....	75
3.4.1 <u>Clima a nivel de mesoescala</u>	75
3.4.1.1 Seguimiento de la temperatura.....	75
3.4.1.2 Seguimiento de la pluviometría.....	75
3.4.1.3. Seguimiento de la humedad relativa.....	75
3.4.2 <u>Disponibilidad hídrica del viñedo</u>	75
3.4.2.1 Seguimiento del potencial hídrico.....	76
3.5 EVALUACIONES SOBRE LA RESPUESTA DE LA PLANTA.....	76
3.5.1 <u>Determinación del momento de cosecha</u>	76
3.5.2 <u>Determinación de la producción</u>	76
3.5.2.1 N° de racimos y peso de racimo.....	76
3.5.2.2 Kg. por planta.....	76
3.5.2.3 Determinación de la compacidad del racimo.....	76
3.5.2.4 N° granos por racimo.....	76
3.5.2.5 Volumen del racimo.....	77
3.5.2.6 Densidad y dimensiones del racimo.....	77
3.5.2.7 Peso grano promedio.....	77
3.5.3 <u>Determinación de la producción vegetativa</u>	77
3.5.3.1 Superficie foliar expuesta potencial.....	77
3.5.3.2 Point quadrat.....	77
3.5.3.3 Peso de poda.....	77
3.5.4 <u>Índices de respuesta</u>	77
3.5.4.1 Índice Ravaz.....	77
3.5.4.2 Índice P.....	78
3.6 EVALUACIONES SOBRE “SANIDAD” DEL RACIMO.....	78
3.6.1 <u>Evaluaciones sobre podredumbre</u>	78
3.6.1.1 Evolución de la frecuencia de ataque.....	78
3.6.1.2 Evolución de la intensidad de ataque.....	78
3.6.2 <u>Cuantificación de la producción afectada por <i>Botrytis sp.</i> en cosecha</u>	79
3.7 EVALUACIONES SOBRE LA CALIDAD DEL MOSTO.....	79
3.7.1 <u>Evolución de la maduración de la uva</u>	79
3.7.1.1 Peso de granos.....	79
3.7.1.2 Sólidos solubles.....	79
3.7.1.3 Acidez total.....	79
3.7.1.4 PH.....	79
3.7.2 <u>Determinación de la composición fenólica y antocianica de la uva</u>	80

3.8 EVALUACIONES EN CORTES DE HOLLEJOS.....	80
3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	82
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	83
4.1 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS.....	83
4.1.1 <u>Resultados productivos</u>	85
4.1.2 <u>Componentes de rendimiento</u>	86
4.1.3 <u>Producción vegetativa e índices de respuesta</u>	91
4.2 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE LA SANIDAD.....	95
4.2.1 <u>Efecto de los tratamientos sobre la podredumbre gris</u>	99
4.2.2 <u>Efecto de los tratamientos sobre la podredumbre ácida</u>	106
4.3 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE LA CALIDAD DEL MOSTO.....	110
4.4 CORTES DE HOLLEJOS.....	120
5. <u>CONCLUSIONES</u>	127
6. <u>RESUMEN</u>	129
7. <u>SUMMARY</u>	131
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	133
9. <u>ANEXOS</u>	168

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Flujos del Calcio.....	61
2. Tratamientos fitosanitarios Varela 2006-2007.....	72
3. Fechas Fenológicas y de poda del experimento.....	73
4. Índices de Point Quadrat, para cada grupo de tratamientos.....	95
5. Precipitaciones históricas (1972-2005) y experimentales (2006-2007).....	97
6. Incidencia de ataque de la podredumbre, para cada tratamiento.....	98
7. Intensidad de ataque de la podredumbre, para cada tratamiento.....	99
8. Incidencia de ataque de <i>Botrytis sp.</i> , para cada tratamiento.....	100
9. Intensidad de ataque de <i>Botrytis sp.</i> , para cada tratamiento.....	101
10. Intensidad de ataque de <i>Botrytis sp.</i> , dentro de cada tratamiento.....	103
11. Incidencia de ataque de la podredumbre ácida, para cada tratamiento.....	107
12. Intensidad de ataque de la podredumbre ácida, para cada tratamiento.....	108
13. Grosor de las células hipodérmicas (micras), para cada tratamiento.....	121
 Esquema No.	
1. Impacto del estrés biótico y el ác. oxálico.....	39
2. Ruta metabólica del nitrógeno nítrico.....	40
3. Vía del Fenilpropanoide.....	46
4. Ciclo metabólico e interacciones.....	50
5. Interacción del Ca ⁺⁺ y los estreses con el etileno.....	53
 Figura No.	
1. Fracciones del Calcio en las células vegetales.....	38
2. Apoplasto y Simplasto.....	55
3. Haces Vasculares en la baya.....	57
 Foto No.	
1. Estructura del hollejo al momento de la cosecha.....	70
2. Corte de hollejo con tinción de Azul de Toluidina.....	122
3. Corte de hollejo con tinción de Azul de Toluidina.....	122
4. Corte de hollejo con tinción de Zafnanina Alcohólica.....	123
5. Corte de hollejo con tinción de Zafnanina Alcohólica.....	123
6. Corte de hollejo con tinción de Carmín Verde Yodo.....	124
7. Corte de hollejo con tinción de Carmín Verde Yodo.....	124
8. Corte de hollejo con tinción de Hipoclorito de Sodio.....	125

9. Corte de hollejo con tinción de Hipoclorito de Sodio.....	125
--	-----

Gráfico No.

1. Evolución de la acidez (mg ác. sulfúrico) y sólidos solubles (Brix ^o) con incidencia de lluvia (mm).....	83
2. Evolución del pH e incidencia de lluvias durante la maduración.....	84
3. Número de racimos promedio por planta, para cada tratamiento.....	85
4. Peso promedio total por planta (kg), para cada tratamiento.....	85
5. Peso de racimo promedio (gr), para cada tratamiento.....	86
6. Número de granos promedio por racimo, para cada tratamiento.....	87
7. Peso de grano promedio por racimo (gr), para cada tratamiento.....	87
8. Tamaño de baya (cm ³ /grano), para cada tratamiento.....	88
9. Volumen dimensiones del racimo sano promedio (cm ³), para cada tratamiento.....	89
10. Densidad de racimos promedio, para cada tratamiento.....	90
11. Compacidad (granos/cm ³), para cada tratamiento.....	90
12. Peso promedio de poda por planta (kg), para cada tratamiento.....	91
13. Índice Ravaz, para cada tratamiento.....	92
14. Índice de Producción Materia Seca, para cada tratamiento.....	92
15. Superficie Foliar Expuesta potencial (m ² /há), para cada tratamiento.....	93
16. Superficie Foliar Expuesta potencial (m ² /há), para cada tratamiento.....	93
17. Point Quadrat, para cada grupo de tratamientos.....	94
18. Condiciones ambientales históricas (1972-2005) y experimentales (2006-2007).....	96
19. Condiciones ambientales (% HR Media, Temp. Máxima Media y Temp. Mínima Media).....	97
20. Intensidad de ataque de <i>Botrytis sp.</i> en el último muestreo previa a la cosecha (9/03/07), para cada tratamiento.....	102
21. Cantidad de fruta sana (kg) cosechada, para cada tratamiento.....	104
22. Cantidad y porcentaje de fruta sana e infectada cosechada (kg), para cada tratamiento.....	105
23. Riqueza Fenólica A280 (mg/lit), para cada tratamiento.....	110
24. Potencial de Antocianos Totales ApH1 (Unidades de Absorbancia), para cada tratamiento.....	112
25. Potencial de Antocianos fácilmente Extraíbles ApH3,2 (Unidades de Absorbancia), para cada tratamiento.....	114
26. Índice de Extractibilidad de Antocianos EA %, para cada tratamiento.....	115
27. Cantidad de Taninos en Hollejos depell (Unidades de Absorbancia), para cada tratamiento.....	116
28. Porcentaje de Taninos en Hollejos depell %, para cada tratamiento.....	117

29. Contenido de Taninos en Semilla dTpep (Unidades de Absorbancia), para cada tratamiento.....	118
30. Porcentaje de Taninos en Semilla Mp %, para cada tratamiento.....	120

1. INTRODUCCIÓN

En 1978 expertos franceses llegaron a Uruguay como consultores contratados para trabajar con grupos de vitivinicultores, conscientes de que se encontraban en una encrucijada. Estos expertos visitaron viñedos y bodegas en todo el país, y su conclusión fue clara: se debían hacer cambios a la brevedad.

Al final de los 70 se comenzó a plantar viñedos con plantas clonales y libre de virus, importados de Francia y California, al tiempo que el INIA y algunos productores, comienzan a incorporar y evaluar determinadas tecnologías utilizadas en otras partes del mundo, para lograr una mejora en la calidad.

En 1987, como resultado de una iniciativa empresarial, fue creado el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INAVI). INAVI es una institución pública no estatal, dirigida por las organizaciones empresariales y presidida por el Poder Ejecutivo.

A comienzos del 90, al analizar el sector vitivinícola con detenimiento debido a la preparación del país para su integración al MERCOSUR, se concluye, que el mismo se encontraba orientado hacia un mercado protegido, altos costos de producción y vinos de baja calidad. Deduciendo entonces, que el mercado vitivinícola no tenía la capacidad de entrar en la libre competencia, principalmente con Argentina.

El PREDEG e INAVI, definen un programa de reconversión vitivinícola impulsando la plantación de cepas de reconocida calidad genética y sanitaria basándose en el proyecto de “Estrategia de reconversión del sector vitivinícola”, impulsada por la Facultad de Agronomía (año 1994, financiado por CSIC/UDELAR) e INAVI. También se determinan políticas de marketing y nuevos proyectos de investigación con la participación de la Facultad de Agronomía, INIA Las Brujas, así como también la colaboración de los grupos CREA.

Desde entonces, el sector vitivinícola uruguayo viene incursionando en la premisa de la elaboración de grandes vinos, lográndose un reconocimiento al desarrollo en el ámbito nacional e internacional, debido que a partir de 1993 los vinos uruguayos han sido regularmente premiados en los concursos internacionales.

El éxito alcanzado por el sector, estimuló a las autoridades del INAVI, las que propusieron a Uruguay como sede de un nuevo congreso de la OIV, el que tuvo lugar en Punta del Este en 1995. El mismo contó con la asistencia de más de 500 participantes de 34 países.

A fines de los 90, el mercado Uruguayo cuenta con una gran diversidad de vinos varietales de Tannat y comienza la preocupación por mejorar la elaboración para hacer vinos de mejor calidad, logrando grandes premios y reconocimiento mundial en la mayoría de los concursos que se han presentado, lográndose identificar el Tannat como sinónimo del Uruguay.

La calidad de un vino esta condicionada por la composición de la uva, la cual depende de interacciones complejas entre diferentes factores de producción, como: climáticos, edafológicos, varietales y de manejo del viñedo. Estos últimos tres factores, en cierta medida pueden ser modificados por el hombre, mediante elección y uso de prácticas agronómicas (Gonzalez-Neves et al. 2006b, Ferrer et al. 2007).

El desafío actual es lograr el conocimiento necesario para lograr liderar y competir en el mercado de grandes vinos tintos, principalmente con el Tannat, debido a la amenaza de varios países con gran tradición vitivinícola, que ingresan al mercado del Tannat como Argentina, Australia y otros.

Debido a esa creciente amenaza, es que se realizan investigaciones para evaluar diferentes prácticas que inciden en la producción y calidad de la uva y que puedan ser aplicadas y adaptadas a nuestras condiciones.

Dentro de estas prácticas se destacan, estudios de sistemas de conducción, poda, raleo, carga de la planta, etc., que vienen realizando los distintos organismos públicos y privados de investigación.

Una alternativa de gestión de la vegetación es el deshojado, técnica adaptada por Facultad de Agronomía y adoptada por muchos viticultores del país, que la realizan con el fin de disminuir la incidencia de *Botrytis sp.* y para lograr una mejor maduración de las bayas (color y azúcares). También se le atribuyen otras ventajas en cuanto a la calidad enológica de la materia prima a vinificar.

Otra alternativa de manejo de control de la *Botrytis sp.*, es la aplicación de calcio foliar, con el objetivo de mejorar la resistencia física de la cutícula, práctica comúnmente realizada en la producción de la uva de mesa; también se tiene en cuenta la actividad fungicida del Calcio, debido a que el *Tannat* tiene una alta compacidad favoreciendo las condiciones predisponentes para el desarrollo del hongo, sumado a la característica genética de la cutícula de la baya de producir poca pruina, conocida por su actividad antifúngica.

El objetivo del presente trabajo, consiste en evaluar, el efecto del deshojado y de la aplicación de calcio en distintos momentos, en la calidad de la uva como materia prima para la bodega, su efecto en la calidad del mosto y el efecto del calcio en el hollejo.

Por lo tanto se plantean las siguientes hipótesis:

- No. y momento de deshojado y aplicación de Ca^{++} , disminuyen las podredumbres.
- Aplicación de Ca^{++} , disminuye las podredumbres y aumenta la estabilidad estructural del hollejo.
- La aplicación de calcio afecta la extractibilidad de los antocianos del hollejo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 DESCRIPCION VARIETAL

2.1.1 Historia del cultivar Tannat

Así como el *Malbec* se asocia con Argentina , el *Carmenére* con Chile, el *Sangiovese* con Italia, *Sauvignon Blanc* con Nueva Zelanda, el *Tannat* se han transformado en el cepaje emblema de Uruguay, donde se ha adaptado muy bien a sus suelos y clima, que permiten obtener vinos tintos de excelente calidad confiriéndoles originalidad y tipicidad marcadas a los mismos Y así como ha sucedido con otras variedades, el éxito de su incorporación ha sido tal, que ha llegado a ser más reconocida e importante que en su lugar de origen (la región de Madiran e Irouléguay, suroeste de Francia).

El *Tannat* es el vino varietal que inició la producción vitivinícola del Uruguay a escala comercial. En 1870 debido a los reiterados fracasos en el manejo de los incipientes viñedos, Don Pascual Harriague, buscando una cepa que se adaptara al suelo y clima locales, en unos de sus viajes que realizaba a Concordia (Argentina), le manifestó a un comerciante lugareño, su desánimo por los reiterados fracasos en el cultivo de la vid.

Dicho comerciante, oriundo de Francia de apellido Dourneau, le comunico que en Concordia existía una variedad de uva, que se había adaptado magníficamente al clima de la zona y que además de buenos rendimientos, se lograba un buen vino El propietario del viñedo de la zona, Juan Jáuregui, conocido por el seudónimo de “Lorda”, le obsequio a Pascual Harriague, sarmientos de esta parra, conocida en Concordia con el alias de su introductor.

Harriague comenzó de inmediato sus plantíos con esta cepa, en la zona de La Caballada, en el departamento de Salto, y probó ser extremadamente exitosa y llevó a la producción de un vino sumamente atractivo para los consumidores de la época.

Algún tiempo después, Harriague obtuvo el premio al mejor vino producido en el país, específicamente, por su vino *Tannat*. Por este motivo, desde 1877, el *Tannat* se conoce como "Harriague", posteriormente fue identificada como *Tannat* por Teodoro Álvarez en 1906, gracias a las conexiones que realizo con viticultores franceses, quien la planto en su granja ubicada en la localidad de Manga. Desde sus comienzos, entonces, el vino *Tannat* ha presentado las cualidades técnicas de color y estructura que le dan su valor enológico.

Los vinos de esta variedad presentaron contenidos significativamente mayores de alcohol, acidez total, extracto seco, polifenoles totales, antocianos, catequinas y proantocianidinas, una intensidad colorante superior y mayores tonalidades rojas que los vinos elaborados con las otras variedades (González-Neves et al., 2006b).

La intensidad tánica y la persistencia en boca fueron las características que permitieron diferenciar mejor los vinos Tannat de los otros; la nota vegetal diferenció particularmente los vinos Cabernet-Sauvignon y el carácter frutado los vinos Merlot (González-Neves et al., 2006b).

Uruguay es el único productor en el mundo donde existen viñedos significativos en cantidades mayores luego de su tierra nativa, que cuenta con un total de 2914 hás. plantadas con la cepa *Tannat* (France AgriMer, 2009), en los que se destacan, Madirán con 900 hás. (Wordpress, 2009), Irouléguy, Béarn y Tursan, con 278 hás. (OAV, 2008); hay que destacar que solamente en Madiran e Irouléguy se logran realizar vinos varietales. También se encuentran plantaciones en Côtes de Gascogne y Cahors, en los cuales el Tannat se usa para realizar vinos de corte; todos ubicados en el sudoeste de Francia.

En Uruguay existen 8128 hectáreas plantadas de los cuales 1784 hás. con *Tannat*, equivalentes al 21,96% de la superficie total a nivel nacional, de acuerdo a datos publicados por INAVI (2009). La producción asciende a 22,127 millones de kilogramos (25,29 % del total), registrándose un rendimiento promedio de 3,54 kilos por planta o 12,398 toneladas por hectárea. Ha sido en las últimas dos décadas que Uruguay comenzó a desarrollar una producción vitivinícola de alta calidad, apostando a la tecnificación de la industria y a una selección más rigurosa de las cepas, enfocándose particularmente en la variedad *Tannat*, lo cual le ha significado que reconozcan internacionalmente a este país por dicho cepaje.

El vino *Tannat* presenta dos principios enológicos básicos: calidad y tipicidad. Esto ha conducido al creciente reconocimiento de Uruguay como país productor de vinos de calidad. La "identidad" obtenida con el vino *Tannat*, abrió los mercados internacionales a otras variedades de vinos uruguayos.

Hoy la mayoría de las plantaciones se concentra en el departamento de Canelones, al sur del país, donde la combinación de suelos secos, arcillosos y las brisas frescas provenientes del Río de la Plata y del Océano Atlántico, hacen progresar el cultivo de forma favorable.

Con el ejemplo de Uruguay en la mira, en Argentina donde existen 790 hás. implantadas, algunos vitivinicultores se han atrevido a elaborar varietales con *Tannat*, sobre todo en:

- el noroeste, Valles Calchaquíes (Salta, Tucumán y Catamarca),
- San Juan (Valle de Tulum y Valle de Zonda con 304 hás),
- Mendoza (Oasis zona Alta del río Mendoza y Valle de Uco con 279 hás.),
- Entre Ríos (Colon y Concordia),
- Buenos Aires (Médanos). (Pandolfi y Cuello 2005, INV 2009) y
- Neuquén (San Patricio del Chañar) (Vendimia, 2010).

Con todo, hasta ahora no han logrado equiparar la adaptación al terroir que esta variedad de uva ha tenido en Uruguay; así como en:

- Brasil en Campanha, Serra do Sudeste y Serra Gaúcha (Rio Grande del Sur), con 421 hás. (Ribeiro de Mello, 2008),
- Bolivia en el valle de Tarija y Santa Cruz,
- Perú en el valle de Ica,
- Australia, en Nueva Gales del Sur (Hunter Valley, Murray Darling, Shoalhaven Coast y Hastings River), Queensland (Coast y Granite Belt), South Australia (Adelaide Hills, Barossa Valley, Langhome Creek, McLaren Valley y Eden Valley) y Victoria (King Valley y Glenrowan),
- Sudáfrica en Lower Orange con 49 hás. (2008) (WOSA 2009, SAWIS 2009),
- EEUU en California (Santa Cruz Mountains y Paso Robles con 81 hás. (Sacwineregion, 2009), Virginia y Arizona (Wordpress, 2009),
- Italia (Puglia y Sicilia) (Wordpress 2009, Winecountry 2010).

Es importante destacar, que en la provincia de Cádiz de España (Vendimia, 2009), se están realizando tramites para habilitar la plantación de la cepa *Tannat*.

2.1.2 Características botánicas y ampelográficas

La planta del cultivar *Tannat* según Galet (1976) es una cepa vigorosa, fértil, de muy buena productividad, que da vinos alcohólicos, coloreados, que necesitan varios años de envejecimiento antes de su consumo, donde predomina el aroma de frambuesas.

En nuestras condiciones el período de brotación ocurre aproximadamente a mediados del mes de setiembre, floración a mediados de noviembre y la madurez de las uvas se da en la primer quincena de marzo (Ferraro Olmos, 1998).

Las principales características botánicas según Galet (1976) son:

Las hojas jóvenes son pilosas, con bordes bronceados. Las hojas desarrolladas son de tipo truncadas, verde oscuras, rugosas, onduladas en los bordes y de limbo revoluto. Senos laterales raramente pronunciados, seno peciolar con los bordes superpuestos, dientes largos y ojivales. Punta peciolar rosada y envés del limbo “arañoso”.

Las ramas laterales son rojas a nivel de los nudos y marrones del lado expuesto al sol, con zarcillos finos y pequeños.

Los sarmientos son pardo-rojizos con estrías y nudos oscuros con pruina ligera.

Los racimos son largos, cilíndricos, con dos alerones, compactos, y de tamaño medio. Pedúnculo largo y herbáceo.

Bayas esféricas a ligeramente ovoide debido a la presión de las bayas contiguas. Diámetro de bayas menor a 12 mm. Color azul intenso a negro azulados.

2.1.3 Características productivas y respuesta fisiológica

En nuestras condiciones de cultivo se determinó que la variedad *Tannat*, presenta baja fertilidad en las yemas basales, con una producción creciente a partir de la yema de rango 4-5 (Ferrer y García, 1992).

El índice de Ravaz es una forma sencilla de relacionar la productividad de la planta en base a los kilos de fruta producidos con la madera de poda. Es mas elevado para variedades productivas (4 a 15 kg. de fruta/ kg. de madera de poda), según Champagnol (1984), además trabajos realizados en el cv. *Tannat* por Ferrer et al. (1987), establecen que una planta se encuentra equilibrada, con un índice de Ravaz entre 5 y 8.

2.1.4 Características de la uva y el vino

“Los vinos del cultivar *Tannat* tienen un alto grado de perfeccionamiento, desde el punto de vista de la tipicidad tienen un estilo propio y un perfil sensorial muy peculiar. Son intensos y potentes, algunos con una reminiscencia de rusticidad que seduce, otros, mas elegantes que encantan, pero siempre serios y austeros. En las condiciones de Uruguay, este vino expresa características de volumen, forma, fuerza, consistencia, armonía y estructura tánica agradable” (De Frutos y Beretta, 1999).

También la literatura señala que los vinos *Tannat* suelen tener una graduación alcohólica relativamente baja en comparación a otros tintos, sin superar los 12 grados,

siendo común encontrar caldos entre 10,5 y 11 grados, por lo que son apreciados por el consumidor de Estados Unidos y del norte de Europa.

Los expertos definen al vino *Tannat*, en su paso por boca producen un sedoso ataque (comienzo), potente en boca y un final abundante largo y bien seco, además llevan como característica un buen equilibrio entre acidez y fruta que los hace ideales para acompañar carnes rojas, con carácter. Estos vinos son de color oscuro fuerte, casi negro y de gran cuerpo.

La variedad también es ampliamente utilizada en ensamblaje, destacándose las mezclas con *Cabernet Sauvignon*, *Merlot* y *Cabernet Franc*, principalmente; además por sus características de bajo pH, buen color y menor graduación alcohólica este cepaje también ha sido utilizada para dar estabilidad a vinos comunes.

En un estudio de vinos realizado por el Instituto Clemente Estable de Uruguay, se demostró que el *Tannat* tiene el mayor contenido de antioxidantes que previenen enfermedades cardiovasculares. La concentración media de Resveratrol (un antibiótico natural que produce la vid para proteger los racimos de hongos y bacterias, y que tiene efecto antioxidante en el organismo humano) es de 4,2 miligramos por mililitro en la uva *Tannat*, la más alta entre otras variedades (Vendimia, 2006).

2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA PODREDUMBRE GRIS

La *podredumbre gris* (pourriture grise, muffa grigia, gray mold o bunch rot) es una enfermedad criptogámica que preocupa mucho a los agricultores, provocada por el hongo *Botrytis sp.* que presenta la particularidad de ser polífago y de atacar a un gran número de plantas.

Esta enfermedad puede ser difícil de manejar, en parte porque no presenta síntomas durante la infección latente temprana en el desarrollo de la baya, en la cual ocurre primeramente con la deposición de los conidios en las inflorescencias, McClellan y Hewitt (1973), Keller et al. (2003), Coertze et al., Viret et al., citados por Cadle-Davidson (2008).

Las podredumbres de racimo inciden negativamente en el resultado económico de los viñedos, ya que impiden la producción eficiente de vinos de alta calidad, a la vez que afectan el rendimiento en kilogramos por hectárea (Fermaud et al., 2003). La ocurrencia de podredumbres se relaciona con una interacción de factores que llevan a que se trate de una problemática compleja, ya que: - existen limitantes en el uso de fungicidas cerca de la cosecha, - el desarrollo de las infecciones depende de la

ocurrencia de lluvias o alta humedad relativa previo a la cosecha, - existen diferentes susceptibilidades debidas a la variedad, el sistema de conducción y el tipo de poda (Ferrer et al. 2003, Piccardo et al. 2007).

Esta enfermedad es considerada de las más peligrosas por los viticultores preocupados por elaborar vinos de calidad. Ocasiona daños irreversibles en varios estados y órganos durante el ciclo de la vid, sobre todo durante la madurez de los racimos. En general, esta enfermedad afecta la cantidad y calidad de la cosecha obtenida.

La disminución de la producción esta dada por el descarte de los racimos, la pérdida de jugo, y la deshidratación de las bayas, mientras que la calidad se ve afectada en la medida que los microorganismos causales de podredumbres modifican la composición química de las uvas y el vino, a la vez que producen toxinas que afectan la salud humana (Pearson y Goheen, 1996).

En años favorables hay daños de orden cuantitativos que rondan el 30 % del rendimiento. Además la eliminación de racimos o sus partes enfermas, ocasionan costos adicionales. Pero el daño más importante es cualitativo, debido a las modificaciones de la composición de las uvas infectadas, el hongo convierte los azúcares simples en glicerol y ácido glucónico y segregan polisacáridos que dificultan la clarificación de los vinos. Al mismo tiempo el hongo produce la enzima polifenol oxidasa (Laccasas) que cataliza la oxidación de compuesto fenólicos perjudicando la vinificación y la conservación de los vinos elaborados y alterando la calidad del mosto y del vino (Joubert y Archer 2002, Bitón 2003). Esta enzima se forma en estados tempranos del desarrollo de la baya y aumenta con el incremento de las infecciones de *Botrytis* sp. La lacasa es soluble en el mosto, resiste al efecto inhibitorio de SO₂ y el alcohol, y es muy difícil de remover con bentonita. Esta enzima es muy estable y puede tener actividad en el vino por meses, mientras se oxidan los compuestos fenólicos. Las consecuencias del vino comienzan por un amarronado como resultado del incremento de la oxidación y continúa con el desarrollo de sabores amargos y olores desagradables (Joubert y Archer, 2002). La infección de *Botrytis* sp. tiene también una fuerte incidencia sobre los aromas frutados ya que se han determinado que reduce la cantidad de terpenos, compuestos responsables de los aromas de las uvas.

En muchas ocasiones, cuando la aparición de los síntomas es explosiva, el viticultor puede verse obligado a anticipar la cosecha, aunque no se haya alcanzado la madurez óptima, lo que se reflejara en la calidad del vino resultante. Por eso surge la necesidad de parte de los viticultores de disponer de herramientas para determinar con anticipación el riesgo potencial de desarrollo de esta enfermedad, cuando se acerca la época de la vendimia (Bitón, 2003).

En la vid, *Botrytis sp.* se manifiesta en los órganos herbáceos (hojas, brotes, inflorescencias) en todas sus etapas de desarrollo (Latorre 1986, Reynier 2005), en las estacas-injerto en cámara caliente de estratificación y sobre los racimos en donde provoca:

- La *podredumbre peduncular*, que se manifiesta en el pedúnculo y en el raspón de los racimos, produciendo su marchitez y muchas veces, su caída antes de la cosecha; parece que esta forma se manifiesta sobre todo en los viñedos alemanes y en el nordeste de Francia;
- La *podredumbre gris* propiamente dicha, que es la forma mas grave y que afecta a los granos del racimo, en tiempo húmedo, entre el cuajado y la madurez;
- La *podredumbre noble*, que se manifiesta en periodo de sobremaduración bajo ciertas condiciones climáticas y que se busca para la elaboración de vinos generosos, tipo coteaux de layon, sauternes y jurançon (Reynier, 2005).

2.2.1 Síntomas

El hongo puede atacar a casi todos los órganos y manifestarse a partir de primavera, pero los ataques mas graves se producen sobre los racimos a partir de enero.

En las *hojas* se observa, en primaveras húmedas y frescas, manchas parduscas en el interior o en el borde del limbo, lo que da un aspecto de “hoja quemada” a la parte superior; algunas veces se ve un afeiltrado gris. Estos ataques en las hojas pueden producir su caída, pero, en general, tiene consecuencias limitadas.

En los *pámpanos* los síntomas son más raros. Los años lluviosos son atacados a partir de los otros órganos enfermos y presentan, entonces, un afeiltrado de micelios y una alteración parda de los tejidos; los sarmientos mal agostados pueden presentar en otoño cavidades negras de 1 a 5 mm de diámetro que corresponden a los esclerocios.

En las *inflorescencias* y *racimos*, el hongo puede:

- producir la desecación de botones florales antes de la floración y la caída precoz de una parte o de la totalidad de la inflorescencia; atacar al pedúnculo cuando todavía esta verde, haciendo aparecer necrosis bajo masas de micelio; una podredumbre húmeda puede desarrollarse con exudación de un líquido de las partes afectadas; es la podredumbre peduncular, que es grave, sobre todo, hacia la parada de crecimiento en el momento en que los granos son ya gruesos, produciendo la caída prematura de los racimos;
- atacar a los granos del racimo después del cuajado; las contaminaciones precoces pueden producirse a partir de residuos florales, los granos toman una coloración grisácea, después se oscurecen y se pudren, cubriéndose de efloraciones grises; es la podredumbre gris; a partir del enero la infección

progresa a partir de un grano enfermo hacia los granos próximos. Como consecuencia de este ataque los granos son invadidos por otros hongos como los *Penicillium* (podredumbre verde), o los *Aspergillus* (podredumbres negras).

Los vinos procedentes de cosechas con podredumbres presentan caracteres particulares:

- *en las variedades tintas*: degradación de la materia colorante y oxidación del color rojo, debido al desarrollo del hongo debajo de la película del grano destruyendo a los antocianos (Boubals, 1991); degradación de sustancias aromáticas, formación de mucílagos que perjudican la clarificación, pérdida considerable de jugo;
- *en las variedades blancas*: pérdida de cosecha, pérdida de aromas y de fruto con una coloración modificada por la oxidación, aumento del extracto seco, de dextrinas y de glicerol.

Además, Smart y Robinson (1991), Deloire et al. (2001), Holz et al. (2003), reportan que las podredumbres producen modificaciones en el perfil ácido, glucídico y enzimático con disminución de los azúcares y la alteración en el equilibrio de los ácidos

Finalmente las uvas de algunas variedades blancas (*semillón, muscadelle, sauvignon, chenin, riesling, furmint*) sometidas a los ataques de *Botrytis cinerea* bajo condiciones climáticas particulares pueden presentar una podredumbre noble (Reynier, 2005).

Los compuestos fenólicos se oxidan rápidamente en quinonas. La vulnerabilidad de la vendimia depende de la abundancia de sistemas enzimáticos que catalizan la reacción y en particular, de la actividad de la Tirosinasa y de la Laccasa. La oxidación controlada conduce a la maduración del vino, pero la oxidación demasiado rápida o demasiado completa compromete la calidad del producto: visual y gustativamente (gustos y olores indeseables) (Ribereau-Gayon et al., 1989).

2.2.2 Desarrollo epidemiológico de la podredumbre gris

La podredumbre gris de la vid es producida por el hongo *Botrytis cinerea* Pers., que es la forma imperfecta de *Botryotinia fukeliana* (de By. Whetz), perteneciente a la clase Ascomycetes, orden Moniliales y género *Botrytis*. La forma perfecta se encuentra bajo la denominación de *Botryotinia fukeliana*.

La conservación: el hongo permanece en invierno bajo forma de esclerocios en los sarmientos y de micelio bajo las cortezas.

La diseminación: cuando las condiciones climáticas son favorables, los esclerocios y los micelios se recubren de conidióforos que liberan conidias. La diseminación de las conidias esta asegurada por el viento y la lluvia.

La contaminación: Las conidias contaminan nuevos órganos, que germinan en presencia de agua (remojo de 15 horas) y de un substrato nutritivo constituido, frecuentemente, por órganos que han perdido su vitalidad (residuos de órganos florales, hojas muertas). A partir de estos primeros focos la contaminación se propaga a los demás órganos y en particular a las bayas por medio de los conidios o por medio del micelio por contacto de los focos instalados en las bayas:

- Sobre la baya no receptiva (de la floración al envero), la infección permanece latente, el hongo se encuentra de forma saprofita sobre los restos florales, o penetra en las bayas sin evolucionar hasta el envero;
- Sobre la baya receptiva, a partir de envero, la contaminación se produce, bien por las conidias o por el micelio ya presente, siendo esto último, ser el caso más frecuente.

La contaminación de la baya puede hacerse directamente por penetración de los filamentos germinativos procedentes de conidias o de micelios:

- Por las heridas que rodean los estomas;
- Por fractura atravesando la cutícula después la pared epidérmica y produciendo enzimas (quitinasas, pectinasas, galacturonasas), el micelio produce lacasa para destruir los compuestos fenólicos y facilitar la penetración.

La infección es el resultado de la penetración del micelio en los tejidos, dicha penetración puede ser:

- directa (ocurre al perforar mecánica y o enzimáticamente) (Latorre, 1986); la degradación de los tejidos se realiza mediante un complejo enzimático (Reynier, 2005).
- indirecta (penetra por heridas o aberturas naturales).

En ambos casos los conidios o hifas de *Botrytis cinerea* deben establecer un contacto directo con algún órgano susceptible de la vid y al mismo tiempo las condiciones de humedad y temperatura del medio deben ser favorables. Aparentemente la presencia de concentraciones mínimas de nutrientes sobre el sustrato estimula la formación de un apresorio. A partir de este, nacen finas hifas penetrantes, las cuales atraviesan la cutícula y la epidermis por acción mecánica

y/o por acción de enzimas hidrolíticas capaces de degradar la cutícula facilitando la penetración (Latorre, 1986).

Siguiendo el periodo de colonización temprano, el hongo entra a una fase latente (Keller et al., 2003), asociado con la producción de inhibidores de crecimiento del hongo por parte del hospedero (Sbaghi et al.1996, Goetz et al. 1999, Pezet et al. 2003).

Durante la latencia, un crecimiento y colonización del hongo más amplio puede ser detenida y los signos del patógeno no son visibles. La *Botrytis cinerea* se activa luego de la latencia colonizando la baya sin signos visibles después del inicio de la maduración (envero). El prolongado período de latencia concluye con la salida del hongo (el primer signo visible de infección) alrededor del envero (McClellan y Hewitt, 1973).

Luego que el hongo finalmente sale y esporula, disemina el inoculo secundario entre las bayas, esto ocurre frecuentemente antes de la cosecha suponiéndose que se den determinadas condiciones ambientales (alta humedad) o practicas culturales que incrementan la susceptibilidad del hospedero (aplicación excesiva de nitrógeno) (Zitter, 2005).

2.2.3 Circunstancias favorables

La enfermedad se desarrolla más fácilmente en algunas circunstancias relacionadas unas con las condiciones climáticas, con la sensibilidad de la planta misma y con los factores de cultivo.

2.2.3.1 Condiciones climáticas

Los factores climáticos, temperatura, humedad relativa, lluvia y viento, son los que determinan el establecimiento y el desarrollo de las podredumbres (Thomas et al. 1988, Percival et al. 1993, Ferrer et al. 2001, Serrano y Renard 2001a).

El hongo se desarrolla bien entre 15 y 20° C. El agua de lluvia o una humedad superior al 85 % crea condiciones muy favorables para el desarrollo de la podredumbre gris. El régimen de lluvias tiene un efecto variable: si la pluviometría es regular a lo largo de la estación, el porcentaje de podredumbre es más bajo, por lo contrario, si después de una primavera y un verano secos se produce un período lluvioso a partir de envero, los daños de podredumbre son importantes y difíciles de controlar. La sequía acelera la pérdida de defensas naturales de la planta (Reynier, 2005).

Mientras otros autores como Broome et al. (1995), Dubos (2000), Pieri y Fermaud (2005), reportan que en presencia de agua libre o humedad relativa superior al

90 % y con temperaturas de 20 a 24 °C a partir de enero, se favorece la penetración de los tubos germinativos de los hongos a la baya.

Serrano y Renard (2001a), Pieri y Fermaud (2005), registraron que la humedad relativa media del aire del período de maduración esta correlacionada a la intensidad de ataque de la podredumbre, en concordancia con trabajos realizados por Ferrer et al. (2009) en 4 años, encontrando una fuerte correlación entre el % HR y la uva afectada por podredumbres.

La HR como componente del microclima tiene importancia en el estado sanitario de la uva, debido a que altos porcentajes de la misma favorecen el establecimiento de las principales enfermedades de la viña (Smart y Robinson 1991, Camussi et al. 2001).

La transpiración de las hojas puede llevar a aumentar la humedad relativa dentro de canopias densas. Si la canopia es abierta, el efecto de la ventilación puede reducir la diferencia de humedad relativa entre el interior y exterior de la canopia. Sin embargo, pequeñas diferencias en la humedad relativa pueden ser importantes para el establecimiento de hongos patógenos como *Botrytis* sp. (Smart y Robinson, 1991).

En bayas maduras de vides y con un ambiente altamente húmedo (100 % HR) la infección se logra en 15 horas a 15 – 20° C. Jarvis (1977), Broome et al. (1995) estudiando la influencia de la temperatura y la duración de baya mojada para determinar un modelo que explique el desarrollo de la enfermedad, pudo llegar a las siguientes conclusiones:

- la infección ocurre entre los 12 y 30° C, después de solo 4 horas de baya mojada.
- la incidencia de la enfermedad aumenta con el incremento de las horas de mojado para cada temperatura; después de 24 horas de mojado, la máxima incidencia de la enfermedad varió desde un 54 % a 30° C a cerca de 90 % a 12 - 20° C.

La infección de las bayas también ocurre a 32° C, pero la incidencia después de las 24 horas fue menor al 10 %.

Las precipitaciones previas a la cosecha tienen una incidencia significativa ocasionando un desarrollo explosivo de la enfermedad con una aparición de síntomas 15 horas luego de producida la infección (Chenet 1997, Ferrer et al. 2001, Pertot et al. 2007), cuando la baya se encuentra en un estado vulnerable, sumado a la presencia de heridas o micro heridas (Rosenquist y Morrison, 1989), compacidad del racimo (Vail y Marois 1991, Vail et al. 1998), presencia de otras enfermedades y maduración avanzada de la baya (Keller et al., 2003).

A su vez Ferrer et al. (2009), registraron que las lluvias ocurridas en los 10 días anteriores a la cosecha son las que presentaron el mayor coeficiente de correlación en acuerdo con Ferrer et al (2001); también registraron que las precipitaciones durante los 40 días previos a la cosecha presentaron una alta correlación con el porcentaje de racimos afectados, ya que contribuyen a la degradación de la laminilla media, acelerando la senescencia de la baya y favorece el mantenimiento de la humedad relativa alta, según lo reportado por Viret y Gindro (2007).

2.2.3.2 Características del suelo

Según Fregoni (1987) la estructura del suelo es de enorme importancia, en cuanto el condicionamiento a la exploración radicular. En suelos arcillosos o superficiales, la raíz no profundiza y la planta sufre las variaciones hídricas del suelo; en dichas condiciones las bayas se parten, facilitando la entrada del patógeno. Mientras que en suelos livianos profundos y con buen drenaje, permiten una mayor exploración radicular, las variaciones hídricas se dan en menor medida, logrando un menor número de bayas partidas y por consiguiente, una disminución de la incidencia de la enfermedad.

Fregoni (1987) también comenta, que el origen geológico y la composición química del terreno pueden provocar determinadas carencias minerales en el viñedo que las hacen más susceptibles al ataque de *Botrytis*. Las deficiencias de potasio, calcio y magnesio atenúan la resistencia física y química de la planta. En particular el calcio y el magnesio son importantes en la constitución de la membrana celular; la escasez de dichos nutrientes favorece la penetración del micelio y la permeabilidad del oxígeno, originando la necrosis del tejido, lugar en el cual se instala la *Botrytis sp.*

En cuanto a la fertilización nitrogenada, se conoce desde hace tiempo, que altas dosis de nitrógeno promueve un gran desarrollo vegetativo e indirectamente un sombreado excesivo, favoreciendo al desarrollo de bayas con epidermis más débiles y más sensibles al ataque de *Botrytis*.

2.2.3.3 Sistemas de conducción y estructura del follaje

Los sistemas, como la Lira, que presentan mejor ventilación en la zona de los racimos, muestran disminuciones de hasta 50 % de daño de podredumbres (Carbonneau et al. 1978, Smart y Robinson 1991, Egger 1994, Ferrer et al. 2001).

Los follajes densos y sombreados constituyen ambientes adversos para la producción de fruta de calidad. La parte interior del mismo, recibe menor cantidad y calidad de luz (Dokoozlian y Kliewer, 1995), menor velocidad de circulación del aire y mayor humedad (English et al., 1989). Además Fregoni (1987) comenta, que follajes muy densos provocan floraciones irregulares, con retardo en la eliminación de los

residuos florales y provocan un retraso de la lignificación de los tejidos, con la consecuente reducción de la resistencia.

La calidad de la fruta que madura bajo estas condiciones puede ser seriamente reducida por pudriciones que son promovidas por la alta humedad, baja ventilación y reducida penetración de los pesticidas (Nelson 1951, Latorre 1986, Gubler et al. 1987).

Las bayas que provienen de racimos que se desarrollan bajo condiciones de sombreado, tienen menos cutícula por unidad de superficie, que aquellas provenientes de racimos desarrollados bajo buenas condiciones de exposición a la luz, lo cual hace a las primeras más susceptibles al ataque de *Botrytis cinerea* (Rosenquist y Morrison, 1989).

2.2.3.4 Riego

El riego tiene implicancia sobre los ataques de *Botrytis* por aumentar el vigor de las plantas. De hecho, el agua, favorece la absorción de nitrógeno y del potasio, deprimiendo la absorción de calcio y sobre todo del magnesio, provocando un desequilibrio en las relaciones K/Ca, K/Mg y K/(Ca + Mg), lo que aumenta la predisposición de la planta al ataque de *Botrytis*, y al desecamiento el escobajo (Fregoni, 1987).

2.2.3.5 Sensibilidad y receptividad de la vid

La sensibilidad de las variedades esta relacionada con la estructura de la piel del grano de la uva y con la compacidad del racimo: *Cabernet Franc*, *Muscadelle*, *Jurançon blanco*, *Melon*, *Pinot Noir*, *Hoja Blanca*, son muy sensibles; por lo contrario, *Merlot*, *Ugni Blanc*, *Mourvêrde*, son menos sensibles. Dentro de una misma variedad-población se observa una diferencia de sensibilidad entre clones (Reynier, 2005).

Ferrer et al. (2009), trabajando con *Tannat*, *Cabernet Sauvignon* y *Merlot*, encontraron que dichas variedades mostraron un comportamiento diferencial en relación al porcentaje medio de uva atacada, en la cual en el promedio de los años evaluados, la variedad *Tannat*, presentó un 26,2 % de uva afectada, *Merlot* presentó menos de un 6 % y *Cabernet Sauvignon* mostró valores intermedios respecto a los otros cultivares.

La diseminación secundaria de la enfermedad por el simple contacto entre bayas sanas y enfermas se ve favorecida cuando los racimos son compactos (Latorre, 1986). Este tipo de racimos tiene mayor superficie de contacto entre bayas y se ha comprobado que las zonas de contacto entre ellas, poseen menor deposición de cutícula y de cera epicuticular, siendo más sensibles a *Botrytis cinerea* (Rosenquist y Morrison 1989, Vail y Marois 1991).

Variedades con racimos muy compactos, desarrollan severos síntomas cuando son atacados por *Botrytis cinerea*. La arquitectura de los racimos es una variable importante que determina la severidad de las pudriciones causadas por *Botrytis cinerea* (Savage y Sall 1984, Vail y Marois 1991).

Cuando los racimos son compactos, el tiempo de mojado de las bayas es mayor, provocando modificaciones en el microclima de la zona de los racimos, favoreciendo una propagación mas rápida de los focos de podredumbre (Smart y Robinson 1991, Pieri et al. 2001, Pertot et al. 2007, Ferrer et al. 2008).

Ferrer et al. (2009), observaron en el cultivar *Tannat* que presentó el mayor ataque de podredumbres, posee significativamente racimos más compactos que los cultivares *Merlot* y *Cabernet Sauvignon*, concordando con lo reportado por Vail y Marois (1991).

Rosenquist y Morrison (1989), realizaron estudios sobre varias variedades de *Vitis vinifera* y evidenciaron que la variedad *Cabernet Sauvignon* presenta en sus bayas, hasta dos veces más deposición de pruina por unidad de superficie que *Pinot Noir* u otras variedades, y que esto explicaba la menor incidencia de la enfermedad en *Cabernet Sauvignon* respecto a las otras variedades.

La receptividad de la vid esta ligada a la sensibilidad de la variedad, la receptividad de las variedades muy sensibles se produce antes del inicio del envero, la de las variedades sensibles 10 a 15 días después del inicio del envero y las variedades poco sensibles 10 a 15 días antes de la vendimia.

Durante la fase de latencia, la planta resiste por la presencia de sustancias previamente sintetizadas que inhiben la actividad de la enzima principal (galacturonasa), que produce *Botrytis cinerea*. En presencia del hongo, las plantas producen sustancias fungotóxicas, como las fitoalexinas estilbénicas. Entre las variedades sensibles, y a partir del envero, las paredes epidérmicas de las bayas son más finas y la concentración de las sustancias inhibidoras disminuye más rápidamente y precozmente que en las variedades menos sensibles. Las plantas más resistentes producen más fitoalexinas estilbénica, tóxicas para la *Botrytis*, desarrollando así una barrera química que complementa la barrera mecánica debida al espesor del hollejo (Reynier, 2005).

El periodo pre-cosecha es muy critico para el ataque de *Botrytis*, por lo cual es fundamental la adaptación de la variedad (de diversas épocas de maduración) al clima, en cuanto la resistencia de la baya disminuye con el avance de la madurez (Fregoni, 1987).

2.2.3.6 Tipo de poda

Phillips et al. (1990) estudiaron la influencia del tipo de poda sobre la sanidad de la uva y determinaron que la poda *Royat* es más predisponente a los ataques de podredumbre gris en comparación con la poda *Guyot*. Esto se debe fundamentalmente a que el tipo de poda influye sobre la compactidad del racimo. También reportan que para una misma variedad, los racimos con poda *Royat* son más compactos que con el tipo de poda *Guyot*.

Trabajos realizados en el cv. *Tannat* por Ferrer et al. (2009), registraron que el tipo de poda *Royat* presentó racimos más compactos y por lo tanto más sensibles al ataque podredumbres que con el tipo de poda *Guyot*.

2.2.3.7 Intervenciones del viticultor

- *la forma de conducción* actúa favoreciendo la podredumbre gris cuando las vides son vigorosas (crecimiento activo y amontonamiento del follaje) es decir, vides que se han plantado en suelo profundos y húmedos, injertadas sobre portainjertos vigorosos, abundantemente abonadas, etc.; por el contrario, algunas operaciones culturales pueden limitar la podredumbre: el deshojado, los despuntes, la elevación del altura del tronco (Reynier, 2005);
- *Los tratamientos fungicidas*: algunos fungicidas anti-mildiu, especialmente los derivados del ácido ditiocarbámico (mancozeb, maneb y sin lugar a dudas el zineb) parecen favorecer la podredumbre gris, mientras que los productos a base de cobre o de talamidas (folpet) actúan contra *Botrytis*; el mal control de otras enfermedades (oídio) y de las polillas del racimo favorecen la podredumbre gris (Reynier, 2005).

La gestión del viñedo tiene influencia en el ataque de podredumbres de racimo. Los viñedos conducidos en Lira y con poda *Guyot*, presentaron los menores porcentajes de podredumbres de racimo (Ferrer et al., 2009), también trabajos realizados por Ferrer et al. (2001) reportan que el sistema de conducción en lira presentó para todos los años y las variedades evaluadas (*Tannat*, *Merlot* y *Cabernet Sauvignon*) una menor incidencia de *Botrytis*, con respecto a la espaldera

Para obtener racimos de alta calidad se hace necesario intervenir sobre los mismos, para corregir defectos tales como la compactación o la forma irregular de los racimos de algunas variedades (Merino 1996, Hayashi 1997). Debido a estos trabajos, inevitablemente se producen daños en los raquis, flores o bayas inmaduras, que predisponen al ataque de *Botrytis*, siendo muy útil el uso de un fungicida inmediatamente, antes o después (dentro de las doce horas subsiguientes) de efectuar los arreglos de los racimos (Latorre, 1986).

2.2.4 Estrategias y medios de control

Para controlar la enfermedad causada por *Botrytis sp.* y establecer cuales van a ser las estrategias y los mecanismos de control, se debe tener en cuenta todos los factores predisponentes para el desarrollo del hongo y también en el conocimiento del comportamiento del hongo a lo largo del ciclo fenológico de la vid; ya que al contar con dicha información nos permite identificar los estados en que la planta es sensible a este hongo, a la vez que nos brinda herramientas necesarias para establecer estrategias de control más eficientes (Carrosio et al., 2005).

Se deben considerar medidas de controles culturales y químicos. En ambos casos las medidas a tomar se basan en la prevención de la enfermedad, reduciendo o eliminando, cuando sea posible, las fuentes de inóculo las diversas formas de sobrevivencia del hongo como también realizar medidas buscando evitar la predisposición de las plantas al ataque del patógeno (Cabrera, 2004).

Si bien la estrategia a seguir es diferente para cada zona y variedad (Arias, 1992), las mismas deben basarse en combinaciones entre métodos culturales y químicos a la vez que también debería evaluarse la posibilidad de combinar métodos biológicos.

2.2.4.1 Control químico

La lucha química es difícil de realizar porque el parásito es polífago, esta permanentemente presente y es capaz de realizar una evolución explosiva. Esta lucha es preventiva y la creación de de un sistema de ayuda para la toma de decisiones permite ajustar mejor las fechas de tratamiento (Reynier, 2005).

Generalmente se utiliza un programa de cuatro aplicaciones teniendo en cuenta los estados de susceptibilidad de las plantas y los racimos en particular. Un primer tratamiento al final de la floración y principios del cuajado de fruto, un segundo tratamiento antes del cierre del racimo; un tercer tratamiento al principio del envero y el cuarto tratamiento tres semanas antes de la vendimia (Latorre 1986, Fregoni 1987, Pearson 1996, Morroni y Guidi 1998). Los momentos de mayor susceptibilidad para el establecimiento de infecciones de *Botrytis cinerea* se da en la floración y en la maduración de las bayas. Por eso se debe que se aplica la primera, tercera y cuarta aplicación, que van dirigidas a proteger la planta durante dichos estados de susceptibilidad. La segunda aplicación tiene como propósito evitar que el hongo se instale en el interior del racimo a expensas de los restos florales (infecciones latentes), ya que después que el racimo se cierra es muy difícil que los funguicidas penetren hasta el interior de los mismos (Fregoni, 1987).

2.2.5 Métodos complementarios al control químico

2.2.5.1 Deshojado

El deshojado es la práctica de manejo mas importante y efectiva que se debe tomar, cuando las bayas están en desarrollo, para controlar las podredumbres de racimo (Hansen, 1999). En un ensayo realizado por Carrosio et al. (2005), sobre el cv. *Tannat*, observaron que el deshojado afectó positivamente el estado sanitario de la uva en la cosecha.

Lo que en principio fue una practica tendiente a mejorar la calidad de los frutos, al mejorar las condiciones de luminosidad de los racimos, posteriormente se observó que evitaba condiciones ambientales predisponentes para el desarrollo de pudriciones, principalmente *Botrytis cinerea* (Latorre 1986, English et al. 1993, Marroni y Guidi 1998).

Esta práctica permite aumentar los efectos de los rayos solares en la uva, limitando la propagación de las enfermedades. Este efecto esta explicado por un aumento de la temperatura de la baya y ausencia de humedad. La relación entre la cantidad de luz y el calentamiento de la baya favorece la ausencia de humedad (Nelson 1950, 1951, Latorre 1997, Bitón 2003) En los granos expuestos al sol se pueden alcanzar temperaturas superiores a 25 – 30 °C, nivel en el que se limita el crecimiento de los agentes causales de las podredumbres (Nelson 1950, 1951, Latorre et al. 2002, Bitón 2003). Las bayas provenientes de racimos que se desarrollan bajo buenas condiciones de luz tienen una cutícula más rígida, lo que disminuye la susceptibilidad al ataque de estos patógenos. Al favorecer la ausencia de humedad, el deshojado también tiene un efecto sobre el control de la podredumbre ácida, ya que ésta necesita agua libre para la infección.

La técnica más común es eliminar de una a tres hojas por pámpano por lo cual queda suficiente área foliar para la maduración de los frutos. Puede ser realizado entre cuajado y envero, aunque los deshojados muy tardíos pueden causar daños del sol por la repentina exposición de frutos sombreados (Gubler et al. 1987, English et al. 1990).

English et al. (1993) comprobó que el deshojado manual de la zona de los racimos redujo la incidencia y severidad de la enfermedad de un 47 % y 79 % respectivamente comparado con el tratamiento testigo con el cual no se le practicó deshojado, mientras que las aplicaciones de Iprodione no resultaron en un control mayor de la enfermedad.

Zoecklein et al. (1992), Marroni y Guidi (1998), encontraron que el deshojado de 2 a 4 hojas en la zona del racimo dos a tres semanas luego de plena floración, redujo la incidencia de *Botrytis cinerea*, así como la concentración de metabolitos producidos por

microorganismos causantes de pudriciones en frutos próximos a la cosecha. Según estos autores el deshojado en estas condiciones permite además un mejor control por la mejor penetración de los funguicidas.

Sin embargo, Marroni y Guidi (1998) realizaron un trabajo en nuestro país, en donde se evaluó el deshojado, entre otras técnicas, para reducir la incidencia de *Botrytis cinerea* en uva de mesa, observaron que esta técnica mostraba una baja efectividad, cuando se aplicaba dos semanas después de plena floración, eliminando una hoja por encima, y otra por debajo del racimo así como la hoja opuesta de este. Los autores creen que esto se debe a que nuestras condiciones climáticas, y los sistemas de conducción que se utiliza en nuestro país para la uva de mesa (lira abierta) son distintos a los lugares en donde se han practicado los trabajos que demuestran la efectividad del deshojado, concluyendo que el momento y la intensidad del deshojado se debe ajustar a nuestras condiciones.

Cuando se realiza deshojado, la relación entre la cantidad de luz y el calentamiento de la baya favorece la ausencia de humedad (Pieri et al., 2001).

Los tratamientos sin deshojado presentaron mayores porcentajes de bayas afectadas por *Botrytis* sp. en cosecha, mientras que el deshojado realizado en cuajado resultó ser el tratamiento que presentó el menor porcentaje de la producción total con presencia de esta enfermedad. A su vez el deshojado en envero presentó un comportamiento intermedio, ya que los tres se diferenciaron estadísticamente (Carrosio et al., 2005). Esto se podría explicar debido que el deshojado temprano genera condiciones desfavorables para el desarrollo de este patógeno por un mayor período de tiempo (Bledsoe et al. 1988, English et al. 1990, Howell et al. 1994, Percival et al. 1994a, Sipiora 1995, Bitón 2003, Carrosio et al. 2005).

Sin embargo, trabajos realizados por Piccardo (2008), se ha observado que el deshojado aumenta la exposición de los racimos a la radiación y mejora la exposición y ventilación de los mismos, pero no se logró determinar que esta practica disminuye el porcentaje en peso de racimos afectados por podredumbres.

2.2.5.2 Aplicaciones de calcio

Debido a las crecientes restricciones que se plantean en varios países al uso de determinados principios activos, en cuanto a los residuos permitidos, así como la resistencia de algunas cepas de *Botrytis* hacia estos productos, hacen que cada vez se tengan en cuenta nuevas formas de controla la enfermedad, y en este sentido las aplicaciones de calcio parecen aportar nuevas soluciones al tema, sobre todo cuando se integran a técnicas de control biológico (Mc Laughlin et al. 1990, Droby et al. 1997, Chardonnet et al. 2000).

En la búsqueda de alternativas que permitan una buena conservación, con productos inocuos para el ambiente y seguros para el consumo humano, algunos autores han ensayado aplicaciones de Calcio en precosecha para mejorar la vida posterior de la uva (Ippolito, 2000).

Ippolito et al. (1997) ha ensayado aplicaciones de ClCa_2 (cloruro de calcio) con dosis no superiores al 1,5 % en pre-cosecha en uva de mesa *cv. Italia*, obteniendo buenos resultados en el control de podredumbres de racimos.

A su vez, Camussi et al. (2008) evaluaron la influencia de aplicaciones de Calcio como ClCa_2 en precosecha en el control de las podredumbres de racimos en los cultivares *Moscatel de Hamburgo* e *Italia*, pero no pudieron medir el efecto real del ClCa_2 en el control de las podredumbres.

Trabajos realizados por Ippolito et al. (1994) en uvas de mesa, confirman que la actividad del calcio, se limita a la superficie de la baya.

Se le atribuye al calcio una acción directa sobre el patógeno, considerado un efecto negativo de iones de calcio en la actividad pectinolítica de diversos patógenos y sobre la germinación de las esporas de *Botrytis cinerea*, incluso a concentraciones de 25 mM (0.3 %) (Wisniewki et al., 1995).

El calcio parece ejercer una actividad inhibitoria de la poligalacturonasa de la *Botrytis*, causando dificultades en la capacidad de degradar las sustancias pécticas de la pared celular (Poovaiah et al. 1988, Volpin e Elad 1991, Conway et al. 1992).

Esto podría no excluir, una eventual modificación de la flora epifítica presente en la baya, favoreciendo a microorganismos antagonistas de *Botrytis cinerea*. Es bien sabido, que el calcio es capaz de incrementar la actividad antagonista de algunas cepas de levaduras y bacterias, empleadas como agentes de lucha biológica (Mc Laughlin et al., 1990).

También parece, que la levadura es más eficaz en la contención de la podredumbre, por presentar una mayor osmotolerancia y por lo tanto son menos afectadas de los efectos negativos causados por la alta concentración del Ca^{++1} .

¹ Droby, S.; Wisniewski, M.; Cohen, L.; Weiss, B.; Touitou, D.; Eilam, Y.; Chalutz, E. 1997. Characterization of the effect of CaCl_2 on *Penicillium digitatum*, grapefruit peel tissue and biocontrol activity of *Pichia guilliermondii*. (sin publicar).

Un suministro de calcio más temprano, ha dado lugar a incrementos significativos del contenido de calcio en el hollejo de la baya, asociado a un incremento de la reducción de podredumbres de la uva en post-cosecha (Ippolito et al., 1997).

La penetración del calcio en los tejidos del fruto es reportada para algunas especies, como el kiwi (Gerasopulos et al., 1996), manzana (Raese et al., 1995) y también para la uva, cuando es aplicado en un estadio precoz de desarrollo de la baya (Fregoni, 1987).

Por lo tanto, la reducción observada de la podredumbre, también se atribuye a una acción interna. El mecanismo mediante el cual el ión Ca^{++} mejorando la resistencia del tejido vegetal a la invasión del patógeno puede ser diverso (Ippolito et al., 1997).

También se han logrado controlar la podredumbre ácida en forma importante, con una concentración de 2 % de ClCa_2 , según trabajos reportados por Ippolito et al. (1997).

2.2.5.3 Deshojado precoz

La incidencia del deshojado en diferentes momentos fenológicos de la vid ha sido evaluada por diversos investigadores con resultados variables. Un importante factor para determinar el momento de deshoje (pre-floración o post-floración) es el climático, especialmente en las fases fenológicas de floración y polinización. El deshoje en pre-floración favorece la calidad de la uva y disminuye el ataque de podredumbres, principalmente cuando en el período floración-polinización el clima es húmedo (Persuric et al., 2001).

El deshojado realizado durante la floración (de forma precoz) permite disminuir el cuajado y el tamaño final de la baya. El deshojado precoz consiste en la eliminación de una serie de hojas (entre cuatro y ocho) de la parte basal del pámpano, es decir, en las inmediaciones de los racimos, alrededor de la época de floración y, más concretamente, cuando las inflorescencias presentan entre 5 % y el 100 % de las flores abiertas. Al eliminar estas hojas adultas, que realizan una fotosíntesis muy activa en ese momento, estamos disminuyendo la disponibilidad de azúcares por la inflorescencia y puede disminuir tanto el cuajado como el desarrollo inicial de la baya (Martínez de Toda, 2008).

Cuando el deshojado se realiza precozmente la maduración se sustenta con las hojas apicales y las feminelas eventualmente estimuladas por el despunte, lo que determina un incremento en la calidad foliar del pámpano y por tanto en la calidad de la uva (Poni, 2005).

Según Poni et al. (2006), el principal inconveniente de dicha técnica es que está en fase experimental y conviene, previamente, realizar los ensayos oportunos para decidir más exactamente la época y la intensidad de la intervención, así como sus posibilidades de mecanización

Como consecuencia de los efectos del deshojado precoz sobre la disminución del tamaño del racimo, número de bayas, tamaño de la baya y compacidad, también se produce una menor incidencia del desarrollo de *Botrytis*, altamente significativa (Martínez de Toda, 2008).

El deshojado en tamaño guisante incrementa la actividad fotosintética de las hojas remanentes y la actividad metabólica del racimo, lo que concluye en una madurez uniforme (Hunter y Archer, 2002).

2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA PODREDUMBRE ÁCIDA

La podredumbre ácida es una enfermedad conocida desde hace muchos años. En 1899, fue citada en los viñedos de Sauternes por Capus. Es una enfermedad presente en numerosos países (Estados Unidos, Chile, Italia y España) y regiones de Francia (Midi, Sauternais, Graves en Bordelais Alsacia), relativamente frecuente (1982, 1987, 1990, 1992, 1997, 1999) y generalmente localizada en ciertas partes del viñedo. Es la manifestación de la unión de diferentes organismos vivos (la vid, las levaduras, las bacterias, las drosófilas, los nematodos, las avispas... y el hombre) de los agroecosistemas vitícolas.

2.3.1 Manifestación de la podredumbre ácida

A lo largo del verano, lo más a menudo sobre las cepas de los bordes o en las extremidades de la parcela, los racimos toman una coloración rojo ladrillo entre las variedades blancas y marrón violáceo entre las variedades tintas. Al principio, los granos aparecen llenos con la piel lisa, pero su pulpa se ablanda progresivamente, dejando caer el jugo al suelo. Esta evolución de las bayas, se acompaña:

- Presencia de adultos de drosófila (mosca del vinagre) que vuelan de forma abundante;
- Presencia de larvas de drosófila;
- Olor acético picante.

Las bayas atacadas se vacían progresivamente de su contenido. Al final del ataque, cuando las condiciones climáticas se hacen más secas, no queda sobre el pedicelo nada más que la piel inflada, dura y momificada. Los daños se producen en verano sobre todo entre el envero y la recolección, en el transcurso de un

periodo lluvioso. Para observar los primeros síntomas, es necesario coger los racimos del interior de la cepa, las bayas en contacto con la mano tienen entonces tendencia a reventar (Reynier, 2005).

2.3.2 Daños

Los daños originados por esta enfermedad son de dos tipos:

- *daños directos sobre los racimos*: pérdida de producción, más o menos importante, estado sanitario defectuoso, aspecto de los racimos poco atractivo y con olor a vinagre;
- *daños indirectos sobre los mostos y los vinos*: la acidez volátil de los mostos es elevada (2 a 4 veces superior a la de una vendimia sana), la fermentación se produce con poblaciones de levaduras diferentes a la de los mostos sanos. Los vinos provenientes de vendimias con podredumbre ácida, después de la fermentación maloláctica, presentan una acidez volátil elevada (2 a 3 veces superior), son inadecuados para el consumo, su destino es el vinagre. En los Pirineos orientales la podredumbre ácida de los racimos de *muscat*, origina una disminución del potencial aromático. Mediante técnicas enológicas apropiadas (sulfatado 8-10 g/hl, adición de levaduras antes de la fermentación alcohólica, siembra bacteriana al final de la fermentación alcohólica para iniciar la fermentación maloláctica) pero también por la selección de la vendimia, es posible sacar partido de esta materia prima (Reynier, 2005).

2.3.3 Epidemiología de la podredumbre ácida

Varios parásitos intervienen en esta epidemia, unidos por vínculos de mutualismo en el parasitismo de las bayas de las uvas. Entre estos parásitos, se encuentran por una parte las levaduras y bacterias acéticas que aseguran la transformación bioquímica del medio celular de la pulpa y por otra parte, las drosófilas, que utilizan este medio para poner huevos y permitir el desarrollo de sus larvas y los nematodos (Reynier, 2005).

2.3.3.1 Los microorganismos responsables

Levaduras y bacterias normalmente se encuentran sobre los racimos en el momento de la vendimia. Pasan el invierno en el suelo y aparecen sobre los racimos a partir del enero, transportados por el polvo y sobre todo los insectos. Estos microorganismos son retenidos por la pruina (materia cerosa en forma de escamas) de la superficie de la película de las uvas. Son transportadas en las patas o depositadas con las deyecciones de los insectos, principalmente las drosófilas. Las principales levaduras

encontradas sobre los racimos sanos son *Saccharomyces ellipsoideus* y *Kloeckera apiculata*, forma imperfecta de *Hanseniaspora uvarum*. Bacterias lácticas y acéticas completan esta flora.

Sobre los racimos con podredumbre ácida, se encuentra además de las levaduras citadas, otras levaduras, que habitualmente están poco presentes y que tienen la capacidad de producir acetato de etilo y acetaldehído: *Metschnikowia pulcherrima*, *Candida diversa*, *Candida stellata*. Al lado de las levaduras, se encuentran también bacterias acéticas y lácticas. Esos microorganismos se multiplican activamente desde que entran en contacto con el medio azucarado del racimo. Transforman el medio; desencadenando una serie de fermentaciones y alteraciones del mismo, que conducen a la producción del ácido acético (Reynier, 2005).

2.3.3.2 Las drosófilas, vectores de los agentes de la enfermedad

Las drosófilas son las moscas que se encuentran abundantemente en los lugares donde se han depositado los orujos, los componentes de las lías y sobre los frutos golpeados. Son atraídas por los jugos en fermentación (frutos, uvas) donde se alimentan y oviponen. Se desplazan de un fruto a otro, transportando a las uvas sanas las levaduras y los microorganismos pegados a sus patas o ingeridos y después expulsados.

Cuando los granos del racimo presentan heridas o dejan escapar el jugo por heridas, las drosófilas son atraídas abundantemente, poniendo y multiplicándose activamente, su densidad de población es explosiva (la hembra puede poner de 500 a 900 huevos en el transcurso de su corta vida). Las larvas nacidas después de uno a tres días de incubación, se desarrollan en la pulpa pasando por tres estados larvarios. Así, cuando las temperaturas son favorables y en presencia de un buen medio nutritivo, cada 10 a 12 días se produce una nueva generación y la población de la drosófila se incrementa de una manera exponencial. En estas condiciones, los desplazamientos incesantes y numerosos de las moscas cargadas con los microorganismos acéticos aumentan los riesgos de contaminación, la epidemia llega a ser explosiva.

Las drosófilas encontradas en los viñedos atacados por podredumbre ácida pertenecen principalmente a dos especies: *Drosophila melanogaster* y *D. simulans*. Las drosófilas se desarrollan sobre todo sobre los frutos, pasando el verano primero sobre los frutales desplazándose a continuación hacia los viñedos. Se denominan moscas de las frutas (fruit fly) pero también mosca del vinagre.

Las moscas no solo son vectores de levaduras y bacterias, sino también de nematodos que dejan con sus deposiciones sobre las uvas de los racimos. En efecto, diferentes nematodos, gusanos no visibles a simple vista, están presentes sobre los hollejos y en los granos atacados por la podredumbre ácida. *Turbatrix aceti* se ha identificado sobre uvas de numerosas variedades de viñedos mediterráneos con ocasión

de un fuerte ataque de podredumbre ácida durante el verano de 1997. En Italia es *Panagrellus zymosiphilus*, nematodo idéntico al de vinagre, la especie que ha sido identificada a partir de racimos afectados por podredumbre ácida recogidos en 1986 en un viñedo de la región de Verona (Reynier, 2005).

2.3.3.3 La epidemia es explosiva en tiempo cálido y húmedo

La epidemia comienza por una fase de instalación, en el curso de la cual las levaduras y las bacterias presentes sobre el hollejo o puestas por algunas drosófilas comienzan una fermentación alcohólica que evoluciona a picadura acética. Si las condiciones climáticas calidas y húmedas persisten, la epidemia se convierte en explosiva, ya que las drosófilas, atraídas por los granos estropeados, se multiplican activamente, transportando los microorganismos y propagando la enfermedad. La epidemia se para en el momento en que la lluvia y la humedad desaparecen (Reynier, 2005).

2.3.4 Circunstancias favorables a la podredumbre ácida

La podredumbre ácida se desarrolla a menudo en los mismos viñedos en el curso de periodos cálidos y húmedos sobre uvas que presentan heridas:

- *las lesiones*: son las lesiones del hollejo de la uva las que crean en principio un medio nutritivo favorable para el desarrollo y actividad de los microorganismos: estas lesiones son de origen mecánico (microfisuras favorecidas por la delgadez del hollejo tirante por un engrosamiento exagerado de los granos del racimo, muy alimentados por el agua, heridas provocadas por el granizo,..) o patológico (oídio, polillas del racimo, picaduras de avispa,...);
- *la sensibilidad de la variedad*: las variedades de grano apretado son sensibles (*carignan, garnacha, muscat,...*) o de hollejo fino (*cinsaul*), pero no son las únicas (*chardonnay, pinot,...*);
- *los viñedos vigorosos* son más receptivos, ya que tienen racimos más compactos, en los cuales los granos explotan más fácilmente, tienen una vegetación abundante y espesa;
- *las condiciones climáticas*: la enfermedad aparece en el transcurso de periodos lluviosos y cálidos y cuando los racimos se encuentran con una higrometría elevada en el transcurso del verano, un ambiente húmedo, en los bordes con árboles, en los valles, es favorable a las moscas y a la enfermedad;
- *el aclareo de los racimos*, dejando en el suelo granos del racimo, favorece la aparición de la enfermedad (Reynier, 2005).

2.3.5 Protección contra la podredumbre ácida

Se trata en primer lugar de evitar las condiciones microclimáticas favorables a la podredumbre ácida y a la proliferación de las moscas como al vigor, causa de la acumulación de la vegetación y de la compacidad del racimo. Para esto, es necesario incidir sobre los factores clásicos de reducción del vigor, como el permitir el crecimiento de la cubierta vegetal y lo que favorece la aireación de los racimos., como empalzado cuidadoso de la vegetación y el deshojado en la zona de los racimos. Se trata de evitar todas las causas de heridas de los hollejos para una protección fitosanitaria rigurosa contra las enfermedades criptogámicas (oídio y mildiu) y las plagas (polillas del racimo) (Reynier, 2005).

La lucha preventiva tiende a limitar la actividad de las levaduras y bacterias y luchar contra los vectores del desarrollo explosivo de la enfermedad:

- Los tratamientos con cobre, endureciendo los hollejos de la baya y facilitando su cicatrización, dan buenos resultados, con 50-60 % de eficacia;
- Los tratamientos insecticidas: no parecen eficaces por si solos, se debe intervenir preventivamente desde la aparición de los primeros adultos de drosófila y deben repetirse a los 8 días; las drosófilas han desarrollado rápidamente resistencia a los insecticidas, por lo que es necesario alternar las familias de los productos empleados (Reynier, 2005).

En el Uruguay no se realizan manejos contra la *Drosophila* debido a que es muy polífaga, o sea que tiene un amplio rango de hospederos silvestres, por lo cual no tiene sentido realizar un manejo de control de la mosca porque sería muy poco efectivo².

2.4 MICROCLIMA DEL RACIMO

El microclima es el clima en el interior e inmediatamente próximo a la cubierta vegetal de la planta y/o comunidad vegetal. Las mediciones climáticas muestran diferencias relevantes entre los valores de algunos parámetros climáticos en el interior y en el exterior de la cubierta vegetal. En pocos centímetros, las diferencias en el microclima pueden ser importantes desde el punto de vista fisiológico, traduciéndose en variaciones en el potencial cuantitativo y cualitativo de la producción (Balsari y Scienza, 2004).

² Scatoni, I. 2009. Com. personal.

2.4.1 Deshojado

Con los años, la importancia de la gestión del follaje ha ido aumentando, pasando de ser una práctica utilizada inicialmente para controlar el crecimiento, obtener rendimientos sostenibles y controlar las enfermedades, a convertirse en una práctica integral, absolutamente esencial en viticultura y enología de cara a la obtención y mejora de la calidad de la uva y el vino (Carrosio et al., 2005).

2.4.1.1 Objetivos

El deshojado consiste en suprimir las hojas a nivel de los racimos con vistas a conseguir los siguientes efectos:

- Aumentar la temperatura a nivel de los racimos; velocidad de la maduración;
- Exponer las bayas a la radiación solar aunque no directa, facilitando la síntesis de compuestos polifenólicos en uvas de bayas rojas, mejorando la coloración de las bayas;
- Reducir la podredumbre gris mediante una mejor aireación durante el periodo de maduración;
- Reducir el tiempo de vendimia manual, particularmente en las uvas de mesa; mientras que en la vendimia mecánica, el deshojado no presenta ningún interés;
- Favorecer el acceso a los racimos de los tratamientos tardíos contra la podredumbre gris;
- Favorecer el desarrollo de la podredumbre noble durante el período de sobremaduración para la producción de vinos licorosos;
- Eliminar hojas interiores con reducida actividad fotosintética (Balsari y Scienza 2004, Reynier 2005).

Esta operación también sirve para eliminar amontonamientos y superposiciones de la vegetación; las hojas que se encuentran en sombra durante toda la jornada son en efecto inútiles o perjudiciales y consumen en parte los fotoasimilados que producen las hojas mejor expuestas (Balsari y Scienza, 2004).

El objetivo principal del deshojado es garantizar en la zona de los racimos las condiciones óptimas de ventilación e iluminación para permitir una correcta maduración y limitar la incidencia de enfermedades fúngicas, en particular *Botrytis* (Balsari y Scienza, 2004).

2.4.1.2 Práctica

El deshojado se practica a nivel de los racimos sobre la cara de la fila expuesta al sol saliente o del lado que esté más a la sombra. Puede ser hecho de manera precoz, en el cuajado, pero de una manera moderada, para conseguir una mejora del microclima de los racimos y favorecer su maduración así como limitar la sensibilidad a la podredumbre gris. En otros casos, se realiza uno o dos días antes de las vendimias manuales, para reducir su duración.

Los efectos benéficos del deshojado solo se consiguen actuando sobre las hojas viejas cuya actividad fotosintética es menor. Si se hace demasiado pronto y de forma severa, disminuye la superficie foliar en plena actividad provocando una disminución de la calidad y del rendimiento. Puede combinarse con un deshojado menos intenso para compensar esta disminución de superficie foliar. El deshojado, en ciertas condiciones climáticas particulares (temperaturas elevadas y baja higrometría), puede favorecer un escaldado de los racimos.

El deshojado es una operación exigente en mano de obra (30 a 50 horas/ha según la densidad de plantas), pero actualmente existen otros medios de deshojar por medio de:

- *Desfoliadoras neumáticas*: que funcionan insuflando aire a gran presión, lo que lacera las hojas (Galvit), o aspirando las hojas que posteriormente son cortadas por las palas de un ventilador (Carteau, Dabriegon) o por hojas de sierra (Cauderay). A este conjunto aspiración/corte se le ha añadido recientemente una cinta transportadora que lleva la vegetación hacia la malla de aspiración colocada delante de una barra de corte alternativo (Avidor).
- *Desfoliadoras térmicas*: las hojas se secan mediante radiantes luminosos alimentados con gas (Souslikoff); el deshojado de una hectárea de viña necesita 6 horas y media a la velocidad de 1 km/hr (Reynier, 2005).

El deshojado químico ha sido objeto de ensayos, especialmente con clorato de magnesio y etefon, pero estas sustancias no se emplean ya debido a los efectos secundarios nefastos para la vendimia. El deshojado es una técnica que encarece los costos de producción y solo se practica cuando la mejora cualitativa de las uvas se repercute en el precio de la venta (Reynier, 2005).

2.4.1.3 Influencia del deshojado en la capacidad productiva de la planta

- Superficie foliar

Al deshojar se elimina parte de la superficie foliar de la planta, cuando se realiza de forma parcial o ligeramente, favorece la luminosidad de las hojas más internas de la estructura, compensando la disminución de las hojas; mientras que si la eliminación es muy importante, puede quitarle capacidad fotosintética a la planta. Lo importante es saber la superficie foliar expuesta (parte activa del follaje expuesta al sol), pues un indicador del potencial fotosintético de la planta (ITV, 1998).

En un deshojado precoz (cuajado) la reposición foliar puede llegar a recubrir un 50 % hacia los racimos, dentro de las 2 semanas que transcurren luego de la operación. Esta reposición compensa parcialmente la supresión de las hojas. En cambio un deshoje tardío (envero) presenta una tasa de reposición más baja o nula (ITV, 1998).

La eliminación de hojas en un viñedo de poco vigor no siempre se justifica, debido a que en estas condiciones el área foliar expuesta puede resultar limitante para el normal desarrollo de la uva y a su vez los cambios microclimáticos al nivel de los racimos no serían muy notorios. En cambio en un viñedo muy vigoroso en donde el área foliar no sería limitante, el deshojado se justifica dado la gran influencia que ejerce sobre el microclima del racimo (Muñoz et al., 2002).

- Rendimiento

Según Percival et al. (1994), determinaron que el deshojado mejora los componentes de rendimiento, donde deshojados tardíos (envero) producen mayores rendimientos por aumento en el peso de racimo, en comparación al testigo y en menor medida en comparación al deshojado temprano (cuajado).

Mientras Gutiérrez (2002) que trabajó en la variedad *Listán Negro*, encontró que el deshojado afectó diversos parámetros productivos, entre los cuales encuentra un menor rendimiento en forma significativa de los tratamientos de deshojado respecto al testigo, sin encontrar diferencias entre distintos momentos.

A diferencia de los autores anteriores, Chovelon (1999) dice que el deshojado precoz genera un menor tamaño de grano, pero no necesariamente afecta significativamente el rendimiento.

A su vez Di Profio y Reynolds (2005), trabajos realizados en *Merlot*, *Cabernet Franc* y *Cabernet Sauvignon* observaron que el deshojado no tuvo un efecto en el rendimiento y en la carga de cosecha, con respecto al testigo.

Bledsoe et al. (1988) practicaron un deshojado con tres niveles de severidad y en cuatro momentos del ciclo de la vid, no encontraron diferencias en el rendimiento, ni en los componentes de rendimiento (peso de grano).

A la vez que Andrade et al. (2001) también concluye que deshojados en cuajado no generan efectos en el rendimiento.

2.4.1.4 Influencia del deshojado en los parámetros físicos de la uva y en la composición de la uva y el mosto

- Parámetros físicos de la uva

El deshojado precoz puede retardar el crecimiento de los granos (diámetro y peso de bayas), pero en cosecha se determinó que el estrés inducido, generó muy poca incidencia sobre el rendimiento final (ITV, 1998).

A su vez Di Profio y Reynolds (2005), trabajos realizados en *Merlot*, *Cabernet Franc* y *Cabernet Sauvignon* observaron que el deshojado tuvo un leve efecto en el peso de la baya, en el peso del racimo y en el número de bayas por racimo.

El crecimiento de los granos durante el período herbáceo puede verse incrementado debido a la mayor exposición de los racimos al sol; varios ensayos se ha observado incrementos en el tamaño de los granos en función de la luminosidad que reciben, debido a que la luz estimula la división y expansión celular. Este fenómeno es también estimulado por el aumento de las temperaturas en un rango óptimo que va de 20° C a 25° C, mientras que temperaturas que exceden los 35° C lo inhiben (Dokoozlian, 2002).

Aumentos exagerados de la temperatura, traen un incremento en la tasa respiratoria y la subsecuente deshidratación del grano, afectando negativamente la división y elongación celular (Crispen et al., 1986).

Sin embargo otros autores afirman que el deshoje temprano hace descender el peso medio de los racimos (Sipiora 1995, Gutiérrez 2002). La eliminación de las hojas en el período herbáceo puede afectar la división celular y por lo tanto reducir el tamaño final del grano. Posiblemente esto ocurre si el número de hojas eliminadas es suficiente como para reducir la disponibilidad de carbohidratos destinados al crecimiento del grano; efecto evidenciado por Gutiérrez (2002), al trabajar con *Listan Negro*, cuando realizó un deshoje severo en cuajado.

Según Leborgne y Rodríguez (2003), quienes realizaron el deshojado en cuajado sobre el cv. *Tannat*, como una alternativa para reducir el tamaño del grano; pero no

encontraron diferencias significativas en el tamaño del grano. Dichos autores, infieren que las plantas presentaban una adecuada relación fuente/fosa y que la cantidad de fotoasimilados en la primera fase de crecimiento, fue suficiente como para no limitar el crecimiento del grano. Sin embargo, obtuvieron una mayor relación hollejo/pulpa en los granos, que podría estar explicada por un mayor peso del hollejo; concordando con otros autores que dicen que exposiciones tempranas del racimo a la luz, generan una pared cuticular más gruesa.

A la vez Muñoz et al. (2002) no observaron efectos del deshojado realizados en enero, sobre el peso de grano o de racimo en Cabernet Sauvignon en la Región Metropolitana del Valle de Maipo, Chile.

- Composición de la uva y el mosto

Sólidos solubles, acidez total y pH

Un mayor número de hojas por cepa de viña (alta relación hoja/fruta), ocasiona una acumulación suplementaria de glúcidos en las uvas, dependiendo de las condiciones climáticas del año, así como de las distintas variedades y “terroir”, Murisier, citado por Renaud et al. (2001). Sin embargo, por lo menos en la parte baja de la cepa, como las hojas impiden la exposición directa de las uvas a los rayos del sol (luz y temperatura), se pueden dificultar las transformaciones de ácidos orgánicos en glúcidos (Ribereau-Gayon et al., 1989).

Según Smart (1985), la exposición de los racimos al sol aumenta la concentración de sólidos solubles y pH; mientras que los contenidos en ácidos orgánicos disminuyen especialmente el ácido málico. Contrariamente a esto último, Percival et al. (1994), menciona que no hay ningún efecto benéfico del deshojado en los siguientes parámetros: sólidos solubles, pH y acidez titulable. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Andrade et al. (2001), Leborgne y Rodríguez (2003) al efectuar esta práctica.

A su vez Di Profio y Reynolds (2005), trabajos realizados en *Merlot*, *Cabernet Franc* y *Cabernet Sauvignon* observaron que el deshojado provoca pequeños incrementos en la intensidad de color, en la concentración de fenoles y de antocianos pero no aumenta o muy poco los sólidos solubles. También pudieron constatar que el deshojado reduce la acidez total y aumenta el pH respecto al control.

Trabajos previos han mostrado que los deshojados pueden ser usados para modificar la composición de la uva, particularmente los índices de maduración tales como el grado Brix, pH, y acidez titulable (Reynolds et al. 1995, 1996, Ollat y Gaudillère 1998).

La Barge IV y Patterson (2008) observaron que evaluaciones realizados en viñedos de Cabernet Sauvignon, que el deshojado no afectó significativamente el pH, los grados Brix y los contenidos de ácidos málico y tartárico.

Reynolds et al. (2007) trabajando con el cv. *Chardonnay Musqué* en Notario, Canadá, lograron adelantar la maduración de la uva, además de un incremento del pH y los grados Brix del mosto.

Tanto con un deshoje en cuajado, como 10-15 días antes de la cosecha, se obtiene un aumento del porcentaje de los glúcidos en los racimos, pues se mejora la exposición de los racimos al sol (Sipiora 1995, Gutiérrez 2002). A pesar de esto, el deshoje temprano (cuajado) muestra los mejores resultados (Sipiora 1995, ITV 1998, Gutiérrez 2002).

Zufferey et al. (2001) establecieron que temperaturas en el entorno de 35° C, hacen descender bruscamente la asimilación, y a 40-45° C la asimilación es nula, inhibiendo la acumulación de azúcares y la normal maduración; coincidiendo con lo establecido por Kliewer (1977), que establece como umbral, temperaturas de los racimos mayores a 37° C.

Otros autores opinan que un deshoje muy severo provoca una baja en el tenor de azúcares, pues la capacidad fotosintética de la planta se ve afectada (ITV 1998). Sin embargo Andrade et al. (2001), concluyen que al eliminar hojas basales y feminelas, no afecta la concentración de azúcares respecto al testigo sin deshojar.

Felix (2003) observó que el deshojado ocasionó un desequilibrio en la planta cuando dicha práctica fue efectuada sobre el viñedo que presentaba una relación hoja/fruta adecuada para la acumulación de azúcares. Sin embargo, al realizar un deshoje en enero, no afectó el potencial de acumulación de azúcares, probablemente debido a que las hojas eliminadas en ese momento eran fotosintéticamente poco eficientes.

La eliminación de hojas basales con el propósito de modificar el microclima del racimo, puede afectar negativamente la acumulación de los azúcares si las hojas aún son funcionales; pero también es probable que la acumulación de azúcares sea menor, cuando las plantas presentan una baja superficie foliar expuesta, normalmente observable en viñedos con follajes muy densos (Muñoz et al., 2002).

Incrementos de la exposición de los racimos al sol, provocan disminución en la acidez, la cual puede ser atribuida a incrementos en la degradación del ácido málico a la mayor temperatura de la fruta expuesta (Kliewer et al., 1988), mientras que en trabajos realizados por Crippen y Morrison (1986) no encontraron diferencias de acidez total, entre racimos expuestos y sombreados.

Dokoozlian et al. (2001) en ensayos realizados en California en la variedad *Grenache* y *Cabernet Sauvignon*, observaron que la exposición de los racimos al sol, provoca un pequeño aumento del pH, con relación a las uvas situadas a la sombra.

Un deshoje temprano en cuajado produce un descenso del pH en la uva y mosto (Sipiora 1995, Gutiérrez 2002).

Koegelenberg (2002) menciona que los racimos no deberían estar talmente expuestos a la luz solar directa, ya que podría ocasionar que la temperatura de los racimos, especialmente en los cultivares tintos alcanzara hasta 12° C por encima de la temperatura ambiente, provocando una excesiva respiración de ácido málico, y consecuentemente un descenso de la acidez total y un aumento del pH considerable.

Compuestos fenólicos

Según Martínez De Toda (2002), cualquier tipo de “operación en verde” que provoque que los racimos y la vegetación queden bien expuestos, actúa sobre el contenido en antocianos y fenoles de la uva.

La Barge IV y Patterson (2008) observaron que viñedos de *Cabernet Sauvignon* en la cual se le realizaron deshojados en cuajado, se lograron los valores más altos en polifenoles totales, antocianos e intensidad de color, independientemente de la carga de cosecha, en comparación con los tratamientos en los que se realizaron aclareo de racimos en enero y aclareo de botones florales.

Spayd et al. (2002) observaron que racimos expuestos del lado oeste de la fila presentaron una excesiva radiación solar provocando un incremento de la temperatura absoluta de los granos, reduciéndose los contenidos de antocianos.

La exposición de los racimos al sol (a través del deshojado), favorece la síntesis y concentración de antocianos y polifenoles totales (Smart 1985, ITV 1998, Gutiérrez 2002). El efecto más marcado se da en el deshoje precoz (cuajado) (ITV 1998, Gutiérrez 2002).

Tarara et al. (2008) concluyen que la acumulación de antocianos en *Merlot* parece ser determinado por la combinación sinérgica de la radiación solar y la temperatura de la baya. Además determinan que la temperatura es un fuerte componente ambiental determinante del perfil antocianico en el hollejo, encima de un umbral potencialmente bajo de exposición a radiación solar.

Serrano et al. (2001b) opinan que el deshoje genera una ganancia de polifenoles totales entre 10 % y 30 % de antocianos respecto al testigo sin deshojar, siendo el efecto más marcado en el deshojado en cuajado, observando también que los vinos obtenidos a

partir de estos tratamientos presentaban un potencial polifenólico más estable en el tiempo.

Andrade et al. (2001) logró mediante el deshojado en cuajado de hojas y feminelas hasta el sexto nudo, una mejor exposición de los racimos a la radiación solar, favoreciendo el aumento de la concentración de antocianos y compuestos fenólicos.

Hunter et al. (1991) al probar distintas intensidades de deshojado en diferentes momentos, observaron que el deshojado en enero presentó los mayores contenidos de antocianos al compararlo con los deshojes realizados al mes de la brotación, en cuajado y en grano tamaño arveja.

Leborgne y Rodríguez (2003) al deshojar obtuvieron, un leve incremento en los antocianos totales, dichos autores comentan que esperaban un mayor incremento de antocianos, debido a que la exposición solar de los racimos aumenta la actividad PAL (Fenilalanina amonio-liasa) y por lo tanto la síntesis de estos compuestos se ve favorecida. Pero si obtuvieron un incremento importante en los niveles de antocianos fácilmente extraíbles, siendo un 20 % más que el testigo; y comentan que la uva probablemente se encontrase más madura en el tratamiento deshojado.

Mientras que Felix (2003) dice que sobreexposiciones de los racimos al sol, son perjudiciales porque los hollejos se endurecen, disminuyendo la extractibilidad de los antocianos.

A su vez que Mori et al. (2006) constataron que aquellos tratamientos que crecieron con altas temperaturas (máxima 35° C) en las 4 semanas después de enero inhiben la acumulación de antocianos en el hollejo de las bayas de uva con respecto de aquellos cuadros que tuvieron temperaturas por debajo de 25° C en cv. de Cabernet Sauvignon.

2.4.1.5 Influencia del deshojado en el desarrollo de *Botrytis sp.*

La epidemiología de *Botrytis cinerea* Pers. Así como la de otros patógenos, exige un conocimiento profundo del microclima circundante en los racimos, el cual puede ser modificado por el sistema de conducción y practicas vitícolas, entre las que aparece el deshojado (Pieri et al., 2001).

Varios autores afirman que el deshojado (principalmente en variedades vigorosas) en cualquier momento fenológico de la vid, limita el desarrollo del hongo, disminuyendo su incidencia, severidad y el empleo de funguicidas destinados al control de dicho hongo, esta acción es explicada por un mayor efecto de los rayos solares directos, una mejor aireación, un descenso de la humedad en la zona de los racimos y una mejor llegada de los productos fitosanitarios. A su vez, los tratamientos en cuajado

presentan los mejores resultados (Bledsoe et al. 1988, English et al. 1990, Howell et al. 1994, Percival et al. 1994, Sipiora 1995, ITV 1998, Bitón 2003).

Pieri et al. (2001) comentan que durante el día en respuesta al grado de iluminación que impone el deshojado, los racimos reciben luz directa, provocando una elevación de la temperatura desfavorable para *Botrytis cinerea* Pers., pero en las horas nocturnas, los racimos deshojados presentan menor temperatura, lo cual los hace más propicios al humedecimiento, induciendo un depósito de rocío sobre las bayas, favorable para el desarrollo del hongo.

El efecto negativo de la radiación solar sobre el desarrollo de *Botrytis cinerea* Pers., se debe al calentamiento de los granos, sabiendo que las temperaturas superiores a los 20° C enlentecen el desarrollo del hongo y a 30° C limitan completamente su crecimiento; en determinadas horas del día, los granos expuestos experimentan un incremento de la temperatura superior a la temperatura media del aire (Bitón, 2003).

2.4.1.6 Influencia del deshojado en el quemado de las bayas por el sol

En varias oportunidades, como consecuencia directa del deshojado se han reportado daños a nivel del racimo por quemado de sol. Willams et al. (1987), encontró para la variedad *Thompson Seedless*, que deshojados muy severos pueden provocar un aumento de la exposición de los racimos al sol, provocando quemaduras en los tejidos; por lo cual la intensidad de dicha práctica debería estar relacionada y adaptada a cada zona vitivinícola, a cada variedad y a los objetivos de la producción.

A la vez Blouin et al. (2000) dicen que si bien el deshojado es muy recomendable generalmente debe practicarse de un solo lado de la fila, el cual debería ser el que reciba la menor exposición a los rayos solares, evitando así el quemado por el sol.

2.4.2 Tratamientos con calcio foliar

2.4.2.1 Función del calcio en la pared celular

- Componentes de la pared celular

Los componentes más importantes de la pared celular y que caracterizan a las bayas de uva son la cutícula y la cera epicuticular cuya función es la de protección de los tejidos de la misma de la desecación, al mismo tiempo que permite el intercambio gaseoso y proveer de una barrera física a la invasión de organismos patógenos (Gay y Pearce, 1984).

El espesor de la cutícula esta relacionado con la resistencia de las bayas a los hongos patógenos (Stockwell y Hanchey, 1984).

La estructura, composición y abundancia de las capas de cera están influenciadas por factores ambientales como la temperatura, humedad relativa y exposición al sol (Martin 1970, Gay y Pearce 1984). Plantas creciendo en condiciones de alta humedad, incrementan la cantidad de cera extractable de la superficie de las hojas (Baker, 1982). El estrés hídrico también puede aumentar el contenido de cera de las hojas.

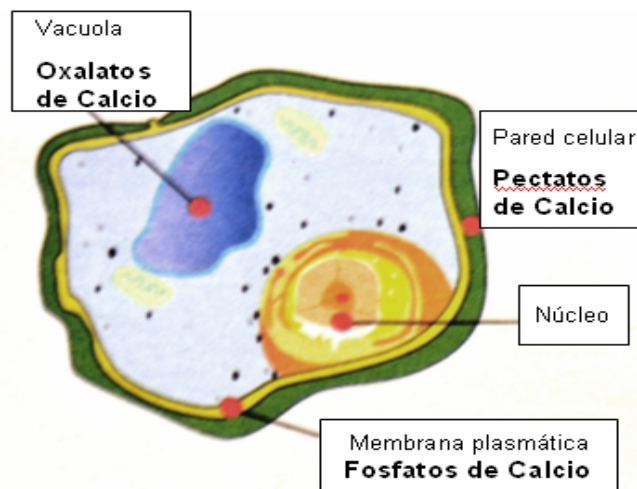
La cutícula y la cera epicuticular de las bayas se desarrollan en distintas capas extracelulares. La cutícula es una capa continua que esta bien desarrollada desde la preantesis del pistilo. La cera epicuticular se desarrolla después de la floración en forma de plaquetas la cual se incrementa en tamaño y número en la medida que el fruto se desarrolla y madura (Rosenquist y Morrison, 1988).

- Relación del calcio en la estructura celular

Los procesos de ablandamiento de los frutos, como es el caso de la manzana, pueden ser atribuidos en mayor medida a la degradación de la pared celular que a la reducción en la presión de la turgencia (Diehl y Hamann, 1979).

El Calcio en las células vegetales se compone de tres fracciones principales: las solubles en ác. acético (Calcio como Pectato y como Fosfato), las solubles en ác. clorhídrico (Oxalato de calcio) y los calcios en forma de Silicatos (Tadesse et al., 1999), como podemos observar en la siguiente figura (1).

Figura 1. Fracciones del Calcio en las células vegetales

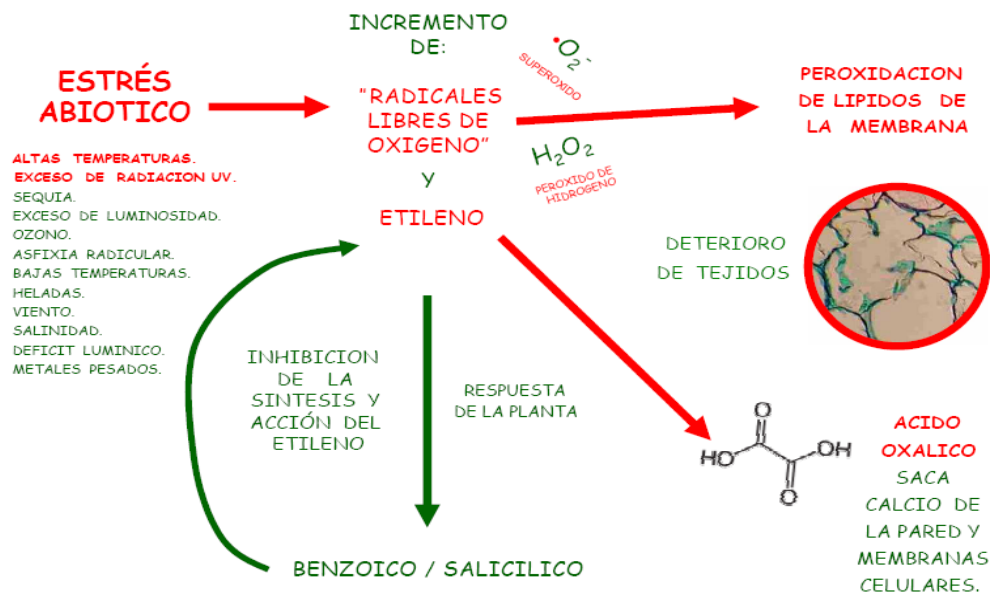


Sin embargo, la única fracción que contribuye realmente a dar estabilidad a los tejidos y por lo tanto a aumentar la firmeza de los frutos, es la fracción de calcio ligada a las pectinas (pectato de Calcio). El Calcio ligado o estructural, es la fracción que establece puentes divalentes con los grupos carboxílicos de las pectinas y con los grupos fosfato de los fosfolípidos de la membrana celular. Las otras fracciones de Calcio, principalmente el Oxalato de Calcio que se acumulan en la vacuola celular, y las otras que se acumulan en el citoplasma, no contribuyen a dar estabilidad a la pared y membrana celular.

Una gran cantidad, del total del calcio contenido en los frutos esta presente en forma de Oxalato, que es una forma de calcio insoluble. La falta de correlación entre los contenidos de calcio total y la firmeza y condición de la fruta se debe al hecho de que la fracción de calcio no ligado presente como Oxalato de Calcio insoluble puede ser alto y/o variable (Moscatello et al., 2003).

El calcio muestra un retraso en el ablandamiento de las manzanas, en virtud de demorar la degradación de los polímeros de la pared celular (Conway et al., 2002).

Esquema 1. Impacto del estrés biótico y el ác. oxálico



Fuente: Mendoza (2010)

El impacto del estrés abiótico: altas y bajas temperaturas, alta radiación UV, heladas, exceso y déficit de luminosidad, ozono, sequía, asfixia radicular, metales pesados, viento y/o salinidad, puede provocar un aumento de los radicales libres y del etileno en los tejidos vegetales. Los radicales libres dañan las membranas celulares al provocar una peroxidación de los lípidos de la misma. Por otro lado, al descomponerse

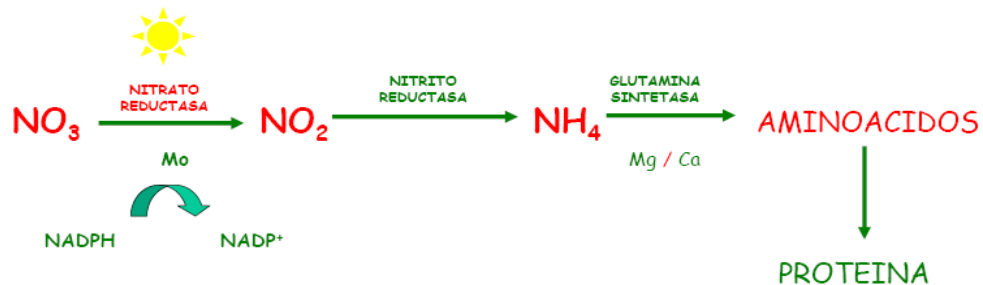
el etileno se genera ácido oxálico el cual “secuestra” al Calcio de las paredes celulares y de las membranas dañadas, lo que genera el inicio del deterioro de los tejidos de la fruta (Mendoza, 2010). Una síntesis de lo anterior se puede ver en el esquema (1) para una mejor comprensión.

Steenkamp et al. (1983) reporta que el bitter pit en manzana tiene una alta concentración de ácido oxálico. La infiltración del ácido oxálico en los tejidos de la manzana resulta en la desaparición o disolución de la laminilla media de la misma manera que aquellos tejidos atacados por el bitter pit.

El aumento de las aplicaciones de nitrógeno, incrementa las proteínas y los ácidos orgánicos, y en algunos casos estos últimos pueden ser tóxicos si se presentan en altas concentraciones a nivel citoplasmático. El ácido oxálico puede llegar a ser tóxico y la célula libera calcio de los pectatos de la pared con el objetivo de neutralizarlos, formándose el oxalato de calcio que precipita en las vacuolas, disminuyendo los problemas a nivel citoplasmático, pero se debilita la pared celular, con la consecuencia del ablandamiento de la fruta y falta de consistencia. Aplicaciones de calcio permitirían disminuir el debilitamiento de la pared celular (Del Solar Dávila et al., 2000).

Otro factor que interviene en el incremento de los contenidos de ácido oxálico, es la baja metabolización del nitrógeno nítrico. Cuando este se acumula, la actividad de la enzima ácido oxálico oxidasa disminuye, produciéndose también una acumulación de ácido oxálico con las consecuencias mencionadas anteriormente. En muchas ocasiones el exceso de vigor de los huertos genera una baja intensidad lumínica en los frutos, lo que disminuye la actividad de la Nitrato reductasa. También, niveles deficientes de Molibdeno y/o Cobre, disminuyen aún más la actividad de la Nitrato reductasa, agudizando el problema (Çaliskan, 2000), como podemos observar en el siguiente esquema (2).

Esquema 2. Ruta metabólica del nitrógeno nítrico



Fuente: Çaliskan (2000)

Además, Perez y Kliewer (1990) evaluando el efecto de la luz en la actividad de la Nitrato reductasa en uva de mesa *Thompson Seedless*, reportaron que a medida que la radiación total va aumentando, la actividad de la Nitrato reductasa aumenta mientras que la concentración de los nitratos baja.

Trabajos realizados en limón por Undurraga et al. (2002) encuentran, que en aquellos limones con síntomas de peteca tienen 33.6 gr./100 gr. materia seca de Oxalato de Calcio, mientras que en los limones sanos se registran valores más bajos con 16.2 gr./100 gr. materia seca. A su vez Bonomelli et al. (2010), registraron una mayor cantidad de rafidios (cristales de Oxalato de Calcio muy largos, finos y afilados que se presentan agrupados y en gran número, formando un haz dentro de la célula) en aquellas bayas que recibieron aplicaciones foliares de ClCa_2 con respecto a las bayas que no recibieron dichas aplicaciones.

Aplicaciones exógenas de calcio tienen un marcado crecimiento en el contenido de calcio en la pulpa y afecta algunos cambios asociados con la maduración y la senescencia (Scott y Wills 1975, Wills y Tirmazzi 1977). Infiltraciones en vacío de frutos de manzanos con cloruro de calcio retrasan el ablandamiento y otros cambios relacionados con la senescencia (Poovaiah, 1986).

La interacción del calcio con la pared celular es más compleja de lo que se creía antiguamente. Estudios del rol del calcio en la hormona inductora de la elongación celular (Clelan y Rayle, 1977) y el ablandamiento de la fruta (Buescher et al., 1982), Bradfield y Guttridge (1984), sugieren el rol crucial del calcio en la estructura y funcionamiento de la pared celular. Se conoce hace mucho tiempo que el calcio confiere rigidez a la pared celular (Dey y Brinson, 1984). Rossignol et al., citados por Cabrera (2004), estimaron que por lo menos el 60 % del calcio total en las plantas estaría asociado a la fracción de la pared celular.

También deficiencias de Boro pueden repercutir en la acumulación de calcio en los frutos, según trabajos realizados por Wójcik et al. (1999). Basados en los resultados obtenidos en cultivos celulares de *Chenopodium* (Fleischer et al. 1998, Fleischer 2000), muestran que los efectos deletéreos de la deficiencia de Boro probablemente estén relacionados al disturbio de uno o varios procesos durante la formación de las paredes celulares secundarias. En cultivos celulares, el daño causado por la deficiencia de B puede ser explicado únicamente por la pérdida de la estabilidad de la pared celular y subsiguiente rotura de la pared celular (Fleischer 2000), también Goldbach et al. (2001) reportaron un efecto físico en la pared celular con un transitorio descenso en la elasticidad de la misma, y su posterior endurecimiento de la pared celular cuando se le suministra B.

Una interacción entre el B y Ca^{++} ha sido reportada por varios autores (Yamanouchi 1973, Clarkson y Hanson 1980, Yamauchi et al. 1986, Teasdale y Richards 1990).

Wimmer y Goldbach (1999) detectaron una liberación a corto plazo de calcio de la pared celular en segmentos de raíces apicales cuando el B fue alterado en la solución de equilibrio (relación molar aproximado de 1:3, B/ Ca^{++}).

Además, un efecto en la pared celular, los enlaces de calcio con la pared celular y los enlaces de membrana con el calcio pueden ser involucrados en reacciones de deficiencia temprana también (Mühling et al., 1998). Aquí, una deficiencia de B lleva a un incremento del calcio libre apoplástico, mientras que una re-adición de B lo disminuye, aunque éste fue menos pronunciado (Mühling et al., 1998).

A su vez, Saure (2005) reporta que altos niveles de giberelinas durante el período de gran crecimiento del fruto son responsables de la disminución de la traslocación de Ca^{++} por los frutos.

Según Etchebarne et al. (2009), el contenido de calcio en el pericarpio aumenta hasta el envero, luego disminuye durante la maduración.

En envero, la ruptura de los vasos xilémicos ocurre en el pericarpio y esto es probablemente responsable de la parada de la acumulación de Calcio en el pericarpio (Düring et al., 1987).

Entre envero y la maduración, la concentración de Calcio disminuye significativamente (alrededor del 35 %). Este descenso ocurre debido a que la tasa de acumulación en post-envero no excede la tasa de acumulación en pre-envero (Etchebarne et al., 2009).

El calcio ha mostrado servir como un agente de ligamiento intermolecular que estabiliza los complejos pectina-proteína en la laminilla media (Dey y Brinson, 1984).

2.4.2.2 Efecto del calcio en hongos patógenos

- Efecto sobre enzimas degradadoras

Existen evidencias que muestran que el calcio puede reducir la degradación de la pared celular causadas por hidrolasas; Buscher y Hundson (1984), Cabrera (2004), observaron que las celulasas de origen microbiano inducen el ablandamiento de cucurbitáceas en conserva, siendo este proceso inhibido por el calcio.

Conway y Sams (1987) estudiaron el efecto del calcio sobre el crecimiento de hongos en manzanas y demostraron que la infección del hongo en el tejido del fruto involucra la secreción de enzimas degradadoras de la cutina y de la pared celular, incluyendo las poligalacturonasas.

Movahedi y Heale (1990), estudiando la forma de actuar del hongo *Botrytis cinerea* y la relación con la nutrición con calcio en las plantas y frutos de tomates, observaron que el hongo hidroliza los grupos metil carboxílicos de las pectinas de la pared celular con la pectin etil esterasa, y que con la presencia de suficiente cantidad de calcio, esos grupos carboxílicos son inmediatamente quelatizados, reduciendo la actividad de la poligalacturonasa del hongo reducida por dicha quelatización.

Probablemente el calcio también inhibe directamente la síntesis o la actividad poligalacturonasa del hongo y limita la descomposición de la fruta (Chardonnet et al., 1997).

Las diferencias en la susceptibilidad a la inhibición por calcio de diferentes cepas de *Botrytis*, así como la diferencia en la actividad de las poligalacturonasas indican que estas cepas producen poligalacturonasas las cuales fueron diferentes en su composición en isoenzimas. A pesar de esa variación, el calcio reduce el potencial del hongo de infectar al huésped limitando el crecimiento del mismo, inhibiendo la actividad de la poligalacturonasa y disminuyendo la susceptibilidad del tejido de la planta a la degradación causada por botrytis cinerea (Chardonnet et al., 2000).

- Efecto según momento de aplicación

Ippolito et al. (1997) evaluando el efecto del cloruro de calcio aplicado en tres concentraciones (0,5, 1 y 2 %), 10 a 20 días antes de la cosecha, sobre el cultivar "Italia", encontró que la incidencia de diversas podredumbres era menor que cuando no se aplicaba este tratamiento. En el mismo ensayo se encontró que el calcio no había penetrado a la baya, sino que se encontraba en la piel de la misma. Teniendo esto en cuenta los autores concluyen que el desarrollo de las podredumbres se vio afectada por la acción directa del ion calcio sobre el desarrollo de los patógenos, asociándolo a la acción inhibitoria que posee el calcio sobre la poligalacturonasa de *Botrytis cinerea*, y que como consecuencia dificulta la degradación de las sustancias pépticas de la pared celular. No se descarta la eventual modificación de la microflora epifítica presente en la baya a favor de los microorganismos antagónicos de *Botrytis cinerea*.

Los mismos autores en un segundo ensayo realizado sobre la misma variedad, con las mismas concentraciones de calcio, pero aplicadas en una etapa fenológica anterior y en cuatro oportunidades, observaron también una reducción en la incidencia de podredumbres post-cosecha, pero a diferencia del anterior ensayo, se incrementó el

contenido de calcio en el tejido de la baya. Por este motivo los autores postulan como principal hipótesis que la reducción en la incidencia de las podredumbres se debe en esta caso a la resistencia que adquiere el tejido de la baya y que puede ser explicado por el rol que juega el calcio en la estabilización de la pared celular, acumulándose en la laminilla media y formándose enlaces iónicos intra e intermoleculares con la pectina, confiriendo una mayor rigidez y estabilidad a la pared celular, brindándole mayor resistencia a la hidrólisis enzimática provocada por los patógenos.

- Comportamiento frente al control biológico

Desde cierto tiempo se ha introducido el control biológico como una forma alternativa para limitar la infección por parte de *Botrytis cinerea*. Se ha probado que el calcio incrementa la eficacia de los controles biológicos, presumiblemente por tener efectos directos sobre la germinación de las esporas y sobre el metabolismo de los patógenos, e indirectamente por no alterar el normal metabolismo del agente de biocontrol cuando el calcio esta presente en altas concentraciones (Chardonnet et al., 2000).

Se ha llevado a cabo investigaciones sobre el efecto conjunto de sales de Ca, principalmente CaCl_2 , y agentes de biocontrol sobre diversos patógenos actuando sobre diversos frutos (Mc Laughlin et al. 1990, Droby et al. 1997). Se observó que el CaCl_2 afectaba la infección de los patógenos a diferentes frutos y mejoraba la actividad de los hongos antagonistas en el biocontrol. Sin embargo análisis factoriales indicaban que no había interacción entre el hongo antagonista y el CaCl_2 . El efecto beneficioso de combinar el calcio con agentes de biocontrol puede ser el resultado de varias interacciones diferentes que tienen lugar entre los iones del calcio y el huésped, el patógeno, o el hongo antagonista, esto se debería a efectos aditivos que cada agente posee más que a efectos sinérgicos (Droby et al., 1997).

La resistencia de *Botrytis spp.* se ha evidenciado ya desde hace mucho tiempo tanto para funguicidas orgánicos como inorgánicos (Parry et al., 1958). El calcio no es un funguicida y no se ha demostrado generación de resistencia por el uso de altas concentraciones del mismo.

2.5 METABOLISMO DEL CALCIO

2.5.1 Vía del fenilpropanoide

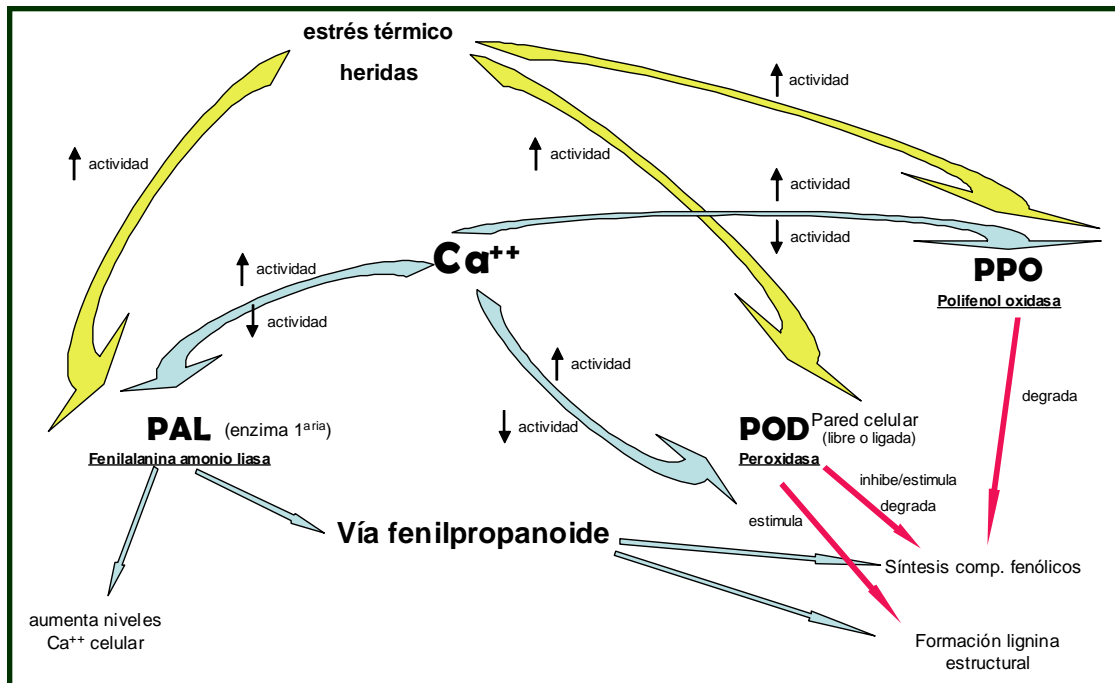
Varios trabajos muestran que el calcio estimula o incrementa la actividad de la enzima PAL (fenilalanina amonio liasa), que actúa como enzima primaria o de entrada de la vía del fenilpropanoide (Fry 2004, Passardi et al. 2004, Teixeira et al. 2006), la cual es una de las más importantes vías metabólicas para la síntesis de los compuestos fenólicos y de la lignina estructural, pero a su vez el calcio actúa sobre las peroxidases (POD) en las forma libre o ligada a la pared y la polifenol oxidasa (PPO). El rol del POD es la catálisis de la mayor parte de la reacción peroxidativa, ya que la forma libre o ligada a la pared es responsable de la polimerización oxidativa de los monolignoles durante la lignificación de la pared celular a partir de compuestos fenólicos (Fry 2004, Passardi et al. 2004, Ros Barceló et al. 2004, Vitch 2004), a la vez que otros autores reportan que los fenoles son degradados a quinonas por la POD y principalmente por la PPO (Söderhäll 1995, Thyphyapong et al. 1995). Diversos trabajos muestran resultados controversiales en los efectos del calcio en cuanto a la interacción que se da entre el PAL y las enzimas POD y PPO, mostrando efectos sinérgicos, antagónicos o neutros cuando se aplica calcio o se incrementa a la dosis de calcio, evaluados en lechuga, tabaco, soja y citrus (Söderhäll 1995, Kawai et al. 1995, Castañeda y Perez 1996, Tomás-Barberán et al. 1997, Penel et al. 1999, Ruiz et al. 2003, Teixeira et al. 2006).

También se muestran resultados de trabajos contradictorios en los efectos del calcio entre las actividades PAL y POD con la acumulación de compuestos fenólicos, evaluados en lechuga, tabaco, soja y limón (Ke y Saltveit 1986, Kawai et al. 1995, Castañeda y Perez 1996, Tomás-Barberán et al. 1997, Ruiz et al. 2003, Kolupaev et al. 2005).

A su vez, varios estudios muestran que las actividades POD y PPO aumentan en respuesta a estreses bióticos (heridas) y abióticos (estrés térmico) (Kwak et al. 1996, Ruiz et al. 1998).

Podemos observar en el siguiente esquema (3) para poder integrar las interacciones y sus implicancias.

Esquema 3. Vía del Fenilpropanoide.



Mientras que otros autores asocian o relacionan el metabolismo de los fenoles con las heridas, plagas, resistencia a enfermedades, resistencia al estrés térmico y cambios nutricionales de nutrientes como el calcio (Castañeda y Perez 1996, Penel et al. 1999).

2.5.2. Ciclo metabólico e interacciones del Ca⁺⁺

Por otro lado, se puede encontrar otro mecanismo metabólico, en la cual se complementa con la descrita anteriormente, en donde se determina un importante rol de la sistemina, que actúa como un péptido señalizador de heridas, la cual provoca una entrada de Ca⁺⁺ extracelular a través de varios tipos de canales permeables de Ca⁺⁺ y de una movilización de las reservas internas de Ca⁺⁺ (Moyen et al., 1998).

Sin embargo, el trabajo realizado por Dombrowski y Bergey (2007), describe claramente que la presencia de los cationes bivalentes de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺, tienen un efecto muy significativo en la actividad biológica de la sistemina; además demostraron que concentraciones elevadas de iones calcio y magnesio en el apoplasto incrementan significativamente la actividad de la sistemina.

Hay que resaltar, cuando la célula está en estado de reposo, los niveles de Ca⁺⁺ son altos en el apoplasto, mitocondria, vacuola, cloroplasto y RE (1 mM) y bajos en el citosol (0,0001 mM), que es unas diez mil veces menos que en el medio externo, necesaria para el normal funcionamiento celular. Se sabe que las variaciones en la

concentración intracelular del Ca^{++} se producen como respuesta a diversos estímulos. En respuesta a varios estímulos, el ión Ca^{++} , que es regulada por un grupo de proteínas transportadoras de Ca^{++} que mantienen la homeostasis celular (Kretsinger, 1990), ingresa al citosol vía el canal de las proteínas y bombeada hacia atrás hacia los organelos y al apoplasto vía las bombas ATPasas de Ca^{++} (Sanders et al. 1999, Scrase-Field et al. 2003).

Los canales permeables de Ca^{++} pueden ser activados por la despolarización de la membrana (Sudha y Ravishankar, 2003b). También los extractores fúngicos pueden realizar una rápida despolarización de la membrana resultando en un incremento en la actividad de los canales de Ca^{++} (Kuchitsu et al., 1993).

Durante la transducción de la señal, se presume que las ATPasas de Ca^{++} tienen la función primaria de restaurar o mantener el Ca^{++} citoplasmático a los valores que tenía antes del estímulo (Wang et al. 1991, Sudha y Ravishankar 2003a).

Dada la variedad de procesos metabólicos regulados por el Ca^{++} , un aumento de la concentración de Ca^{++} en el citoplasma puede provocar un funcionamiento anormal de los mismos. Si el aumento de la concentración de Ca^{++} en la fase acuosa del citoplasma se aproxima a un décimo de la del medio externo, el trastorno metabólico producido conduce a la muerte celular.

Las proteínas ligadas al Ca^{++} , tales como la calmodulina o las proteínas quinasas dependientes del calcio, actúan como buffer de los niveles intracelulares de Ca^{++} o interpreta las oscilaciones de los niveles de Ca^{++} libre en respuesta a señales específicas a nivel celular (Sheen 1996, Yang et al. 2003).

Los ROS (reactive oxygen species), el radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^\cdot), son considerados estructuras químicas de señalización para estreses de daños (Hancock et al. 2001, Razem y Bernards 2003), y los daños por heridas es conocido por incrementar la respiración (Surjadinata y Cisneros-Zevallos, 2003). Estudios previos han mostrado que dichos incrementos de la respiración pueden incrementar la presencia de ROS (Mittler 2002, Blokhina et al. 2003, Apel y Hirt 2004, Brookes 2005, Murphy y DeCoursey 2006), así cuando hormonas tales como el etileno son aplicados habría un amplio incremento en la respiración (Kahl y Laties 1989, Saltveit 1999) y la posibilidad de un gran incremento de ROS amplificando la respuesta. Alternativamente, la amplificación de la respuesta podría ser conseguido a través del bucle de feedback positivo del ROS por incrementar además la actividad del NADPH oxidasa y produciendo más ROS (Mittler et al. 2004, Brandes 2005, Afanas'ev 2006).

Estas formas incompletas de especies de oxígeno reducidas son tóxicas para varios componentes celulares que consumen oxígeno tales como en los procesos redox, la actividad fotosintética o el transporte de electrones respiratorio. Estos ROS tóxicos causan daños al ADN, proteínas, lípidos, clorofila y muchos otros componentes orgánicos de la célula (Fridovich 1986, Imlay et al. 1988, Agarwal et al. 2005).

Los sistemas de protección celulares y subcelulares de las plantas se activan, a partir de los efectos citotóxicos de dichos ROS con la ayuda de enzimas antioxidantes y metabolitos. Aunque los ROS son moléculas citotóxicas peligrosas, ellos también actúan como moléculas intermediarias de señalización que regulan la expresión de los genes asociados con los mecanismos de defensa de los antioxidantes (Vranova et al. 2002, Neill et al. 2002). Hay informes que sugieren que estas hormonas están localizadas junto al flujo de los ROS, así bien como los ROS actúan ellos mismos como segundo mensajero en muchas vías de señalización de hormonas (Chen et al. 1993, Orozco-Cardenas et al. 2001).

Por otro lado Chen y Li (2001), han reportado que el Ca^{++} induce a una generación marcada de ROS, mientras que Agarwal et al. (2005), sugieren que el tratamiento con Ca^{++} , causa solamente un incremento transitorio de ROS (H_2O_2), y este tuvo un rol en la inducción en la actividad enzima antioxidante llevando a un descenso en el ROS y la peroxidación de lípidos a largo plazo. Además, sugieren que si hay suficiente Ca^{++} en el tejido, la magnitud de la señal y consecuentemente la inducción enzimática es muy pronunciada, cuyos resultados muestran que el NADPH oxidasa podría ser la fuente de esta señal redox.

El rol de la NADPH oxidasa es la señalización redox y consecuentemente en la regulación de la actividad de las enzimas antioxidantes (Agarwal et al., 2005).

El incremento del H_2O_2 en respuesta al tratamiento con Ca^{++} es involucrado en la inducción o incremento de la actividad de varios factores de transcripción, en la cual están asociados con la inducción de varias enzimas antioxidantes (Agarwal et al., 2005). Bowlwer y Flhur (2000), reportaron que el H_2O_2 producido en respuesta a una variedad de actos estimulantes como la molécula señal/segundo mensajero y contribuye al fenómeno de tolerancia cruzada (Jiang y Zhang, 2002).

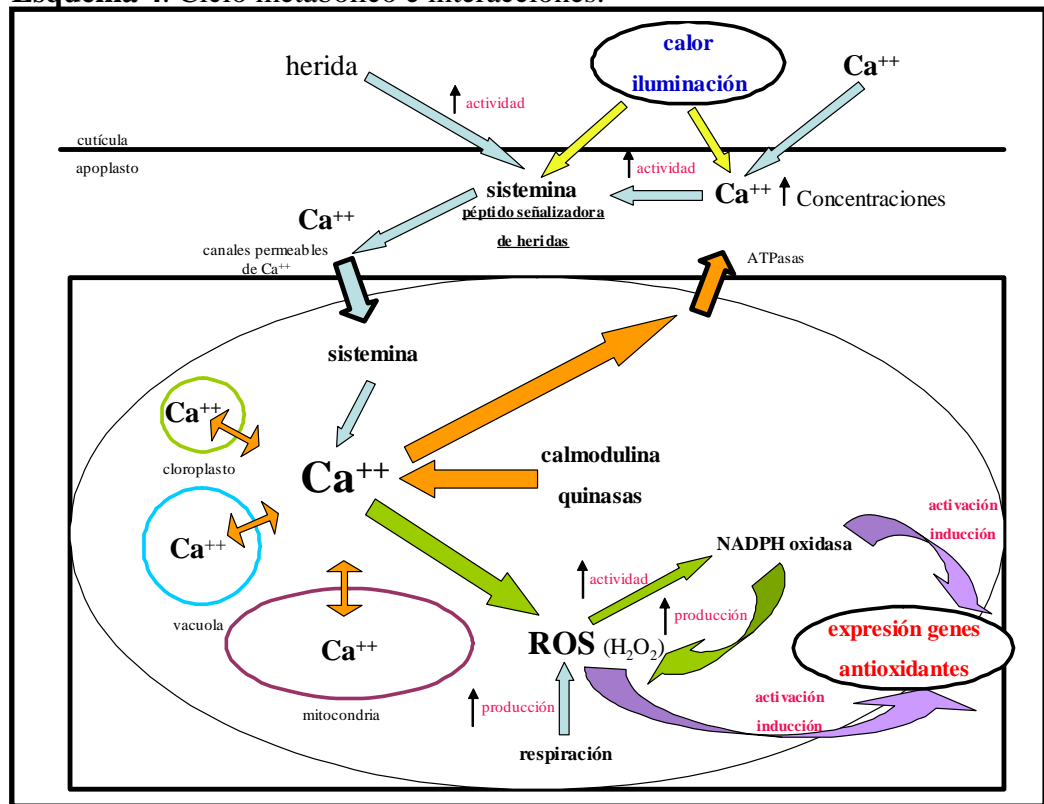
Sagi y Fluhr (2001), han reportado un incremento de la actividad de la NADPH oxidasa por el tratamiento de Ca^{++} , resultando en un nivel mas alto de $\text{O}_2^-/\text{H}_2\text{O}_2$, confirmando lo reportado por Agarwal et al. (2005), que sus datos muestran una relación directa entre $\text{O}_2^-/\text{H}_2\text{O}_2$, generando la enzima NADPH oxidasa y la activación/inducción de la enzima antioxidante.

A su vez, Wang et al. (2004), reportan que han encontrado que los estreses del frío y calor han mostrado que causan una elevación transitoria de los niveles del Ca^{++} libre citosolico y algunos mecanismos de adaptación cruzada de las plantas a los estreses de frío y calor, incluyendo el cambio del sistema de protección de la membrana. En años recientes, se ha encontrado que varios estreses ambientales también pueden causar estrés oxidativos (Foyer et al. 1994, Smirnoff 1995). La mejora a la tolerancia al estrés esta relacionada a menudo en el incremento de las actividades de los sistemas antioxidantes de la planta (Foyer et al., 1994). Por otro lado en el estrés oxidativo, el sistema antioxidante en las plantas han sido mostrados que tienen alguna relación con el Ca^{++} y la calmodulina Wang et al. (2004).

En el estudio realizado por Wang et al. (2004), muestran que estreses de frío o calor disminuyen la cantidad de antioxidantes y aumentan significativamente la peroxidación de lípidos en las plantas de uva, indicando que el estrés al calor o frío inducen el estrés oxidativo, pero indican que el Ca^{++} citosolico aumenta la tolerancia al frío o calor y es asociada con el aumento de la actividad del sistema antioxidante. También reportan por un lado, la aclimatación cálida (o fría) aumenta el Ca^{++} en el citoplasma para usarse para la integridad de la membrana bajo estrés de calor (o frío); y por otro lado, el incremento de Ca^{++} en el citoplasma induce la expresión de los genes para la codificación del GSH (Glutation) y el AsA (ác. Ascórbico), resultando en un aumento de los mismos.

En el siguiente esquema (4) podemos observar dichas interacciones y sus implicancias.

Esquema 4. Ciclo metabólico e interacciones.



La elevación del Ca⁺⁺ citosólico en respuesta a las señales podría ser debido al influjo del Ca⁺⁺ desde los espacios intercelulares y/o del Ca⁺⁺ remanente desde las reservas intracelulares, tales como las vacuolas, cloroplastos, mitocondrias, RE, empezando a identificar y relacionar la contribución del Ca⁺⁺ intercelular y de los organelos al Ca⁺⁺ citosólico en respuesta a varias señales (Wang et al., 2004).

Un gran número de evidencias muestran que las concentraciones de Ca⁺⁺ citosólico pueden ser inducidas a cambiar por condiciones ambientales y moléculas hormonas de señal. Aquel incluye sequía (Wang et al., 2002), iluminación (Shacklock et al., 1992), bajas temperaturas (Liu et al., 2001), sal (Wang et al., 2004), calor (Yan y Wang, 2003), giberelinas (Jones y Bush, 1991), y ABA (McAinsh et al. 1996, Wood et al. 2000, Ma et al. 2007).

La distribución y translocación del Ca⁺⁺ libre citosólico sirve como una base para la formación de señales de Ca⁺⁺ (Guo et al., 2008). También dichos autores citan, que las señales pueden ser creadas directamente desde las reservas de Ca⁺⁺ fuera de las células y liberarse desde las reservas de Ca⁺⁺ celular, o estos pueden también ser producidos conjuntamente con el Ca⁺⁺ de ambos tipos de reserva (Sanders et al., 1999).

2.5.3 El rol del AIA

Shishova y Lindberg (2004) trabajando con la auxina sintética 1-NNA (ác. 1-naftalenoacético) en trigo, reportan, que el AIA activa los canales calcio en las membranas favoreciendo un rápido incremento del Ca^{++} en el citosol y que la amplitud de dicho incremento depende de la concentración de 1-NNA.

Por otro lado, el AIA debido a su movimiento descendiente (basípeto) promueve el movimiento ascendente (acrópeto) del Calcio, lo que permite la entrada y acumulación del Calcio en los frutos en sus primeras etapas de crecimiento (Tomala y Dilley 1989, Bangerth 2006).

El calcio se transloca desde las raíces hacia las hojas y frutos por los haces vasculares xilemáticos en la medida que la planta crece y transpira. Por esta razón, cuando el sistema vascular no se encuentra bien lignificado y, colapsa, o cuando la planta sufre algún estrés hídrico importante durante el crecimiento, los frutos generalmente presentan desórdenes fisiológicos importantes relacionados al Calcio. El ácido Indol Acético (AIA), es una auxina endógena que entre otras cosas promueve el desarrollo y lignificación de los haces vasculares xilemáticos por donde se transloca el Calcio en las plantas y los frutos (Alleweldt y Hifny, 1972).

El transporte basípeto del AIA desde los tejidos en crecimiento esta relacionado al transporte acrópeto del calcio (Bañuelos et al. 1987, 1988, Guzman y De la Fuente 1984). Tang y De la Fuente (1986a, 1986b) mostraron, que la traslocación basípeto del AIA en hipocótilos de girasol es muy baja bajo condiciones deficiencia de B (Pissarek, 1980), la inhibición de la traslocación del AIA probablemente es afectada por otros mecanismos. Recientemente, Li et al. (2001) reporto una significativa reducción en la traslocación del AIA por deficiencia de B.

Además el efecto estructural del complejo Borato-RG II, las auxinas fueron afectadas por la deficiencia de B. Tang y De la Fuente (1986a, 1986b) observaron efectos sinérgicos del B y Ca^{++} en el transporte polar del AIA.

Se requiere un adecuado nivel de Zinc, para la transformación del Triptofano en AIA (Cakmak y Marschner, 1988), también, adecuados niveles de Zinc inhiben la degradación oxidativa del AIA (Li et al., 2001).

2.5.4 Interacción del Ca^{++} y los estreses con el etileno

Watanabe y Sakai (1998), Hudgins et al. (2006), sostienen que el etileno producido por daños mecánicos en plantas superiores es referido como “estrés del etileno” y sostienen que el rol para el etileno como un mediador de la señal de daño, induciendo la expresión de defensa. El etileno es generado a partir del ácido 1-

aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), el cual es sintetizada por la enzima ACC sintasa (ACS); el ACC es subsecuentemente convertido al etileno por la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilasa oxidasa (ACO) (Dong et al. 1992, Hudgins et al. 2006).

Varios trabajos en Angiospermas han mostrado que, varios tipos de estreses bióticos y abióticos son diferencialmente regulados por el ACS y el ACO (Kende 1993, Bleecker y Kende 2000) y ambas enzimas potencialmente controlan y regulan la producción de etileno; a la vez la expresión del ACO que es localizado en el citoplasma de las células, responsable para la inducción de las defensas, es inducida en respuesta a varias formas de estreses bióticos y abióticos y es diferencialmente expresada durante el desarrollo de la planta (Kende 1993, Kim y Yang 1994, Kim et al. 1998, Bleecker y Kende 2000, Hudgins et al. 2006). Además se encontró que el ACO fue encontrada en bajos niveles en plantas no dañadas (Hudgins et al., 2006).

A su vez, Deng et al. (2005), reportaron que la enzima ACO utiliza como co-sustrato el O₂ y/o CO₂, aumentando la producción de etileno. También se pudo determinar que la producción de etileno en plantas frecuentemente aumenta luego de un estrés o daño por heridas, a partir de una variedad de recursos (Abeles, 1983). Lau y Yang (1975), detectaron un incremento sinérgico en la producción de etileno en segmentos de hipocótilos de porotos *mung* cuando fueron aplicado Ca⁺⁺, a su vez, Sudha y Ravishankar (2003b), en cultivos de zanahoria, tratadas con altas concentraciones de calcio contienen altos niveles comparados con los valores del testigo.

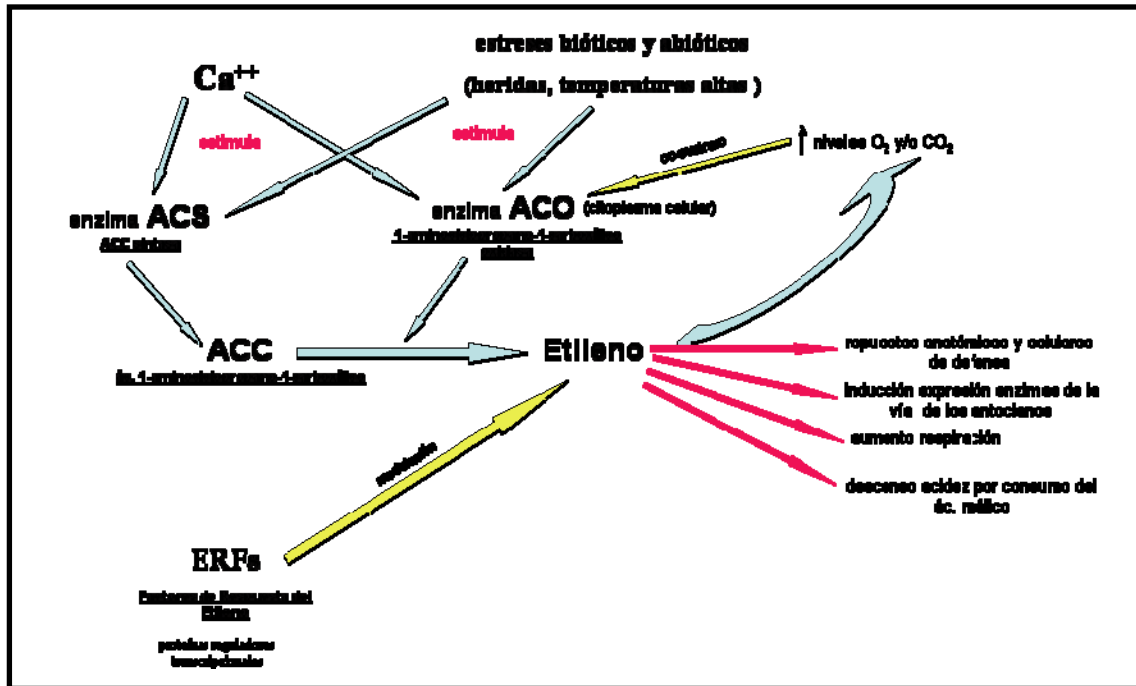
Los resultados evaluados por Sudha y Ravishankar (2003b), demuestran la importancia del calcio en la producción de los niveles de antocianos, presumiblemente a través de un aumento en la producción de etileno, por lo cual sugieren que el calcio juega un rol importante en la producción de antocianos.

Mientras que otros autores han mostrado que el etileno ha mostrado tener efectos promotores o inhibitorios en la biosíntesis de antocianos en las plantas (Craker et al. 1971, Craker y Wetherbee 1973). Por otro lado, Robinson et al. (2000), El-Kereamy et al. (2003), destacan que la expresión de varias enzimas de la vía de los antocianos puede ser inducida por las señales del etileno.

Bapat et al. (2010), destacan que los factores de respuesta del etileno (ERFs), que son proteínas reguladoras transcripcionales, juegan un importante papel en la modulación del etileno induciendo la maduración del fruto; la iniciación y progresión de la maduración es un fenómeno altamente complejo y dependiente en varios factores tales como categoría y tipo de fruto, regulación ambiental y otras hormonas al lado del etileno, factores externos incluyendo la luz, temperatura, estreses bióticos y abióticos.

Podemos observar en el siguiente esquema (5) para poder integrar las interacciones y sus implicancias.

Esquema 5. Interacción del Ca^{++} y los estreses con el etileno.



2.5.5 Actividad de las peroxidasa

Como expresa Sacchi et al. (2005), en que la limitante para la liberación de los antocianos es una barrera física, como consecuencia de su acumulación en las vacuolas de las células hipodérmicas. De esta forma los componentes tienen que atravesar la vacuola y la pared celular para poder extraerlos. De tal forma, para liberar los componentes internos es importante que estas membranas estén degradadas, que solo colapsadas, ya que la estructura resultante de una membrana colapsada puede atrapar componentes en su interior.

Además, si tenemos en cuenta del reporte de Mc Laughlin y Wimmer (1999), en el que el Ca^{++} mediado por la actividad POD, es involucrada en la síntesis de lignina para la conversión de gel hidrofílico, compresión de la lignina y la hemicelulosa y finalmente liberar el Ca^{++} .

Como los enlaces de la peroxidasa ligada a la pared es responsable de una formación irreversible de los enlaces cruzados con los fenoles entre los polisacáridos

estructurales y proteínas, en la cual lleva de la mano la pérdida de la extensibilidad de la pared y el incremento de la dureza de la pared. (Lamport 1980, Li 1991).

También Calderón et al. (1993), reporta dramáticos incrementos de la actividad de la peroxidasa en los enlaces de la pared cuando la baya madura. La enzima fue encontrada principalmente en las paredes de las cuatro capas celulares más superficiales incluyendo las células epidérmicas y subepidérmicas.

Tal modificación de las células de la pared resulta en la pérdida o degradación activa de los polisacáridos estructurales, la cual es también acompañada por una acidificación del apoplasto y pérdida de los enlaces pectina-calcio (Huang et al., 2005).

La interrupción de las paredes celulares y el colapso de los tejidos, son un síntoma clásico de la ausencia de un suplemento exógeno de Ca^{++} (o de una extremadamente baja concentración). Las paredes celulares son conocidas de hacerse lignificadas cuando la expansión celular disminuye y cuando la célula esta bajo estrés (Christensen et al. 1998, Teixeira et al. 2006).

2.5.6 Movilidad en el xilema y floema

- El Ca^{++} es considerado por tener baja movilidad en el floema (Welch, 1986), y por eso es muy apto para entrar a la baya a través del xilema, ya que se mueve pasivamente dentro del mismo por medio del flujo de transpiración (Creasy et al., 1993).

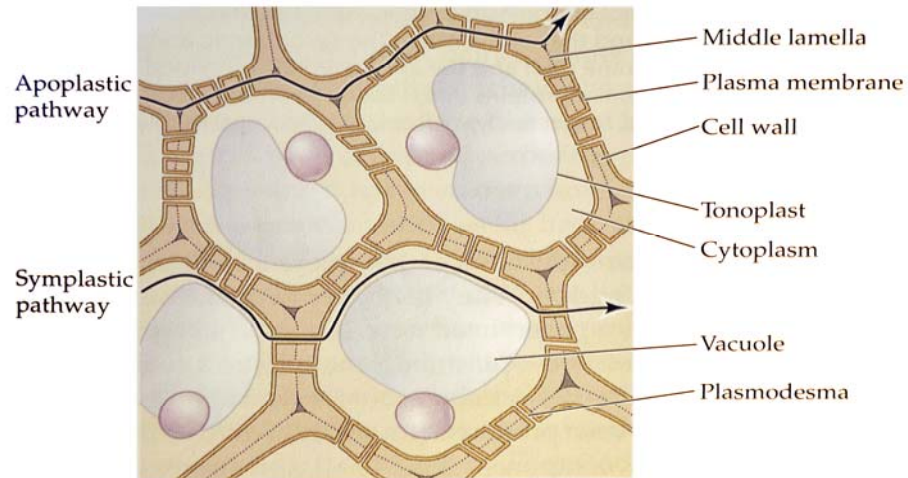
Su importación a la fruta es casi exclusivamente a través del xilema (Raven, 1977), mientras que el K^+ tiene movilidad en el xilema y floema (Welch, 1986), a la vez, el Ca^{++} también se transporta por el apoplasto (Rogiers et al., 2006b).

- Luego del envero el Ca^{++} estructural se solubiliza debido a que el pH de la pared celular baja y puede escapar de la fruta a través del xilema o por medio del apoplasto (Rogiers et al., 2006b).

Realmente, mientras la acumulación de Ca^{++} cesa al inicio de la maduración en la pulpa y semillas, esta persiste en el hollejo. Al mismo tiempo el Ca^{++} es probablemente traslocado a las células del hollejo durante la maduración por la migración apoplastica y/o simplastica o por una parcial funcionalidad del xilema después del envero (Etchebarne et al., 2009).

Para comprender mejor los conceptos de apoplasto y simplasto, se puede observar la siguiente figura (2).

Figura 2. Apoplasto y Simplasto



Fuente: Esau (1977)

- Debido al rápido crecimiento celular que se da en la fase III, se produce la disfunción en el xilema, ya que se estiran y rompen las traqueidas generando aberturas (Düring et al. 1987, Findlay et al. 1987) que son ocupadas por células parenquimáticas (Creasy et al. 1993, Drazeta et al. 2004), mientras que el floema permanece funcional (Findlay et al., 1987).

Esto se explica, por que las células de conducción del xilema son lignificadas, otorgando un buen soporte mecánico, pero tienen una baja elasticidad (Düring et al., 1987), mientras que el floema no tiene este problema debido a que su tejido está compuesto por elementos de conducción vivos (Esau, 1977), con lo cual pueden realizar conexiones a través de las células parenquimáticas realizando bypasses a través de los elementos rotos o realizando conexiones con el simplasto de las células parenquimáticas (Aloni y Barnett 1996, Drazeta et al. 2004), manteniendo el flujo del floema en el fruto.

Además, el cese del influjo del xilema en la baya de uva puede no ser completo (Greenspan et al. 1994, Rogiers et al. 2001). A su vez, el xilema y floema están interconectados a lo largo de su estructura celular y fácilmente pueden intercambiar agua y solutos (Esau 1977, Zwieniecki et al. 2004).

Aún cuando las traqueidas del fruto estuvieran verdaderamente rotos, la pared celular y el espacio intercelular (apoplasto del fruto) puede ser continuo con el resto de la planta (Keller et al., 2006).

El complejo mecanismo de la discontinuidad del xilema, posiblemente involucre la ruptura de la compartimentalización (perdida de la integridad de la membrana celular) dentro de la baya (Lang y Düring, 1991), a la vez, Lang y Thorpe (1989), Lang y Düring (1991), muestran que se da una ruptura gradual en la compartimentalización simplasto-apoplasto durante el proceso de maduración de las bayas de uva.

Creasy et al. (1993), cita que varios autores asocian que la ocurrencia de la discontinuidad del xilema con la acumulación de azúcar y el incremento de la actividad del floema.

- El contenido de Ca^{++} En el pericarpio aumenta hasta envero, luego desciende durante la maduración (Cabanne y Donèche, 2003), mientras que otros estudios muestran que el Ca^{++} es acumulado a lo largo de su desarrollo (Schaller et al. 1992, Ollat y Gaudillère 1996, Rogiers et al. 2000, Cabanne y Donèche 2003).

En bayas *Grenache noir*, tuvieron la más pequeña disminución para el Ca^{++} . Este fue acumulado en las semillas de la baya antes del envero, no durante la maduración (Etchebarne et al., 2009). Sin embargo, Cabanne y Donèche (2003), Rogiers et al. (2006a) reportaron que el contenido de Ca^{++} en las semillas aumentaron durante la maduración en otras variedades (*Cabernet Sauvignon*, *Semillon*, *Merlot* y *Syrah*).

En envero la ruptura de los vasos xilemáticos ocurre en el pericarpio y esto es probablemente el responsable por el alto en la acumulación en dicho compartimiento (Düring et al., 1987).

De acuerdo con Welch (1986), en legumbres y granos, muchos de los nutrientes son enviados a las semillas por el floema porque la discontinuidad ocurre entre los vasos xilemáticos y las semillas.

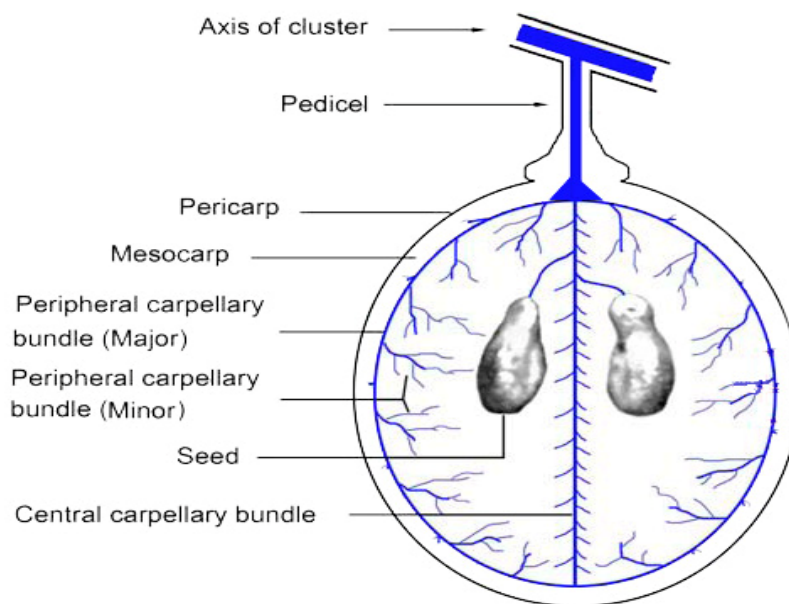
Durante la fase post-envero, sin embargo, los trazadores xilemáticos fueron limitados en la región del cepillo del haz central (Düring et al. 1987, Findlay et al. 1987, Creasy et al. 1993, Rogiers et al. 2001).

Además, se reportó que en envero, el flujo en el sistema vascular periférico es detenido, visto que el flujo del xilema axial continua, especialmente con respecto a las semillas (Etchebarne et al., 2009).

En la fase pre-envero, estudios con marcadores del xilema, indicaron que el flujo xilemático ocurre a lo largo de los haces vasculares que suministran al hollejo y pulpa de la baya (cordón periférico), pero también el cordón vascular central que

suministran a las semillas (Rogiers et al., 2001), sugiriendo un flujo continuo a las semillas, como podemos observar en la siguiente figura (3).

Figura 3. Haces Vasculares de la baya.



La falla del movimiento a través de los haces vasculares del xilema, pudo ser asociado con el desarrollo de los tiloides en las traqueidas en la red de los haces vasculares dorsales, evidenciado por las irregularidades en el espaciado del engrosamiento de la pared y roturas en el acople con la membrana. Esta rotura, ocurre cuando la baya se expande repentinamente, cerca de 1 semana después del comienzo de la rápida acumulación de azúcares (Findlay et al., 1987).

Hay evidencias a partir de ensayos de difusión con tinta y estudios anatómicos, que los vasos xilemáticos del sistema vascular dorsal se torna ampliamente disfuncional en envero, mientras que el floema mantiene su integridad (Düring et al. 1987, Findlay et al. 1987).

La evolución en el contenido de Ca^{++} en varios compartimientos puede variar año a año o por el cultivar de uva (Cabanne y Donèche, 2003).

Factores que afectan la acumulación mineral y la partición en el fruto incluye condiciones climáticas, disponibilidad en el suelo, etc. (Etchebarne et al., 2009).

- Zhang et al. (2006) reportan que la vía de descarga por el simplasto predomina en el estado temprano y medio de desarrollo, pero una vía de descarga por el apoplasto opera en el estado de maduración durante el desarrollo del fruto, y que el cambio de la descarga del floema de la vía simplástica a la apoplastica es realizada en el inicio de la maduración de la baya de uva.

Esto puede ocurrir de las siguientes 2 maneras:

1. La deposición de solutos en el apoplasto del fruto, aumenta la presión osmótica del apoplasto dominando el flujo de agua del floema (Van Bel, 2003).
2. La disminución de la capacidad de transporte de los canales simplásticos debe ser responsable del cambio de la descarga del floema desde la vía del simplasto al apoplasto.
Este descenso puede ser atribuido en parte a la presencia de un desconocido electrón-material opaco en los poros del plasmodesma en la superficie entre el elemento criboso y la célula acompañante; entre el complejo célula acompañante-elemento criboso y células acompañante y entre células acompañantes adyacentes; esto sugiere un descenso en la conductividad del plasmodesma (Zhang et al., 2006).

El cambio de la conductividad del plasmodesma es coordinada con la expresión de genes de los transporters de solutos y ablandamiento de la pared celular durante la transición de las fases de crecimiento en las fibras de algodón, sugiriendo que una integración de la apertura del plasmodesma y la expresión génica puede controlar la elongación celular de las fibras de algodón (Ruan et al., 2001).

Un mecanismo similar, en el cual el azúcar y el agua del apoplasto son derivados del influjo del floema, pudo no solo reducir grandemente el influjo del xilema en bayas post-vero, pero igual cambia la dirección del flujo (Keller et al., 2006).

Keller y Shrestha, citados por Biondi (2007), observaron que el incremento de la concentración de solutos en la baya durante la maduración concomitantemente con la concentración de la célula (vacuola), creando el mismo potencial de H₂O entre la pared celular y la célula. La descarga del floema por el apoplasto en la baya (Zhang et al., 2006) acoplado con la acumulación de solutos en el apoplasto, puede ser un requisito para el descenso del influjo de H₂O del xilema en el post-vero de las uvas.

Roberts et al. (1997), revela que la descarga del floema por la vía del simplasto puede ser bloqueado durante la transición de fosa-fuente en hojas de tabaco.

La modificación en la vía de descarga floemática puede resultar en cambios en el número o conductividad del plasmodesma y esta modificación, debido a la regulación plasmodesmal. Dicha modificación es considerada de gran importancia debido a su influencia en el desarrollo de la fuente y su funcionamiento (Patrick 1997, Oparka y Turgeon 1999, VanBel 2003).

Según Oparka et al. (1999), la función plasmodesmal ejerce un descenso en la permeabilidad del plasmodesma del mesófilo de la hoja, cuando las hojas se encuentran en transición fosa-fuente.

Sin embargo, una pequeña atención ha sido dado a la regulación plasmodesmal en la adaptación de las vías de descarga del floema en función de la prioridad de los órganos fosa (Zhang et al., 2006).

- El influjo de H₂O ocurre vía xilema y floema, mientras que el flujo puede ser debido a la transpiración del fruto y el “backflow” del xilema desde el fruto a la planta.

El “backflow” aparentemente ocurre porque la presión de turgencia de la baya es levemente positivo, visto que en la planta es negativa (Lang y Torpe, 1989) especialmente cuando las plantas están bajo alta demanda atmosférica.

El desarrollo de la discontinuidad del xilema en el pedicelo o dentro del fruto es ahora considerado a menudo como un prerrequisito para prevenir la pérdida de solutos por el xilema en frutos que emplean la descarga del floema por el apoplasto, tales como la uva (Patrick 1997, Sarry et al. 2004).

La conductividad de los vasos xilemáticos de la baya se reduce desde el inicio de la maduración (Düring et al. 1987, Findlay et al. 1987), en la cual resulta un aislamiento hidráulico del xilema de la baya y contribuye al mecanismo de evitar que el flujo del azúcar en el apoplasto salga de las bayas.

Esto ha sido discutido, que una alta resistencia hidráulica dentro de los frutos y el influjo del xilema restringido puede ser requerido para promover la descarga del floema y ablandamiento del fruto y de proteger al fruto de un excesivo “backflow”, por ej., durante períodos de alta demanda atmosférica (Malone y Andrews 2001, Tyerman et al. 2004).

A sido mostrado en manzana que la dirección el movimiento del xilema cambia diariamente, tal como el flujo de savia va de la fruta a la planta durante el día y desde el árbol al fruto durante la noche (Lang 1990, Lang y Volz 1998).

La caída programada del xilema es idónea para reducir el “backflow” diurno apoplastico de soluto (de la fruta al árbol), en la cual se promueve la partición de asimilados a las fosas reproductivas, como se indica para las bayas de uva (Lang et al. 1986, Lang y Torpe 1989, Lang y Düring 1991).

Desde aquí, la disfunción del xilema puede ser visto como una minimización de la salida del flujo de savia del xilema desde la fruta pero a expensa de una reducida importación de minerales llevados por el xilema, tales como el calcio al fruto (Drazeta et al., 2004).

- También hay que considerar, que la fuerza fosa que ejercen las semillas, ya que son un importante centro productor de hormonas como las auxinas, lo que permite una continuidad del flujo xilemático a lo largo de también el ciclo del cordón vascular central y permitiendo un mayor desarrollo de los haces vasculares, minimizando los posibles roturas o bloqueos que se producen durante la expansión celular.

En aquellas fosas, montar un mecanismo para el mantenimiento de la fuerza dirigido por las fosas es altamente necesario, distintas fosas vegetativas, tales como los ápices vegetativos, tallos, raíces y tubérculos, igualmente para el desarrollo de las semillas reproductivas, donde la descarga del floema por el simplasto predomina (Patrick, 1997).

Adicionalmente, la predominante descarga apoplastica durante los procesos de maduración en bayas de uva, requiere un mecanismo eficiente para transportar azúcares a través de la membrana, tales como los transporters de azúcares solubles trans-membrana que son dirigidos por las H^+ -ATPasas de la membrana plasmática, los cuales son activados por el ABA (ác. Abscísico), estimulados por la proteína quinasa, que es regulada desde el inicio de la maduración (Yu et al. 2006, Zhang et al. 2006).

Resultados presentados por Tomala (1997), muestran un importante rol de las auxinas en la acumulación de Ca^{++} en manzana. Una similar relación fue presentada por Tomala y Dilley (1989), que notaron un incremento de Ca^{++} en manzana con un incremento en el número de semillas.

Los autores creen que la acumulación de Ca^{++} durante el desarrollo del fruto está positivamente enlazado al transporte polar de las auxinas y las semillas pueden desempeñar un importante rol como una fuente de auxinas por lo cual se soporta el concepto de una interdependencia del transporte basípeto de las auxinas y acrópeta del Ca^{++} , que en parte determina la cantidad de Ca^{++} recibido por el fruto.

- Según datos de Schaller et al. (1992), Rogiers et al. (2006b), se da un reinicio de la acumulación tardía de Ca^{++} en la maduración de las bayas, por lo cual sugieren la ocurrencia de una 2^{da}. fase de influjo del xilema, coincidiendo con un aparente descenso del flujo del floema. Quizás los altos potenciales negativos de la baya sacaron el H_2O a través del xilema en forma osmótica.

Variaciones en el flujo del xilema en post-envero, puede ser causado por diferencias estacionales en el clima y las prácticas culturales, tales como el régimen de irrigación, con lo cual puede cambiar as relaciones hídricas de la planta y llevar a distintos patrones de acumulación de Ca^{++} en la baya (Rogiers et al., 2006b).

Para poder tener una mejor comprensión de los distintos tipos de flujos del Ca^{++} y momentos, se puede observar el siguiente cuadro (1):

Cuadro 1. Flujos del Calcio.

Flujos del Ca^{++}			
	Floema	Xilema	Fosa Ca^{++} Fuente
Cuajado ↓	<u>Simplasto</u>	<u>Apoplasto</u>	hollejo pulpa semilla
Envero ↓	transición fosa-fuente ↓ permeabilidad plasmodesma	disfunción xilema	hollejo ↓ semilla
	<u>Apoplasto</u>	Apoplasto "backflow"	semilla ↓ hollejo pulpa
Maduración Tardía	↓ flujo floema	2 ^{da} fase influjo xilema	semilla
	Apoplasto	<u>Apoplasto</u>	hollejo pulpa

2.6 PARÁMETROS FÍSICOS DE LA UVA Y COMPOSICIÓN DE LA UVA Y EL MOSTO

2.6.1 Sólidos solubles

El grano es un órgano de acumulación de azúcares, fundamentalmente a partir de envero (Andrades, 1990). Esta rápida acumulación se explica por la movilización de las reservas de la cepa (hojas y partes leñosas) que son transferidas al fruto (Champagnol 1984, Fregoni 1999).

Los hidratos de carbono de la uva están representados en su mayoría por la glucosa y la fructosa; las cuales provienen de la hidrólisis de la sacarosa almacenada tras la fotosíntesis en las hojas (Andrades, 1990). Estos azúcares, se presentan en el envero en cantidades similares, produciéndose un leve exceso de la fructosa con respecto a la glucosa, avanzada la madurez (Ribereau-Gayon et al., 1989).

Es uno de los componentes mayoritarios del mosto. Los azúcares son sintetizados en las hojas como producto directo de la fotosíntesis y son traslocados en la planta y acumulados en la baya (González Neves et al., 2003b).

La cantidad de azúcares formados por la fotosíntesis y acumulados en la uva depende de la duración del soleado durante el período de maduración (Peynaud 1977, Reynier 2005), pues la mayor parte de los mismos provienen de las hojas (Fregoni, 1999), de la temperatura (Reynier 2005, Martínez de Toda 2008) y lluvias (Fregoni, 1999).

La duración del día durante la maduración, determina la cantidad de azúcares formados por fotosíntesis y acumulados en la uva. Por lo tanto, en regiones donde las temperaturas son elevadas, o en una región templada cuando acontecen veranos mas calidos de lo normal, son los que dan uvas más ricas en azúcares. Sin embargo, un exceso de calor y déficit hídrico, bloquean la fotosíntesis e impiden una evolución normal de la maduración (Peynaud, 1977).

La concentración de azúcares en las bayas depende del cultivar, portainjerto (Fregoni, 1999), del tipo de suelo y también de los manejos del viñedo (van Leeuwen, 2004).

2.6.2 Acidez total

La acidez es uno de los parámetros fundamentales para juzgar la calidad de la uva, incluso en función de su destino enológico. Un vino insuficientemente ácido es plano y con un color poco estable; mientras que un vino demasiado ácido es agresivo y desequilibrado (Fregoni et al., 1991).

La acidez depende de la variedad, de las condiciones climatológicas y del suelo, su nivel esta en función del estado de madurez de la uva (Andrades, 1990). La composición ácida de la uva es el factor más importante que determina la calidad de sus productos, especialmente el vino (Amerine et al., 1972). Un cambio en los ácidos orgánicos y su efecto en el pH de la uva, puede ejercer una influencia sobre factores como el aroma, la extracción de los antocianos en la elaboración del vino y la estabilidad del color de los productos de la uva (Ribereau-Gayon et al., 1989).

Los ácidos predominantes son el tartárico y el málico, alcanzando el 70-90 % de esta fracción. Estos dos se encuentran en la uva en diferentes proporciones (Zamboni y Fregoni, 1991). Otros ácidos importantes, que se encuentran en bajas concentraciones son: cítrico, succínico, fumárico, acético y ascórbico (Fregoni, 1999).

Los ácidos son sintetizados en hojas (tartárico y málico) y raíces (cítrico) y se acumulan en el grano, pero su concentración desciende durante la maduración (González Neves et al., 2003b).

En el transcurso de la madurez, la acidez disminuye por varios mecanismos, entre ellos: a) una movilización de bases que neutralizan los ácidos del fruto, proceso ligado al movimiento del agua en la planta, b) por dilución del contenido de la células de los granos, debido al aporte continuo de agua desde envero hasta la madurez, c) por la combustión interna del ácido málico durante la respiración celular, proceso que se ve favorecido por las altas temperaturas (Ribereau-Gayon et al., 1989).

Peynaud (1984) menciona que hacia la madurez, parte del ácido málico se transforma en azúcares, que si bien no sería una causa importante del aumento de la acidez, si es una razón más de la disminución del ácido.

El ácido málico y tartárico explica la evolución de la acidez en la maduración. El málico disminuye en forma rápida y pronunciada durante la maduración por fenómenos de oxidación y dilución, mientras que el tartárico desciende lentamente debido esencialmente a los fenómenos de dilución (de Frutos 1981, Zamboni y Fregoni 1991) o se mantiene constante, con fluctuaciones no definidas (Andrades, 1990).

Las mayores causas de variación de la acidez de un mosto son el tipo de vid, la evolución del clima estacional, el ambiente y las técnicas del cultivo (Fregoni et al., 1991).

La arquitectura de la planta, manteniendo los racimos más o menos expuestos a los rayos solares, puede modificar el contenido de acidez de la uva. El ácido málico principalmente sufre de forma negativa la exposición del sol; pero también se modifica el ácido tartárico (Fregoni et al., 1991).

La degradación del ácido málico esta relacionada con la tasa respiratoria de las células, que es directamente afectada por la temperatura del tejido (Muñoz et al., 2002).

Todo manejo que contribuya a aumentar la producción por cepa, influirá negativamente en la acidez del mosto (Zamboni y Fregoni, 1991).

2.6.3 PH

La acidez real, o concentración de iones de hidrogeno, expresada por el pH, esta en relación a la vez con la cantidad y la fuerza de los ácidos (Peynaud, 1977).

El ácido tartárico es más fuerte, influyendo más sobre el pH, y el málico más débil (Zamboni y Fregoni, 1991).

El pH es más importante que la acidez, para juzgar la calidad del mosto, debido a que los mostos con igual acidez, pueden tener diferentes pH ocasionados por la predominancia de uno u otro ácido (Zamboni y Fregoni, 1991).

En el transcurso de la madurez ocurre un aumento en el pH, como consecuencia de la disminución de los ácidos orgánicos y por la neutralización de los mismos formando sales (Andrades, 1990).

El valor de pH en la madurez varía entre 3,0 - 4,2 y esta determinado por la abundancia relativa de moléculas de ácidos orgánicos y de cationes vacuolares y citoplasmáticos (potasio) (Fregoni, 1999).

Mientras que González Neves et al. (2003b) obtiene en cosecha valores de pH que van desde 3,33 a 3,58 en tres años de estudio, para las variedades *Tannat*, *Cabernet Sauvignon* y *Merlot*; presentando las uvas *Tannat* los valores más bajos, registrándose en promedio un valor de 3,36.

Las principales causas de la variación del pH son la variedad (principal fuente de variabilidad), la evolución del clima estacional, el ambiente y las técnicas del cultivo

(Zamboni y Fregoni 1991, van Leeuwen 2004). Además influyen otros factores como la fertilización y el portainjerto (Zamboni y Fregoni, 1991).

La conducción del viñedo y el deshojado influye en la exposición de los racimos al sol, si esta es mayor se sintetiza menos málico y más tartárico (Zamboni y Fregoni, 1991).

Años más calurosos, hacen que disminuya el contenido de ácido málico e influye menos sobre el ácido tartárico. El ácido málico es sintetizado rápidamente y así mismo degradado rápidamente, en cambio el tartárico tiene una síntesis más lenta pero más estable (Zamboni y Fregoni, 1991), por lo tanto el pH aumenta y su conservación se hace más difícil (Boubals, 1991).

En climas cálidos, la acidez de los vinos es insuficiente y el pH es alto, en consecuencia presentan problemas de conservación (Boubals, 1991). Además, un pH bajo aumenta la extracción de antocianos del hollejo de las uvas y la intensidad de color en el vino (Hunter et al., 2002).

2.6.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un conjunto de sustancias sumamente heterogéneas, que tienen en común la existencia de al menos un grupo fenólico en su molécula, Ribereau-Gayon et al. (1989).

Además, según González-Neves et al. (2004), los compuestos fenólicos constituyen una de las “familias” de compuestos de mayor importancia en los vinos, ya que participan de manera fundamental en sus características sensoriales y en la evolución de los mismos a lo largo del tiempo.

Existen dos grandes grupos de compuestos fenólicos: los ácidos fenólicos (benzoicos y cinámicos) y los flavonoides (flavonoles, antocianos y taninos). Las diferencias de estructura entre ambos grupos consisten principalmente en que los ácidos fenólicos tienen un único anillo, mientras que los flavonoides, están formados por dos anillos fenólicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono, Ribereau-Gayon et al. (1989).

Las moléculas fenólicas tienen gran capacidad de reacción y existen, sobre todo, combinadas con un ácido orgánico o un azúcar (como en los ácidos fenólicos, los flavonoles y las antocianidinas), o bien, con ellas mismas, para formar un polímero (taninos). El grado de polimerización depende del número de moléculas fenólicas que se condensan: desde dos o tres moléculas hasta incluso diez moléculas.

Los taninos que se encuentran en mostos y vinos jóvenes, corresponden a dímeros o trímeros (taninos hidrolizables), mientras que en los vinos viejos los taninos pueden llegar a contener diez moléculas condensadas (taninos condensados, no hidrolizables, protoantocianidinas). Su grado de condensación condiciona su calidad gustativa y depende de la maduración y de la calidad de la vendimia y del envejecimiento del vino. Las moléculas con un grado de polimerización elevado, constituidas por varios monómeros, al ser muy grandes y menos solubles, precipitan (Da-Silva 1992, Souquet et al. 1996, Souquet et al. 2000).

En viticultura la importancia es capital, no solamente a causa de su rol en la coloración de los frutos, sino también en las particularidades gustativas exclusivas que se comunican luego a los vinos (Champagnol, 1984).

La importancia de los compuestos fenólicos en enología, es atribuida por su intervención en los caracteres organolépticos del vino (sapidez, astringencia, dureza y color), en problemas de higiene alimenticia (efecto vitamínico P y acción bactericida) y a las transformaciones que sufre el vino (tratamientos y añejamiento). Estas sustancias provienen principalmente de las partes sólidas de la uva y son los responsables de todas las diferencias entre los vinos blancos y tintos (Ribereau-Gayon et al., 1989). Unos de los parámetros más importantes para evaluar la calidad de las uvas tintas, es el color que adquieren en la maduración por la acumulación en el hollejo de pigmentos denominados antocianos (Winkler, 1962).

Las cualidades gustativas de estos compuestos, también varían según la naturaleza y grado de polimerización: en vendimias insuficientemente maduras, las semillas y los escobajos aportan taninos groseros, agresivos y herbáceos que son pocos apreciados (astringencia). Por lo contrario, los taninos aportados por el hollejo de vendimias bien maduras, aseguran un equilibrio óptimo que evoluciona en el tiempo en diferentes formas y grados de polimerización. El conjunto de compuestos fenólicos participa en este equilibrio (Champagnol 1984, Martínez De Toda 2002).

Estas sustancias, no se consideran esenciales desde el punto de vista metabólico para los seres que la producen y se las agrupa bajo la denominación común de productos de metabolismo secundario, concepto muy amplio que engloba sustancias de naturaleza y funciones tan diversas, como pigmentos, esencias y sustancias con acción fungicida y bactericida (Salisbury y Ross, 1996).

El hollejo y las semillas son los lugares en donde se presentan la máxima concentración de los compuestos fenólicos (Champagnol 1984, Andrades 1990, Da-Silva 1992, Souquet et al. 1996).

Los antocianos y los flavonoles se localizan en las vacuolas de las células del hollejo de las uvas tintas. Los ácidos fenólicos se concentran en la pulpa y en los

hollejos; y los taninos son abundantes en las semillas y en menor grado en las películas, Ribereau-Gayon et al. (1989), Souquet et al. (1996).

La “madurez fenólica” se puede definir, como el momento en que se alcanza un estado de combinación particular de los polifenoles de los hollejos y las semillas, que determinan un descenso de la astringencia de estos compuestos y la máxima extractibilidad de los antocianos (Di Stéfano et al., 2000).

La estimación del potencial fenólico no sustituye a la determinación tradicional de la madurez tecnológica, en la cual interviene la riqueza en azúcares y ácidos. Sin embargo, estos análisis proporcionan información muy interesante para el manejo de la vinificación. Saint-Cricq et al. (1999), Di Stéfano et al. (2000), coincidiendo con lo descrito por González-Neves et al. (2003a), mencionan además, que la determinación de estos compuestos y su seguimiento en la maduración, no permiten definir un momento óptimo de cosecha.

Saint-Cricq et al. (1999) plantean que el control de la madurez fenólica se basa en tres observaciones durante la maduración: en primer lugar, la acumulación de los antocianos y taninos en los hollejos; en segundo lugar, la degradación de las membranas de las células que determinan la facilidad de liberación de estos compuestos; y en tercer lugar, la capacidad de la semillas en liberar los taninos.

En los hollejos se observa una acumulación de antocianos y taninos que cuando las condiciones del terreno lo permiten alcanzan un máximo próximo a la madurez tecnológica (Saint-Cricq et al., 1999). A su vez González-Neves et al. (2006a) mencionan que la acumulación de antocianos depende de la variedad y esta relacionada al “terroir”, en la mayoría de los ensayos realizados por dichos autores, los contenidos máximos en antocianos totales y extraíbles se obtuvieron antes de la madurez tecnológica, salvo para un año en que se situó muy próximo, en cuanto a la concentración de los taninos del hollejo, también observaron una tendencia creciente durante la maduración, particularmente en *Tannat*.

En general a medida que avanza la madurez, la uva presenta una mayor aptitud para liberar antocianos, debido a la degradación de la membrana celular del hollejo, la intensidad de este fenómeno depende de la variedad (Saint-Cricq et al., 1999), a diferencia de lo observado por González-Neves et al. (2006a), quienes registraron una tendencia creciente en el índice EA % durante la maduración y más marcada para el cv. *Tannat*.

La cantidad de taninos extraíbles de la semilla disminuye en mayor o menor intensidad (Saint-Cricq et al., 1999), coincidiendo con lo observado por González-Neves et al. (2006a), para las diferentes variedades y en los años evaluados.

Durante el proceso de maduración, hay una acumulación de compuestos fenólicos. Tal acumulación es muy variable debido a la fuerte influencia de las condiciones del cultivo, de la variedad de uva, así como de la climatología, González-Neves et al. (2006b).

Los taninos de las películas, son sumamente abundantes en el envero (la mitad o más del tenor máximo) de acuerdo con Ribereau-Gayon et al. (1982). Estos son los más deseados por sus cualidades gustativas (Champagnol, 1984).

La síntesis de los compuestos fenólicos depende de una buena luminosidad, temperatura y la amplitud térmica diaria (Champagnol, 1984), todo lo que altere las condiciones óptimas por exceso o defecto, supone una inhibición en la síntesis de dichos compuestos (Carbonneau, 1980).

La temperatura y la amplitud térmica juegan un rol considerable sobre la acumulación de compuestos fenólicos (Champagnol, 1984).

La formación de antocianidinas en la piel de las uvas depende del suministro del aminoácido fenilalanina, como precursor, y de glucosa (Hunter et al., 1991); a su vez es necesaria la luz (fotoactivación) para que se active la enzima PAL (fenilalanina-amonio-liasas) responsable de este proceso (Champagnol, 1984). Por este motivo Boubals (1991), menciona que la exposición directa de los racimos al sol es necesaria para que la uva adquiera una coloración suficiente; por su parte Winkler (1962), que las variedades tintas, si bien todas requieren luz para su coloración, algunas no necesariamente requieren una exposición directa al sol.

La temperatura es el factor más importante en determinar la coloración de las uvas, muchas observaciones indican que el color de la mayoría de las variedades es mayor en regiones frescas que en aquellas muy calurosas; y que en las regiones templadas la coloración mejora en la medida que aumenta la diferencia entre las temperaturas nocturnas y diurnas (Kliewer et al. 1972, Champagnol 1984).

La exposición de los racimos a la radiación solar puede ser 5° C a 10° C mas elevada, que los racimos mas sombrados, si bien los primeros pueden presentar una mayor coloración debido a la mayor intercepción de luz, dependen de que la temperatura no sea excesiva. El intervalo de temperaturas para un óptimo desarrollo del color debe estar comprendido entre los 15° C y 25° C (Kliewer et al., 1977). Temperaturas superiores a 35° C inhiben la formación de antocianos; la coloración de los racimos es mayor a las temperaturas diurnas de 20° C que a 30° C a iguales condiciones de luminosidad; temperaturas nocturnas de 15° C resultaron más favorables que a 25° C. Temperaturas diurnas y nocturnas de 25° C y 15° C respectivamente, fueron mas positivas que cuando permaneció la temperatura a 25° C día y noche (Kliewer et al., 1972).

La composición fenólica y el color depende del factor año y manejo ya que están determinados por el balance entre los fenómenos de síntesis, acumulación de los polifenoles en la vinificación (Ferrer y González-Neves, 2002).

2.6.5 Composición del hollejo

La composición del hollejo según Considine y Knox (1979), consta de la peridermis que está compuesta por dos tipos de células organizadas en dos capas: una capa simple de células epidérmicas en la parte externa de la fruta y seis capas de células hipodérmicas por debajo de la epidermis.

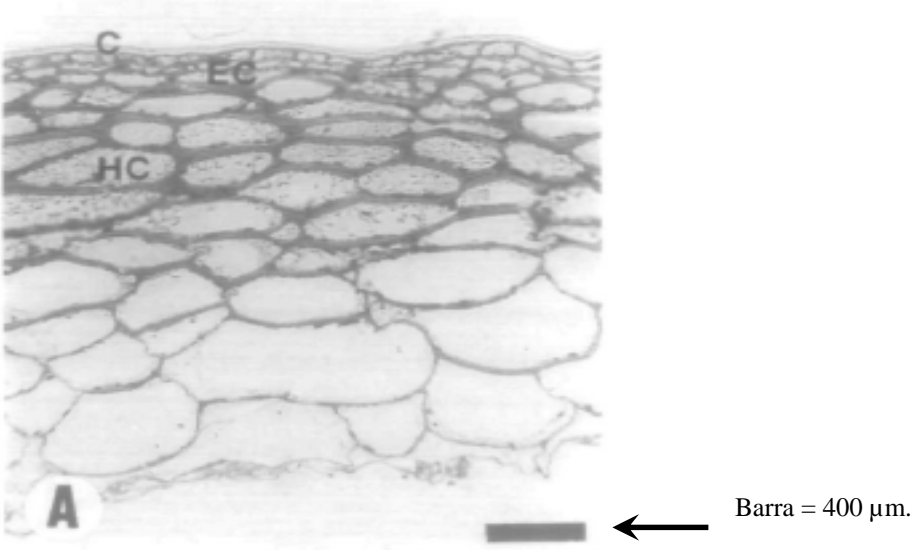
Según Holloway (1982), la cutícula se diferencia claramente en tres zonas marcadas. La zona exterior, está constituida por una intrincada capa amorfa con aspecto arrugado y grosor variable, correspondiente a la cera epicuticular. Debajo de dicha capa, la cutícula propiamente dicha (Von Mohl, 1847) o cutícula primaria (Sargent, 1976), que fue definida como la región de la membrana cuticular con ausencia de celulosa o materiales de la pared celular y que podría ser completamente disuelta luego de un tratamiento con álcali. Esta capa fue formada por la deposición de cutina (Holloway, 1982) y no muestra una organización estructural. La cutícula primaria constituye las dos terceras partes (1,4 μm) del grosor de cutícula. Debajo de la propia cutícula, la capa interior comprende 0,7 μm del grosor de la región reticular correspondiente a la capa cuticular o cutícula secundaria; estos términos fueron usados para la región interior de la cutícula con las incrustaciones de materiales de la pared celular o celulosa. La separación entre estas dos capas era apenas distinguible (Comménil et al., 1997).

También tenemos en cuenta las evaluaciones de Pratt (1971), Hardie et al. (1996), en las que determina que el número exacto de capas hipodérmicas depende de la variedad.

A su vez Eynard y Dalmaso (1990) afirman que el hollejo está constituido por una capa externa llamada epidermis con cutícula de un espesor variable entre 1,5 y 10 μm , según la especie; y por debajo de ella, se encuentran entre 6 y 10 capas de células hipodérmicas.

En la siguiente micrografía (1) se observa la estructura pelicular del hollejo de la baya al momento de la cosecha. Se visualiza: la cutícula (C), dos capas de células epidérmicas externas (EC) y 6 u 8 capas de células hipodérmicas colenquimáticas interiores (HC) (Comménil et al., 1997).

Foto 1. Estructura del hollejo al momento de la cosecha.



Fuente: Comménil et al. (1997)

- C** – cutícula
- EC** – células epidérmicas externas
- HC** – células hipodérmicas internas

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL VIÑEDO

3.1.1 Descripción del viñedo

El ensayo se realizó en un predio comercial perteneciente a la bodega Varela Zarranz, en el la zona de Cuatro Piedras, en el departamento de Canelones, durante la temporada 2006-2007.

La parcela del ensayo esta constituido por plantas del cultivar *Tannat* (*Vitis vinífera L.*) injertadas sobre SO₄ (*Vitis berlandieri P.* x *Vitis riparia M.*), de 13 años de edad. Está conducido en lira, con una apertura superior de 1,40 metros; constituida por cuatro hileras de alambres sobre cada poste inclinado, cuyo 1^{er.} alambre se encuentra a 1,10 metros con respecto al suelo, siguiendo una 2^{da.}, 3^{era.} y 4^{ta.} hilera de alambre a 0,30, 0,30 y 0,40 metros respectivamente. La 1^{er.} hilera de alambre en ambos postes, se encuentran a una distancia de 0,50 metros entre si, que son los que se usan como soporte de los 2 cordones productivos de la planta en ambos lados. La altura es de 2,00 metros y una densidad de 3441 plantas/há.

Presenta un marco de plantación de 0,90 m (entre plantas) x 3,2 m (entre filas). Las filas se encuentran orientadas en sentido norte-sur, con una leve inclinación hacia el este.

El tipo de poda es Royat o poda corta, conformando 2 cordones hacia ambos lados, en donde se insertan los pitones. Cada pitón se encuentra constituido por una yema a la vista. En el invierno del año 2006 se podó a 6 pitones por brazo, quedando constituida cada planta por 24 yemas a la vista.

3.1.2 Tratamientos fitosanitarios

En el siguiente cuadro (2), se puede observar el manejo sanitario que se realizó en el cuadro en donde se ubicaba el diseño experimental.

Cuadro 2. Tratamientos fitosanitarios Varela 2006-2007.

Fecha	Fenología	Producto	Dosis
01-Nov-06		Folpet	1 kg/há
		Cimoxanilo	1,5 kg/há
02-Nov-06	Floración		
08-Nov-06		Fosfito de K	1,1 L/há
		Folpet	1 kg/há
20-Nov-06		Folpet	2 kg/há
		Azufre	4 kg/há
26-Nov-06	Cuajado		
29-Nov-06		Fosfito de K	1,1 L/há
		Oxicloruro de Cu	2 kg/há
		Difenoconazol	0,15 L/há
09-Dic-06		Procimidone	1,5 kg/há
		Hexaconazol	0,3 L/há
12-Dic-06		Folpet	1 kg/há
		Oxicloruro de Cu	2 kg/há
21-Dic-06		Cimoxanilo	1,5 kg/há
		Azufre	4 kg/há
28-Dic-06		Oxicloruro de Cu	4 kg/há
6-9-Ene-07		Procimidone	1,5 kg/há
16-Ene-07	Envero		
10-Mar-07	Cosecha		

3.2 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS DEL ENSAYO Y FENOLOGÍA

3.2.1 Fertilidad de yemas

El 16/07/06, se determinó la fertilidad de yemas en el cuadro experimental, para determinar el efecto de la poda que tuvo en el número de yemas y si esta estaba en concordancia de acuerdo con el tipo de conducción empleada y el tipo de poda usada.

3.2.2 Seguimiento de la fenología

A partir del 8/09/06, se procede a realizar un seguimiento de la fenología del experimento, según la escala de Eichhorn y Lorenz, hasta el momento de la cosecha para poder determinar con anticipación el cuajado de bayas y el envero, con el fin de aplicar

los tratamientos en el momento adecuado. Como podemos observar en el cuadro 3, se muestran las fechas fenológicas del experimento.

Cuadro 3. Fechas Fenológicas y de poda del experimento.

Desborre	03/09/2006
Floración	02/11/2006
Cuajado	26/11/2006
Envero	16/01/2007
Cosecha	10/03/2007
Poda	19/07/2007

3.3 DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO

3.3.1 Diseño experimental

Con el fin de partir de un material homogéneo se observó el cuadro en el invierno seleccionando aquellas plantas que tuvieran un vigor similar y el mismo número de pitones por plantas (24 pitones).

Se realizó un diseño experimental completamente al azar (DCA), con cinco tratamientos.

Cada tratamiento esta compuesta por 4 repeticiones y cada repetición esta compuesta por grupos de 10 plantas cada uno (unidad experimental), totalizando 40 plantas por tratamiento.

El ensayo consiste en 200 plantas.

3.3.2 Tratamientos

Se efectuaron los siguientes tratamientos:

- 1) Deshojado en Cuajado (DC), TESTIGO
- 2) Deshojado en Cuajado y Aplicación de Calcio Foliar en Cuajado (DC + CaC)
- 3) Deshojado en Cuajado y Aplicación de Calcio Foliar en Envero (DC + CaE)
- 4) Deshojado en Cuajado y Envero, y Aplicación de Calcio Foliar en Cuajado (DC + CaC + DE)
- 5) Deshojado en Cuajado y Envero, y Aplicación de Calcio Foliar en Cuajado y Envero (DC + CaC + DE + CaE)

El tratamiento testigo incorpora el DC debido a que trabajos de varios autores, han demostrado los efectos positivos en una menor incidencia de la *Botrytis* (Zoecklein et al. 1992, Carrosio et al. 2005) y en un incremento de los polifenoles totales y antocianos (Andrade et al. 2001, Serrano et al. 2001, La Barge IV y Patterson 2008).

- Deshojado

El “deshojado”, consistió en eliminar en forma manual las hojas basales de los pámpanos, incluyendo las feminelas, y en el caso de que el follaje fuera denso, se eliminó pámpanos que no tenían racimos y feminelas.

El criterio que se tomó fue eliminar todas las hojas basales hasta la hoja opuesta del racimo con el objetivo de despejar el follaje existente alrededor del racimo.

En el deshojado en envero se repasó eliminando aquellas hojas que estaban sobre el racimo y/o aquellos que sombreaban en demasía.

- Tratamiento con calcio

La fuente de calcio utilizada en el ensayo es el producto comercial FASTCAL, que contiene 10ml. de CaCl_2/lt de H_2O . La dosis aplicada en los dos momentos fue de 0,292 litros/planta.

Se realizaron dos aplicaciones de calcio en cada momento utilizando una maquina pulverizadora hidráulica de mochila, dirigidas al racimo mojando hasta el punto de goteo. Los momentos para las aplicaciones fueron: 24 de noviembre y 28 de diciembre.

Para los tratamientos 2 y 4, se aplicó el día 24 de noviembre y para el tratamiento 3, se aplicó el día 28 de diciembre; mientras que para el tratamiento 5 se aplicaron el día 24 de noviembre para la primera dosis y el día 16 de enero para la segunda dosis.

3.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES

3.4.1 Clima a nivel de mesoescala

Se realiza una caracterización climática y seguimiento de la misma a nivel predial.

3.4.1.1 Seguimiento de la temperatura

A partir del 25/01/07 (maduración de la uva), se procede a medir la temperatura a nivel predial, usando los registros de temperatura del establecimiento Joanicó (ubicado a una distancia de 5 km. del lugar del ensayo), hasta el momento de la cosecha; para determinar las condiciones predisponentes para el desarrollo del hongo *Botrytis sp.* y también la velocidad de la maduración de la uva.

3.4.1.2 Seguimiento de la pluviometría

A partir del 25/01/07 (maduración de la uva), se procede a medir la pluviometría de la zona, usando los registros pluviométricos del establecimiento Joanicó y de la estación experimental del INIA Las Brujas, hasta el momento de la cosecha; para determinar las condiciones predisponentes para el desarrollo del hongo *Botrytis sp.*

3.4.1.3 Seguimiento de la humedad relativa

Desde el inicio de la floración, se procede a medir la humedad relativa, para poder determinar las condiciones predisponentes para el desarrollo del hongo *Botrytis sp.*

3.4.2 Disponibilidad hídrica en el viñedo

Se evalúa la disponibilidad hídrica en el viñedo en los períodos críticos del mismo.

3.4.2.1 Seguimiento del potencial hídrico

Se determinó el potencial hídrico, al momento de cuajado (26/11/06), envero (16/1/07) y cosecha (10/03/07), para evaluar el estado de hidratación de las plantas, usando el método de cámara de presión según Scholander et al. (1965).

3.5 EVALUACIONES SOBRE LA RESPUESTA DE LA PLANTA

3.5.1 Determinación del momento de cosecha

Mediante muestreos periódicos desde el envero colectando 250 bayas por duplicado, se procedió a determinar el pH, grados Brix y acidez, para poder estimar cuando se debe cosechar.

3.5.2 Determinación de la producción

3.5.2.1 No. de racimos y peso de racimo

En el momento de la cosecha (10/03/07), se procedió a determinar cuantos racimos se cosechaba por planta y a la vez se determinó el peso de cada racimo.

3.5.2.2 Kg. por planta

En el momento de la cosecha (10/03/07), se procedió a determinar cuantos kg. por planta se cosechaba, y cuanto de ella estaba sano y afectada por Botrytis.

3.5.2.3 Determinación de la compacidad del racimo

Luego de la cosecha (10/03/07), se procedió a determinar la compacidad de los racimos a partir de un muestreo de 10 racimos por tratamiento, usando la siguiente ecuación:

Compacidad = granos / cm³

3.5.2.4 No. granos por racimo

Se contaron los granos que tenían cada racimo.

3.5.2.5 Volumen del racimo

Usando un recipiente de agua con un volumen conocido se procedió a determinar el volumen para cada racimo.

3.5.2.6 Densidad y dimensiones del racimo

Se determina la densidad del racimo, realizando el cociente entre el peso y el volumen del mismo; también se procedió a medir el largo y ancho de cada racimo muestreado.

3.5.2.7 Peso promedio del grano

Se procede a determinar el peso promedio del grano para cada tratamiento

3.5.3 Determinación de la producción vegetativa

3.5.3.1 Superficie foliar expuesta potencial (SFEp)

La superficie foliar se determinó mediante el cálculo de la superficie foliar expuesta según Carbonneau (1995).

3.5.3.2 Point quadrat

Se realiza una descripción cuantitativa de la distribución de hojas y frutos en el espacio, según el método propuesto por Smart y Robinson (1991).

3.5.3.3 Peso de poda

En el momento de la poda realizada el 19/07/07, se procedió a cuantificar en forma individual el peso de toda la madera extraída de cada una de las plantas.

3.5.4 Índices de respuesta

Se determina el equilibrio de la planta mediante el uso de índices de respuesta

3.5.4.1 Índice Ravaz

Para evaluar el equilibrio de las plantas se utilizó el índice planteado por Ravaz, que relaciona la producción de fruta y madera por planta.

Índice Ravaz = Kg. fruta / Kg. madera poda

3.5.4.2 Índice P

También se utilizó otro método para determinar el equilibrio de la planta, a través del índice “P”, en la cual se estima la producción de materia seca por hectárea.

$$\text{Índice P} = 0.5 \text{ PP} + 0.2 \text{ PR} \quad \text{donde PP} = \text{peso poda en kg/há y} \\ \text{PR} = \text{peso cosecha en kg/há}$$

3.6 EVALUACIONES SOBRE “SANIDAD” DEL RACIMO

Mediante un muestreo que se realizó a partir del 6/02/07 (maduración de la uva), con una frecuencia aproximada de 10 días hasta la cosecha, se realizaron mediciones para establecer el estado sanitario de los racimos y evolución de la misma. El muestreo consistió en evaluar 50 racimos del lado oeste de la lira y 50 racimos del lado este de la lira por cada tratamiento.

3.6.1 Evaluaciones sobre podredumbres

Se procedió a determinar la frecuencia e intensidad tanto de *Botrytis sp.* como de la Podredumbre ácida durante el proceso de maduración de la uva. Para la estimación de las podredumbres se usó un diagrama de evaluación de botrytis utilizado por el CRCV (Cooperative Research Centre for Viticulture) de Australia.

3.6.1.1 Evolución de la frecuencia de ataque

En el muestreo, se procedió a estimar si el racimo evaluado presentaba o no signo de *Botrytis sp.* y/o podredumbre ácida; y posteriormente se analizaron los datos para observar su evolución.

3.6.1.2 Evolución de la intensidad de ataque

En el muestreo, se procedió a determinar en los racimos evaluados que presentaban el signo de *Botrytis sp.* y/o podredumbre ácida, su severidad de ataque, o sea el porcentaje del racimo que estaba cubierto por los hongos, levaduras y bacterias patógenas usando el diagrama del CRCV y posteriormente se analizan los datos para observar su evolución.

3.6.2 Cuantificación de la producción afectada por *Botrytis sp.* en cosecha

En el momento de la cosecha, para cada tratamiento, se determina si el racimo cosechado esta sano o no, tomando el criterio de que si presenta mas de un 5 % del racimo cubierto por el hongo se lo considera como racimo podrido.

3.7 EVALUACIONES SOBRE LA CALIDAD DEL MOSTO

3.7.1 Evolución de la maduración de la uva

A partir del día 25/01/07 se comenzó con el seguimiento de la madurez, sobre el ensayo. El mismo se realizaba cada 10 días aproximadamente y consistía en extraer 2 submuestras por tratamiento, de 250 granos para cada una de ellas, tomadas de distintas partes del racimo, según método de Carbonneau et al. (1991). Posteriormente en el laboratorio de la Facultad de Agronomía se procedió a determinar para 200 granos: el peso, sólidos solubles, acidez total y pH.

3.7.1.1 Peso de granos

Se determinó el peso de 200 granos para cada tratamiento en una balanza digital en gramos, marca i BAL, modelo 201. Posteriormente, los granos se trituraron con una procesadora eléctrica.

3.7.1.2 Sólidos solubles

La concentración de los sólidos solubles se determinó por refractometría (con un refractómetro de mano, marca Atago No. 1 Brasil) en °Brix.

3.7.1.3 Acidez total

La acidez se determinó mediante titulación con NaOH 0.1 N, usando como reactivo indicador Azul de Bromotimol, expresando el resultado en gr. de H₂SO₄/lt..

3.7.1.4 PH

El pH se determinó por potenciometría (con un peachímetro de mano marca Coming). Es importante resaltar, que durante el procedimiento se mantuvo la temperatura del mosto a 20° C.

3.7.2 Determinación de la composición fenólica y antocianica de la uva

Previo a la cosecha se tomó una muestra de 150 granos para cada tratamiento de distintas partes del racimo.

La composición fenólica, fue analizada por el equipo técnico del laboratorio del I.NA.VI, usando el método de Glories y Augustin (1993), con modificaciones según González-Neves (2005); y se determinó la riqueza fenólica de la uva (A280), el potencial de antocianos (ApH 1), los antocianos fácilmente extraíbles (ApH 3,2), el índice de extractibilidad de los antocianos (EA %), el contenido de taninos en hollejos (dpell), el porcentaje de taninos en hollejos (dpell %), el contenido de taninos en semilla (dTpep) y el porcentaje de taninos en semilla (Mp %).

3.8 EVALUACIONES EN CORTES DE HOLLEJOS

Se realizaron cortes del hollejos para determinar si la aplicación de Calcio foliar tiene algún efecto en la constitución de la misma o no, como en el número de células de la epidermis; o si tiene un efecto de endurecimiento de la cutícula.

Debido a que no se encontraron referencias bibliográficas sobre el tema, se tuvo que implementar una metodología para procesar los cortes y determinar que alternativas de tinciones se podían usar y que fueran sencillas y rápidas.

Para ello se recurrió a la Cátedra de Botánica de Facultad de Agronomía/UDELAR e implementar una metodología de trabajo y se utilizaron los siguientes productos para teñir los cortes de hollejos:

- 1) **Azul de Toluidina**, en una dilución de 1 gr. /100 ml. H₂O, con la característica de ser un colorante contrastante, que tiñe la celulosa y lignina.
- 2) **Hipoclorito de Sodio**, en una dilución de 4 gr. /100 ml H₂O, con la característica de ser un decolorante.
- 3) **Zafranina Alcohólica**, en alcohol 60°, con la característica de colorear la lignina.
- 4) **Carmín Verde Yodo**, compuesto por 10 partes de Carmín y una parte de Verde Yodo, con la característica de que el Carmín tiñe la celulosa y el Verde Yodo la lignina.

El Carmín esta elaborado por 1 gr. /100 ml. H₂O de Carmín de Lumbre y se le adiciona 4 gr. de Alumbre y se lo hierve durante 20 min.; luego para conservar el producto se le agrega 2-3 granos de Timol.

El Verde Yodo se elabora con 1 gr. de Verde Yodo / 100 ml. H₂O con la adicción de 3 gotas de Ácido Acético, para conservar el producto.

Luego se establecieron los tiempos que el producto debía actuar para obtener un preparado:

- 1) **Azul de Toluidina**, se lo dejaba actuar 1- 2 minutos como máximo.
- 2) **Hipoclorito de Sodio**, se lo dejaba actuar 5 minutos como máximo, si se lo deja más tiempo, se degrada el preparado.
- 3) **Zafranina Alcohólica**, se lo podía usar al momento.
- 4) **Carmín Verde Yodo**, se lo dejaba actuar 15 minutos como mínimo.

Posteriormente se realizan los cortes del hollejo de la siguiente manera:

Se obtiene una cinta de hollejo sacando con una pinza desde el polo peduncular hacia la zona ecuatorial de la baya (longitudinalmente) y posteriormente con una navaja histológica, se realizan cortes (horizontales) aproximados en la zona intermedia de la muestra obtenida.

Se realizan los preparados con las distintas tinciones y se procedieron a evaluarlos en un microscopio de mano tipo Granvier, marca Olympus con un aumento de X 10 ocular y X 40 de objetivo.

El día 15/03/07 se procede a realizar los primeros cortes con muestras que se conservaron en el freezer luego de la cosecha (10/03/07). Se continúan los cortes el 29 – 30/03/07 y se completaron los mismos el 6 – 7/09/07.

En esta ultima tanda de cortes se optó por realizar las tinciones solamente con Hipoclorito de Cloro, dada su simpleza y rapidez.

En todos los cortes realizados se contabilizaron el número de células que forman la epidermis y la cutícula a la vez que se determino su grosor en micras con la utilización de una reglilla de vidrio ocular calibrada para un aumento ocular de X 10 y X 40 para el objetivo.

3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados por el software estadístico Infostat, donde se realizaron Análisis de Varianza y comparación de medias por el test de Tukey con $p \leq 0,05$ para todos los parámetros analizados.

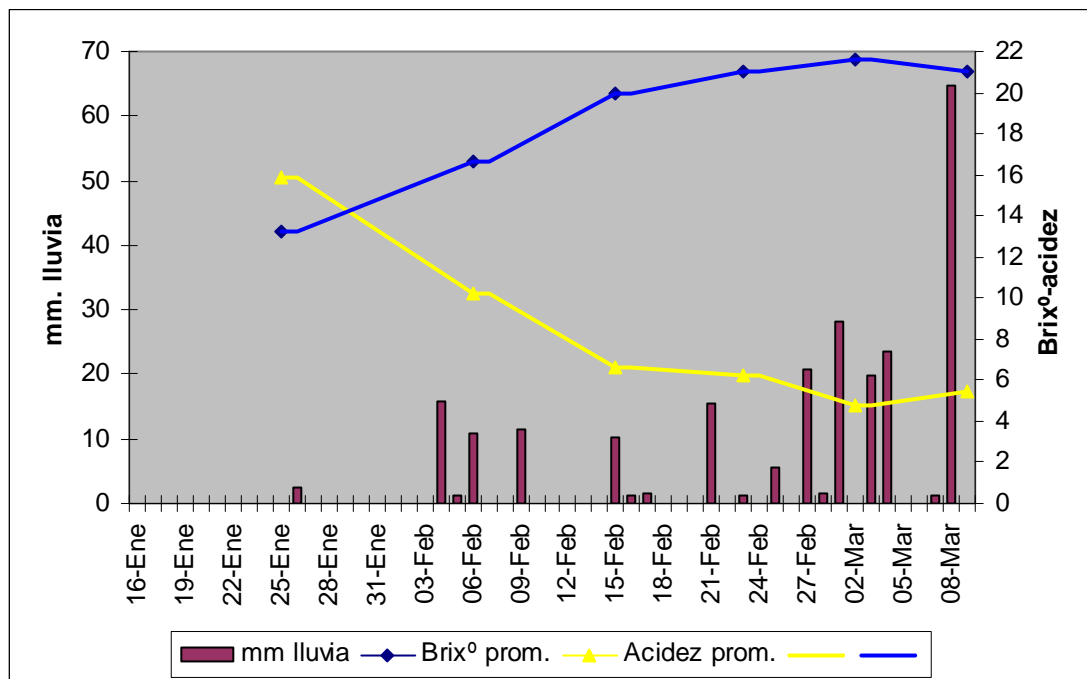
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y EN LA COMPOSICIÓN DE LA BAYA

En la gráfica 1, podemos observar, como la acidez va disminuyendo durante la maduración debido principalmente a tres procesos:

- por combustión respiratoria del ácido málico así como también su transformación en azúcares. Cuando las temperaturas son mayores a 30 °C, se quema en una mayor proporción de ácido málico pudiendo afectar a la maduración (Hidalgo, 2003).
- por efecto de dilución de los ácidos principalmente el ácido tartárico debido al aumento del volumen de las bayas por los aportes de agua en los granos de uva y
- por neutralización o salificación de los ácidos que se da por causa de la migración de las bases hacia la uva (Ribereau-Gayon y Peynaud 1982, Hidalgo 2003).

Gráfica 1. Evolución de la acidez (mg. ác. sulfúrico) y sólidos solubles (°Brix) con incidencia de lluvia (mm).



En el último muestreo antes de la cosecha, se observa un incremento de la acidez que se explica por el incremento del ácido tartárico, que esta relacionada con las abundantes precipitaciones que aumenta la circulación del agua en la baya debido a la evapotranspiración (Ribereau-Gayon y Peynaud 1982, Hidalgo 2003).

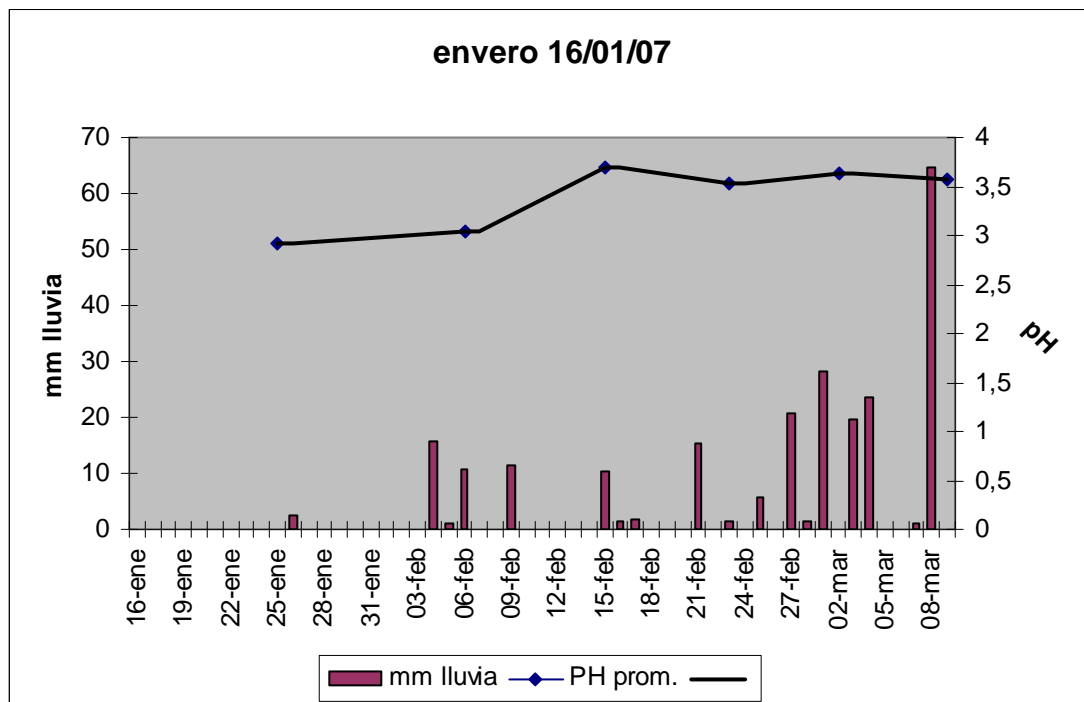
También se observa un descenso de los sólidos solubles a causa del exceso de humedad (Hidalgo, 2003).

En la gráfica 2 se observa la evolución del pH durante la maduración, y al momento de la cosecha se obtiene una uva con 3,6 de pH.

Tenemos que aclarar de que hay una relación inversa entre el pH y la acidez, como podemos notar en el último muestreo hay un leve descenso del pH, esto es debido al aumento de la acidez causada por la lluvia.

Hay que tener en cuenta que el pH es un indicador de calidad que va a determinar la estabilidad de los antocianos en la elaboración del vino.

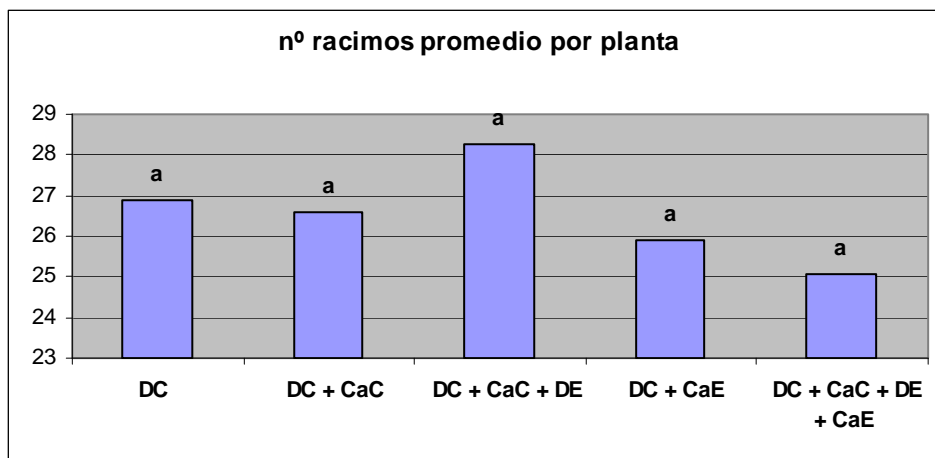
Gráfica 2. Evolución del pH e incidencia de lluvias durante la maduración.



4.1.1 Resultados productivos

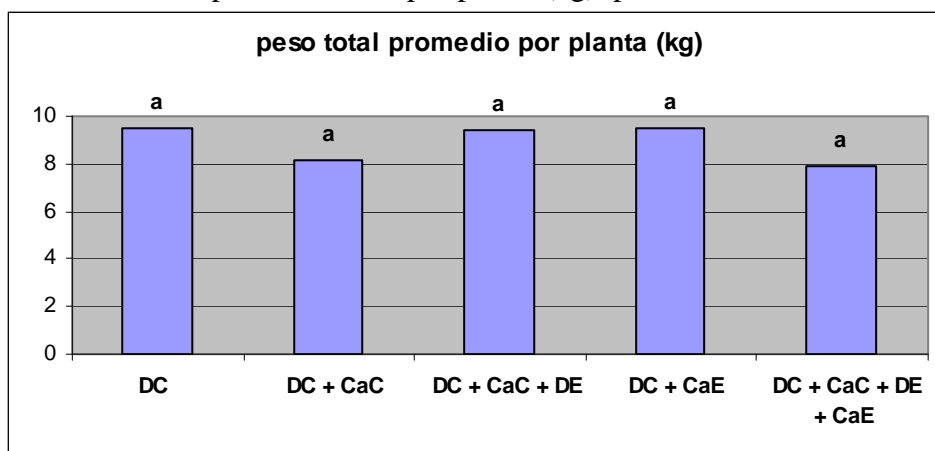
Entre los distintos tratamientos no se detectaron diferencias significativas en el número de racimos, pero podemos observar, que el tratamiento (DC + CaC + DE) tiene entre 1 y 3 racimos más que los otros tratamientos, como se puede observar en la gráfica 3. El número máximo de racimos se determina el año anterior y no debería haber diferencias entre los distintos tratamientos si el número de yemas fue igual para todas las plantas.

Gráfica 3. Número de racimos promedio por planta, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Gráfica 4. Peso promedio total por planta (kg), para cada tratamiento.



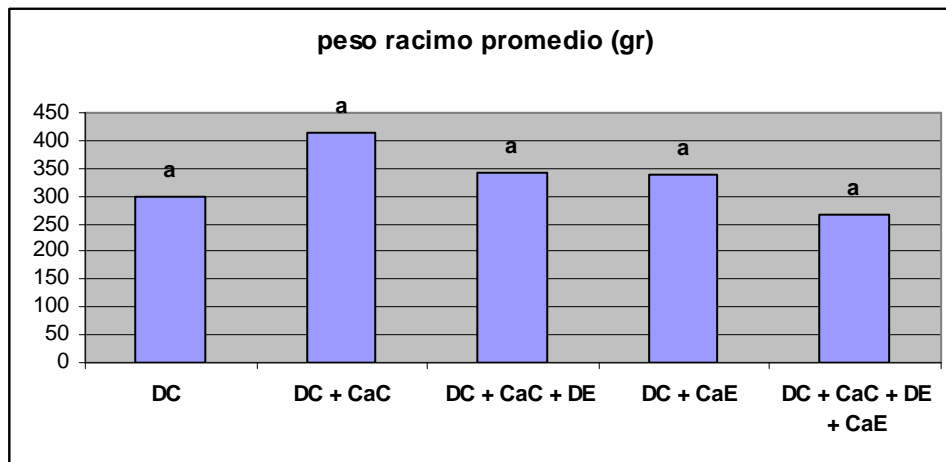
Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En la gráfica 4, se muestra el peso total de fruta cosechada por planta, en la cual se puede observar que no hay diferencias estadísticas significativas entre los distintos tratamientos, en concordancia con Bledsoe et al. (1988), Andrade (2001), Di Profio et al. (2003) que observaron que el deshojado no genera efectos en el rendimiento y en oposición a lo reportado por Percival et al. (1994), Gutierrez (2002) que el deshojado afectó el rendimiento.

4.1.2 Componentes de rendimiento

En la gráfica 5, se muestra el peso del racimo promedio para cada tratamiento y se observa que no se dieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, pero podemos notar que el tratamiento (DC + CaC) tiene el racimo con más peso (415 gr), mientras que el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) tiene el menor peso (266 gr), a pesar de que no se dan diferencias significativas, se puede observar que el deshojado en enero (DE) da una tendencia a tener un racimo de mayor peso.

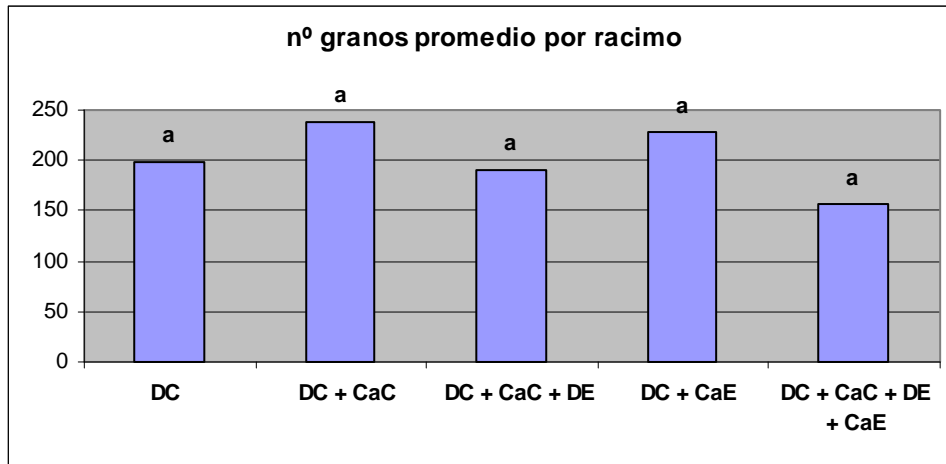
Gráfica 5. Peso de racimo promedio (gr), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En el gráfico 6, podemos observar que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos para el número de granos por racimos, pero se observa que el tratamiento (DC + CaC), tiene el mayor número promedio de granos por racimo (238), mientras que los racimos del tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) tienen la menor cantidad de granos por racimos (157), encontrándose una diferencia de 81 granos por racimo.

Gráfica 6. Número de granos promedio por racimo, para cada tratamiento.

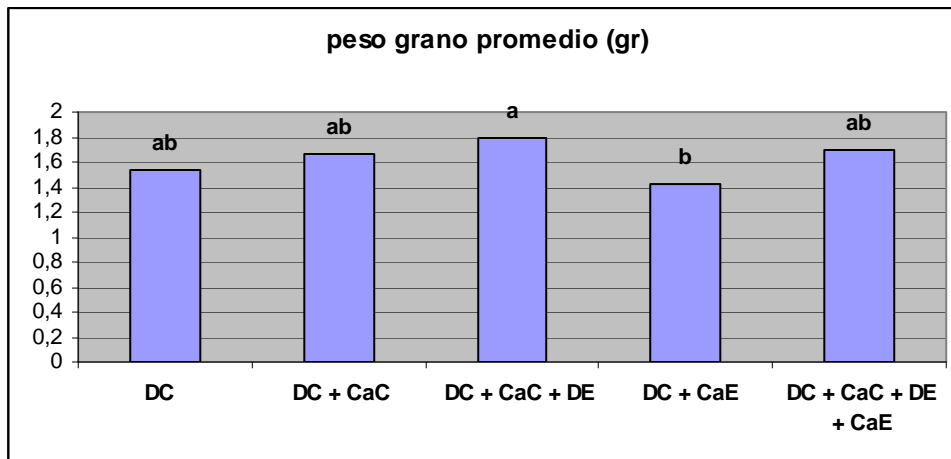


Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En el caso del peso de grano promedio, se encontró diferencias significativas entre el tratamiento (DC + CaC + DE) con un peso de 1,79 gr y el tratamiento (DC + CaE) en la que se observó un peso de 1,43 gramos para cada grano; mientras que en los demás tratamientos no se observaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos, como se muestra en la gráfica 7.

Si relacionamos el peso de la baya promedio y el nº de bayas promedio por racimo para los tratamientos (DC + CaC + DE) y (DC + CaE), podemos observar que se da un efecto de compensación, debido a que se registran pesos promedios de racimo promedio muy similares (gráfica 5).

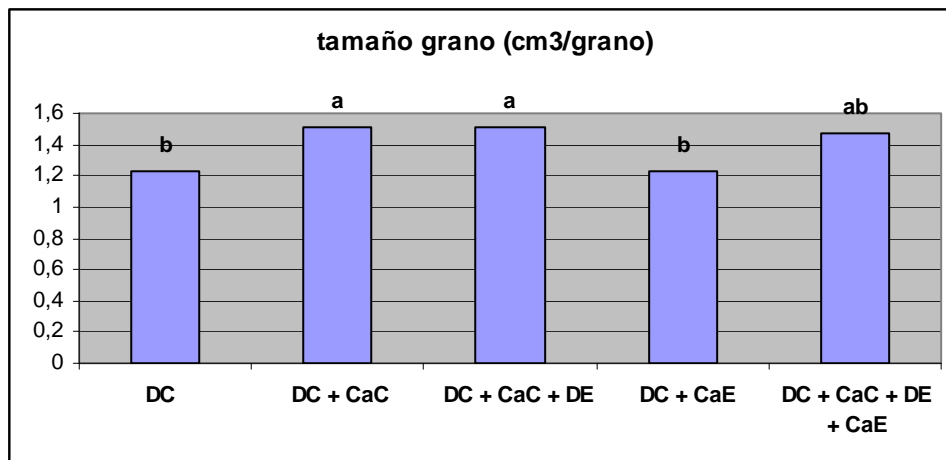
Gráfica 7. Peso de grano promedio por racimo (gr), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Hay que tener en cuenta que el tamaño medio del grano esta íntimamente relacionado con la superficie de contacto hollejo-mosto (es unos de los parámetros apreciados en la elaboración de vinos), pues a medida que estos son más pequeños, la relación superficie-volumen es más alta y por lo tanto se producirá un mayor desarrollo de los hollejos y en consecuencia una mayor potencial de extracción de polifenoles mas elevada (Hidalgo, 2003). Teniendo en cuenta esto podemos decir que el tratamiento (DC + CaE) tiene una mayor relación respecto a los tratamientos (DC + CaC +DE) y (DC + CaC), como se observa en la gráfica 8, pero se puede observar que con la adicción del deshojado en envero (DE), no se logran diferencias significativas en el peso del grano promedio, en concordancia con Bledsoe et al. (1988) que practicaron un deshojado con tres niveles de severidad y en cuatro momentos del ciclo de la vid, no encontrando diferencias en el peso de la baya.

Gráfica 8. Tamaño de baya (cm^3/grano), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

También el tamaño medio del grano depende de la pluviometría después de la floración, cuajado y especialmente durante la última fase de maduración. El máximo peso se alcanza unos días antes de la vendimia (Hidalgo, 2003).

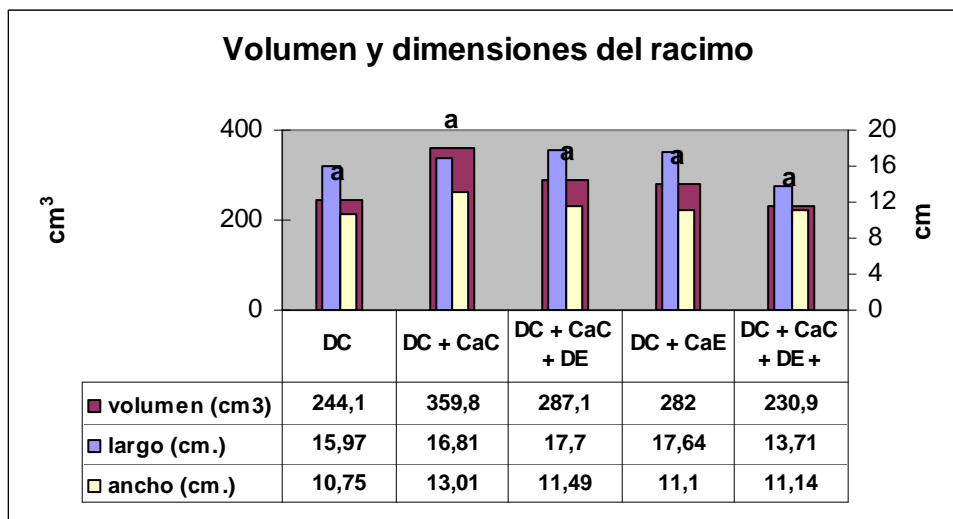
Se puede observar que la lluvia afectó de manera diferencial a los granos entre los tratamientos (DC + CaE) y (DC + CaC + DE), mientras que en los demás tratamientos no se dieron diferencias significativas, posiblemente a que tuvo un efecto sinérgico en el tamaño y peso de grano debido a las lluvias caídas al final de la maduración.

Se puede observar a pesar de que no hay diferencias significativas entre los tratamientos, todos los tratamientos que tuvieron la aplicación de Ca^{++} en cuajado (CaC) tienen una tendencia a tener un mayor peso de baya promedio y un mayor volumen de baya, esto es debido a que al aplicar el calcio en cuajado, se estaría incrementando el

estimulo hormonal en la fase I, que esta regulado por las giberelinas que promueven la multiplicación celular y favorecen la elongación celular, provenientes del embrión de la semilla, las auxinas estimulan las divisiones celulares y el agrandamiento celular y las citoquininas promueven las divisiones celulares y la síntesis de aminoácidos (Champagnol 1984, Eynard y Dalmaso 1990, Fregoni 1987, 1999, Jones y Bush 1991, Reynier 2005).

Al calcular el volumen de los racimos para todos los tratamientos, no se observaron diferencias significativas desde el punto de vista estadístico, pero se puede observar, que los racimos del tratamiento (DC + CaC), tienen la mayor volumen con 360 cm³, mientras que en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) encontramos los racimos con menor volumen (231 cm³), como se muestra en la gráfica 9.

Gráfica 9. Volumen dimensiones del racimo sano promedio (cm³), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

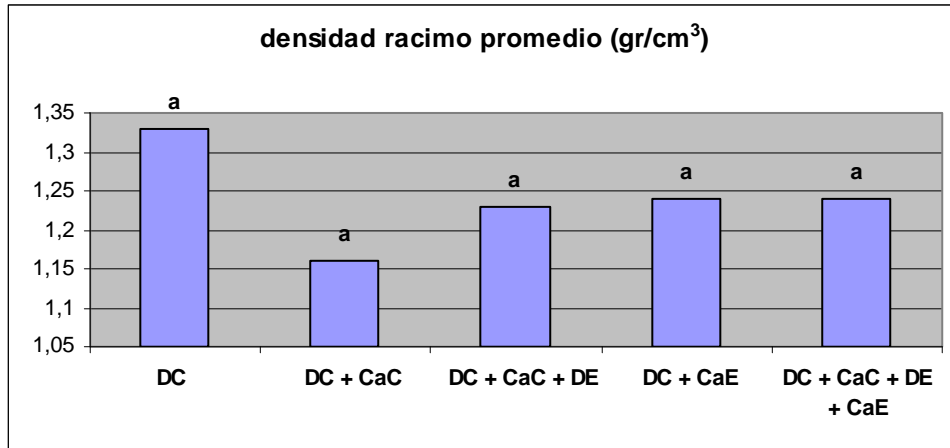
Si observamos los tratamientos (DC + CaC + DE) y (DC+ CaE) que habían mostrado diferencias significativas en el peso de grano promedio (gráfica 7), tienen un volumen de racimo muy similares, así como el largo y ancho del racimo, evidenciándose un claro efecto de compensación.

También en el gráfico 9, podemos observar que el racimo mas largo es el de los tratamientos (DC + CaC + DE) y (DC + CaE) con 17,7 y 17,64 cm respectivamente, mientras que el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) es el mas corto con 13,71 cm.

A su vez se observa, que el tratamiento (DC + CaC), se destaca por su mayor ancho de hombros (13,01 cm) respecto a los demás tratamientos.

En la gráfica 10, se observa que no hubo diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos para el caso de la densidad del racimo, pero se observa que el tratamiento (DC) tiene una densidad de 1,33 gr/cm³, mientras que en tratamiento (DC + CaC) se encontró una densidad de 1,16 gr/cm³.

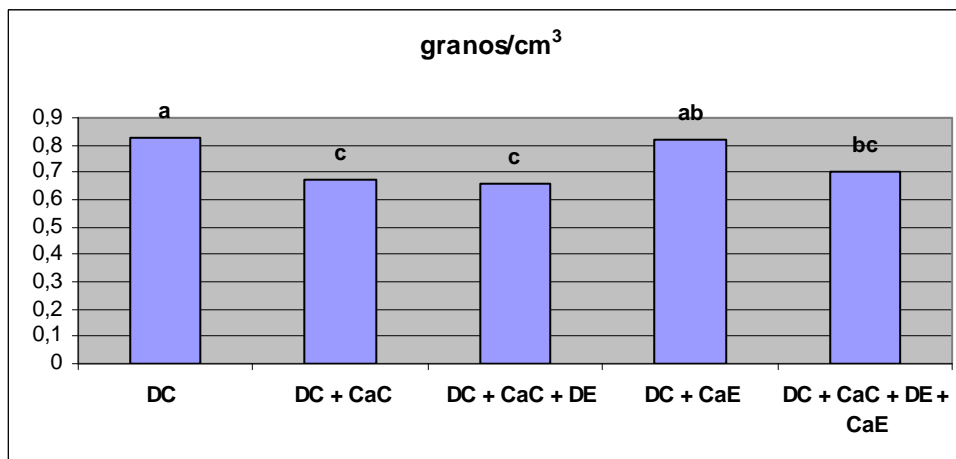
Gráfica 10. Densidad de racimos promedio, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Al determinar la compacidad del racimo para todos los tratamientos, se observaron diferencias significativas, observándose que el tratamiento (DC) tiene la mayor compacidad con 0,83, mientras que los tratamientos (DC + CaC + DE + CaE), (DC + CaC) y (DC + CaC + DE) son los que tuvieron menor compacidad con respecto a (DC) mostrando los siguientes valores 0,7, 0,67, y 0,66 respectivamente como se muestra en el gráfico 11.

Gráfica 11. Compacidad (granos/cm³), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

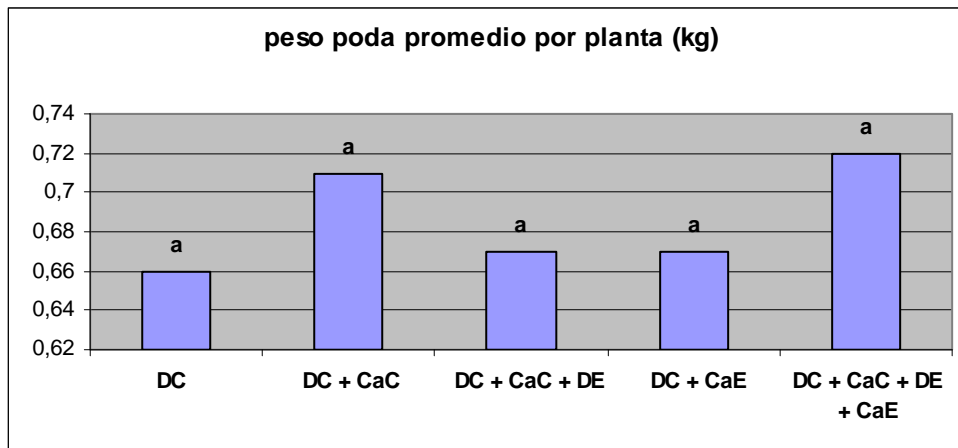
Como podemos ver en el gráfico anterior (11), todos los tratamientos que tuvieron la aplicación de Calcio en cuajado fueron estadísticamente significativos respecto al testigo (DC), observándose una menor compacidad, por lo cual podemos inferir que con la aplicación de Calcio en cuajado logramos un tamaño de baya más grande, logrando una menor relación hollejo/pulpa, característica contraria a la apreciada por los enólogos.

A su vez podemos observar que la aplicación de Calcio en envero (DC + CaE), no logra disminuir el tamaño de la baya con respecto al testigo.

4.1.3 Producción vegetativa e índices de respuesta

En la gráfica 12, podemos observar el peso de poda por planta para cada tratamiento, notándose que no hay diferencias significativas entre los mismos.

Gráfica 12. Peso promedio de poda por planta (kg), para cada tratamiento.

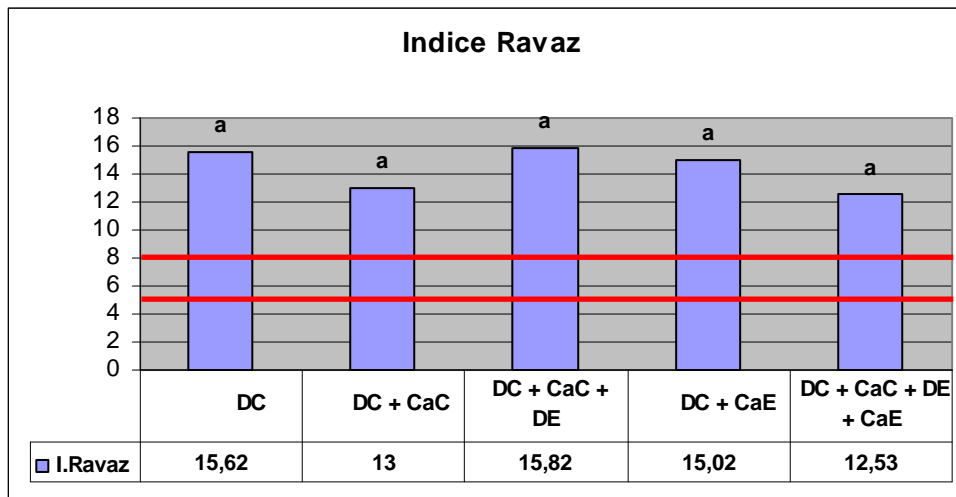


Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Como no se observaron diferencias significativas en la cantidad de fruta y en los kilos de poda por planta entre los todos los tratamientos, es de esperarse que el índice Ravaz, también mantuviera dicha tendencia, como se muestra en la gráfica 13.

Hay que destacar que en todos los tratamientos se observa que exceden los valores de una planta equilibrada calculado para el caso de *Tannat*, que esta entre 5 y 8 según datos aportados por Ferrer et al. (1997).

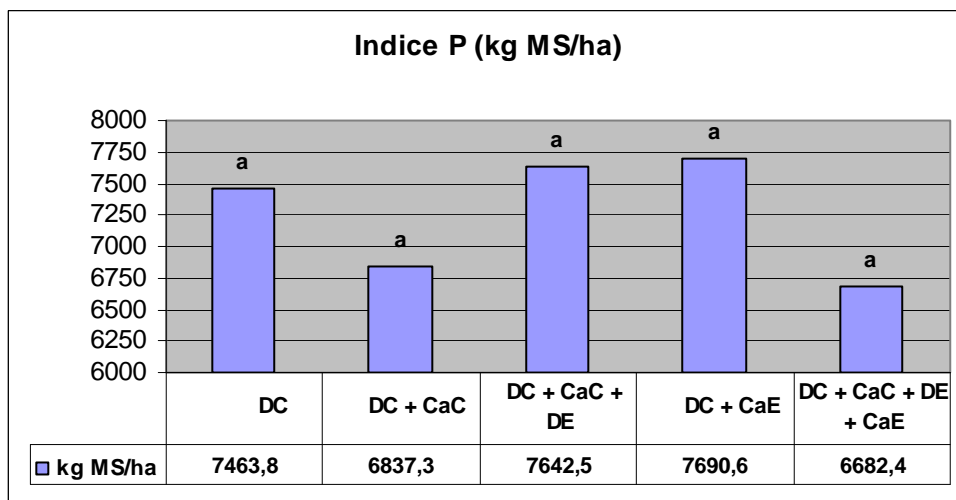
Gráfica 13. Índice Ravaz, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Como también se puede observar en la gráfica 14, en la cual se estableció el índice de Producción de Materia Seca (kg MS/há) para cada tratamiento, no encontrándose diferencias estadísticas significativas.

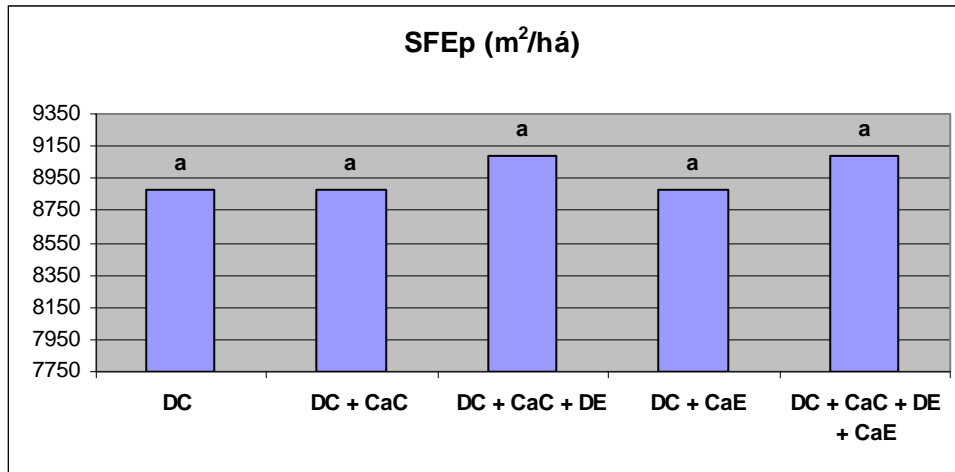
Gráfica 14. Índice de Producción Materia Seca, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En el gráfico 15 podemos observar la Superficie Foliar Expuesta potencial (SFEp), la cual mide la eficiencia fotosintética potencial, observándose que no se dan diferencias significativas entre los tratamientos que tienen el deshojado en enero (DE) con $9085 \text{ m}^2/\text{há}$ y aquellos que no se les deshojó en enero con $8877 \text{ m}^2/\text{há}$, dándose una diferencia de 2,31 % entre ambos grupos.

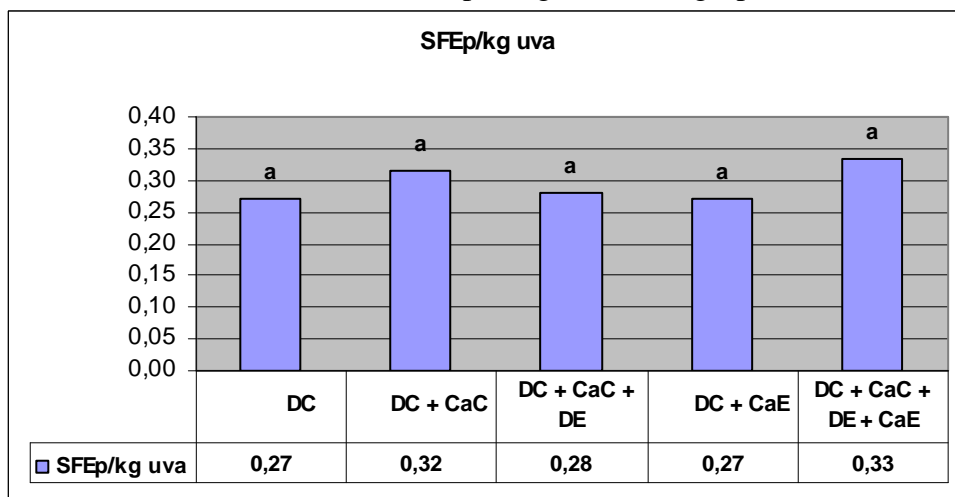
Gráfica 15. Superficie Foliar Expuesta potencial (m²/há), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En el siguiente gráfico (16), se muestran la eficiencia fotosintética potencial por kilo de uva (SFEP/kg uva), notándose que en todos los tratamientos se obtienen valores más bajos a lo ideal, que se encuentran entre 0,6 y 1,04 m²/kg para la Lira según Carbonneau (1996). Estos valores eran esperados debido a que no se les realizó un raleo de racimos, a su vez se puede notar que no se dieron diferencias significativas entre los tratamientos.

Gráfica 16. Eficiencia fotosintética por Kg uva (m²/kg), para cada tratamiento.



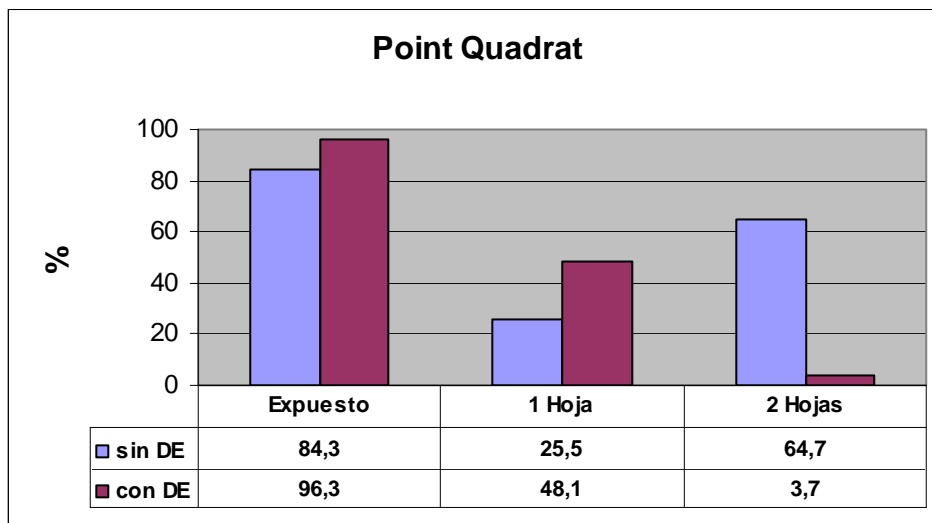
Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En el siguiente grafico (17), se observa la exposición de los racimos entre los tratamientos que tuvieron deshojado en enero (DE) y aquellos que no se les realizó dicho deshojado, observándose que en los tratamientos en las cuales se les realizó el (DE), una mayor exposición de los racimos con respecto con los tratamientos sin (DE).

Hay que aclarar que dicha evaluación se realizó a la altura del primer alambre, en la cual se encuentra en la zona de los racimos.

A su vez, se puede notar una mayor proporción de racimos con una hoja en los tratamientos con (DE) y una proporción casi insignificante de racimos con 2 hojas, respecto a los tratamientos que no se les realizo un deshojado en enero, esto se puede explicar debido a un mayor control del follaje a nivel de los racimos.

Gráfica 17. Point Quadrat, para cada grupo de tratamientos.



En el cuadro (4), se puede observar los índices del Point Quadrat, los cuales nos dan una idea de la distribución de las hojas y de los frutos en el espacio y nos proporciona una descripción cuantitativa de la cubierta vegetal.

En el % Gaps (aberturas), podemos notar que en los 2 grupos de tratamientos no se alcanzan a los valores óptimos propuestos por Smart y Robinson (1991), explicado por el gran vigor de las plantas.

En el número de capas de hojas, se logra un valor óptimo en los tratamientos con deshojado en enero (DE), mostrando que con la realización de dicho deshojado se alcanza una mejor gestión del follaje.

En el % de hojas interiores, notamos que en ambos grupos de tratamientos no se logran los valores óptimos. Esto se puede explicar, principalmente para los tratamientos con (DE), que solamente se deshojó a nivel de los racimos, mientras que aquellos lugares en que no había racimos, no se realizaron deshojes, de esa manera se permitió que dichas hojas interiores permanecieran.

Mientras que los % de racimos interiores, se superan los valores óptimos, confirmando que con el deshojado logramos una mejor exposición de los racimos, maximizándose aún más con la realización del deshojado en enero (DE).

Cuadro 4. Índices de Point Quadrat, para cada grupo de tratamientos.

	Tratamientos con DE	Tratamientos sin DE	Valores óptimos
% Gaps =	15,00%	3,33%	entre 20-40 %
nº capas hojas =	1,3	2,03	1,0 - 1,5 o menos
% hojas interiores =	28%	42,60%	< 10 %
% racimos interiores =	3,70%	15,70%	< 40 %

4.2 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE LA SANIDAD

Antes de analizar los distintos efectos de los tratamientos sobre las podredumbres, hay que resaltar que en el cuadro en la cual se realizó el experimento, se encuentra en:

- la transición de una ladera y un bajo (más humedad),
- un suelo profundo (alta fertilidad),
- se realizó poda corta (racimos más compactos),
- ausencia de estrés hídrico en floración, cuajado y enero (estimación del potencial hídrico),
- predominancia de leguminosas en la entrefila (alta correlación con la incidencia de podredumbre).

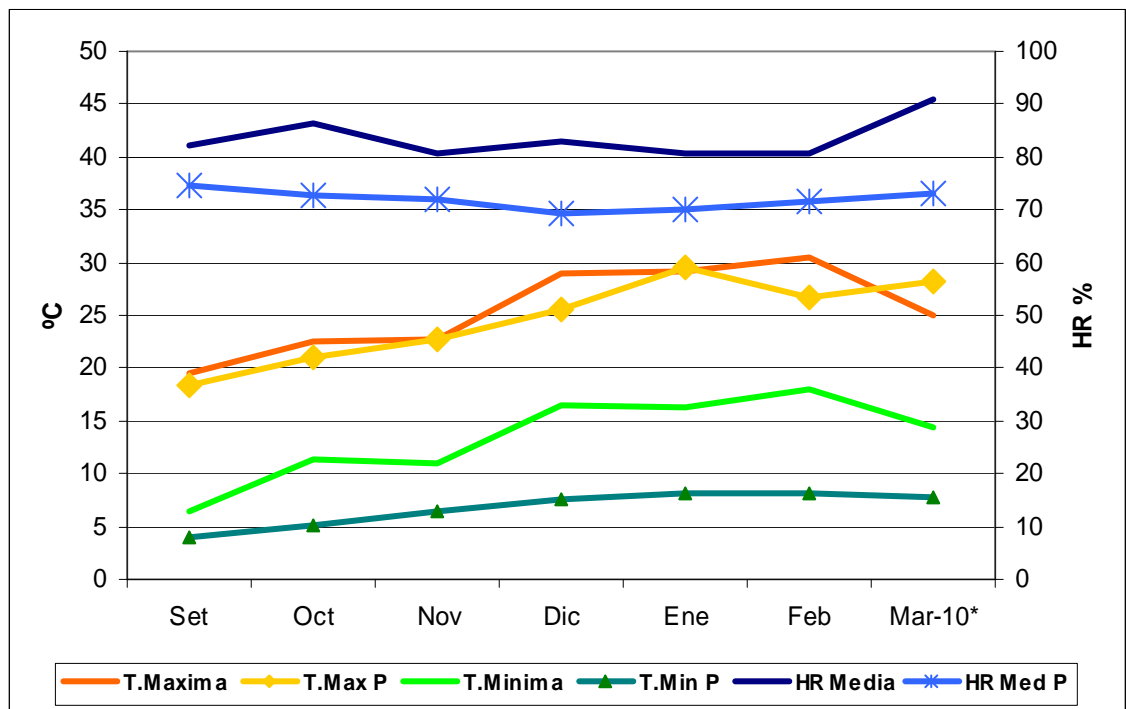
Por la cual se esperaba una alta incidencia y severidad, debido a que se dan todas las condiciones para que dicha enfermedad se exprese y desarrolle.

Podemos observar en la gráfica siguiente (18), las temperaturas máxima media, mínima media y el % de humedad relativa registrada para la zona entre los años (1972-2005), según datos de la estación INIA Las Brujas, y las temperaturas máxima, mínima y el % HR para el período en que se realizó el experimento (2006-2007).

Se observa que durante la realización del experimento:

- fue mas húmedo que la media de los últimos 40 años,
- la temperatura media mínima fue más alta que la media histórica,
- la temperatura media máxima no registra variaciones de importancia en comparación con la media histórica (1972-2005).

Gráfica 18. Condiciones ambientales históricas (1972-2005) y experimentales (2006-2007)
* Valores de los 1^{eros}. 10 días de Marzo



T. Maxima.....HR Media: se refiere a los datos del ciclo 2006-2007

T. Max P.....HR Media P: corresponde a los valores de medias históricas

Se puede observar en el siguiente cuadro (5), la cantidad de lluvia que se dio durante el experimento, pudiéndose notar que se registraron lluvias mayores a la media histórica (1972-2005), según datos del INIA Las Brujas, entre el período comprendido entre el desborre y la cosecha, destacándose un incremento de las precipitaciones con respecto a la media histórica de 57,2 mm. en todo el ciclo.

También se puede resaltar que el mes de setiembre cayó un 50 % menos de agua, y en el mes de enero, prácticamente no se registraron lluvias.

Mientras que en los meses de octubre, diciembre, llovió 35 y 62 % más que la media histórica respectivamente.

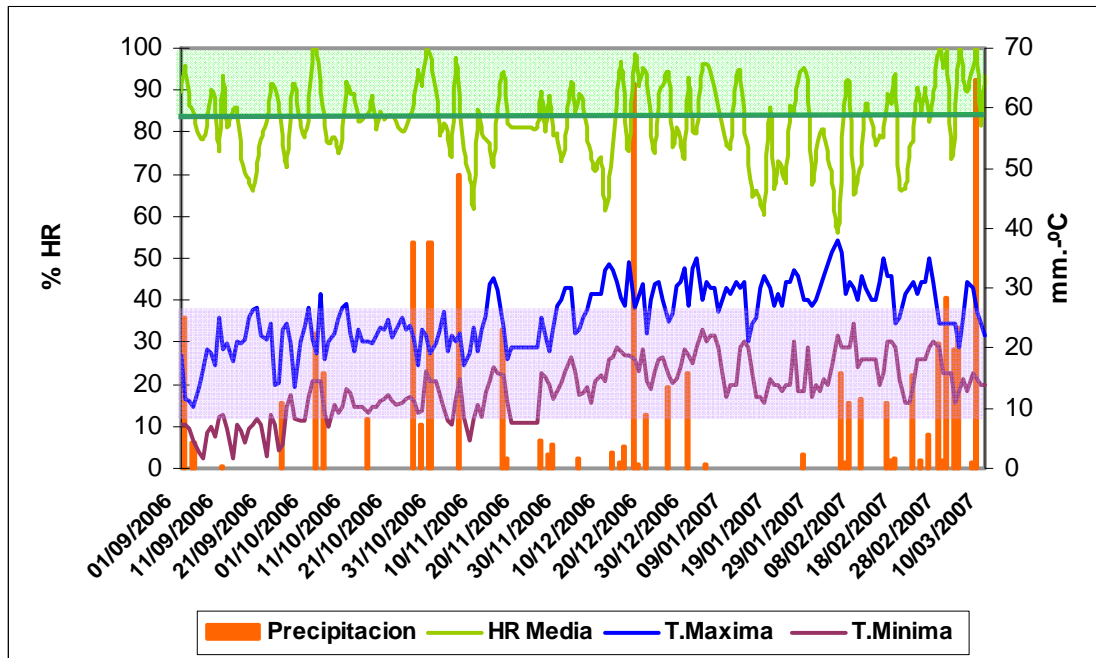
Pero la diferencia más importante se da en marzo, registrándose más de cuatro veces y media, la lluvia caída para dicho mes, pero concentrada en los primeros 10 días del mes y previo a cosecha.

Cuadro 5. Precipitaciones históricas (1972-2005) y experimentales (2006-2007).

	Set	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar-10*	Total
Precipitación	40,7	128,9	84,1	111,6	2,9	97,6	137,3	603,1
Precip. Media	81,8	95,4	94,5	69,0	81,2	94,6	29,4	545,9
Diferencia	-41,1	33,5	-10,4	42,6	-78,3	3,0	107,9	57,2

* Valores de los 1^{eros}. 10 días de Marzo

Gráfica 19. Condiciones ambientales (% HR Media, Temp. Máxima Media y Temp. Mínima Media).

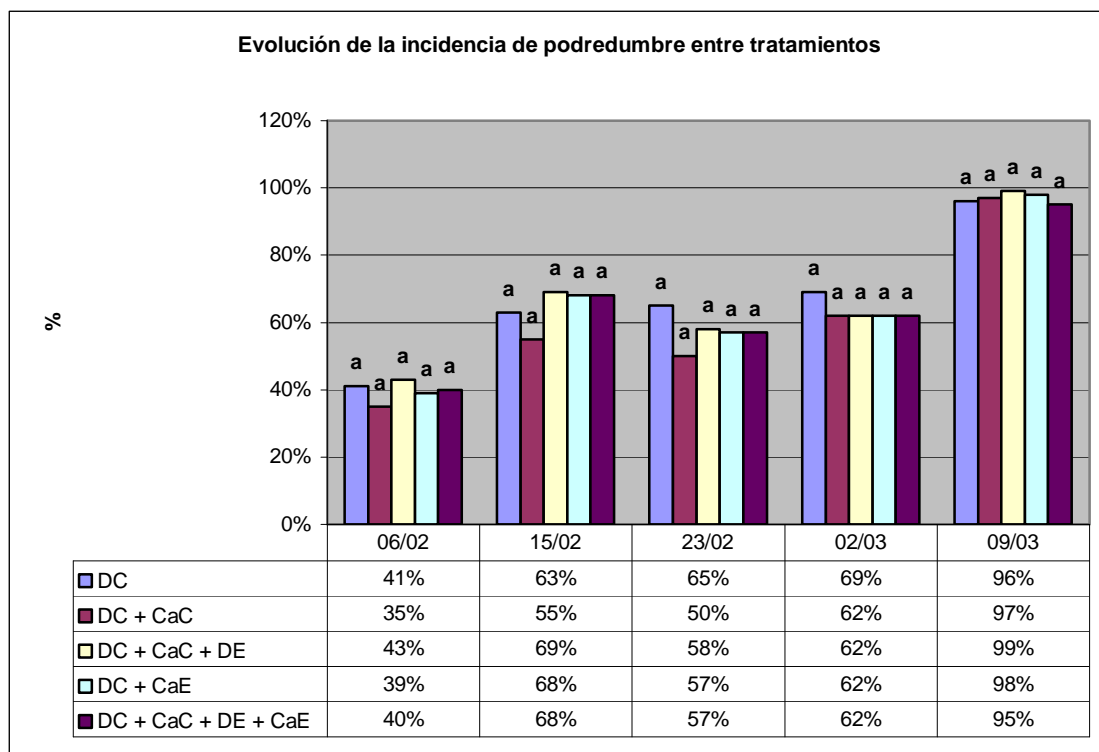


Como observamos en la gráfica 19, a partir del 1/10 se dan temperaturas mínimas diarias por encima de la temperatura mínima histórica, en la cual la *Botrytis* puede desarrollarse y propagarse, en concordancia con Reynier (2005) que reporta que el hongo se desarrolla bien entre los 15 y 20 °C. También en todo el ciclo se dan condiciones de alta HR favorables para el desarrollo del hongo y una alta incidencia de lluvias en todo el ciclo de la viña, en acuerdo con Reynier (2005) con agua de lluvia o una HR superior al 85 % se crean condiciones muy favorables para el desarrollo del hongo. Estos datos nos muestran que en el año 2006-2007 se dieron condiciones ideales para que la *Botrytis* se desarrollara y se propagara en forma explosiva.

También tenemos que tener en cuenta el manejo sanitario que se realizó en el mismo, como podemos ver en el cuadro 2, en la cual podemos notar que no se realizó un manejo sanitario luego del 9/01/07 (antes del envero) hasta la cosecha.

En el cuadro 6, podemos observar el grado de incidencia de ataque de la podredumbre (*Botrytis* + Podredumbre ácida) que se obtuvieron en los distintos muestreos durante la maduración, en la cual podemos destacar que en todas las fechas y entre todos los tratamientos no se dieron diferencias significativas.

Cuadro 6. Incidencia de ataque de la podredumbre, para cada tratamiento.



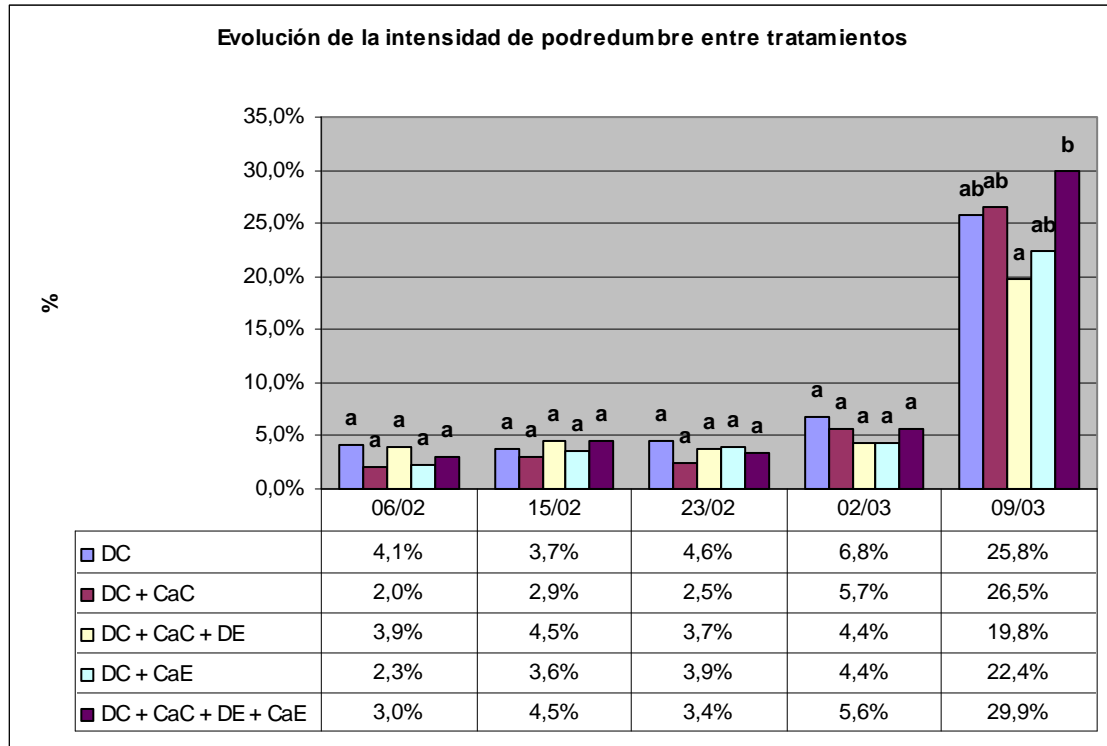
Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Se tiene que destacar que la podredumbre ácida tiene una mayor participación en los 2 primeros muestreos y luego empieza a perder peso en la incidencia total de la misma, hasta que en el último muestreo la incidencia de podredumbre ácida es mínima, como vamos a ver más adelante en el cuadro 8, se observa que la tendencia es igual que la de la Podredumbre gris.

En el cuadro 7, podemos observar, que solamente en el día antes de la cosecha (9/02/07) se observó una diferencia significativa entre los tratamientos (DC+ CaC + DE) y (DC + CaC + DE + CaE), pero no se diferencian significativamente del testigo (DC).

La mayor participación de la podredumbre ácida se da en los 2 primeros muestreos, para luego empezar a bajar hasta desaparecer en cierta medida porque es cubierta por el hongo en los últimos muestreos, como vamos a ver más adelante en el cuadro 9, se observa que la tendencia es igual que la de la Podredumbre gris.

Cuadro 7. Intensidad de ataque de la podredumbre, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

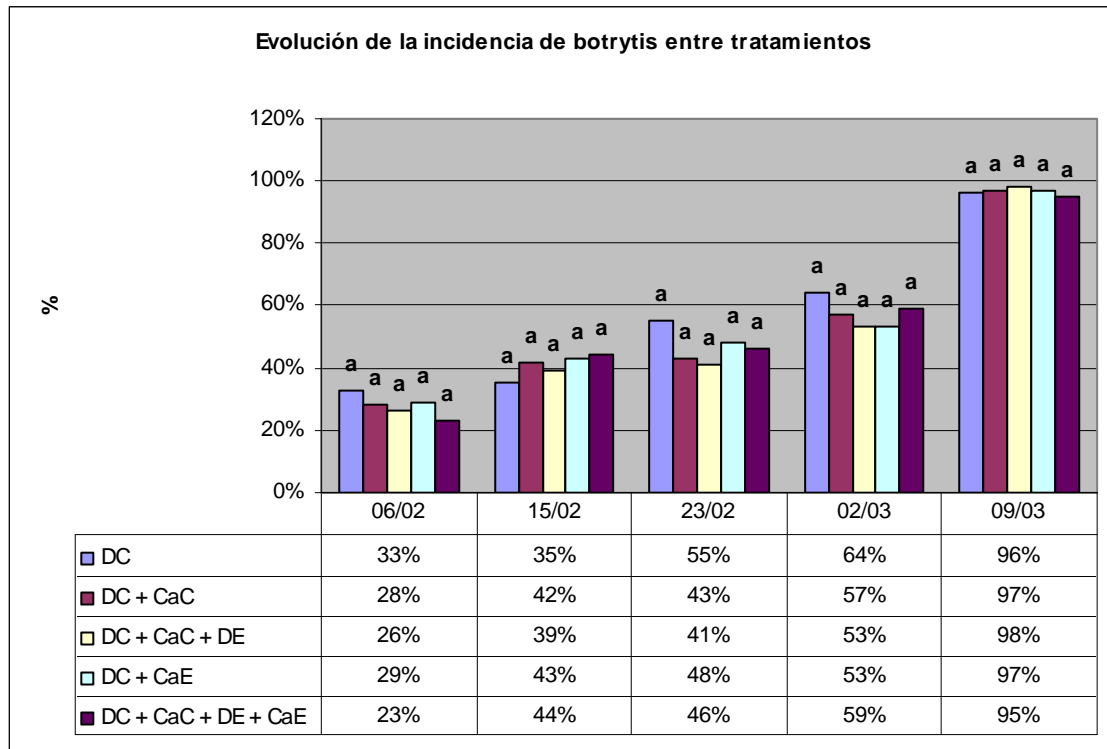
4.2.1 Efecto de los tratamientos sobre la podredumbre gris

En el siguiente cuadro 8, podemos observar los datos muestreados para la frecuencia de ataque o el grado de incidencia para cada uno de los tratamientos y podemos observar al momento de realizar el primer muestreo una incidencia importante en todos los tratamientos, esto es debido a que entre los días 4-7/02/07 llovió 27,7 mm. y con una temperatura máxima de 30 °C y una mínima de 21 °C, dándose las condiciones ideales (la infección ocurre entre los 12 y 30° C, después de solo 4 horas de baya mojada) para la propagación de la *Botrytis sp.*, de acuerdo a los trabajos reportados por Jarvis (1977), Broome et al. (1995).

El 15/02/07, podemos notar un nuevo avance del hongo debido a que en la madrugada del día 15 precipito 10,3 mm. y las altas temperaturas (30 °C) del día, favorecieron a una nueva diseminación del hongo.

En el muestreo realizado en el día 23/02/07, se observa un nuevo avance del hongo debido a que continúan las condiciones predisponentes para el desarrollo y dispersión del hongo, debido a que entre los días 21-23/02/07, llovieron 16,7 mm., con temperaturas máximas de 30 °C y mínimas de 16 °C, observándose un mayor impacto en el tratamiento (DC).

Cuadro 8. Incidencia de ataque de *Botrytis sp.*, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

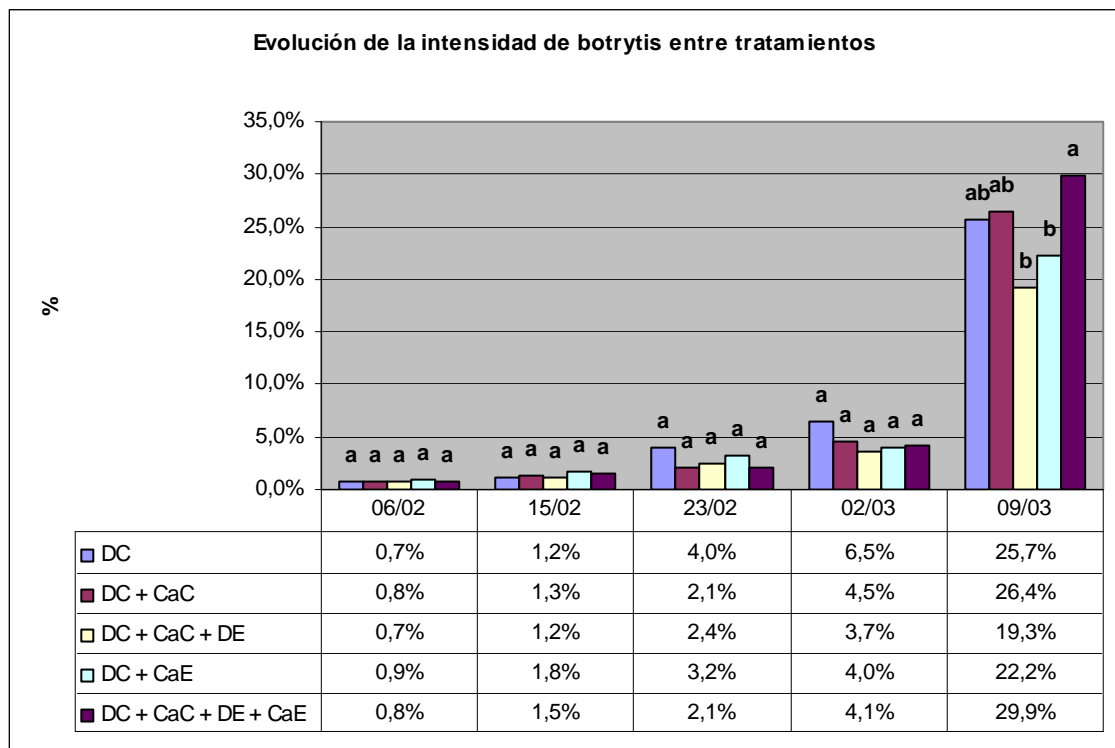
En el día 2/03/07 se realizó un nuevo muestreo, esperándose una evolución del hongo debido a que entre los días 25/02 y 1/03/07 llovió 56 mm. con una temperatura máxima media de 28 °C y una mínima media de 18 °C, se observó un incremento importante de la dispersión del hongo, pero se observa una importante tolerancia en el tratamiento (DC + CaE), debido a que prácticamente creció muy poco del 23/02 al 2/03.

El día 9/03/07 se realizó el último muestreo, previo a la cosecha, con el antecedente de tener una semana previa con muchas lluvias (109 mm), destacándose el día anterior, que llovió 64,6 mm y la ocurrencia de un temporal con mucho viento; lo que provocó una presión tal que quebró todo mecanismo de resistencia.

En el cuadro siguiente (9), podemos observar los datos evaluados respecto a la intensidad de ataque de la *Botrytis sp.* en los racimos, notándose que no hay diferencias

significativas entre los diferentes tratamientos excepto en el último muestreo previo a la cosecha. Se observa un gran incremento de la intensidad en todos los tratamientos debido a que la semana previa hubo una temperatura máxima media de 26 °C y una mínima de 14 °C, a la vez que precipitó 109 mm de agua, dándose las condiciones para que el hongo se propague, debido a que la lluvia y el viento son los principales medios que el hongo tiene para propagarse.

Cuadro 9. Intensidad de ataque de *Botrytis sp.*, para cada tratamiento.



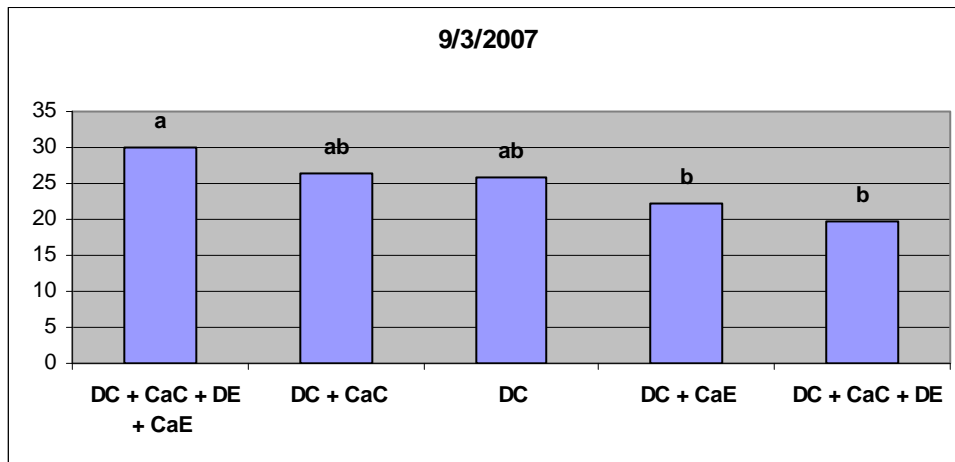
Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

A su vez podemos observar que se dieron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) (mayor intensidad de ataque) y los tratamientos (DC + CaE) y (DC + CaE + DE) (menor intensidad de ataque), mientras que los tratamientos (DC) y (DC + CaC), no tuvieron diferencias significativas con los demás tratamientos, como podemos observar mas claramente en la gráfica 17.

Si nos fijamos nuevamente en el cuadro 7, el tratamiento (DC + CaE) no tiene diferencias significativas entre los tratamientos si le sumamos a la podredumbre ácida, mientras que en el cuadro 5 este mismo tratamiento logra ser significativo respecto al tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) si consideramos solo la Podredumbre gris.

Un dato a tener en cuenta, al analizar los cuadros 7, 9, 10 y 12 en la cual se muestra la evolución de la intensidad o severidad de ataque, es que debido a la metodología que se aplicó en el muestreo (muestreo al azar) y las características del diseño (tamaño unidad experimental), hacen que los datos levantados en el muestreo no sea fiables dada la gran variabilidad que hay entre las unidades experimentales, debido a que el muestreo no refleja lo que se ve a nivel de campo en cuanto a la intensidad, por lo cual se recomienda realizar determinados ajustes para poder mejorar su precisión (marcar racimos, duplicar unidades experimentales y menor número de plantas por unidad experimental (5)), mientras que el muestreo para evaluar la incidencia de ataque, en concordancia con Piccardo (2008), esta metodología se ajusta muy bien para determinarla de manera fiable.

Gráfica 17. Intensidad de ataque de *Botrytis sp.* en el último muestreo previa a la cosecha (9/03/07), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

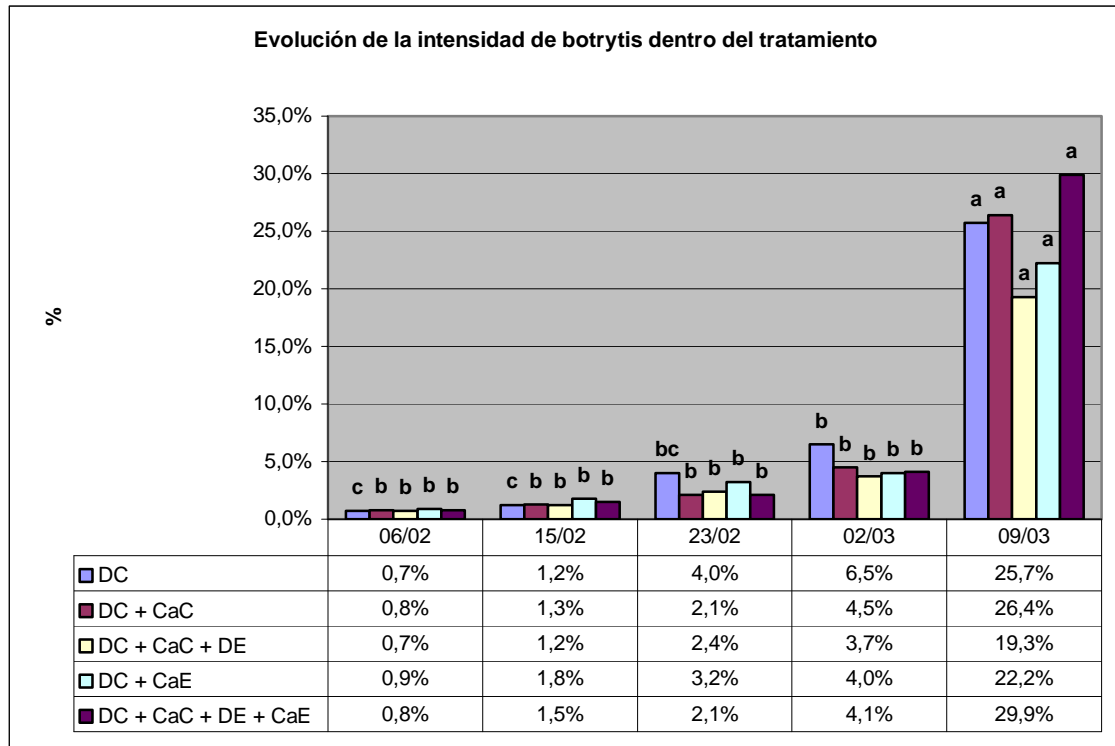
Si analizamos la evolución del hongo en la intensidad de ataque dentro de cada tratamiento (cuadro 10), se pudo constatar que todos los tratamientos menos el tratamiento (DC), no tuvieron diferencias significativas entre las distintas fechas evaluadas a excepción de la última.

Mientras que en el tratamiento (DC), se observa, que hay diferencias significativas entre fechas, lo que sugiere que en dicho tratamiento hay un menor impedimento para el desarrollo del hongo respecto a los demás tratamientos.

En oposición a los trabajos reportados por Bledsoe et al. (1988), English et al. (1990), Howell et al. (1994), Percival et al. (1994), Sipiora (1995), ITV (1998), Bitón (2003), que afirman que el deshojado en cualquier momento fenológico de la vid (principalmente en variedades vigorosas) se limita el desarrollo del hongo, disminuyendo su incidencia y severidad explicada por un mayor efecto de los rayos

solares directos, una mejor aireación, un descenso de la humedad en la zona de los racimos y una mejor llegada de los productos fitosanitarios; en este trabajo no se logró bajar la incidencia y severidad de la *Botrytis*, posiblemente debido a las condiciones climáticas muy favorables para el desarrollo del mismo.

Cuadro 10. Intensidad de ataque de *Botrytis sp.*, dentro de cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En el momento de la cosecha, se pesaron los kilos por planta de fruta cosechada y a la vez se estimó cuanto de ella estaba sana y cuanto estaba afectada con *Botrytis sp.*, para cada tratamiento.

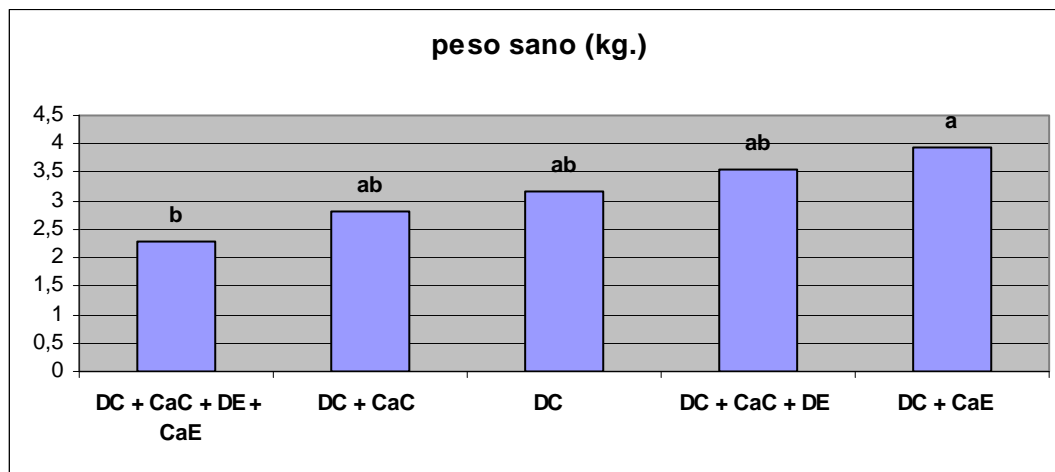
Hay que destacar que en el trabajo no se observaron daños a nivel del racimo por quemado de sol.

Se determinó, que en el caso de la cantidad de fruta con presencia del hongo, no tenía diferencias significativas entre tratamientos.

Pero en el caso de los kilos que presentaron buenas condiciones, se observaron diferencias significativas entre el tratamiento (DC + CaE) (3,93 kg) y el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) (2,28 kg), mientras que en los demás tratamientos no se observaron diferencias significativas entre los demás tratamientos, como se muestra en la gráfica 21.

Esta diferencia entre los tratamientos se debe, a que, debido a la metodología de aplicación de calcio y deshojado en envero, en la cual se deshojó primero y luego se aplicó el calcio, nos hace inferir que no se dio tiempo a la baya para asimilar el calcio y así prepararla para el daño que se le causa en el deshojado ya que se encuentra en un estado sensible frente al manipuleo del racimo; por lo cual se logró una respuesta contraria a la deseada.

Gráfica 21. Cantidad de fruta sana (kg) cosechada, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Pero también, hay que tener en cuenta, el daño que se pudo haber realizado con la aplicación de calcio debido a que esta produce pequeñas microfisuras en el hollejo por deshidratación, cuando se dan altas temperaturas, (provocando plasmolisis celular) explicado por el diferencial de presión de vapor, posiblemente causado por un exceso en la dosis de calcio foliar, como lo reportan (Ritter 1956, Mateos de Vicente 2007), debido a que es un compuesto deliquescente (capacidad de disolverse en la humedad que absorbe formando una solución clara extremadamente resistente a la evaporación), aun de haberse diluido tiene la capacidad de seguir absorbiendo agua (por tener una presión de vapor menor que el agua) hasta igualar la presión parcial de la atmósfera o sea tiene actividad desecante.

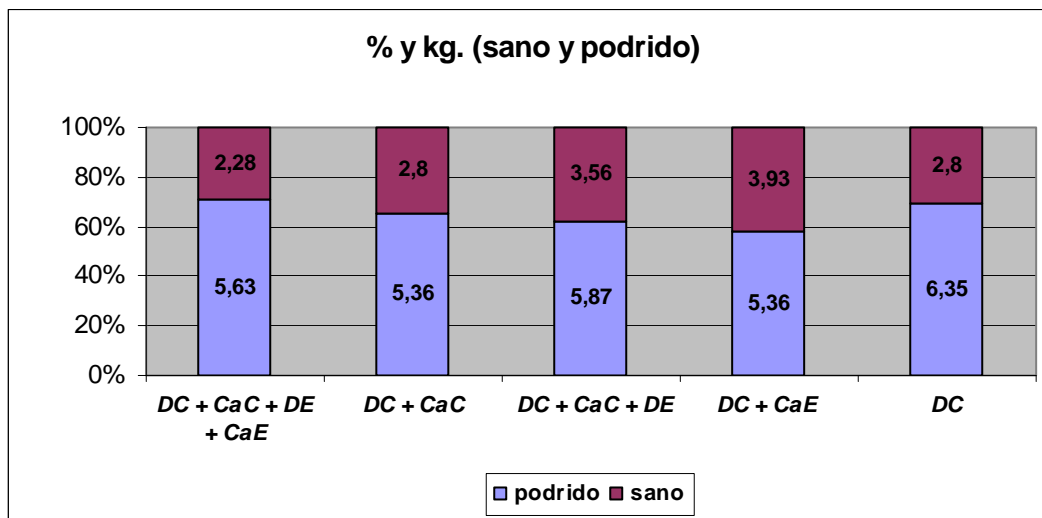
Por lo tanto hay que tener recaudos al aplicar el CaCl_2 , para minimizar dichos problemas, como, no aplicar con temperaturas superiores a $30\text{ }^\circ\text{C}$, debido que a partir de dicha temperatura se cristaliza, no aplicar con suelo húmedo y ajustar el pH del caldo.

También podemos notar, que en el tratamiento en que se aplicó Calcio en cuajado, no se dieron diferencias significativas con el testigo (DC), esto posiblemente se debe a que dicha aplicación se hace cuando no es un momento crítico (cuajado) en la deficiencia de calcio.

Si a la aplicación de Calcio en cuajado lo consideramos que no tiene respuesta, pero le incorporamos el Deshojado en envero se logra un incremento de la producción sana aunque no sea significativa respecto al (DC) y con los tratamientos que tienen solo Calcio en cuajado, observándose con más detalle en la grafica 22.

En la siguiente gráfico 22, podemos visualizar la proporción y cantidad afectada por el hongo entre los diferentes tratamientos, observándose que en el tratamiento (DC) se obtuvo un 66,7 % de la producción afectada por el hongo y en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) se obtiene un 71,2 % de la producción afectada, mientras que en tratamiento (DC + CaE) se obtiene la menor proporción afectada por el hongo (56,4 %).

Gráfica 22. Cantidad y porcentaje de fruta sana e infectada cosechada (kg), para cada tratamiento.



A su vez podemos observar, que con los tratamientos (DC + CaC + DE) y (DC + CaE), se lograron la mayor cantidad de kilos de fruta sana por planta (3,56 y 3,93 kg respectivamente).

Mientras que en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se logro la menor cantidad de fruta sana por planta (2,28 kg).

Antes de discutir estos resultados, hay que aclarar que el rendimiento total por planta (sana + infectada), no se detectaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

Si lo miramos desde el punto de vista productivo, podemos observar que realizando el deshojado en cuajado con la aplicación de Calcio en envero, logramos una mayor producción de fruta sana por planta (3,93 kg), o sea 1,13 kg más que el testigo,

esto sería a que se aplica en el momento crítico (envero), a partir de la cual la baya empieza a disminuir la presencia de calcio en la cutícula, lo que logramos atenuar dicha deficiencia con la aplicación de calcio, permitiendo que la baya tenga una mejor protección frente a la *Botrytis*.

Con la aplicación de Calcio en cuajado solo, no se logro un incremento de la producción respecto al testigo, esto podría ser explicado por la sensibilidad de la baya respecto al momento de aplicación.

Pero podemos observar que con el deshojado en envero se logra 0,76 kg más por planta, debido a que se logran mejores condiciones microclimáticas de ventilación.

Mientras que en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se observa que se logro un menor rendimiento por planta de fruta sana, esto es debido a que, como explicamos en párrafos anteriores, la metodología de aplicación de calcio y deshojado en envero no fue la correcta, por lo cual se provocaron mas vías de entrada para la colonización del hongo; como podemos ver se promovió un efecto antagónico entre el DE y la aplicación de CaE.

4.2.2 Efecto de los tratamientos sobre la podredumbre ácida

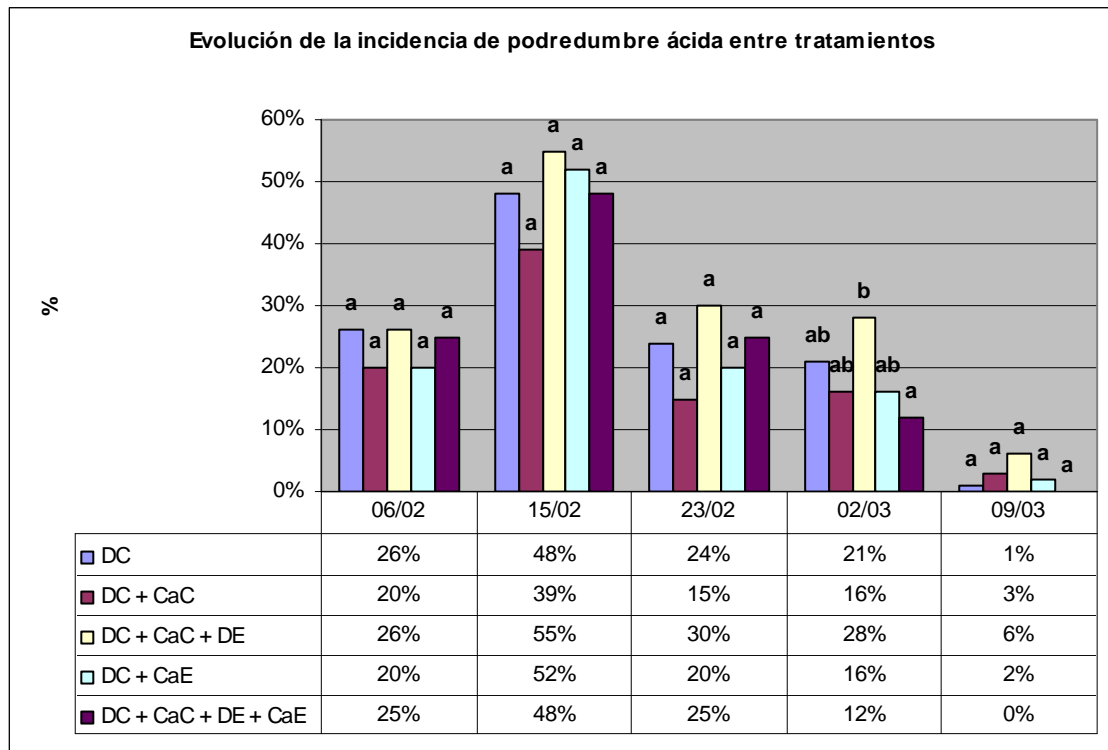
En el siguiente cuadro 11, se muestra la evolución de la frecuencia de ataque de la podredumbre ácida hasta el momento de la cosecha, y podemos observar que al realizar el primer muestreo se encuentra en una proporción importante en todos los tratamientos, la presencia de la podredumbre ácida, debido a las altas temperaturas predominantes y a la precipitación que en los 3 días previos al muestreo de 27,7 mm, en concordancia con Reynier (2005) favorecieron a la propagación de las levaduras y bacterias acéticas y lácticas que causan dicha enfermedad, a la vez que se constató una presencia importante de la mosca *Drosophila*, que actúa como vector provocando la dispersión de la enfermedad, a su vez, al ser plantas vigorosas son más receptivas ya que tienen racimos más compactos, en los cuales los granos explotan más fácilmente, como lo describe Reynier (2005).

El día 15/02/07, se realiza un nuevo muestreo, y teniendo en cuenta que las altas temperaturas se mantenían (30,5 °C máx. y 18,8 °C mín.) y a su vez en la semana previa llovió 21, 9 mm, se esperaba una mayor incidencia de la enfermedad en el viñedo, que se corroboró por una mayor presencia de *Drosophilas* en el campo, mostrando un aumento importante en todos los tratamientos en el entorno del 50 %, menos en el tratamiento (DC + CaC), que se propagó en una menor proporción (39 %).

En el tercer muestreo (23/02/07), se observó un retroceso de la podredumbre ácida en todos los tratamientos en forma importante, a pesar de que llovió 19,7 mm de agua, a la vez que la temperatura media máxima fue de 29,2 °C y la mínima de 16,5 °C..

La posible explicación de esta disminución sería a que en la semana previa se dio la ocurrencia de 4 noches frescas en forma continua (15, 11, 11 y 14°C), lo que pudo afectar la población de *Drosophilas* y provocó una mortalidad importante de los patógenos. Además este descenso se debe a que se enmascara con la *Botrytis sp.*, ya que la podredumbre ácida genera vías de entrada al hongo, por lo cual es muy común que dichos lugares sean ocupados por la *Botrytis sp.*

Cuadro 11. Incidencia de ataque de la podredumbre ácida, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

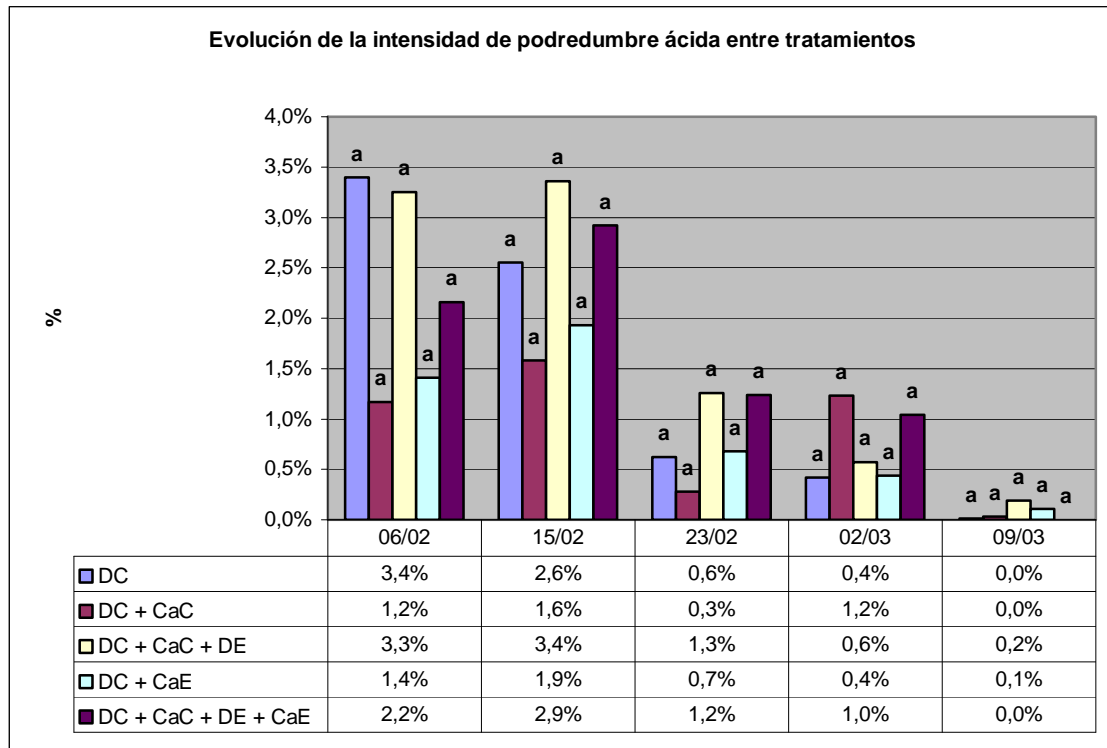
En el siguiente muestreo (2/03/07), se observa una diferencia estadística significativa entre el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) y el tratamiento (DC + CaC + DE), mientras que en los demás tratamientos no se encontraron diferencias entre los mismos.

Hay que destacar que estos valores no son confiables porque la presencia de esta enfermedad esta atenuada por la presencia de *Botrytis*, lo que hace que los datos levantados en el muestreo sean variables.

Mientras que en el último muestreo (9/03/07), apenas se pudo identificar los síntomas de la enfermedad debido principalmente a que el hongo *Botrytis sp.*, enmascaró totalmente la evidencia de la podredumbre ácida.

En el cuadro 12, se muestra la evolución de la intensidad de ataque de la podredumbre ácida para todos los tratamientos.

Cuadro 12. Intensidad de ataque de la podredumbre ácida, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Como podemos observar, solamente en los tratamientos (DC + CaC + DE) y (DC), con 3,2 % y 5,2 % respectivamente para el primer muestreo y en el segundo muestreo con 3,36 % y 2,55 % respectivamente, se constató una intensidad importante en el racimo, mientras que para los demás tratamientos la intensidad no tiene proporciones de importancia en todos los muestreos realizados.

Nuevamente hay que aclarar que desde el tercer muestreo (23/02/07), estos valores, están enmascarados por la Podredumbre Gris, lo que hace que estos datos no sean representativos de la evolución real de la podredumbre ácida.

Con los datos de incidencia y severidad de podredumbre ácida, se puede deducir que el *Tannat* presenta sensibilidad a la misma, favoreciendo de esta manera a la colonización del hongo de la *Botrytis*.

Los manejos realizados en los distintos tratamientos no fueron eficaces en el control de la podredumbre ácida para el período en que se realizó el experimento, recomendándose tratamientos con cobre para endurecer el hollejo de la baya y facilitar su cicatrización como recomienda Reynier (2005).

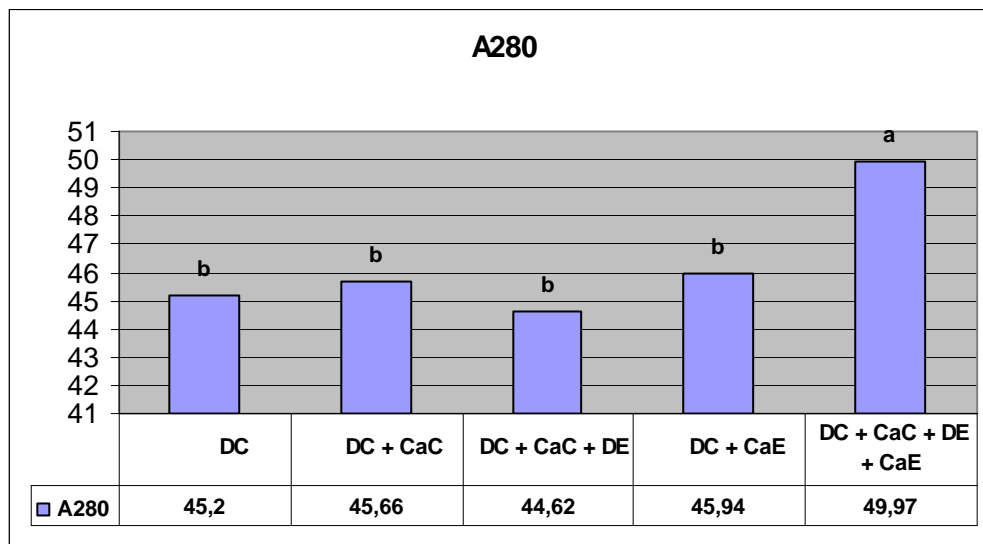
A pesar de que el deshojado (DC y DE) y la aplicación de Ca^{++} (CaE), disminuyeron la carga de *Botrytis*, no fue suficiente para bajar la misma a niveles aceptables debido a la fuerte presión de la enfermedad en los años en que se realizó el experimento; por lo tanto se recomienda complementarlo con otros manejos para bajar la carga del hongo como:

- Raleo de racimos, con el objetivo de equilibrar la planta pero a su vez, bajar la carga del inóculo.
- Cambiar a poda larga, debido a que se obtienen racimos más sueltos y por lo cual se logra una mejor ventilación de los mismos.
- Cuidar fertilización nitrogenada para evitar un exceso de vigor de la planta.
- Realizar un manejo de la vegetación de la entrefila teniendo en cuenta su composición botánica, debido a que las leguminosas aumentan las condiciones de humedad y aumentan la fertilidad del suelo por su aporte de N, mientras que las gramíneas aumentan el drenaje y bajan las condiciones de humedad del suelo. También se tiene que tener en cuenta la altura de la pastura, porque a una mayor altura del mismo se dan mayores condiciones de humedad favoreciendo las condiciones para el desarrollo del hongo.
- Realizar un uso preventivo en forma estricta de fungicidas en floración, antes cierre de racimos, envero y maduración.
- Realizar monitoreos para evaluar y realizar un seguimiento de la incidencia y severidad en racimos.
- Realizar un monitoreo de las condiciones ambientales como % HR y temperatura media, con la cual podemos usar la curva de infección de *Botrytis* Stellwaad-Kittler, los que nos permite tener una herramienta como soporte en la toma de decisiones en el control de la enfermedad.

4.3 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE LA CALIDAD DEL MOSTO

En el siguiente gráfico 23 se muestran los datos de la riqueza fenólica de la uva A280 (U.A.) para todos los tratamientos y podemos observar que solamente en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) se obtiene una diferencia significativa.

Gráfica 23. Riqueza Fenólica A280 (Unidades de Absorbancia), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Esta diferencia significativa que se observa en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se podría explicar, comprendiendo el rol que tiene el calcio en la síntesis de compuestos fenólicos.

Pero la causa mas probable de esta diferencia de riqueza fenólica del tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), seria de acuerdo a varios autores a que la actividad PAL aumenta con la intensidad del daño, en la que juega un rol importante en la activación de la síntesis y acumulación de compuestos fenólicos, que representa el principal factor clave en los mecanismos de defensa inducible en las plantas a través de la vía del fenilpropanoide (Matern y Grimming 1994, Dangl et al. 2000), provocados por la *botrytis* en este caso.

Entonces, según lo expuesto por Kawai et al. (1995), Castañeda y Perez (1996), Wang et al. (2004), Agarwal et al. (2005) principalmente, en el capítulo 2.5.1, se puede deducir por un lado:

- a que hay un efecto sinérgico en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), entre la aplicación de calcio y la intensidad de daño provocada por la *botrytis*.
- Con los datos evaluados podemos inferir que la aplicación de calcio (2 veces) y la intensidad de daño aumentan la actividad PAL y aumenta en menor medida o estabiliza las actividades de la POD y la PPO respecto a los otros tratamientos con aplicación de calcio, aumentando la síntesis de compuestos fenólicos.

Por otro lado:

- la aplicación de Ca^{++} foliar y la ocurrencia de heridas, así como también, el incremento de la luminosidad y el calor, aumentan la actividad de la sistemina (péptido señal de heridas), logrando que la sistemina despolarice la membrana y permitiendo que el Ca^{++} ingrese al citoplasma celular por una diferencia de gradiente químico.
- la calmodulina y las proteínas quinasas, actúan como moduladores de la concentración del Ca^{++} citosólico, activando las ATPasas y enviando el calcio excedente hacia los organelos y/o el apoplasto, hasta lograr un nuevo equilibrio.
- el Ca^{++} que ingresa al citoplasma estimula la producción de ROS, que además de ser tóxicos para la célula, actúan como 2^{do.} mensajero, actuando como moléculas intermediarias de señalización que regulan la expresión de los genes asociados con los mecanismos de defensa de los antioxidantes, llevando a un descenso posterior en el ROS y la peroxidación de lípidos en el largo plazo.
- el incremento de la producción de ROS aumenta la actividad de la NADPH oxidasa, que actúa en la señalización redox y consecuentemente en la regulación de la actividad de las enzimas antioxidantes.

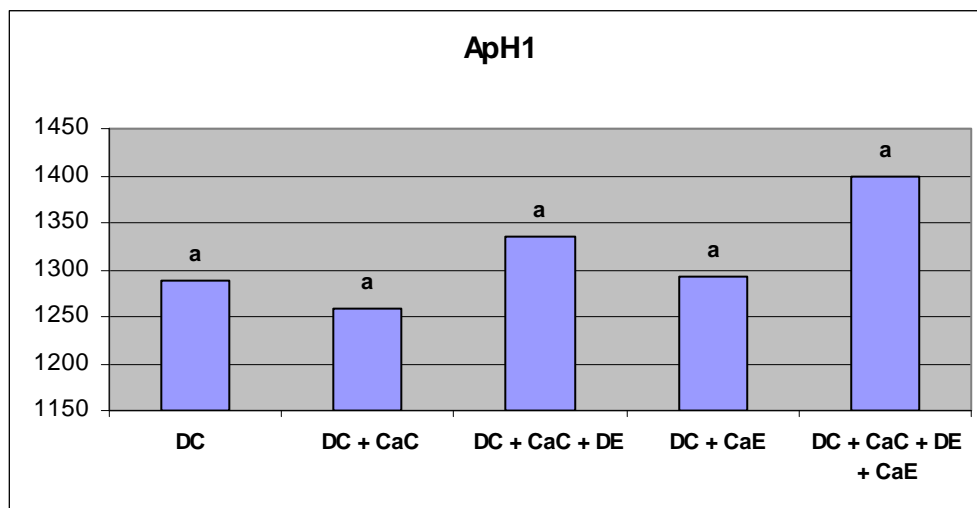
En el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), el único que tiene diferencias significativas con los demás tratamientos, se puede evidenciar que hay un efecto sinérgico importante entre la aplicación de Ca^{++} (2 aplicaciones) y la intensidad de daño, debido a las condiciones en que se aplicó el Ca^{++} favoreció la colonización del hongo (fue el tratamiento que presentó mayor intensidad y severidad de *Botrytis sp.*). Hay que resaltar que es imposible discriminar cuanto de este aumento se debe a la aplicación de Ca^{++} y cuanto a la presencia del hongo.

En los demás tratamientos en cual se aplicó Ca^{++} se observa que no hubo una diferencia significativa con el testigo (DC), esto puede deberse aun efecto de dosis, la cual no fue suficiente para estimular una mayor producción de polifenoles.

En el gráfico 24 se muestran los datos del potencial de antocianos totales (ApH1) expresados en Unidades de Absorbancia, en la cual se puede observar que entre los diferentes tratamientos no se lograron diferencias significativas, aunque se puede constatar en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) un incremento importante (63 mg/L), expresados como glucósido de Malvidina respecto al tratamiento (DC + CaC + DE).

Según Gonzalez-Neves (2005), la extracción a pH 1, implica la degradación de las membranas celulares de manera de favorecer la liberación de los contenidos vacuolares y así provocar la difusión y solubilización de la totalidad de los antocianos en la uva.

Gráfica 24. Potencial de Antocianos Totales ApH1 (mg/L, como glucósido de Malvidina), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Como podemos observar en el gráfico (24), a pesar de que no se dieron diferencias significativas entre los tratamientos, podemos notar que hay una tendencia favorable a tener un mayor potencial de Antocianos totales en aquellos tratamientos en la cual se le realizaron un deshojado en envero. Esto se puede explicar ya que al realizar dicho deshojado, se mejora la exposición de los racimos y por ende se mejora las condiciones de síntesis de antocianos.

Pero también, como explicábamos en el gráfico 23, la mayor cantidad de calcio podría complementar al deshojado, ya que logra favorecer una mayor síntesis de antocianos.

Esta mayor cantidad de antocianos se podría explicar por la fitohormona etileno, ya que ha sido mostrado que induce respuestas anatómicas y celulares de defensa, esto ocurre luego de un ataque de insectos, heridas mecánicas y/o inoculación de hongos (Watanabe y Sakai 1998, Hudgins et al. 2006).

Entonces de acuerdo con la bibliografía citada anteriormente y los datos evaluados en el trabajo podemos inferir:

- que la diferencia que se observa en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se debe a que los estreses bióticos (*botrytis*) y abióticos (estrés térmico) estimulan la actividad de las enzimas ACS y ACO, incrementando los niveles del etileno que a su vez están regulados por las ERFs dependientes de los factores predominantes, se logra un incremento en la inducción de la expresión de varias enzimas de la vía de los antocianos y que el etileno actúa como un mediador de la señal de daño, induciendo la expresión de defensa celular.
- el deshojado en enero mejora la exposición de los racimos mejorando las condiciones para la síntesis de antocianos.

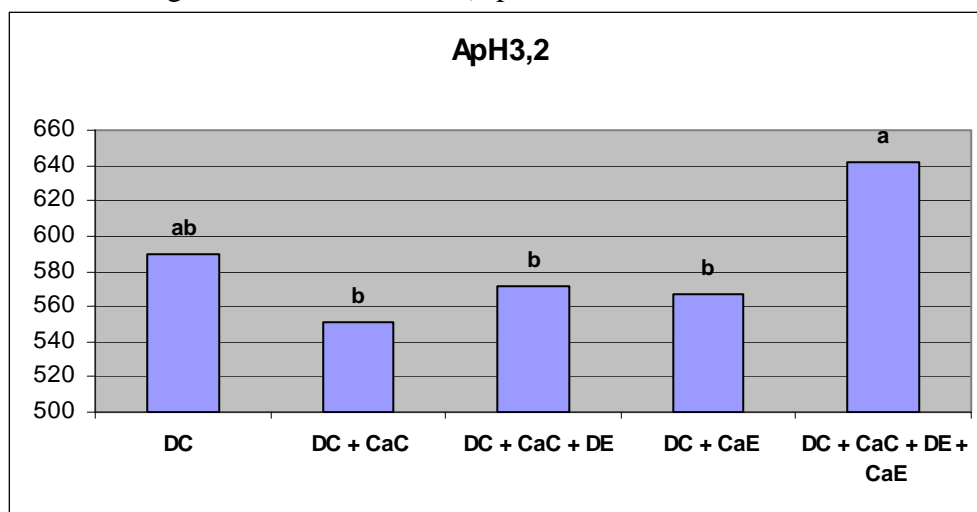
Sin embargo, otros autores (Boubals 1991, Reynier 2005) reportaron, que la polifenol oxidasa generada por la *Botrytis*, produce una degradación importante de los antocianos, por lo cual se puede inferir que en todos los tratamientos se da una degradación de antocianos principalmente en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), que fue la más afectada por el hongo. Pero dadas las características del trabajo, no se pudo determinar el grado de actividad de la polifenol oxidasa del hongo, por lo cual si no se hubieran realizado las infecciones del hongo, las cantidades de antocianos hubieran sido iguales o mayores.

En el gráfico 25, se muestran los resultados del potencial de los antocianos fácilmente extraíbles (ApH3,2) expresados en unidades de absorbancia., que a diferencia de los resultados de ApH1, se observa que el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) tiene una diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos menos el tratamiento (DC) y este último no tiene diferencias significativas con los demás tratamientos.

La extracción hecha a pH 3,2 es comparable al realizar una vinificación tinta clásica. La diferencia entre los tenores de antocianos realizadas en las dos extracciones (ApH1 y ApH3,2), es una indicación del estado de fragilidad de la membrana celular de los hollejos, por consecuencia del estado de madurez (González-Neves, 2005).

Además se observa un mayor potencial de extracción de antocianos en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) con respecto al tratamiento (DC) (51 mg/L) a pesar de que no hay una diferencia estadística significativa, pero se puede observar que hay una clara tendencia a que el tratamiento que tiene las dos aplicaciones de calcio, tiene un mayor potencial de antocianos extraíbles, ya que se encontraron con mejores condiciones para sintetizar una mayor cantidad de antocianos, como se explico en la grafica 21.

Gráfica 25. Potencial de Antocianos fácilmente extraíbles ApH3,2 (mg/L, como glucósido de Malvidina), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

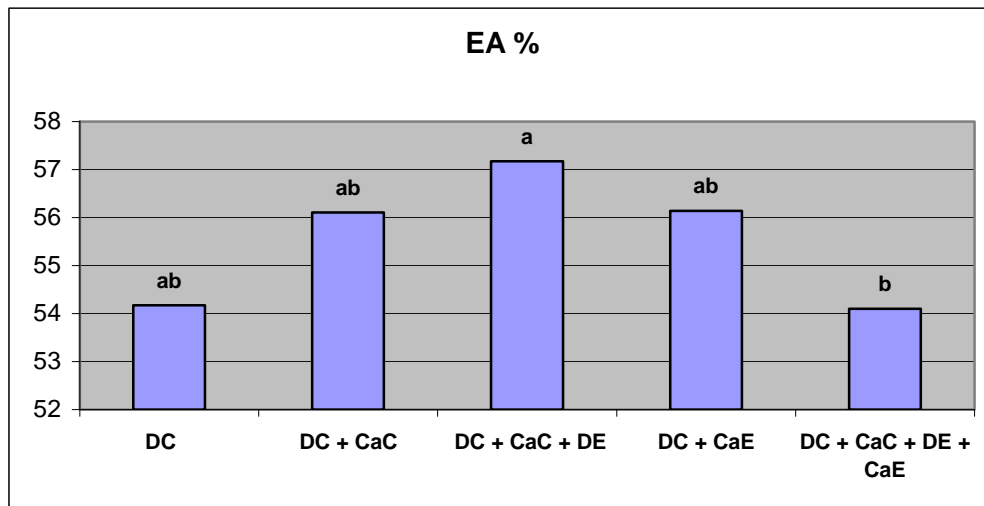
De acuerdo a los datos aportados principalmente por Calderon et al. (1993), Huang et al. (2005), Sacchi et al. (2005), Teixeira et al. (2006), entonces podemos inferir que:

- el tratamiento (DC) tuvo una mayor extracción de antocianos con respecto a los demás tratamientos menos el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), debido a una menor integridad estructural de la pared celular y de la membrana por su menor contenido de Ca^{++} celular, y en la cual participa en el proceso de lignificación de la pared por medio de las peroxidasas (POD); esto explicaría la diferencia que se vio en los resultados de ApH1.
- con respecto al tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se esperaba una mayor extracción debido a su mayor potencial de antocianos, pero a su vez, debido a un mayor ataque de la botrytis, la estabilidad estructural podría ser deteriorada por la misma, dando menos obstáculos para la extracción de los antocianos.

En la siguiente gráfica 26, podemos observar los resultados del índice de extractibilidad de antocianos (EA %), y se pueden observar que los tratamientos (DC + CaC + DE + CaE) y (DC + CaC + DE) tienen diferencias significativas, mientras que en los demás tratamientos no se observaron diferencias significativas entre ellas.

Como podemos observar si no tenemos en cuenta el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), podemos inferir que con las aplicaciones de Ca^{++} , logramos que la estructura de la pared celular sea más estable, debido a que si tomamos como referencia los datos aportados por Huang et al. (2005), en la cual consideran que el ablandamiento del hollejo comienza en el inicio del alargamiento de las bayas en post-verano en la que involucra una acidificación del apoplasto y de la pared con una pérdida del calcio estructural debido a la rotura de los enlaces pectina-calcio y además una activa hidrólisis de los polisacáridos estructurales; entonces al tener la célula una mayor reserva de Ca^{++} en las vacuolas y cloroplastos, puede contrarrestar el calcio que se pierde en la acidificación de la pared, logrando una mayor estabilidad estructural y participando en la formación de la lignina en conjunto con las peroxidasas (POD), como se comentó anteriormente en la gráfica 25.

Gráfica 26. Índice de Extractibilidad de Antocianos EA %, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

El índice EA % es importante conocerlo, porque nos da una idea en términos de porcentaje cual es la dificultad para extraer los antocianos que hay en la baya.

En *Tannat*, se manejan valores entre 50 y 55 % de EA³, pero si observamos para los tratamientos en que se aplicó calcio, a excepción del tratamiento (DC + CaC + DE +

³ Gonzalez-Neves, G. 2010. Com. personal.

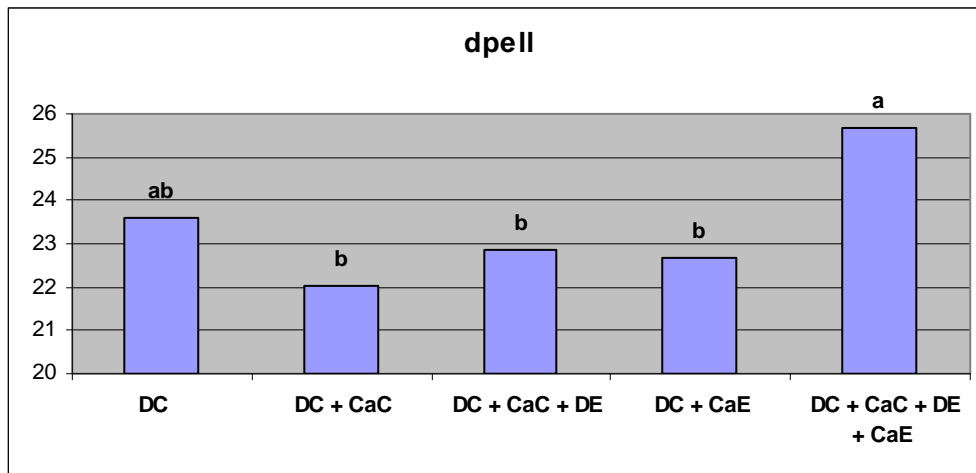
CaE), se obtienen valores más altos, esto podría ser a la estabilidad estructural que se logra con el Ca^{++} , dificultando su extracción.

Con respecto al tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se puede inferir que el calcio no tuvo el efecto esperado debido a la alta incidencia y severidad de *botrytis*, ya que el hongo realizó una degradación importante de la pared celular, y de esta manera los antocianos son mas fáciles de extraer.

En el gráfico 27, se muestra la cantidad de taninos en los hollejos (dpell) y se puede observar que el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) tiene diferencias significativas con todos los tratamientos menos el (DC) a pesar de que se observa una diferencia importante de taninos entre ambos tratamientos (2,05).

Es importante destacar que el dpell, se lo usa como un índice de calidad del mosto, ya que le da al enólogo la posibilidad de predecir las características que va a tener el vino. Como podemos observar el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), tiene un potencial mayor en la cantidad de taninos respecto a los otros tratamientos, esta diferencia se explico anteriormente en el desarrollo de la grafica 20.

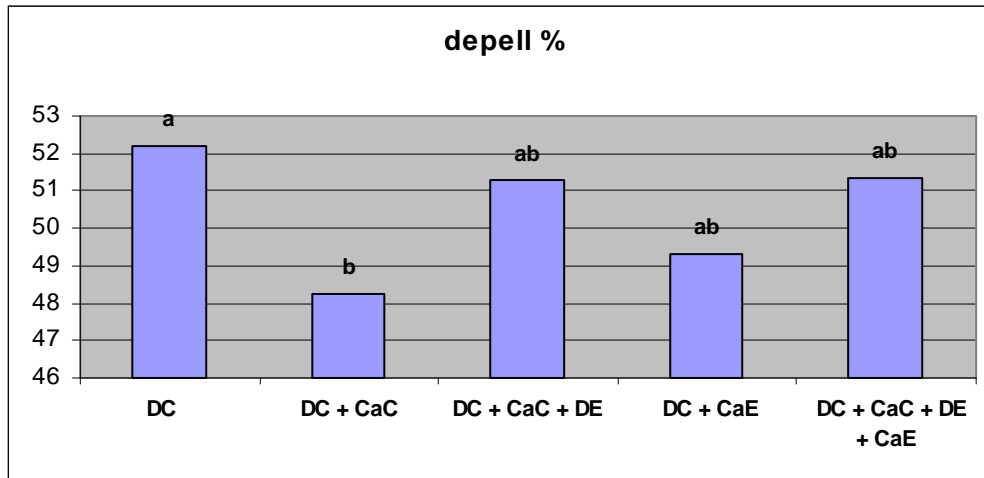
Gráfica 27. Cantidad de Taninos en hollejos dpell (Unidades de Absorbancia), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

En la gráfica 28, se muestra el porcentaje de taninos en los hollejos (dpell %) para los distintos tratamientos, constatando una diferencia estadística significativa entre los tratamientos (DC + CaC y DC) a la vez que los demás tratamientos no tienen diferencias significativas entre todos los tratamientos.

Gráfica 28. Porcentaje de Taninos en hollejos dpell %, para cada tratamiento.



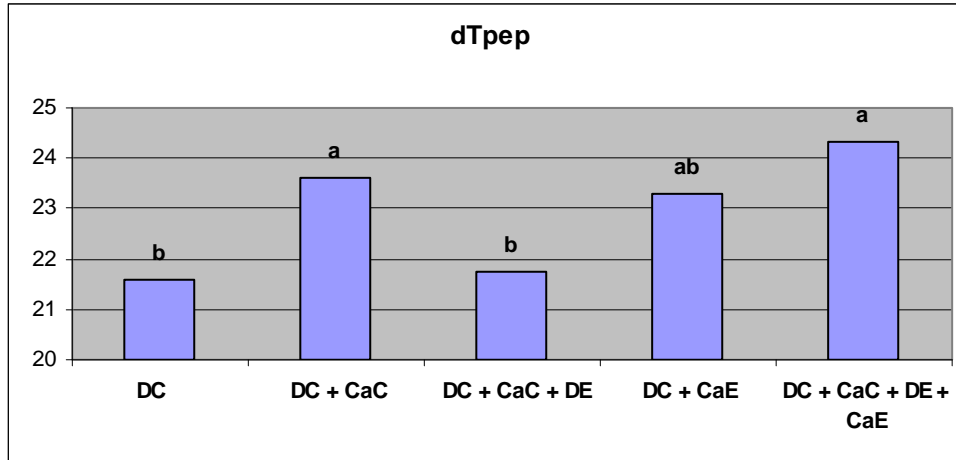
Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Se puede observar, que en aquellos tratamientos con una o dos aplicaciones de calcio, se da una tendencia a tener menor % de taninos en hollejos, a su vez se puede observar que el deshojado en enero minimiza esta tendencia, debido a que mejora las condiciones para la síntesis de los taninos.

Si comparamos los dos tratamientos que tuvieron el deshojado en enero (DE), se observa que la aplicación extra de calcio no tiene efecto alguno en el % de taninos en hollejos, por lo cual se infiere que la aplicación de calcio altera la distribución bajando el % de taninos en hollejos y que el deshojado en enero mejora o minimiza el descenso de el porcentaje de taninos en hollejos.

En el gráfico siguiente (29), se muestra el contenido de taninos en la semilla (dTpep), y se observa, que los tratamientos (DC + CaC + DE + CaE) y (DC + CaC) no presentan diferencias significativas entre ellos, a su vez los tratamientos (DC + CaC + DE y DC) no presentan diferencias, mientras que el tratamiento (DC + CaE) no presenta diferencias estadísticas significativas con los demás tratamientos; por lo cual los tratamientos (DC + CaC + DE + CaE) y (DC + CaC) presentan diferencias significativas con los tratamientos (DC + CaC + DE) y (DC).

Gráfica 29. Contenido de Taninos en semilla dTpep (Unidades de Absorbancia), para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Por lo cual, con el análisis de la bibliografía y los datos relevados podemos inferir que:

- En aquellos tratamientos en los cuales se aplicó calcio foliar, dicho calcio es transportada hacia la semilla por difusión a través del xilema vía apoplasto y floema vía simplasto y/o apoplasto, según ubicación y momento de la maduración de la baya, luego que en las 1^{eras} capas celulares del hollejo se llegó a un equilibrio químico en las concentraciones de Ca^{++} extra-intracelular.
- La obstrucción xilemática, permite a la baya que acumule el Ca^{++} en la semilla, al minimizar el “backflow” de la baya, al no poder salir del fruto.
- Se da una fuerte interdependencia entre el transporte basípeta de las auxinas y acrópeta del Ca^{++} hacia las semillas, sumado a que las semillas mantienen una fuerza fosa importante, incrementando el caudal de flujo y su diámetros vasculares que permite el suministro de nutrientes durante todo el ciclo, minimizando las roturas de los haces vasculares en el momento de la expansión celular.
- Se observa un incremento de los taninos en la semilla, debido al rol del calcio que participa en la síntesis de polifenoles.

- En aquellos tratamiento en los cuales se realiza un deshojado en envero (DE), se observa que hay un menor contenido de taninos en semilla, esto se explicaría, a que el hollejo al tener mejores condiciones para sintetizar polifenoles debido a una mayor entrada de luz, demandaría mayor cantidad de Ca^{++} para sintetizar los mismos, dejando menos cantidad de Ca^{++} libre para que se difunda hacia las semillas.
- Mientras que en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE) se observa que se da una tendencia a tener mayor cantidad de taninos en semillas, debido a que se le aporta una mayor cantidad de Ca^{++} foliar, por lo cual va a tener mas Ca^{++} para difundir a las semillas, a pesar del deshojado adicional si se lo compara con los tratamientos (DC + CaC) y (DC + CaC + DE).

El enólogo también usa los datos del dTpep, como un índice de calidad del mosto, debido a que le permite determinar el potencial que va a tener el vino. Como observamos, los tratamientos (DC + CaC + DE + CaE), (DC + CaC) y el (DC + CaE), van a aportar una mayor cantidad de taninos por parte de la semilla que los demás tratamientos.

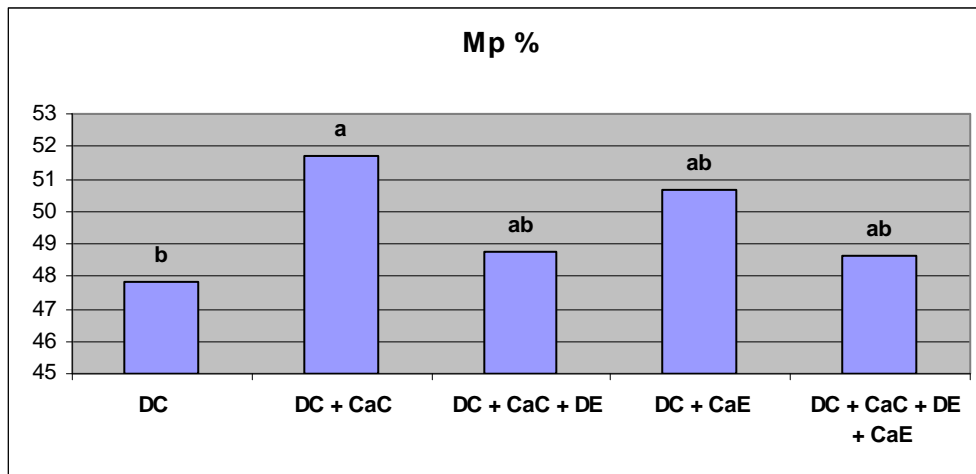
En el gráfico 30, se observan los porcentajes de taninos en la semilla (Mp %), notándose que los tratamientos (DC + CaC) (semillas menos maduras) y (DC) presentan diferencias estadísticas, mientras que los demás tratamientos no presentan diferencias significativas entre los demás tratamientos.

El Mp indica el grado de madurez de la semilla, un alto % indica una disminución en el grado de madurez, como consecuencia de una menor solubilización de los taninos de la semilla, debido a un aumento en el grado de polimerización de dichas moléculas en el curso de la maduración (González-Neves, 2005).

Con estos datos se puede determinar que el tratamiento (DC + CaC), tiene una mayor proporción de semillas inmaduras, lo que le da una idea al enólogo del grado de astringencia que va a tener el vino, debido a que la astringencia esta relacionada con el grado de madurez de la semilla, porque al estar menos polimerizada las proteínas floculan con la saliva dando una mayor sensación de astringencia.

También, el Mp %, es tenido en cuenta por el enólogo, debido a que considera el balance que hay entre los taninos de hollejo y semilla, y le da una idea de las características que puede tener el vino al momento de decidir que elaboración realizar.

Gráfica 30. Porcentaje de Taninos en semilla Mp %, para cada tratamiento.



Letras diferentes indican valores estadísticamente diferentes, con $p < 0,05$, según Tukey

Al contrario de lo observado en la grafica 28, en este caso se da la situación inversa, ya que en aquellos tratamientos con aplicación de Calcio, se da una mayor tendencia a tener mayor porcentaje de taninos en semilla, a la vez que el deshojado en envero minimiza esta tendencia, lo que se infiere que el calcio incrementa los taninos en la semilla, ejerciendo un rol en la síntesis de los mismos, como se explico anteriormente.

4.4 CORTES DE HOLLEJOS

Los cortes de hollejos se realizaron para determinar el efecto de los tratamientos sobre la estructura, otro objetivo es definir las técnicas más efectivas y eficientes para su estudio. En este caso no se realizó análisis estadístico debido a las pocas muestras que se podían estudiar.

Cuadro 13. Grosor de las células hipodérmicas (m μ), para cada tratamiento.

	nº células	grosor (m μ)
DC	7,1	1190
DC + CaC	7,4	1160
DC + CaC + DE	6,9	1040
DC + CaE	8,8	1310
DC + CaC + DE + CaE	8,3	1370
Promedio Poblacional	7,7	1210

Como podemos observar en el cuadro 13, se pueden observar diferencias entre los tratamientos y podemos destacar:

El tratamiento DC esta compuesta por 7 células hipodérmicas que sumada con la capa epidérmica externa tiene un grosor de 1190 m μ

Si observamos los tratamientos (DC + CaC) y (DC + CaC + DE), podemos observar que también tienen 7 células hipodérmicas, pero podemos observar que tienen un grosor menor con respecto al (DC) (30-150 m μ).

En el tratamiento (DC + CaE), podemos observar que hay un incremento de dos células hipodérmicas respecto al (DC), pero a su vez observamos un incremento en el grosor de la cutícula (1310 m μ).

A su vez podemos observar que el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), tiene una capa mas de células hipodérmicas respecto al DC, pero que tiene un grosor similar al (DC + CaE) (1370 m μ).

En relación a la idoneidad de las distintas tinciones, el Azul de Toluidina, se lo descartó, debido a que no se podían visualizar de forma clara las estructuras celulares, impidiendo contabilizar las células de la epidermis, como se muestran en las fotos 2 y 3.

Foto 2. Corte de hollejo con tinción de Azul de Toluidina.

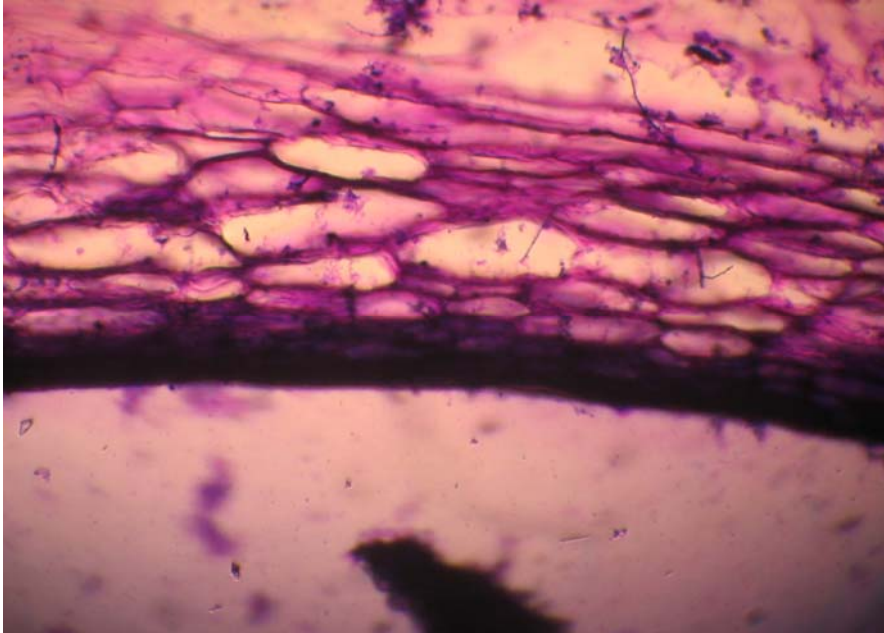
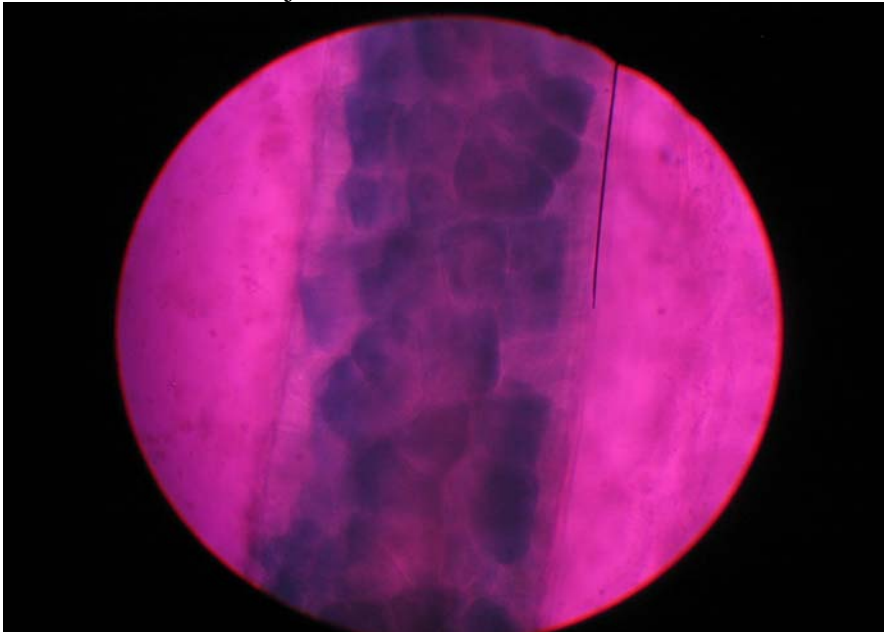


Foto 3. Corte de hollejo con tinción de Azul de Toluidina.



Pero al avanzar en el trabajo se decidió, descartar las tinciones con la Zafranina alcohólica, debido a que se obtenían cortes con dificultades para contabilizar el número de capas de células hipodérmicas, como se muestran en las fotografías 4 y 5.

Foto 4. Corte de hollejo con tinción de Zafranina Alcohólica.

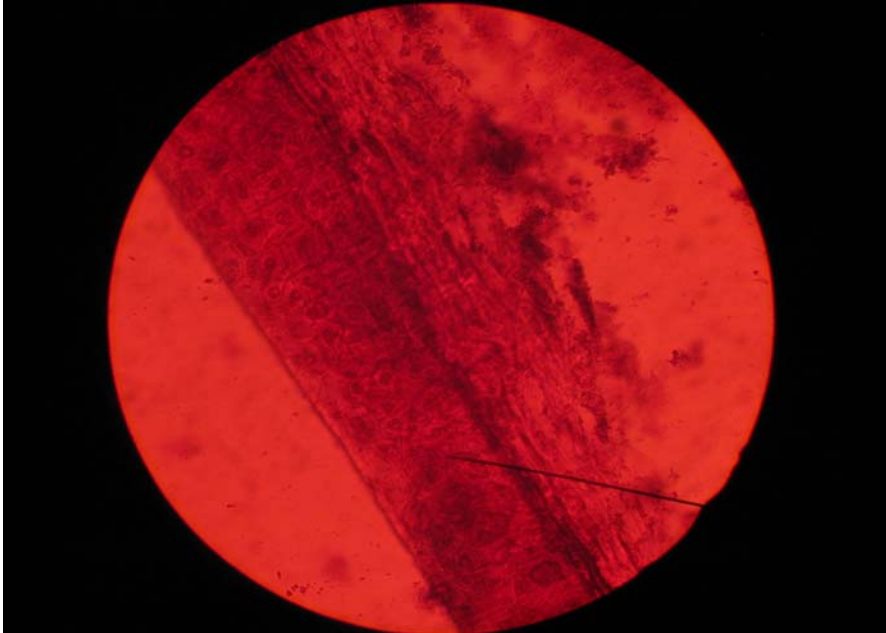
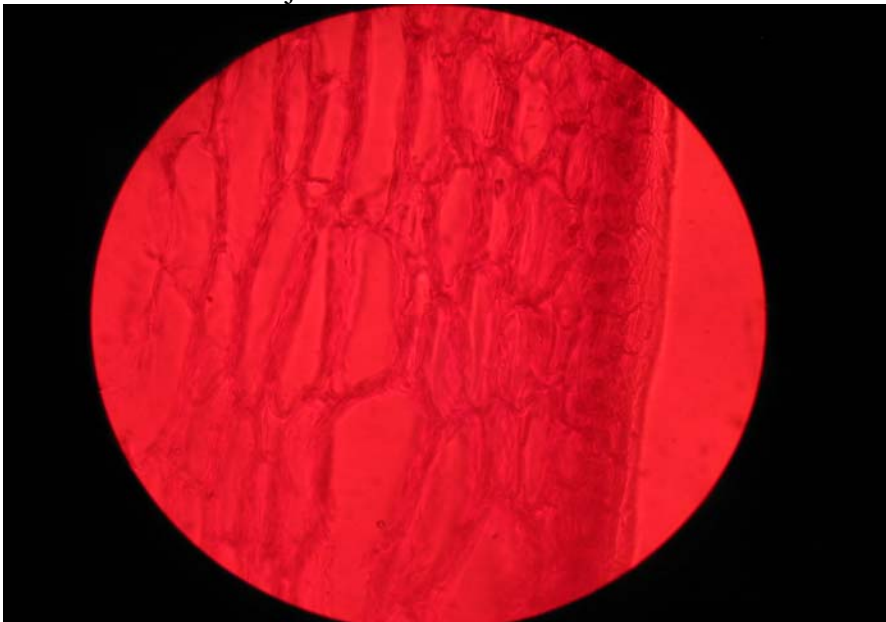


Foto 5. Corte de hollejo con tinción de Zafranina Alcohólica.



Con el Carmín Verde Yodo se logaron buenas tinciones, como se muestran en las fotos 6 y 7, pero el problema es que se necesitaba mucho tiempo (15 minutos como mínimo) para que quedara pronta la tinción para poder usarla, lo que se enlentecía considerablemente el trabajo de laboratorio.

Foto 6. Corte de hollejo con tinción de Carmín Verde Yodo.

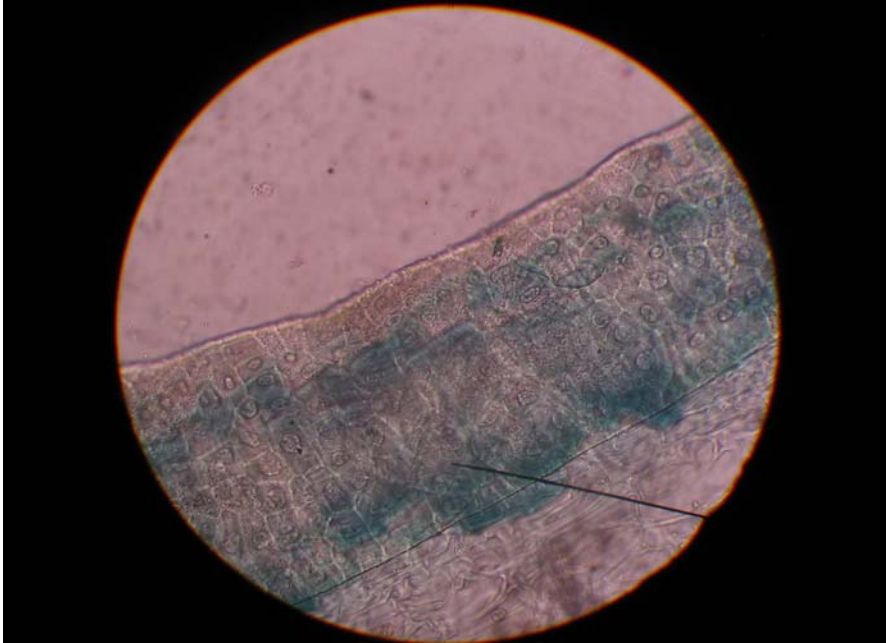
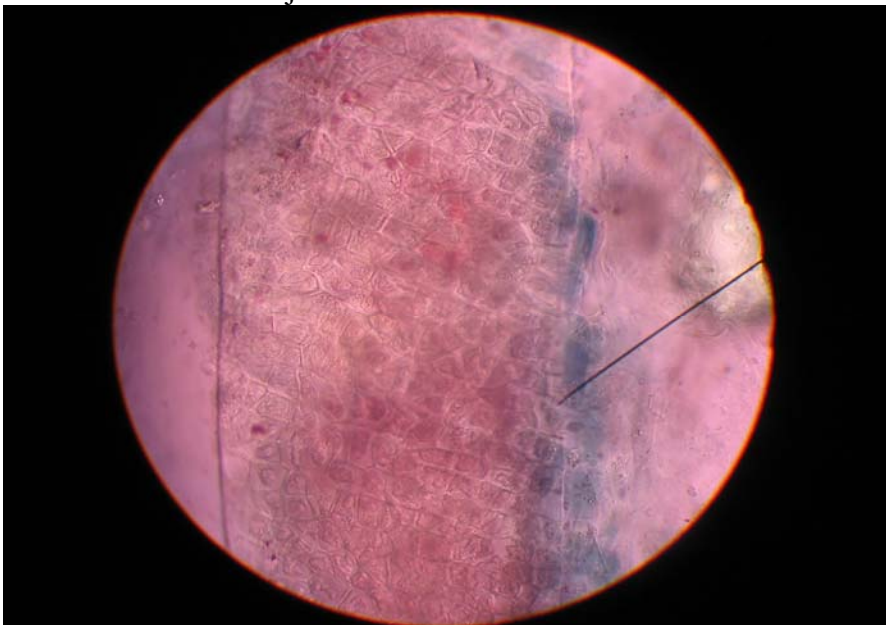


Foto 7. Corte de hollejo con tinción de Carmín Verde Yodo.



Por lo cual, en la ultima tanda de cortes se decidió realizar las tinciones solamente con Hipoclorito de Sodio (fotos 8 y 9), debido a su rapidez y simpleza para prepararla.

Foto 8. Corte de hollejo con tinción de Hipoclorito de Sodio.

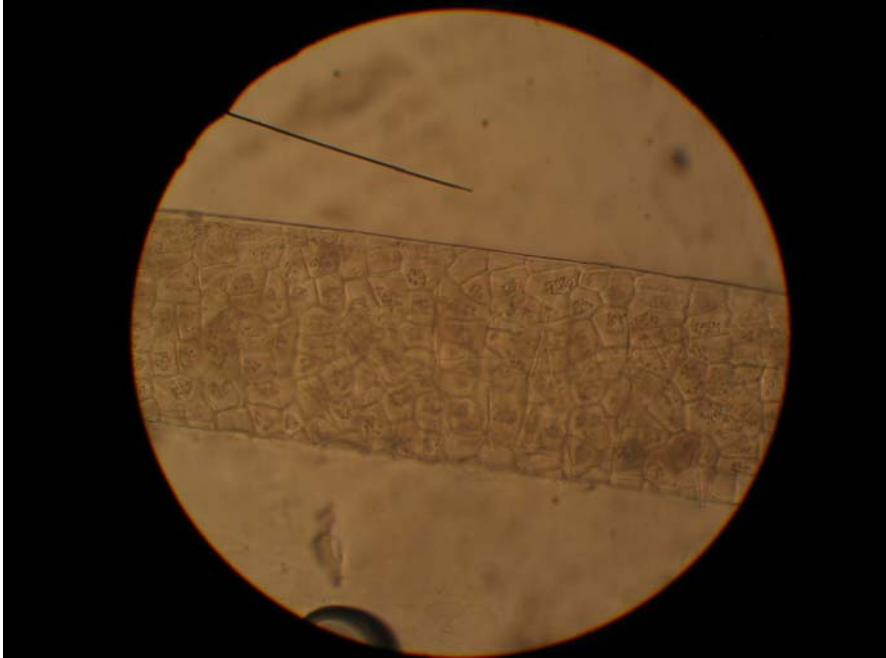
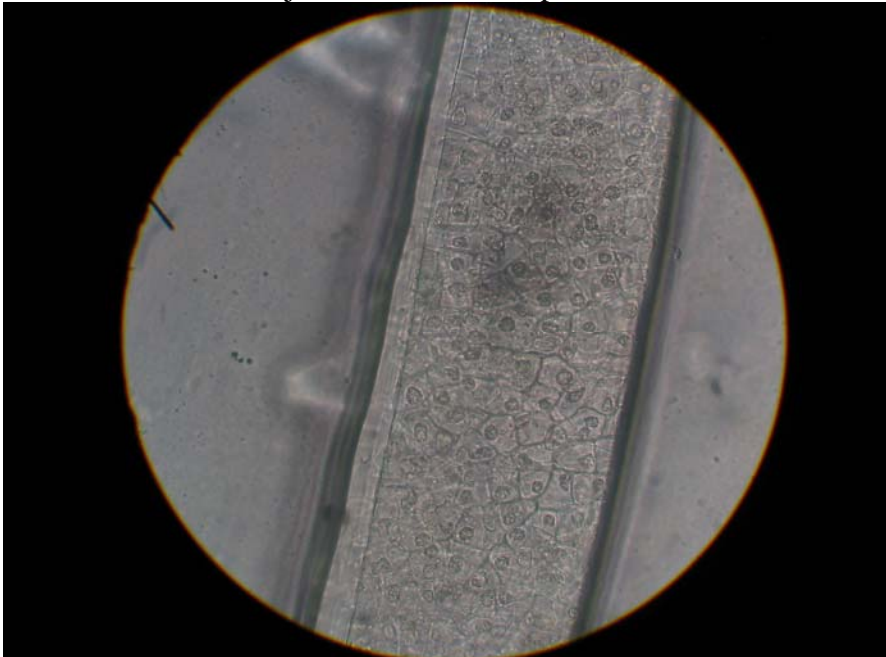


Foto 9. Corte de hollejo con tinción de Hipoclorito de Sodio.



Hay que destacar que en los cortes realizados el 29 - 30/03/07 no se observaron problemas en las muestras, excepto con las muestras del tratamiento (DC + CaC + DE + CaE).

Los cortes se completaron el 6 – 7/09/07, notándose de que no hubo degradación de la baya que si aparecieron al realizar los cortes de las muestras del tratamiento (DC + CaC + DE + CaE).

Posiblemente estos problemas se deba a la actividad degradadora de la *Botrytis* en las paredes celulares del hollejo.

A pesar de que no se realizaron suficientes cortes para notar si los datos entre tratamientos son significativos, podemos inferir:

- La técnica que mejor se adecuó al preparado de los cortes, fue la realizada con hipoclorito de sodio, debido a su rapidez y simplicidad de prepararlos.
- El número de células hipodérmicas para el *Tannat*, esta en el entorno de las 7-9 células, dependiendo del lugar del corte, teniendo en cuenta que el plano ecuatorial es más grueso y en la zona peduncular la más fina.
- La aplicación de Calcio en cuajado no tuvo una mejora en la estructura celular respecto al testigo.
- Con la aplicación de Calcio en envero, se logra un mayor grosor del hollejo que está en el entorno de las 1310-1370 μm , logrando una ganancia de 120-180 μm , debido a la cual se logra una mayor rigidez de las células y también un mayor grosor de la pared celular.
- No se pudo detectar, debido a los pocos cortes, si la aplicación de Calcio en cuajado, estimula la división celular a nivel del hollejo, traducido en un mayor número de células hipodérmicas.

5. CONCLUSIONES

- Como era de esperar los tratamientos no afectaron los parámetros productivos como (Kg. por planta, peso de poda, Índice Ravaz, Índice P, SFEP, peso racimo promedio, número de bayas promedio por racimo, volumen del racimo, largo y ancho del racimo, densidad del racimo).
- En la relación SFEP/kg. uva, no se encuentran diferencias significativas, pero se dan valores por debajo de lo recomendado (0,6 y 1,04 m²/kg), esto se explica a que no se les realizó un raleo de racimos.
- Se puede observar una tendencia en los tratamientos que tuvieron la aplicación de Ca⁺⁺ en cuajado (CaC), a tener un mayor peso de baya promedio y un mayor volumen de baya.
- Se observa que con solamente la aplicación de calcio en cuajado, no se logran mejores rendimientos de fruta sana comparados con el testigo (DC).
- Se observa un incremento en la cantidad de fruta cosechada sana en los tratamientos (DC + CaC + DE) y (DC + CaE), comparados con el testigo (DC), evidenciando los efectos positivos del deshojado en envero (DE) y la aplicación de calcio en envero (CaE).
- Mientras que en el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se dieron los peores resultados, en cuanto a la cantidad de fruta sana cosechada, esto se puede explicar, por la metodología de aplicación de calcio y momento de deshojado, así como la dosis de calcio aplicada, por lo tanto promoviendo la colonización y dispersión del hongo, obteniéndose resultados contrarios a lo esperado.
- En el tratamiento (DC + CaC + DE + CaE), se puede observar un efecto sinérgico entre la aplicación de calcio y la intensidad de ataque de *Botrytis*, en el incremento de la riqueza fenólica, posiblemente debido a que ambos promueven la síntesis de polifenoles; también el deshojado en envero favorece dicha síntesis, debido a que incrementa la luminosidad y temperatura del racimo.
- Sin embargo hay que tener en cuenta la actividad degradadora de las Polifenoloxidasas (Laccasas) de la *Botrytis* sobre los antocianos, infiriendo que los niveles de antocianos serian iguales o mayores si no se dieran las condiciones para que se desarrolle la *Botrytis*, además dichos niveles no se sostendrían en el tiempo debido a que las Laccasas continúan degradando los antocianos aún luego de la vinificación y guarda.

- El deshojado en envero favorece las condiciones para la síntesis de antocianos (ApH 1,0), pero a su vez la aplicación de calcio en envero provoca un efecto sinérgico en dicha síntesis.
- Al aplicar calcio foliar, se obtiene un menor potencial de antocianos fácilmente extraíbles (ApH 3,2), posiblemente por otorgarle una mayor integridad estructural a la pared celular y por ende dificultar la extracción de los antocianos.
- También al aplicar calcio, se logra una EA% mayor, o sea, se tiene una mayor dificultad para extraer los antocianos de la baya.
- En los tratamientos que tienen una sola aplicación de calcio, se da una tendencia a tener menor % de taninos en hollejos, a su vez se observa que el deshojado en envero (DE), minimiza dicha tendencia, debido a que mejora las condiciones para la síntesis de los taninos.
- Con la aplicación de calcio solo, se observa una tendencia a obtener mayor cantidad y % de taninos en semillas (semillas inmaduras), comparado con el testigo (DC), mientras que el deshojado en envero (DE), minimiza dicha tendencia, esto se explicaría, a que el hollejo al tener mejores condiciones para sintetizar polifenoles debido a una mayor entrada de luz, demandaría mayor cantidad de Ca^{++} para sintetizar los mismos, dejando menos cantidad de Ca^{++} libre para que se difunda hacia las semillas.
- Con la aplicación de Calcio en envero, se logra un mayor grosor del hollejo, debido a que se logra una mayor rigidez de las células y también un mayor grosor de la pared celular.
- La aplicación de Calcio en cuajado no tuvo una mejora en la estructura celular respecto al testigo.
- El número de células hipodérmicas para el *Tannat*, está en el entorno de las 7-9 células, dependiendo del lugar del corte.
- La técnica que mejor se adecuó al preparado de los cortes, fue la realizada con hipoclorito de sodio, debido a su rapidez y simplicidad de preparación.

6. RESUMEN

Uno de los problemas más importantes en los últimos años en la producción de *Tannat* en el sur del país, es la gran incidencia de Podredumbres al momento de la cosecha, debido a las condiciones ambientales que se tornan favorables para que se desarrolle la enfermedad. Esta problemática implica obtener una materia prima de baja calidad con la cual a las bodegas se les hace difícil obtener vinos de calidad aceptable, afectando su rentabilidad. A ello se suma la amenaza de otros países productores que entran al mercado ofreciendo un producto de calidad sostenible en el tiempo, debido a que no tienen los mismos problemas ambientales predisponentes que se dan en el sur del país. En este trabajo se busca integrar herramientas para poder limitar el desarrollo de la *Botrytis* (uno de los causantes de la Podredumbres), como son el deshojado y la aplicación de calcio foliar y también analizar el efecto del calcio sobre la extractibilidad de los antocianos. Se adopta como testigo una parcela en la cual se lo deshoja en cuajado, debido a que se realizaron ensayos anteriores de la cátedra de Viticultura de Facultad de Agronomía, demostraron que dicho trabajo mejora los aspectos sanitarios, físicos y enológicos de la uva. Con nuevos tratamientos se busca mejorar aún más esos parámetros incorporando un 2^{do}. deshojado en envero y también la aplicación combinada de calcio foliar en cuajado y/o envero. Los resultados más importantes fueron: se observa un incremento en la cantidad de fruta cosechada sana en los tratamientos (Deshojado en Cuajado + Calcio en Cuajado + Deshojado en Envero) y (Deshojado en Cuajado + Calcio en Envero), comparados con el testigo, evidenciando los efectos positivos del deshojado en envero y la aplicación de calcio en envero, aunque resultó insuficiente para bajar los niveles de *Botrytis* a niveles aceptables debido a la fuerte presión de la enfermedad, debido a las condiciones favorables en el año en que se realizó el ensayo. Mientras que en el tratamiento (Deshojado en Cuajado + Calcio en Cuajado + Deshojado en Envero + Calcio en Envero), se dieron los peores resultados, en cuanto a la cantidad de fruta sana cosechada, esto se puede explicar, por la metodología de aplicación de calcio (dosis y momento) y momento de deshojado, por lo tanto promoviendo la colonización y dispersión del hongo, obteniéndose resultados contrarios a lo esperado. El deshojado en envero favorece las condiciones para la síntesis de antocianos, pero a su vez la aplicación de calcio en envero provoca un efecto sinérgico en dicha síntesis. Al aplicar calcio foliar, se obtiene un menor potencial de antocianos fácilmente extraíbles (ApH 3,2), posiblemente por otorgarle una mayor integridad estructural a la pared celular, también se logra una EA % mayor, o sea, se tiene una mayor dificultad para extraer los antocianos de la baya. También se pudo notar en los tratamientos que tienen una sola aplicación de calcio, una tendencia a la reducción del % de taninos en hollejos, por el contrario el deshojado en envero (DE) minimiza dicha tendencia, debido a que mejora las condiciones para la síntesis de los taninos. Con la aplicación de calcio solo, se observa una tendencia a obtener mayor % de taninos en semillas, comparado con el testigo (Deshojado en Cuajado), mientras que el deshojado en envero (DE), atenúa dicha tendencia. Paralelamente se estimó el número de células hipodérmicas para el *Tannat*, que está en el entorno de las 7-9 células, mediante cortes

del hollejo y se evaluó como mejor técnica de tinción la realizada con hipoclorito de sodio, debido a su rapidez y simplicidad de prepararlos.

Palabras clave: Tannat; Botrytis; Aplicación de calcio foliar; Deshojado; Antocianos; Taninos; Extractibilidad

7. SUMMARY

One of the most important problems in the last few years in the *Tannat's* in the south of the country, is the big incidence of Rottennesses to the moment of the harvest, due to the environmental conditions that become favorable in order to develop the disease. This problematic implies obtaining a raw material of low quality with which to the winery finds difficult to obtain wines of acceptable quality, affecting his profitability. Moreover the threat of other producing countries that go into the market offering a product of sustainable quality in the time, due to the fact that they do not have the same environmental tendency problems of those in the south of the country. In this work it's vital to integrate tools to be able to limit the development of the *Botrytis* (one of the causers of the Rottennesses), as they are the leaf removal and the application of calcium foliar and also analyze the effect of the calcium on the anthocyanins extractability. Adopt like witness a plot which was leaf removal in setting, due to the fact that they realized previous essays of the chair of Viticulture of University of Agronomy, showed this work improves the sanitary appearances, physical and enologics of the grape. With new treatments it's an aim to improve furthermore these parameters incorporating the 2nd leaf removal in veraison and also the application combined of calcium to foliate in setting and / or veraison. The most important results were: an increase in the quantity of harvested healthy fruit in the treatments (Defoliated in Setting + Calcium in Setting + Defoliated in Veraison) and (Defoliated in Setting + Calcium in Veraison), compared with the witness, demonstrating the positive effects of the defoliated in veraison and the application of calcium in veraison, though it turned out to be insufficient to lower *Botrytis's* levels to acceptable levels due to the strong pressure of the disease, due to the favorable conditions in the year in which I made the essay. Whereas in the treatment (Defoliated in Setting + Calcium in Setting + Defoliated in Veraison + Calcium in Veraison), the worst results were obtained, regarding the quantity of healthy fruit harvested, this can be explained, by the methodology of application of calcium (dose and moment) and moment of leaf removal, therefore promoting the settling and dispersion of the fungus, obtaining contrary results to the expected. The leaf removal in veraison favours the conditions for the synthesis of anthocyanins, but to his time the application of calcium in veraison causes a synergic effect in the synthesis mentioned. When applying calcium to foliate, a minor potential of anthocyanins easily removable (ApH 3,2) is obtained, possibly to award it a main structural integrity to the cellular wall, also attains a major % EA, or, a major difficulty to extract the anthocyanins of the berry. Also it was possible to notice in the treatments that they have a single application of calcium, a trend to the reduction of the % of tannins in skins, by the contrary the leaf removal in veraison (DV) it minimizes this trend, due to the fact that it improves the conditions for the synthesis of the tannins. With one application of calcium, it's observed a trend to obtain a major % of tannins in seeds, compared with the witness (Defoliated in Setting), whereas the leaf removal in veraison (DV), attenuates the above mentioned trend. Parallel it was estimated the number of hypodermic cells for the *Tannat*, that is in the surroundings of the 7-9 cells, by means of courts of the skin and it

was evaluated as a better technology of dying the realized one with sodium hypochlorite, due to its rapidity and simplicity in their preparation.

Key words: Tannat; Botrytis; Application of calcium; Defoliated; Anthocyanins; Tannins; Extractability

8. BIBLIOGRAFÍA

1. ABELES, F.B. 1983. Ethylene in plant biology. London, Academic Press. 302 p.
2. AFANAS´EV, I.B. 2006. Competition between superoxide and hydrogen peroxide signalling in heterolytic enzymatic processes. *Medical Hypotheses*. 66: 1125-1128.
3. AGARWAL, S.; SAIRAM, R.K.; SRIVASTAVA, G.C.; TYAGI, A.; MEENA, R.C. 2005. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. *Plant Science*. 169: 559-570.
4. ALONI, R.; BARNETT, J.R. 1996. The development of phloem anastomoses between vascular bundles and their role in xylem regeneration after wounding in *Cucurbita* and *Dahlia*. *Planta*. 198: 595-603.
5. ALLEWELDT, G.; HIFNY, H.A. 1972. Zur stielähme der reben. II. Kausalanalytische untersuchungen. *Vitis*. 11: 10-28.
6. AMERINE, M. A.; BERG, H. W.; CRUESS, W. V. 1972. The technology of wine making. 3rd. ed. Westport, Connecticut, AVI. 802 p.
7. ANDRADE, I.; PEDROSO, V.; MARTINS, S.; BRITES, J.; LOPES, C. 2001. Influence de l'effeuillage sur le comportement du cepage "Jaen" dans la region de Dao. In: GESCO (12º., 2001, Montpellier). Actas. Montpellier, France, s.e. pp. 431-436.
8. ANDRADES, M. 1990. Fisiología de la maduración de la uva. *Viticultura y Enología Profesional*. no 9: 21-30.
9. APEL, K.; HIRT, H. 2004. Reactive oxygen species; metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55: 373-399.
10. ARIAS, A. 1992. Los parásitos de la vid; estrategias de protección razonada. 3ª. ed. Madrid, Mundi-Prensa. 304 p.
11. BAKER, E.A. 1982. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: Cutler, D.F.; Alvin, K.L.; Price, C.E. eds. *The Plant Cuticle*. London, Academic Press. pp. 139-165.
12. BALSARI, P.; SCIENZA, A. 2004. Formas de cultivo de la vid y modalidades de distribución de los productos fitosanitarios. Madrid, Mundi-Prensa. 339 p.

13. BANGERTH, F. 1976. A role for auxin and auxin transport inhibitors on the calcium content of artificially induced parthenocarpic fruits. *Physiologia Plantarum*. 37 (3): 191-194.
14. BAÑUELOS, G.S.; BANGERTH, F.; MARSCHNER, H. 1987. Relationship between polar basipetal auxin transport and acropetal Ca²⁺ transport into tomato fruits. *Physiologia Plantarum*. 71: 321-327.
15. _____.; _____.; _____. 1988. Basipetal auxin transport in lettuce and its possible involvement in acropetal Ca²⁺ transport and incidence of tipburn. *Journal of Plant Nutrition*. 11: 525-533.
16. BAPAT, V.A.; TRIVEDI, P.K.; GHOSH, A.; SANE, V.A.; GANAPATHI, T.R.; NATH, P. 2010. Ripening of fleshy fruit; molecular insight and the role of ethylene. *Biotechnology Advances*. 28: 94-107.
17. BIONDI, M. 2007. Dynamics of grape berry volume change during ripening. Thesis Master of Science in Horticulture. Pullman, USA. Washington State University. 101 p.
18. BITÓN PORSMOQUER, S.M. 2003. El deshoje y su impacto contra la *Botrytis*. *Viticultura y Enología Profesional*. no. 86: 55-62.
19. BLEECKER, A.B.; KENDE, H. 2000. Ethylene; a gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 16: 1-18.
20. BLEDSOE, A.M.; KLIEWER, W.M.; MAROIS, J.J. 1988. Effects of timing and severity of leaf removal on yield and fruit composition of *Sauvignon Blanc* grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 39 (1): 49-54.
21. BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress; a review. *Annals of Botany*. 91: 179-194.
22. BLOUIN, J.; GUIMBERTEAU, G. 2000. Maturation et maturité des raisins. *Usuels Feret de Levigae et Duvin*. Merignac, Feret. 151 p.
23. BONOMELLI, C.; RUIZ, R. 2010. Effects of foliar and soil calcium application on yield and quality of table grape cv. "*Thompson Seedless*". *Journal Plant Nutrition*. 33 (3): 299-314.

24. BOUBALS, D. 1991. Los factores de calidad de las viníferas tintas. *Viticultura y Enología Profesional*. no. 14: 48-50.
25. BOWLER, C.; FLUHR, R. 2000. The role of calcium and activated oxygen as signals for controlling cross tolerance. *Trends in Plant Science*. 5: 241-245.
26. BRADFIELD, E.G.; GUTTRIDGE, C.G. 1984. Effect of salt concentration and cation balance in soils on tip burn and calcium content of strawberry leaves and fruit. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 15(6): 681-693.
27. BRANDES, R.P. 2005. Triggering mitochondrial radical release. A new function for NADPH oxidases. *Hypertension*. 45: 847-849.
28. BROOKES, P.S. 2005. Mitochondrial H⁺ leak and ROS generation; an odd couple. *Free Radical Biology and Medicine*. 38: 12-23.
29. BROOME, J.C.; ENGLISH, J.T.; MAROIS, J.J.; LATORRE, A.; AVILES, J.C. 1995. Infection model for *Botrytis bunch rot* of grapes based on wetness duration and temperature. *Phytopatology*. 85 (1): 97-102.
30. BUESCHER, R.W.; HOBSON, G.E. 1982. Role of calcium and chelating agents on regulating the degradation of tomato fruit tissue by polygalacturonase. *Journal of Food Biochemistry*. 6: 147-160.
31. BUSCHER, R.W.; HUDSON, M. 1994. Softening of cucumber pickles by ex. Cellulases and its inhibition by calcium. *Journal of Food Science*. 49: 954-955.
32. CABANNE, C.; DONÈCHE, B. 2003. Calcium accumulation and redistribution during the development of the grape berry. *Vitis*. 42: 19-21.
33. CABRERA FONTES, J. 2004. Aplicaciones de calcio pre- cosecha en uva de mesa (*Vitis vinífera L.*) cvs. Moscatel de Hamburgo e Italia para exportación. Tesis Ing.Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 96 p.
34. CADLE-DAVIDSON, L. 2008. Monitoring pathogenesis of natural *Botrytis cinerea* infections in developing grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 59 (4): 387-395.

35. ÇAKMAK, I.; MARSCHNER, H. 1988. Enhanced superoxide radical production in root of zinc deficient plants. *Journal of Experimental Botany*. 39: 1449-1460.
36. CALDERÓN, A.A.; ZAPATA, J.M.; BARCELO ROS, A. 1993. Localization of peroxidase in grapes using nitrocellulose blotting of freezing/thawing fruits. *HortScience*. 28: 38-40.
37. ÇALISKAN, M. 2000. Germin, an oxalate oxidase, has a function in many aspects of plant life. *Turkish Journal of Biology*. 24: 717-724.
38. CAMUSSI, G., FERRER, M. 2001. Influencia de la calidad de la materia prima en la eficiencia de una planta de empaque de uva de mesa. *Revista Iberoamericana. Tecnología Poscosecha*. 3 (2): 195 – 199.
39. _____.; _____.; GONZALEZ-NEVES, G.; CABRERA, M. 2008. Aplicaciones de calcio precosecha para conservar la conservación frigorífica de la uva de mesa *cv. Italia*. In: Congreso Mundial de la OIV (31º, 2008, Verona). Actas. s.n.t. 1 disco compacto.
40. CARBONNEAU, A.; CASTERAN, P.; LECLAIR, P. 1978. Attemp to define by whole plant biology, essential relationships between natural bioclimate, vine physiology and grape composition –methodology and 1st results on trainins systems. *Annales de l'Amélioration des Plantes*. 28 (2): 195 – 221.
41. _____. 1980. Reserche sur les systémes de conduite de la vigne; essai de maitrise du micro climat et de la planta entière pur produite economiquement du raisin de qualité. Thése de Doctorat. Bordeaux, France. Université de Bordeaux II. 240 p.
42. _____. 1995. La surface foliaire exposée potentielle - guide pour sa mesure. *Le Progrés Agricole et Viticole*. 9: 204-212.
43. _____. 1996. Interaction «Terroirs x Vigne»; facteurs de maîtrise du micro-environnement et de la physiologie de la plante en rapport avec le niveau de maturité et les éléments de typicité. In: C.R. Colloque International Les Terroirs Viticoles (1^{er}., 1996, Angers, France). Concept produit valorisation. s.n.t. pp. 147-153.

44. CARROSIO BENVENUTO, G.; GRENNI RAVIOLO, R.; PELUFFO FOURMET, F. 2005. Influencia del deshojado en dos momentos fenológicos del ciclo de la vid *Vitis vinífera cv Tannat*; en la producción, la composición de la uva y el mosto y en *Botrytis cinerea Pers.* Tesis Ing.Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 91 p.
45. CASTAÑEDA, P.; PÉREZ, L.M. 1996. Calcium ions promote the response of citrus lemon against fungal elicitors or wounding. *Phytochemistry*. 42: 595-598.
46. CLARKSON, D.T.; HANSON, J.B. 1980. The mineral nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 31: 239-298.
47. CLELAND, R.E.; RAYLE, D. 1977. Reevaluation of the effect of calcium ions on auxin-induced elongation. *Plant Physiology*. 60: 709-712.
48. COMMENIL, P.; BRUNET, L.; AUDRAN, J.C. 1997. The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *Journal of Experimental Botany*. 48(313): 1599-1607.
49. CONSIDINE, J.A.; KNOX, R.B. 1979. Development and histochemistry of the cells, cell-walls and cuticle of the dermal system of the fruit of de grape *Vitis vinífera L.* *Protoplasma*. 99: 347-365.
50. CONWAY, W.; SAMS, C. 1987. The effect of postharvest infiltration of calcium, magnesium or strontium on decay; firmness respiration and ethylene production in apples. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 112: 300-303.
51. _____.; _____.; MC GUIRE, R.; KELMAN, A. 1992. Calcium treatment of apples and potatoes to reduce postharvest decay. *Plant Disease*. 76: 329-334.
52. _____.; _____.; HICKEY, K.D. 2002. Pre- and post harvest calcium treatment of apple fruit and its effect on quality. *Acta Horticulturae*. no. 594: 413-419.
53. COOPERATIVE RESEARCH CENTRE FOR VITICULTURE (CRCV). s.f. Viticare on farm trials. (en línea). Adelaide, Australia. Consultado 20 nov. 2010. Disponible en <http://www.crcv.com.au/viticare/trials/On%20Farm%20Trials%20Manual%203/On%20Farm%20Trials%20Manual%203.3.pdf>

54. CRAKER, L.E.; STANDLEY, L.A.; STARBUCK, M.J. 1971. Ethylene control of anthocyanin synthesis in sorghum. *Plant Physiology*. 48: 998-1000
55. _____.; WETHERBEE, P.J. 1973. Ethylene, carbon dioxide, and anthocyanin synthesis. *Plant Physiology*. 52: 177-179.
56. CREASY, G.L.; PRICE, F.; LOMBARD, P.B. 1993. Evidence for xylem discontinuity in *Pinot Noir* and *Merlot*; Dye uptake and mineral composition during berry ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*. 44: 187-192.
57. CRIPPEN, D.D; MORRISON, J.C. 1986. The effects of sun exposure on the compositional development of *Cabernet Sauvignon* berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 37 (4): 235-242.
58. CHAMPAGNOL, F. 1984. *Elements de physiologie de la vigne et de viticulture generale*. Montpellier, Déhan. 351 p.
59. CHARDONNET, C.; L'HYVERNAY, A.; DONECHE, B. 1997. Effect of calcium treatment prior to *Botrytis cinerea* infection on the changes in pectic composition of grape berry. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 50: 213-218.
60. _____.; SAMS, C.; TRIGIANO, R.; CONWAY, W. 2000. Variability of three isolates of *Botrytis cinerea* affects the inhibitory effects of calcium on this fungus. *Phytopathology*. 90 (7): 769-774.
61. CHEN, W.P.; SILVA, H.; KLESSIG, R.F. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by SA. *Science*. 262: 1883-1886.
62. _____.; LI, P.H. 2001. Chilling induced Ca²⁺ over load enhances production of active oxygen species in maize (*Zea mays* L.) cultured cells: the effect of abscisic acid treatment. *Plant, Cell and Environment*. 24: 791-800.
63. CHENET, I. 1997. *Résistance de la baie de raisin (Vitis vinifera) à Botrytis cinerea; étude de la pellicule et de ses parois*. Doctorate thesis. Bordeaux, France. Université de Bordeaux II. 195 p.
64. CHOVELON, M. 1999. L'effeuillage précoce en raisin de table. *Arboriculture Fruitière*. 527: 31-35.

65. CHRISTENSEN, J.H.; BAUW, G.; WELINDER, K.G.; VAN MONTAGU, M.; BOERJAN, W. 1998. Purification and characterization of peroxidases correlated with lignification in poplar xylem. *Plant Physiology*. 118: 125-135.
66. DANGL, J.L.; DIETRICH, R.A.; THOMAS, H. 2000. Senescence and programmed cell death. In: *Biochemistry and molecular biology of plants*. Waldorf, Maryland, ASPP. pp. 1044-1100.
67. DE FRUTOS, E. 1981. Uva madura; materia prima del vino. *Almanaque del Banco de Seguros del Estado*. no. 64: 267-270.
68. _____; BERETTA, A. 1999. Un siglo de tradición; primera historia de uvas y vinos del Uruguay. Montevideo, Uruguay, Santillana. 240 p.
69. DEL SOLAR DÁVILA, C.; DEPALLENS, D.; NEUBAUER, L.; PIZZARRO, U.; SOZA, J.A. 2000. Efectos de fitorreguladores, calcio, magnesio y anillado sobre la calidad y condición en uva de mesa cvs. (*Thompson Seedless* y *Red Globe*). *Pharos*. 7(2): 19-41.
70. DELOIRE, A.; CARBONNEAU, A.; OJEDA, H.; SILVA, P.; KRAEVA, E.; JACQUET, O.; ANDARY, C. 2001. Relations entre l'état hydrique de la vigne et les composés phénoliques de la baie de raisin des cépages Syrah et Grenache noir. Proposition de principes de gestion de la végétation. In: GESCO (12^e., 2001, Montpellier). Actas. Montpellier, France, s.e. pp. 253-258.
71. DENG, Y.; WU, Y.; LI, Y. 2005. Changes in firmness, cell wall composition and cell wall hydrolases of grapes stored in high oxygen atmospheres. *Food Research International*. 38: 769-776.
72. DEY, P. M.; BRINSON, K. 1984. Cell wall and fruit ripening. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. 42: 339-382.
73. DIEHL, K.C.; HAMANN, D.D. 1979. Relationships between sensory profile parameters and fundamental mechanical parameters for raw potatoes, melons and apples. *Journal of Texture Studies*. 10: 401-420.
74. DI PROFIO, F.; REYNOLDS, A.G. 2005. Influence of crop manipulation, canopy manipulation, and enzyme treatment on composition and color of *Merlot*, *Cabernet Franc* and *Cabernet Sauvignon* berries, musts and wines. In: ASEV Annual Meeting (30th, 2005, St. Louis, Missouri.). Papers. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56 (4): 418A.

75. DI STÉFANO, R.; BORSA, D.; BOSSO, A.; GARCÍA, E. 2000. Sul significato e sui metodi di determinazione dello stato di maturità dei polifenoli. *L'Enologo*. no. 12: 73-76.
76. DOKOOZLIAN, N.K.; KLIEWER, W.M. 1995. The light environment within grapevine canopies. Influence of leaf area density on fruit zone light environment and some canopy assessment parameters. *American Journal of Enology and Viticulture*. 46: 219-226.
77. _____.; BERGQVIST, J.A. 2001. Influence of sunlight exposure on the berry growth and composition of two red wine grape cultivars. In: GESCO (12^o., 2001, Montpellier). Actas. Montpellier, France, s.e. pp. 77-84.
78. _____. 2002. Table Grape Berry growth and development. (en línea). Parlier, California, UCCE. 4 p. Consultado 27 nov. 2009. Disponible en <http://cetulare.ucdavis.edu/pub/grape0302.pdf>
79. DOMBROWSKI, J.; BERGEY, D. 2007. Calcium ions enhance systemin activity and play an integral role in the wound response. *Plant Science*. 172: 335-344.
80. DONG, J.G.; FERNANDEZ-MACULET, J.C.; YANG, S.F. 1992. Purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase from apple fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 89: 9789-9793.
81. DRAZETA, L.; LANG, A.; HALL, A.J.; VOLZ, R.K.; JAMESON, P.E. 2004. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. *Annals of Botany*. 93: 275-282.
82. DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; COHEN, L.; WEISS, B.; TOUITOU, D.; EILAM, Y.; CHALUTZ, E. 1997. Influence of CaCl₂ on *Penicillium digitatum*, Grapefruit peel tissue, and biocontrol activity of *Pichia guilliermondii*. *Phytopathology*. 87 (3): 310-315.
83. DUBOS, B. 2000. La pourriture grise de la vigne (*Botrytis cinerea*). Que fait la filière recherche/développement pour améliorer la lutte?. *Le Progrès Agricole et Viticole*. 117 (10): 146-150.
84. DÜRING, H.; LANG, A.; OGGIONNI, F. 1987. Patterns of water flow in *Riesling* berries in relation to developmental changes in their xylem morphology. *Vitis*. 26: 123-131.

85. EGGER, E. 1994. Parametri biometrici delle forme di allevamento e difesa fitosanitaria. *Vignevini*. 21 (9): 29-31.
86. EL-KEREAMY, A.; CHERVIN, C.; ROUSTAN, J.P.; CHEYNIER, V.; SOUQUET, J.M.; MOUTOUNET, M.; RAYNAL, J.; FORD, C.M.; LATCHE, A.; PECH, J.C.; BOUZAYEN, M. 2003. Exogenous ethylene stimulates the long-term expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in grape berries. *Physiology Plant*. 119: 175-182.
87. ENGLISH, J.T.; THOMAS, C.S.; MAROIS, J.J.; GUBLER, W.D. 1989. Microclimates of grapevines canopies associated with leaf removal and control of *Botrytis* bunch rot. *Phytopathology*. 79: 395-401.
88. _____.; BLEDSOE, A.; MAROIS, J.; KLIEWER, W. 1990. Influence of grapevine canopy management on evaporative potential in the fruit zone. *American Journal of Enology and Viticulture*. 41 (2): 137-141.
89. _____.; KAPS, M.; MOORE, J.; HILL, J.; NAKOVA, M. 1993. Leaf removal for control of *Botrytis* bunch rot of wine grapes in the Midwestern United States. *Plant Disease*. 77: 1224 -1227.
90. ESAU, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2nd ed. New York, John Wiley and Sons.
91. ETCHEBARNE, F.; OJEDA, H.; DELOIRE, A. 2009. Grape berry mineral composition in relation to vine water status and leaf area/fruit ratio. In: Roubelakis-Angelakis, K. A. ed. *Grapevine molecular physiology and biotechnology*. 2nd ed. s.l., Springer. pp. 62-64.
92. EYNARD, I.; DALMASSO, G. 1990. *Viticultura moderna; manuale pratico*. Milano, Ulrico Hoepli. 778 p.
93. FELIX, E.J. 2003. Efectos de diferentes intensidades y momentos de deshojado en *Vitis vinífera*, cv. *Tannat*, sobre parámetros cuali-cuantitativos de la uva y el vino. Tesis de Maestría. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 70 p.
94. FERMAUD, M., MARTINEZ, F., PIÉRI, P., FROIDEFOND, G., SAURIS, P., DELIÈRE, L. 2003. Pourriture grise de la vigne. Previsión du risque épidémique et protection fongicide. *Phytomma. La Défense des Végétaux*. 65: 36-40.
95. FERRARO OLMOS, R. 1983. *Viticultura moderna*. Montevideo, Hemisferio Sur. 893 p.

96. _____. 1998. El Viñedo Uruguayo; sus variedades. Montevideo, Impal. 106 p. (Cuadernos vitícolas I).
97. FERRER, M.; GARCIA, L. 1992. Studio sulla fertilità delle gemme di vite (*Vitis vinífera* L.) per la determinazione del sistema di potatura. In: Internacional Symposium on Grapevine Physiology (4º., 1992, Turín). Proceedings. Turín, Italy, s.e. pp. 129 – 132.
98. _____.; GONZALEZ-NEVES, G.; BURGENÑO, J.; GABARD, Z.; CAMUSSI, G. 1997. Influencia de la intensidad de la poda y el raleo de racimos sobre la relación fuente-fosa en *Vitis vinífera* L. Cv. *Tannat*. O.I.V. In: Congrès International de la Vigne et du Vin (22º., 2008, Buenos Aires). Actas. Buenos Aires, Argentina, s.e. s.p.
99. _____.; _____.; CAMUSSI, G. 2001. Influencia del sistema de conducción, el raleo de racimos y el sistema de poda sobre el daño de podredumbre de racimos. In: Congreso Latinoamericano de Viticultura (8º, 2001, Montevideo). Actas. s.n.t. 1 disco compacto.
100. _____.; _____. 2002. Resultados enológicos y productivos de la aplicación de diversas alternativas de raleo de racimos y diferentes intensidades de poda invernal en *Vitis vinífera* L cv. “*Tannat*”. *Agrociencia*. 6 (1): 53-62.
101. _____.; _____.; CAMUSSI, G. 2003. Ensayo comparativo del efecto del raleo de racimos en envero y cuajado sobre los parámetros productivos, vegetativos y enológicos de la variedad Tannat. In: GESCO (13º., 2003, Montevideo). Actas. Montevideo, Uruguay, s.e. pp. 133-136.
102. _____.; PEDOCCHI, R.; MICHELAZZO, M.; GONZALEZ-NEVES, G.; CARBONNEAU, A. 2007. Delimitación y descripción de regiones vitícolas del Uruguay en base al método de clasificación climática multicriterio utilizando índices bioclimáticos adaptados a las condiciones del cultivo. *Agrociencia*. 7 (1): 47-56.
103. _____.; MONTAÑA, A.; GONZALEZ-NEVES, G.; CAMUSSI, G.; CARBONNEAU, A. 2008. Influencia de la arquitectura de la planta sobre la regulación del agua y su efecto sobre el rendimiento, la expresión vegetativa y los indicadores fisiológicos de *Vitis vinífera* L. cv. *Merlot*. (en línea). *Enologia*. 5 (3): s.p. Consultado 14 oct. 2010. Disponible en <http://www.revistaenologia.com/articulo.php?id=282>

104. _____.; CAMUSSI, G.; GONZALEZ-NEVES, G.; ECHEVERRIA, G.; MONTAÑA, A. 2009. Condiciones predisponentes para las podredumbres de racimo; clima, variedad y técnicas de cultivo. (en línea). *Enología*. 6 (4): s.p. Consultado 2 set. 2010. Disponible en <http://www.revistaenologia.com/articulo.php?id=352#>
105. FINDLAY, N.; OLIVER, K.J.; NII, N.; COOMBE, B.G. 1987. Solute accumulation by grape pericarp cells. IV. Perfusion of pericarp apoplast via the pedicel and evidence for xylem malfunction in ripening berries. *Journal of Experimental Botany*. 38: 668-679.
106. FLEISCHER, A.; TITEL, C.; EHWALD, R. 1998. The boron requirement and cell wall properties of growing and stationary suspension-cultured *Chenopodium album* L. cells. *Plant Physiology*. 117: 1401-1410.
107. _____. 2000. Borwirkungen an primären zellwänden pflanzlicher zellen (Effects of boron on primary plant cell walls). Ph.D. thesis. Berlin, Germany. Humboldt-University. s.p.
108. FOYER, C.H.; DESCOURVIERES, P.; KUNERT, K.J. 1994. Protection against oxygen radicals; an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell and Environment*. 17: 507-523.
109. FRANCE AGRIMER. 2009. Les cepages noirs dans les vignobles. (en línea). s.l. Consultado 6 feb. 2010. Disponible en <http://www.onivins.fr/pdfs/455.pdf>
110. FREGONI, M. 1987. *Viticultura general; compendi didattici e scientifici*. 2ª. ed. Roma, Reda. 728 p.
111. _____.; ZAMBONI, M. 1991. La Viticultura y la acidez del mosto. *Viticultura y Enología Profesional*. no. 14: 48-50.
112. _____. 1999. *Viticultura di qualità*. Piacenza, Lama. 707 p.
113. FRIDOVICH, I. 1986. Biological effects of superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 247: 1-11.
114. FRY, S.C. 2004. Primary cell wall metabolism; tracking the careers of wall polymers in living plant cells. *New Phytologist*. 161: 641-675.
115. GALET, P. 1976. *Precis d`ampelografie pratique*. Montpellier, Paul Déhan. 266 p.

116. GAY, J.; PEARCE, R. 1984. The structure of plant surfaces. In: Conference Infection Processes of Fungi (1983, Bellagio, Italy). Reports. New York, The Rockefeller Foundation. pp. 16-30.
117. GEPP, V.; REBELLATO, J.; MARVEGGIO, A.; SILVERA, E.; PERDOMO, E.; BENTANCUR, O.; CURBELO, L.; CONTARIN, S. 2007. *Botrytis* bunch rot epidemiology in *Tannat* grapevines in southern Uruguay. In: International Botrytis Symposium (14°, 2007, Cape Town). Posters. Montevideo, s.e. s.p.
118. GERASOPULOS, D.; CHOULIARAS, V.; LIONIKAS, S. 1996. Effects of preharvest calcium chloride sprays on maturity and storability of *Hayward* kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*. 7: 65-72.
119. GLORIES, Y.; AUGUSTIN, M. 1993. Maturité phenolique du raisin, consequences technologiques; application aux millésimes 1991 et 1992. In: Colloque Journée Technique (1993, Bourdeaux). Actas. Bordeaux, France, CIVB. pp. 56-61.
120. GOETZ, G.; FKYERAT, N.; METAIS, N.; KUNZ, M.; TABACCHI, R.; PEZET, R.; PONT, V. 1999. Resistance factors to grey mould in grape berries; identification of some phenolics inhibitors of *Botrytis cinerea* stilbene oxidase. *Phytochemistry*. 52: 759-767.
121. GOLDBACH, H.E.; YU, Q.; WINGENDER, R.; SCHULZ, M.; WIMMER, M.; FINDEKLEE, P.; BALUSKA, F. 2001. Rapid response reactions of roots to boron deprivation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 164: 173-181.
122. GONZÁLEZ-NEVES, G.; FERRER, M.; CARBONNEAU, A.; MOUTOUNET, M. 2003a. Adaptación de la vinificación en tinto en función del potencial polifenólico de las uvas. Experiencias realizadas en la vendimia 2001. *Agrociencia*. 7 (1): 59-67.
123. _____; _____; BARREIRO, L.; GIL, G.; CARBONNEAU, A.; MOUTOUNET, M. 2003b. Composición de uvas tintas producidas en la región sur de Uruguay; incidencia de la variedad de uva. In: Taller-Seminario Zonificación del Cultivo de la Vid, Terroir-terruño y Potencial de Cosecha (2003, Montevideo). Textos. Montevideo, Uruguay, CYTED. pp. 98-111.

124. _____.; BARREIRO, L.; GIL, G.; FRANCO, J.; FERRER, M.; CARBONNEAU, A.; MOUTOUNET, M. 2004. Composición antociánica de uvas y vinos producidos en Uruguay con las variedades *Merlot*, *Cabernet-Sauvignon*, *Tannat*. *Viticultura y Enología Profesional*. no. 94: 49-57.
125. _____. 2005. Etude de la composition polyphénolique des raisins et des vins des cépages *Merlot*, *Cabernet-Sauvignon* et *Tannat* provenant de vignes conduites en Lyre et en Espalier dans le sud de l'Uruguay. Thèse de Doctorat. Montpellier, France. ENSAM. 279 p.
126. _____.; GIL, G.; BARREIRO, L.; FERRER, M.; FRANCO, J. 2006a. Composición fenólica de las uvas e las principales variedades tintas de *Vitis vinifera* cultivadas en Uruguay. *Agrociencia*. 10 (2): 1-14.
127. _____.; FERRER, M.; FRANCO, J.; BALADO, J.; BARREIRO, L.; BOCHICCHIO, R.; GATTO, G.; GIL, G.; TESSORE, A. 2006b. La variedad de uva como factor de diferenciación de los vinos; aplicación de los vinos tintos del Uruguay. (en línea). *Enología*. 3 (5): s.p. Consultado 2 set. 2010. Disponible en <http://www.revistaenologia.com/articulo.php?id=89#>
128. GREENSPAN, M.D.; SHACKEL, K.A.; MATTHEWS, M.A. 1994. Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficits. *Plant, Cell and Environment*. 17: 811-820.
129. GUBLER, W.D.; MAROIS, J.J.; BLEDSOE, A.M.; BETTIGE, L.J. 1987. Control of *Botrytis* bunch rot of grape with canopy management. *Plant Disease*. 71: 599-601.
130. GUO, X.L.; MA, Y.Y.; LIU, Z.H.; LIU, B.H. 2008. Effects of exterior abscisic acid on calcium distribution of mesophyll cells and calcium concentration of guard cells in Maize seedlings. *Agricultural Sciences in China*. 7 (4): 438-446.
131. GUTIERREZ, A. V. 2002. El deshoje en la variedad *Listán Negro*. *Viticultura y Enología Profesional*. no. 81: 17-22.
132. GUZMAN, C.C.; DE LA FUENTE, R.K. 1984. Polar calcium flux in sunflower hypocotyl segments. I. The effect of auxin. *Plant Physiology*. 76: 347-352.

133. HANCOCK, J.T.; DESIKAN, R.; NEILL, S.J. 2001. Role of reactive oxygen species in cell signaling pathways. *Biochemical Society Transactions*. 29 (2): 345-350.
134. HARDIE, W.J.; O'BRIEN, T.P.; JAUDZEMS, V.G. 1996. Morphology, anatomy and development of the pericarp after anthesis in grape *Vitis vinifera* L. *Australian Journal Grape Wine Research*. 2: 97-142.
135. HAYASHI, R.; HERNANDEZ, A. 1997. Evaluación del efecto de técnicas culturales y aplicación de ácido giberélico en parámetros de calidad del racimo del cv. *Italia (Vitis vinifera L)*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 100 p.
136. HIDALGO TOGORES, J. 2003. *Tratado de Enología*. Madrid, Mundi-Prensa. t.1, 752 p.
137. HOLLOWAY, P.J. 1982. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes; an overview. In: Cutler, D.F.; Alvin, F.C.L.; Price, C.E. eds. *Plant cuticle*. New York, Academic Press. pp. 1-32.
138. HOLZ, G.; GÜTSCHOW, M.; COERTZE, S.; CALITZ, F.J. 2003. Occurrence of *Botrytis cinerea* and subsequent disease expression at different positions on leaves and bunches of grape. *Plant Disease*. 87 (4): 351-358.
139. HOWELL, G.S.; CANDOLFI-VASCONCELOS, M.C.; KOBLET, W. 1994. Response of *Pinot Noir* Grapevine Growth. Yield and fruit composition to defoliation the previous growing season. *American Journal of Enology and Viticulture*. 45 (2): 188-191.
140. HUANG, X.; HUANG, H.; WANG, H. 2005. Cell walls of loosening skin in post-veraison grape berries lose structural polysaccharides and calcium while accumulate structural proteins. *Scientia Horticulturae*. 104: 249-263.
141. HUDGINS, J.W.; RALPH, S.G.; FRANCESCHI, V.R. 2006. Ethylene in induced conifer defense; cDNA cloning, protein expression, and cellular and subcellular localization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase in resin duct and phenolic parenchyma cells. *Planta*. 224: 865-877.
142. HUNTER, J.J.; DE VILLIERS, O.T.; WATTS, J.E. 1991. The effect of partial defoliation on quality characteristics of *Vitis vinifera* L. cv. *Cabernet Sauvignon* grapes II – Skin, skin sugar and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*. 42 (1): 188-191.

143. _____.; ARCHER, E. 2002. Papel actual y perspectivas futuras de la gestión del follaje. (en línea). ACE Revista de Enología. no. 21: s.p. Consultado 26 nov. 2009. Disponible en [http:// www.acenología.com/ciencia59_2htm](http://www.acenología.com/ciencia59_2htm)
144. IMLAY, J.A.; LINN, S. 1988. DNA damage and oxygen radical toxicity. Science. 240: 1302-1309.
145. INSTITUT TECHNIQUE DE LA VIGNE ET DU VIN (ITV). 1998. L'effeuillage de la Vigne. Les Cahiers itinéraires d'ITV. Tours. 15 p.
146. INSTITUTO NACIONAL DE VITIVINICULTURA (INAVI). s.f. Estadísticas de Viñedos. (en línea). Las Piedras, Canelones. Consultado 3 feb. 2010. Disponible en [http:// www.inavi.com.uy](http://www.inavi.com.uy)
147. INSTITUTO NACIONAL DE VITIVINICULTURA (INV). s.f. Datos estadísticos. (en línea). Mendoza, Argentina. Consultado 27 ene. 2010. Disponible en http://www.inv.gov.ar/PDF/Estadisticas/RegistroVinedos/REGISTRO_VINEDOS2008_JULIO.pdf
148. IPPOLITO, A.; LIMA, G.; NIGRO, F.; LINSALATA, V.; CASCARANO, N. 1994. Influenza del calcio sulla muffa grigia dell'uva da tavola in post-racolta e sull'attività di microrganismi antagonisti del patogeno. Italus Hortus. 1 (1): 36-41.
149. _____.; NIGRO, F.; LINSALATA, V.; CASCARANO, N.; LIMA, G. 1997. Marciumi dell'uva da tavola in post-racolta. Risultati di trattamenti pre-racolta con cloruro di calcio. Italus Hortus. 4 (3): 27-31.
150. _____.; _____. 2000. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. Crop Protection. 19 (8-10): 715-723.
151. JARVIS, R.W. 1977. Botryotinia and Botrytis species; taxonomy, physiology and pathogenicity. Ottawa, Canada, Department of Agriculture. 195p.
152. JIANG, M.Y.; ZHANG, J.H. 2002. Involvement of plasma membrane NADPH oxidase in abscisic acid and water stress induced antioxidant defence in leaves of maize seedlings. Planta. 215: 1022-1030.
153. JONES, R.L.; BUSH, D.S. 1991. Gibberellic acid regulates the level of a BiP cognate in the endoplasmic reticulum of barley aleurone cells. Plant Physiology. 97: 456-459.

154. JOUBERT, S., ARCHER, E. 2001. The critical importance of preventive Botrytis control in red wine cultivars. (en línea). Suider Paarl, South Africa, Wine Land. s.p. Consultado 11 nov. 2010. Disponible en http://www.wineland.co.za/wynboer_archive/recentarticles/0301bot.html
155. KAHL, G.; LATIES, G.G. 1989. Ethylene-induced respiration in thin slices of carrot root. *Journal of Plant Physiology*. 134: 496-503.
156. KAWAI, T.; HIKAWA, M.; ONO, Y. 1995. Effects of calcium-sulfate and sublimed sulphur on incidence of internal browning in roots of Japanese radish. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 64: 79-84.
157. KE, D.; SALTVEIT, M.E. 1986. Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenylalanine ammonia-lyase activity in iceberg lettuce. *Horticultural Science*. 21: 1169-1171.
158. KELLER, M., O. VIRET, F.M. COLE. 2003. Botrytis cinerea infection in grape flowers; defense reaction, latency, and disease expression. *Phytopathology*. 93: 316-322.
159. _____; SMITH, S.P.; BONDADA, B.R. 2006. Ripening grape berries remain hydraulically connected to the shoot. *Journal of Experimental Botany*. 57 (11): 2577-2587.
160. KENDE, H. 1993. Ethylene biosynthesis. *Plant Molecular Biology*. 44: 283-307.
161. KIM, Y.S.; YANG, S.F. 1994. Structure and expression of cDNA encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homologs isolated from excised mung bean hypocotyls. *Planta*. 194: 223-229.
162. _____; CHOI, D.; LEE, M.M.; LEE, S.H.; KIM, W.T. 1998. Biotic and abiotic stress-related expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene family in *Nicotiana glutinosa* L. *Plant and Cell Physiology*. 39: 565-573.
163. KLIEWER, W.M.; TORRES, R.E. 1972. Effecty of controlled day and night temperatures on grape coloration. *American Journal of Enology and Viticulture*. 23: 71-77.
164. _____; _____.1977. Influence of temperature, solar radiation and nitrogen on coloration and composition of *Emperor* grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 28: 96-103.

165. _____.; MAROIS, J. J.; BLEDSOE, A. M.; SMITH, S. P.; BENZ, M. J.; SILVESTRONI, O. 1988. Relative effectiveness of leaf removal, shoot positioning, and trellising for improving winegrape composition. *In*: International Symposium on Cool Climate Viticulture and Oenology (2nd, 1988, Auckland, New Zealand). Proceedings. Auckland, s.e. pp. 123-126.
166. KOEGELENBERG, P. 2002. PH – amanegeable quality parameter. (en linea). Suider Paarl, South Africa, Wine Land. s.p. Consultado 7 nov. 2009. Disponible en <http://www.wynboer.co.za/recentarticles/0103ph.php3>
167. KOLUPAEV, Y.E.; AKININA, G.E.; MOKROUSOV, A.V. 2005. Induction of heat tolerance in wheat coleoptiles by calcium ions and its relation to oxidative stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 52: 199-204.
168. KRETSINGER, R.H. 1990. Why cells must export calcium. *In*: Bronner, F. ed. *Intracellular calcium regulation*. New York, Wiley-Liss. pp. 439-457.
169. KUCHITSU, K.; KIKUYAMA, M.; SHIBUYA, N. 1993. N-Acetylchitooligosaccharides biotic elicitor for phytoalexin production, induce transient membrane depolarization in suspension-cultured rice cells. *Protoplasma*. 174: 79-81.
170. KWAK, S.S.; KIM, S.K.; PARK, I.J.; LUI, J.R. 1996. Enhancement of peroxidase activity by stress related chemicals in sweet potato. *Phytochemistry*. 43: 565-568.
171. LA BARGE IV, P.; PATTERSON, K. 2008. Influence of canopy management on *Cabernet Sauvignon* grapes and wine. *In*: ASEV Annual Meeting (59th, 2008, Portland, Oregon) Abstracts. *American Journal of Enology and Viticulture*. 59 (3): 331A.
172. LAMPORT, D.T.A. 1980. Structure and functions of plant glycoproteins. *Biochemistry of Plant*. 3: 501-541.
173. LANG, A.; THORPE, M.R., EDWARDS, W.R.N. 1986. Plant water potential and translocation. *In*: International Conference on Phloem Transport (1985, Asilomar, California). *Phloem transport*. New York, USA, Alan R. Liss. pp. 193-194.
174. _____.; _____. 1989. Xylem, phloem and transpiration flows in a grape; application of a technique for measuring the volume of attached fruits to high resolution using Archimedes' principle. *Journal of Experimental Botany*. 40: 1069-1078.

175. _____. 1990. Xylem, phloem and transpiration flows in developing apple fruits. *Journal of Experimental Botany*. 41: 645-651.
176. _____.; DÜRING, H. 1991. Partitioning control by water potential gradient; evidence for compartmentation breakdown in grape berries. *Journal of Experimental Botany*. 42: 1117-1122.
177. _____.; VOLZ, R.K. 1998. Spur leaves increase calcium in young apples by promoting xylem inflow and outflow. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 123: 956-960.
178. LATORRE, G.B. 1986. Manejo de *Botrytis cinerea* en uva de mesa. *Revista Frutícola*. 7 (3): 75-83.
179. _____.; RIOJA, M. E. 2002. Efecto de la temperatura y de la humedad relativa sobre la germinación de conidias de *Botrytis cinerea*. *Ciencia e Investigación Agraria*. 29 (2): 68-72.
180. LAU, O.-L.; YANG, S.F. 1975. Stimulation of ethylene production in the mung bean hypocotyls by cupric ion, calcium ion and kinetin. *Plant Physiology*. 57: 88-92.
181. LEBORGNE, C.; RODRIGUEZ, M.J. 2003. Efectos del retardador del crecimiento prohexadione calcio y del deshojado en la producción y calidad del cv. *Tannat (Vitis vinífera L.)*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 90 p.
182. LI, C.; PFEFFER, H.; DANNEL, F.; RÖMHELD, V.; BANGERTH, F. 2001. Effects of boron starvation on boron compartmentation, and possibly hormone-mediated elongation growth and apical dominance of pea (*Pisum sativum*) plants. *Physiologia Plantarum*. 111 (2): 212-219.
183. LI, X.B. 1991. Molecular structure and physiological function of enzymes in plant cell wall. *Plant Physiology Communications*. 27 (4): 246-252.
184. LIU, W.; SUN, D.L.; WANG, H.; JIAN, L.C.; SHANG, Z.L.; WANG, X.C.; ZHAO, K.F. 2001. Influence of low temperature on spatial-temporal changes of Ca^{2+} in winter or spring wheat. *Acta Botanica Sinica*. 43: 1218-1223.

185. MA, Y.Y.; LIU, Z.H.; GUO, X.L.; LI, G.M. 2007. The changes of Ca²⁺ localization in cells and cytological electromicroscopic structure of *Zea mays* L. leaflets under osmotic stress. *Journal of Agricultural University of Hebei*. 30: 1-3.
186. MC AINSH, M.R.; CLAYTON, H.; MANSFIELD, T.A.; HETHERINGTON, A.M. 1996. Changes in stomatal behaviour and guard cell cytosolic free calcium in response to oxidative stress. *Plant Physiology*. 111: 1031-1042.
187. MC CLELLAN, W.D.; B. HEWITT. 1973. Early botrytis rot of grapes; Time of infection and latency of *Botrytis cinerea* Pers. in *Vitis vinifera* L. *Phytopathology*. 63: 1151-1157.
188. MC LAUGHLIN, R.; WISNIEWSKI, M.; WILSON, C.; CHALUTZ, E. 1990. Effect of inoculum concentration and salt solutions on biological control of posharvest diseases of apple with *Candida sp.* *Phytopathology*. 80 (5): 456-461.
189. MC LAUGHLIN, S.B.; WIMMER, R. 1999. Calcium physiology and terrestrial ecosystem process. *New Phytologist*. 142: 373-417.
190. MALONE, M.; ANDREWS, J. 2001. The distribution of xylem hydraulic resistance in the fruiting truss of tomato. *Plant, Cell and Environment*. 24: 565-570.
191. MARRONI, V.; GUIDI, K. 1998. Evaluación de métodos alternativos para el control de *Botrytis cinerea* en uva de mesa cv. Moscatel de Hamburgo. Tesis Ing.Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 63 p.
192. MARTIN, J.T.; JUNIPER, B.E. 1970. The cuticles of plants. New York, USA. St. Martin`s Press. 347 p.
193. MARTINEZ DE TODA FERNANDEZ, F. 2002. Viticultura de calidad; factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos. (en línea). ACE Revista de Enología. no. 21: s.p. Consultado 26 nov. 2009. Disponible en [http:// www.acenología.com/ciencia59_1.htm](http://www.acenología.com/ciencia59_1.htm)
194. _____. 2008. Claves de la Viticultura de Calidad; nuevas técnicas de estimación y control de la calidad de la uva en el viñedo. Madrid, Mundi-Prensa. 214 p.

195. MATEOS DE VICENTE, M. 2007. Efectos del cloruro cálcico en la estabilidad de las tierras. *Cimbra*. 373: 44-48.
196. MATERN, U.; GRIMMING, B. 1994. Natural phenols as stress metabolites. *Acta Horticulturae*. no. 381: 448-462.
197. MENDOZA, H. 2010. Problemática del calcio en uva de mesa y su relación con la condición de post-cosecha. In: Seminario de Uva de Mesa (2º, 2010, Marbella). *Actas. s.n.t.* 1 disco compacto.
198. MERINO, N. 1996. Evaluación de técnicas de manejo sobre el racimo del cv. Moscatel de Hamburgo, para mejorarse calidad y adelantar su fecha de maduración. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 124 p.
199. MITTLER, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*. 7 (9): 405-410.
200. _____.; VANDERAUWERA, S. GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*. 9 (10): 1360-1385.
201. MORI, K.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KITAYAMA, M.; HASHIZUME, K. 2006. Effects of high temperatures on anthocyanin composition and anthocyanin biosynthetic gene expression in red winegrapes. In: ASEV Annual Meeting (57th, 2006, Sacramento, California). Papers and Posters. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57 (3): 386A.
202. MOSCATELLO, S.; PROIETTI, S.; FAMIANI, F.; BOCO, M.; BATTISTELLI, A. 2003. Control of the metabolism of the oxalic acid and its interactions with calcium (Ca) in fruits of *Actinidia deliciosa* "Hayward". In: Symposium on Horticulture in Europe (1º, 2008, Vienna). Abstracts. s.n.t. s.p.
203. MOVAHEDI, S.; HEALE, J.B. 1990. The roles of aspartic proteinase and endopectin lyase enzymes in the primary stages of infection and pathogenesis of various host tissues by different isolates of *Botrytis cinerea* Pers ex. Pers. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 36: 303-324.
204. MOYEN, C.; HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.; KNIGHT, M.R.; JOHANNES, E. 1998. Systemin triggers an increase in cytoplasmic calcium in tomato mesophyll cells; Ca²⁺ mobilization from intra- and extracellular compartments. *Plant, Cell and Environment*. 21: 1101-1111.

205. MÜHLING, K.H.; WIMMER, M.; GOLDBACH, H.E. 1998. Apoplastic and membrane-associated Ca^{2+} in leaves and roots as affected by boron deficiency. *Physiologia Plantarum*. 102: 179-184.
206. MUÑOZ, R.; PEREZ, J.; PSZCOLKOWSKI, P.; BORDEU, E. 2002. Influencia del nivel de carga y microclima sobre la composición y calidad de bayas, mosto y vino de *Cabernet Sauvignon*. *Ciencia e Investigación Agraria*. 29 (2): 115-125.
207. MURPHY, R.; DE COURSEY, T.E. 2006. Charge compensation during the phagocyte respiratory burst. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1757: 996-1011.
208. NEILL, S.J.; DESIKAN, R.; CLARKE, A.; HURST, R.D.; HENCOCK, J.T. 2002. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*. 53: 1237-1247.
209. NELSON, K. E. 1950. Factors influencing the infection of table grapes by *Botrytis cinerea* (Pers.). *Phytopathology*. 41: 319-326.
210. _____. 1951. Effect of humidity on infection of table grapes by *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*. 41: 859-864.
211. OBSERVATOIRE AQUITAIN DE LA VITICULTURE (OAV). 2008. Le vignoble . (en línea). Bordeaux, Aquitaine. Consultado 6 feb. 2010. Disponible en http://oav.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/cepage_cle4119c1.pdf
212. OLLAT, N.; GAUDILLÈRE, J.P. 1996. Investigation of assimilate import mechanisms in berries of *Vitis vinifera* var. “*Cabernet Sauvignon*”. *Acta Horticulturae*. no. 427: 141-149.
213. _____.; _____. 1998. The effect of limiting leaf area during stage I of berry growth on development and composition of berries of *Vitis vinifera* L. cv. *Cabernet Sauvignon*. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49: 251-258.
214. OPARKA, K.J.; TURGEON, R. 1999a. Sieve elements and companion cells-traffic control centers of the phloem. *Plant Cell*. 11: 739-750.

215. _____.; ROBERTS, A.G., BOEVNIK, P.; CRUZ, S.S.; ROBERTS, I.; PRADEL, K.S.; IMLAU, A.; KOTLIZKY, G.; SAUER, N.; EPEL, B. 1999b. Simple, but not branched, plasmodesmata allow the nonspecific trafficking of proteins in developing tobacco leaves. *Cell*. 97: 743-754.
216. OROZCO-CARDENAS, M.L.; NARVAEZ-VASQUEZ, J.; RYAN, C.A. 2001. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin and methyl jasmonate. *Plant Cell*. 13: 179-191.
217. PANDOLFI, C.; CUELLO, I. 2005. Vitivinicultura regional. (en línea). General Roca, Rio Negro, s.e. Consultado 27 ene. 2010. Disponible en http://7decopas.com.ar/vitivinicultura_regional.htm
218. PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. 2004. Performing the paradoxical; how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends in Plant Science*. 9: 534-540.
219. PARRY, K.E.; WOOD, R.K.S. 1958. The adaptation of fungi to fungicides; adaptation to copper and mercury salts. *Annals of Applied Biology*. 46: 446-456.
220. PATRICK, J.W. 1997. Phloem unloading; sieve element unloading and post-sieve element transport. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 48: 191-222.
221. PEARSON, R.C.; GOHEN, A. 1996. Plagas y enfermedades de la vid. Madrid, Mundi-Prensa. 91 p.
222. PENEL, C.; VAN CUSTEM, P.; GREPPIN, H. 1999. Interactions of a plant peroxidasa with oligogalcturonides in the presence of calcium ions. *Phytochemistry*. 51: 193-198.
223. PERCIVAL, D.C.; FISHER, K.H.; SULLIVAN, J.A. 1993. Effect of cluster exposure, berry contact and cultivar on cuticular membrane formation and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea*. Pers.) with 3 *Vitis vinífera* L. cultivars. *Vitis*. 32(2): 87-97.
224. _____.; _____.; _____. 1994a. Use of fruit zone leaf removal with *Vitis vinífera* L. cv. *Riesling* grapevines. I -Effects on canopy structure, microclimate, bud survival, shoot density and vine vigor. *American Journal of Enology and Viticulture*. 45 (5): 123-132.

225. _____.; _____.; _____. 1994b. Use of fruit zone leaf removal with *Vitis vinifera* L. cv. *Riesling* grapevines. II -Effects on fruit composition, yield and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.). American Journal of Enology and Viticulture. 45 (2): 133-140.
226. PERSURIC, D., BRATOVIC, I., CARNELLO, G. 2001. Impact of partly on must and wine quality of “*Malvazije estarke*” variety on the short cut cordon. In: GESCO (12°.., 2001, Montpellier). Actas. Montpellier, France, s.e. pp. 521 – 526.
227. PEREZ, J.; KLIWER, W.M. 1990. Effect of shading on bud necrosis and bud fruitfulness of “*Thompson Seedless*” grapevines. American Journal of Enology and Viticulture. 41: 168-175.
228. PERTOT, I.; ELAD, Y.; TASIN, M. 2007. La muffa grigia della vite. Sam Michele All'Adige, Instituto Agrario di Sam Michele All'Adige. 66 p.
229. PEYNAUD, E. 1977. Enología práctica; conocimiento y elaboración del vino. Madrid, Mundi-Prensa. 414 p.
230. _____. 1984. Enología práctica; conocimiento y elaboración del vino. 2ª. ed. Madrid, Mundi-Prensa. 405 p.
231. PEZET, R.; VIRET, O; PERRET, C.; TABACCHI, R. 2003. Latency of *Botrytis cinerea* Pers.; Fr. and biochemical studies during growth and ripening of two grape berry cultivars, respectively susceptible and resistant to grey mould. Journal of Phytopathology. 151: 208-214.
232. PHILLIPS, P.A.; FOOTT, J.H.; RIGHETTI, L. 1990. Grape pruning methods can affect *Botrytis* bunch rot. California Agriculture. 44 (3): 9-10.
233. PICCARDO, D.; FERRER, M.; GEPP, V.; GONZALEZ-NEVES, G. 2007. Influencia de la variedad, el sistema de conducción y el tipo de poda en la calidad sanitaria de la uva. In: Congreso Nacional de la Sociedad Uruguaya de Horti-Fruticultura (9°.), Congreso Panamericano de Promoción del Consumo de Frutas y Hortalizas (3°., 2007, Montevideo). Actas. s.n.t. 1 disco compacto.
234. _____. 2008. Estudio de la incidencia del microclima y de la gestión del follaje sobre el crecimiento vegetativo, la maduración y la sanidad de *Vitis vinifera*, cv. Tannat. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 120 p.

235. PIERI, P.; FERMAUD, M.; MIMIAGUE, F. 2001. Analyse du microclimat des grappes-effets de la compacité et de l'effeuillage. In: GESCO (12^e., 2001, Montpellier). Actas . Montpellier, France, s.e. pp. 71-76.
236. _____.; _____. 2005. Effects of defoliation on temperature and wetness of grapevine berries. Acta Horticulturae. no. 689: 109-116.
237. PISSAREK, H.P. 1980. Makro und mikrosymptome des bormangels bei sonnenblumen, chinakohl und mais. Pflanzenenähr Bodenk. 143: 150-160.
238. PONI, S. 2005. Producir cantidad respetando la calidad: objetivos de la gestión del follaje. Parte 1. (en línea). Enología. 2 (4): s.p. Consultado 11 nov. 2010. Disponible en <http://www.revistaenologia.com/articulo.php?id=133>
239. _____.; CASALINI, F.; BERNIZZONI, S.; CIVARDI, S.; INTRIERI, C. 2006. Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components and grape quality. American Journal of Enology and Viticulture. 57 (4): 397-407.
240. POOVAIAH, B. W. 1986. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. Food Technology. 40: 86-89.
241. PRATT, C. 1971. Reproductive anatomy in cultivated grapes; a review. American Journal of Enology and Viticulture. 22: 92-106.
242. _____.; GLEEN, G.; REDDY, A. 1988. Calcium and fruit softening; physiology and biochemistry. Horticultural Review. 10: 107-151.
243. RAESE, J.T.; DRAKE, S.R.; STAIFF, D.C. 1995. Influence of different calcium materials and spray timing on mineral composition, yield, fruit quality and control of fruits disorders of "Anjou" pears. Journal of Plant Nutrition. 18 (4): 823-838.
244. RAVEN, J.A. 1977. H⁺ and Ca⁺⁺ in phloem and symplast; relation of relative immobility of the ions to the cytoplasmic nature of the transport paths. New Phytologist. 79: 465-480.
245. RAZEM, F.A.; BERNARDS, M.A. 2003. Reactive oxygen species production in association with suberization: evidence for an NADPH-dependent oxidase. Journal of Experimental Botany. 54 (384): 935-941.

246. RENAUD, C.; OUSTRIC, J. 2001. Optimisation de la conduite de *Vitis vinifera* cv. *Mourvegre* par la variation du rapport < feuillage exposure-fruits>. In: GESCO (12^o., 2001, Montpellier). Actas. Montpellier, France, s.e. pp. 393-399.
247. REYNIER, ALAIN. 2005. Manual de Viticultura. 6^a. ed. Madrid, Mundi-Prensa. pp. 441-451.
248. REYNOLDS, A.G.; WARDLE, D.A.; HALL, J.W.; DEVER, M. 1995. Fruit maturation of four *Vitis vinifera* cultivars in response to vineyard location and basal leaf removal. American Journal of Enology and Viticulture. 46: 542-558.
249. _____.; _____.; DEVER, M. 1996. Vine performance, fruit composition, and wine sensory attributes of *Gewürztraminer* in response to vineyard location and canopy manipulation. American Journal of Enology and Viticulture. 47: 77-92.
250. _____.; SCHLOSSER, J.; POWER, R.; ROBERTS, R.; WILLWERTH, J.; DE SAVIGNY, C. 2007. Magnitude and interaction of viticultural and enological effects. I. Impact of canopy management and yeast strain on sensory and chemical composition of *Chardonnay Musqué*. American Journal of Enology and Viticulture. 58 (1): 12-24.
251. RIBEIRO DE MELLO, L. 2008. Cadastro vitícola do Rio Grande do Sul; alguns indicadores para a vitivinicultura gaúcha. Bento Gonçalves, EMBRAPA Uva e Vinho. 2 p.
252. RIBEREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E. 1982. Ciencias y técnicas de la viña. Buenos Aires, Hemisferio Sur. 671 p.
253. _____.; _____.; SUDRAUD, P.; RIBEREAU-GAYON, P. 1989. Tratado de Enología. Ciencias y técnicas del vino. Buenos Aires, Hemisferio Sur. t.1, 537 p.
254. RICARDO-DA-SILVA, J.1992. Procyanidines du raisin et du vin. Structure et propriétés chimiques. Thèse de Doctorat. Montpellier, France. ENSA. s.p.
255. RITTER, H.L. 1956. Introducción a la química; tratado moderno para la enseñanza en universidades y escuelas técnicas superiores. Barcelona, España, Reverté. p.p. 151-153.

256. ROBERTS, A.G.; SANTA CRUZ, S.; ROBERTS, I.M.; PRIOR, D.A.M.; TURGEON, R.; OPARKA, K.J. 1997. Phloem unloading in skin leaves of *Nicotiana benthamiana*; comparison of a fluorescent solute with a fluorescent virus. *Plant Cell*. 9: 1381-1396.
257. ROBINSON, S.P.; DAVIES, C. 2000. Molecular biology of grape ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 6: 175-188.
258. ROGIERS, S.Y.; KELLER, M.; HOLZAPFEL, B.P.; VIRGONA, J.M. 2000. Accumulation of potassium and calcium by ripening berries on field vines of *Vitis vinifera* (L.) cv. *Shiraz*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 6: 240-243.
259. _____.; SMITH, J.S.; WHITE, R.; KELLER, M.; HOLZAPFEL, B.P.; VIRGONA, J.M. 2001. Vascular function in berries of *Vitis vinifera* (L.) cv. *Shiraz*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 7: 47-51.
260. _____.; GREER, D.H.; HATFIELD, J.M.; ORCHARD, B.A.; KELLER, M. 2006a. Mineral sinks within ripening grape berries (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*. 45: 115-123.
261. _____.; _____.; _____.; _____.; _____. 2006b. Solute transport into *Shiraz* berries during development and late-ripening shrinkage. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57 (1): 73-80.
262. ROS BARCELÓ, A.; GÓMEZ ROS, L.V.; GABALDÓN, C.; LÓPEZ-SERRANO, M.; POMAR, F.; CARRIÓN, J.S.; PEDRENO, M.A. 2004. Basic peroxidases; the gateway from lignin evolution?. *Phytochemistry Reviews*. 3: 61-78.
263. ROSENQUIST, J.; MORRISON, J. 1988. The development of the cuticle and epicuticular wax of the grape berry. *Vitis*. 27: 63-70.
264. _____.; _____. 1989. Some factors affecting cuticle and wax accumulation on grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 40 (4): 241-244.
265. RUAN, Y.L.; LLEWELLYN, D.J.; FURBANK, R.T. 2001. The control of single-celled cotton fiber elongation by developmentally reversible gating of plasmodesmata and coordinated expression of sucrose and K⁺ transporters and expansin. *Plant Cell*. 13: 47-60.

266. RUIZ, J.M.; BRETONES, G.; BAGHOUR, M.; RAGALA, L.; BELAKBIR, A.; ROMERO, L. 1998. Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves. *Phytochemistry*. 48: 269-272.
267. _____.; RIVERO, R.; LÓPEZ-CANTERO, I.; ROMERO, L. 2003. Role of Ca^{2+} in the metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Growth Regulation*. 41: 173-177.
268. SACWINEREGION.COM. 2008. Mike Dunne`s wine of the week 11-11-09. (en línea). Sacramento, California. s.p. Consultado 5 feb. 2010. Disponible en <http://www.sacwineregion.com/118/story/1337.html>
269. SACCHI, K.; BISSON, L.; ADAMS, D. 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56 (3): 197-206.
270. SAGI, M.; FLUHR, R. 2001. Superoxide production of plant homologues of the gp91phor NADPH oxidase. Modulation of activity of calcium and by tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiology*. 126: 1281-1290.
271. SAINT-CRICQ, N.; VIVAS, N.; GLORIES, Y. 1999. Maduración fenólica de las uvas tintas. Relación con la calidad de los vinos. Comparación entre los viñedos *Merlot* y *Tempranillo* (I). *Semana Vitivinícola*. 2747: 1047-1051.
272. SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. 1996. *Fisiología vegetal*. 4ª. ed. Mexico, Castillo Hermanos. 759 p.
273. SALTVEIT, M.E. 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 15: 279-292.
274. SANDERS, D.; BROWNLEE, C.; HARPER, J.F. 1999. Communicating with calcium. *The Plant Cell*. 11: 691-706.
275. SARGENT, C. 1976. Studies on the ultrastructure and development of the plant cuticle. PhD thesis. London, UK. University of London. p. 171.
276. SARRY, J.E.; SOMMERER, N.; SAUVAGE, F.X.; BERGOIN, A.; ROSSIGNOL, M.; ALBAGNAC, G.; ROMIEU, C. 2004. Grape berry biochemistry revisited upon proteomic analysis of the mesocarp. *Proteomics*. 4: 201-215.
277. SAURE, M.C. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Horticulturae*. 105: 65-89.

278. SBAGHI, M.; JEANDET, P.; BESSIS, R.; LEROUX, P. 1996. Degradation of stilbene-type phytoalexins in relation to the pathogenicity of *Botrytis cinerea* to grapevine. *Plant Pathology*. 45: 139-144.
279. SCOOT, K.J.; WILLS, R. 1975. Postharvest applications of calcium as a control for storage breakdown of apples. *HortScience*. 10: 75-76.
280. SCRASE-FIELD, S.A.M.G.; KNIGHT, M.R. 2003. Calcium; just a chemical switch? *Current Opinion. Plant Biology*. 6: 500-506.
281. SCHALLER, K.; LÖHNERTZ, O.; CHIKKASUBBUNNA, V. 1992. Calcium absorption by the grape berries of different cultivars during growth and development. *Viticulture, Enology and Sciences*. 47: 62-65.
282. SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*. 148: 339-346.
283. SERRANO, E.; RENARD, R. 2001a. L'effeuillage de la vigne synthèse de quatre années d'études menées en Midi-Pyrenees. *Grau du Roi, ITV France Midi-Pyrenees*. 13 p.
284. _____.; _____.; DUFOURCQ, T. 2001b. Impact de l'effeuillage sur la qualite des vins analyses et degustations des vins au cours de leur vieillissement. In: *GESCO (12^o, 2001, Montpellier)*. Actas. Montpellier, France, s.e. pp. 541-547.
285. SHACKLOCK, P.S.; READ, N.D.; TREWAVAS, A.J. 1992. Cytosolic free calcium mediates red light-induced photomorphogenesis. *Nature*. 358: 753-755.
286. SHEEN, J. 1996. Ca²⁺-dependent protein kinases and stress signal transduction in plants. *Science*. 274: 1900-1902.
287. SHISHOVA, M.; LINDBERG, S. 2004. Auxin induces an increase of Ca²⁺ concentration in the cytosol of wheat leaf protoplasts. *Journal of Plant Physiology*. 161: 937-945.
288. SIPIORA, M. 1995. Influencia del aclareo manual, el aclareo con etefón y el deshoje sobre la producción y la composición del fruto de *Moristel*, *Cariñena* y *Chenin Blanc*. *Viticultura y Enología Profesional*. no. 45: 16-24.

289. SMART, R.E. 1985. Principles of grapevine canopy microclimate with implications for yield and quality; a review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 36 (3): 230-239.
290. _____.; ROBINSON, M. 1991. Sunlight into wine; a handbook for winegrape canopy management. Adelaide, Underdale. 88 p.
291. SMIRNOFF, N. 1995. Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Smirnoff, N. Environment and plant metabolism; flexibility and acclimation. Oxford, Bios Scientific. pp. 217-243.
292. SÖDERHÄL, I. 1995. Propierties of carrot polyphenol oxidase. *Phytochemistry*. 39: 33-38.
293. SOUQUET, J.; CHEYNIER, V.; SARNI-MANCHADO, P.; MOUTOUNET, M. 1996. Les composés phénoliques du raisin. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. no. 33: 99-107.
294. _____.; _____.; MOUTOUNET, M. 2000. Composition en tanins de différents cépages. In: Lonvaud-Funel, A. coord. *Enologie 99*. Paris, Tec. & Doc. s.p.
295. SOUTH AFRICA WINE INDUSTRY INFORMATION AND SYSTEMS (SAWIS). 2010. 2008 Statistics of Wine-Grape vines. (en línea). Cape Town. Consultado 27 ene. 2010. Disponible en <http://www.sawis.co.za>
296. SPAYD, S.E.; TARARA, J.M.; MEE, D.L.; FERGUSON, J.C. 2002. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinífera* cv. *Merlot* berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53 (3): 171-182.
297. STEENKAMP, J.; TERBLANCHE, J.H.; VILLIERS, O.T. 1983. The role of organic acids and nutrient elements in relation to bitter pit in golden delicious apples. *Acta Horticulturae*. no. 138: 35-42.
298. STOCKWELL, V.; HANCHEY, P. 1984. The role of the cuticle in resistance of beans to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 74: 1640-1642.
299. SUDHA, G.; RAVISHANKAR, G.A. 2003a. Influence of putrescine on anthocyanin production in callus cultures of *Daucus carota* mediated through calcium ATPase. 2003. *Acta Physiologiae Plantarum*. 25 (1): 69-75.

300. _____.; _____. 2003b. The role of calcium channels in anthocyanin production in callus cultures of *Daucus carota*. *Plant Growth Regulation*. 40: 163-169.
301. SURJADINATA, B.B.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. 2003. Modeling wound-induced respiration of fresh-cut carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Food Science*. 68 (9): 2735-2740.
302. TADESSE, T.; NICHOLS, M.; FISHER, K. 1999. Nutrient conductivity effects on sweet pepper plants grown using a nutrient film technique; blossom-end rot and fruit mineral status. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 27: 239-247.
303. TANG, P.M.; DE LA FUENTE, R.K. 1986a. Boron and calcium sites involved in indole-3-acetic acid transport in sunflower hypocotyl segments. *Plant Physiology*. 81: 651-655.
304. _____.; _____. 1986b. The transport of indole-3-acetic acid in boron and calcium deficient sunflower hypocotyl segments. *Plant Physiology*. 81: 646-650.
305. TARARA, J.M.; LEE, J.; SPAYD, S.E.; SCAGEL, C.F. 2008. Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion and concentration of anthocyanin in *Merlot* grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 59 (3): 235-247.
306. TEASDALE, R.D.; RICHARDS, D.K. 1990. Boron deficiency in cultured pine cells. *Plant Physiology*. 93: 1071-1077.
307. TEIXEIRA, A.F.; BASTOS ANDRADE, A.; FERRARESE-FILHO, O.; LUCIO FERRARESE, M. 2006. Role of calcium on phenolic compounds and enzymes related to lignification in soybean (*Glycine max* L.) root growth. *Plant Growth Regulation*. 49: 69-76.
308. THOMAS, C.; MAROIS, J.; ENGLISH, J. 1988. The effects of wind speed, temperature and relative humidity on development of aerial mycelium and conidia of *Botrytis cinerea* on grape. *Phytopathology*. 78 (3): 260-265.
309. THYPYAPONG, P.; HUNT, M.D.; STEFFENS, J.C. 1995. Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. *Phytochemistry*. 40: 673-676.

310. TOMALA, K.; DILLEY, D.R. 1989. Some factors influencing the calcium level in apple fruits. *Acta Horticulturae*. no. 274: 481-488.
311. _____. 1997. Orchard factors affecting nutrient content and fruit quality. *Acta Horticulturae*. no. 448: 257-264.
312. TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GIL, M.I.; CASTAÑER, M.; ARTÉS, F.; SALTVEIT, M.E. 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 583-589.
313. TYERMAN, S.D.; TILBROOK, J.; PARDO, C.; KOTULA, L.; SULLIVAN, W.; STEUDLE, E. 2004. Direct measurement of hydraulic properties in developing berries of *Vitis vinifera* L. cvs *Shiraz* and *Chardonnay*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 10: 170-181.
314. UNDURRAGA, P. OLAETA, J.A.; LUTTGES, C.G.; SUAREZ, R. 2002. Efecto del calibre y madurez de limones cv. *Fino 49*, sobre el desarrollo de petaca en almacenamiento refrigerado. *Simiente*. 72 (1-2): 35-40.
315. VAIL, M.E.; MAROIS, J.J. 1991. Grape cluster architecture and susceptibility of berries to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*. 81: 188-191.
316. _____.; WOLPERT, J.A.; GUBLER, W.D.; RADEMACHER, M.R. 1998. Effect of cluster tightness on *Botrytis* bunch rot in six *Chardonnay* clones. *Plant Disease*. 82 (1): 107-109.
317. VAN BEL, A.J.E. 2003. The phloem, a miracle of ingenuity. *Plant, Cell and Environment*. 26: 125-149.
318. VAN LEEUWEN, C.; FRIANT, P.; CHONÉ, X.; TREGOAT, O.; KOUNDOURAS, S.; DUBOURDIEU, D. 2004. Influence of climate, soil, and cultivar on terroir. *American Journal of Enology and Viticulture*. 55 (3): 207-217.
319. VENDIMIA. 2006. Noticias. (en línea). Huechuraba, Santiago de Chile, Editec. s.p. Consultado 9 feb. 2010. Disponible en http://www.vendimia.cl/noticias/index_neo_cepas.php?id=2681
320. _____. 2009a. Mercado Vitivinícola. (en línea). Huechuraba, Santiago de Chile, Editec. s.p. Consultado 9 feb. 2010. Disponible en http://www.vendimia.cl/noticias/index_mercado_vitivinicola.php?id=659

321. _____. 2009b. Noticias. (en línea). Huechuraba, Santiago de Chile, Editec. s.p. Consultado 9 feb. 2010. Disponible en http://www.vendimia.cl/noticias/index_neo.php?id=6525
322. VIRET, O.; GINDRO, K. 2007. Physiologie des baies de raisin et facteurs climatiques. *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture*. 39 (1): 61-63.
323. VITCH, N.C. 2004. Horseradish peroxidasa; a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry*. 65: 249-259.
324. VOLPIN, H.; ELAD, Y. 1991. Influence of calcium nutrition on susceptibility of rose flowers to *Botrytis* blight. *Phytopathology*. 81: 1390-1394.
325. VON MOHL, H. 1847. Untersuchung der frage; bildet die cellulose die grundlage sammtlicher vegetabilischen membranen? *Botanische Zeitung*. 5: 497-505.
326. VRANOVA, E.; INZE, D.; VAN BREUSEGEM, V. 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*. 53: 1227-1236.
327. WANG, F.R.; ZHANG, X.H. 2002. Cytochemistry of Ca²⁺ in the chloroplast of the wheat seedling under water stress. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*. 21: 102-109.
328. WANG, L.J.; HUANG, W.D.; LI, J.Y.; LIU, Y.F.; SHI, Y.L. 2004. Peroxidation of membrane lipid and Ca²⁺ homeostasis in grape mesophyll cells during the process of cross-adaptation to temperature stresses. *Plant Science*. 167: 71-77.
329. WANG, M.; DIJN, B.V.; SCHRAM, A.W. 1991. Abscisic acid induces a cytosolic calcium decrease in barley aleurone protoplasts. *FEBS Letters*. 278: 69-74.
330. WATANABE, T.; SAKAI, S. 1998. Effects of active oxygen species and methyl jasmonate on expresión of the gene for a wound-inducible l-aminocyclopropane-l-carboxylate synthase in winter squash (*Cucurbita maxima*). *Planta*. 206: 570-576.
331. WELCH, R.M. 1986. Effects of nutrient deficiencies on seed production and quality. *In*: Tinker, B.; Läuchli, A. eds. *Advances in plant nutrition*. New York, Praeger Scientific. pp. 205-247.

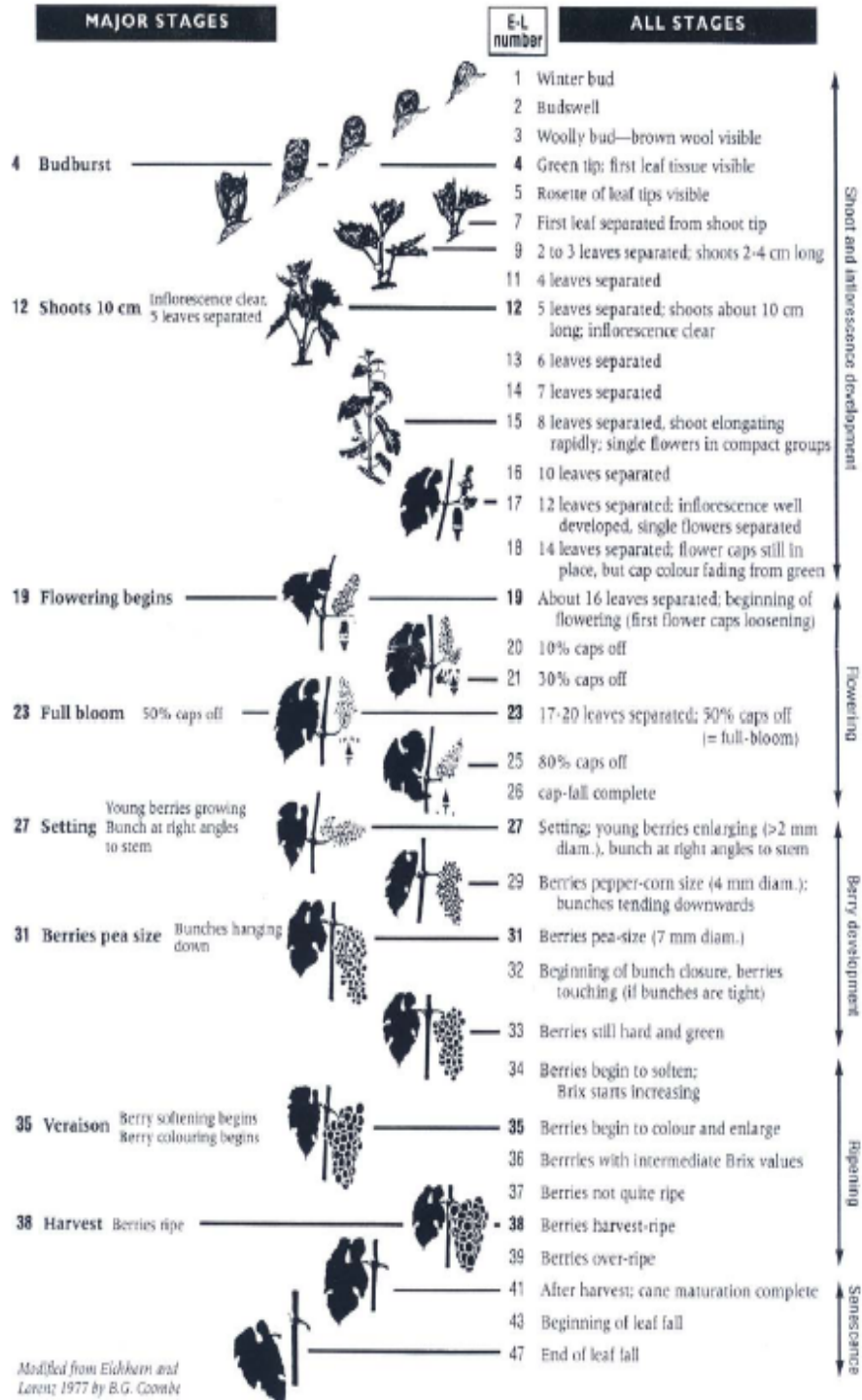
332. _____. 2010. Tannat. (en línea). s.l. Consultado 6 feb. 2010. Disponible en [http://en.wikipedia.org/wiki/South West France wine region](http://en.wikipedia.org/wiki/South_West_France_wine_region)
333. WILLIAMS, L.; BISCAY, P.; SMITH, R. 1987. Effect of interior canopy defoliation on berry composition and potassium distribution in *Thompson seedless* grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 38: 287-292.
334. WILLS, R.B.; TIRMAZZI, S.I. 1977. Use of calcium to delay ripening of tomatoes. *HortScience*. 12: 551-552.
335. WIMMER, M.A.; GOLDBACH, H.E. 1999. Influence of Ca²⁺ and pH on the stability of different boron fractions in intact roots of *Vicia faba* L. *Plant Biology*. 1: 632-637.
336. WINECOUNTRY.IT. 2007. Región. (en línea). Marin County, California. Consultado 27 ene. 2010. Disponible en <http://winecountry.it/italiano/regioni/sicilia/index.html>
337. WINES OF SOUTH AFRICA (WOSA). 2009. Winegrowing areas. (en línea). Cape Town. Consultado 28 ene. 2010. Disponible en http://www.wosa.co.za/sa/winwgrowing_wineland.php
338. WINKLER, A.J. 1962. *Viticultura General*. Mexico, Continental. 792 p.
339. WISNIEWSKI, M.; DROBY, S.; CHALUTZ, E.; EILAM, Y. 1995. Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* in vitro and on the biocontrol activity of *Candida oleophila*. *Plant Pathology*. 44 (6): 1016-1024.
340. WÓJCIK, P.; CIESLINSKI, G.; MIKA, A. 1999. Apple yield and fruit quality as influenced by boron applications. *Journal of Plant Nutrition* 22 (9): 1365-1378.
341. WOOD, N.T.; ALLAN, A.C.; HALEY, A.; VIRY-MOUSSÏD, M.; TREWAVAS, A.J. 2000. The characterization of differential calcium signaling in tobacco guard cells. *Plant Journal*. 24: 335-344.
342. WORDPRESS.COM. 2008. Tannat, emblema de un pais. (en línea). s.l. Consultado 27 ene. 2010. Disponible en <http://www.sergiomic.wordpress.com/2008/04/24>

343. YAMANOUCHI, M. 1943. The role of boron in higher plants (Part 2). The influence of boron on the formation of pectic substances. Bulletin of the Faculty of Agriculture (Tottori University). 25: 21-27.
344. YAMAUCHI, T.; HARA, T.; SONODA, Y. 1986. Distribution of calcium and boron in the pectin fraction of tomato leaf wall. Plant and Cell Physiology. 27: 729-732.
345. YAN, C.L.; WANG, J.B. 2003. Effect of heat stress on calcium distribution in pepper style. Acta Horticulturae Sinica. 30: 95-97.
346. YANG, T.; POOVAIAH, B.W. 2003. Calcium/calmodulin-mediated signal network in plants. Trends in Plant Science. 8: 505-512.
347. YU, X.C.; LI, M.J.; GAO, G.F.; FENG, H.Z.; GENG, X.Q.; PENG, C.C.; ZHU, S.Y.; WANG, X.J.; SHEN, Y.Y.; ZHANG, D.P. 2006. Abscisic acid stimulates a calcium-dependent protein kinase in grape berry. Plant Physiology. 140: 558-576.
348. ZAMBONI, M.; FREGONI, M. 1991. La viticultura y la acidez del mosto. Viticultura y Enología Profesional. no. 14: 29-37.
349. ZHANG, X.Y.; WANG, X.L.; WANG, X.F.; XIA, G.H.; PAN, Q.H.; FAN, R.C.; WU, F.Q.; YU, X.C.; ZHANG, D.P. 2006. A shift of phloem unloading from symplasmic to apoplasmic pathway is involved in developmental onset of ripening in grape berry. Plant Physiology. 142: 220-232.
350. ZITTER, S.M. 2005. The biology and control of Botrytis bunch rot (*Botrytis cinerea*) in grapevines; ontogenic, physical, and cultural factors affecting initiation and spread of the disease. Thesis PhD. Geneva, NY, Cornell University. Department of Plant Pathology. 202 p.
351. ZOECKLEIN, B. W.; WOLF, T. K.; EUNCAN, N. W.; JUDGE, J. M.; COOK, M. K. 1992. Effects of fruit zone leaf removal on yield, fruit composition, and fruit rot incidence of *Chardonnay* and *White riesling* (*Vitis vinifera* L.) grapes. American Journal of Enology and Viticulture. 43 (2): 139-147.
352. ZUFFEREY, V., MURISIER, F. 2001. Etude de l'activite photosynthetique des feuilles chez *Vitis vinifera* L. (cv *Chasselas*) en fonction des parametres climatiques et physiologiques: I – Influence de l'eclairment et de la temperatura foliaire. In: GESCO (12°, 2001, Montpellier). Actas. Montpellier, France. s.e. pp. 237-244.

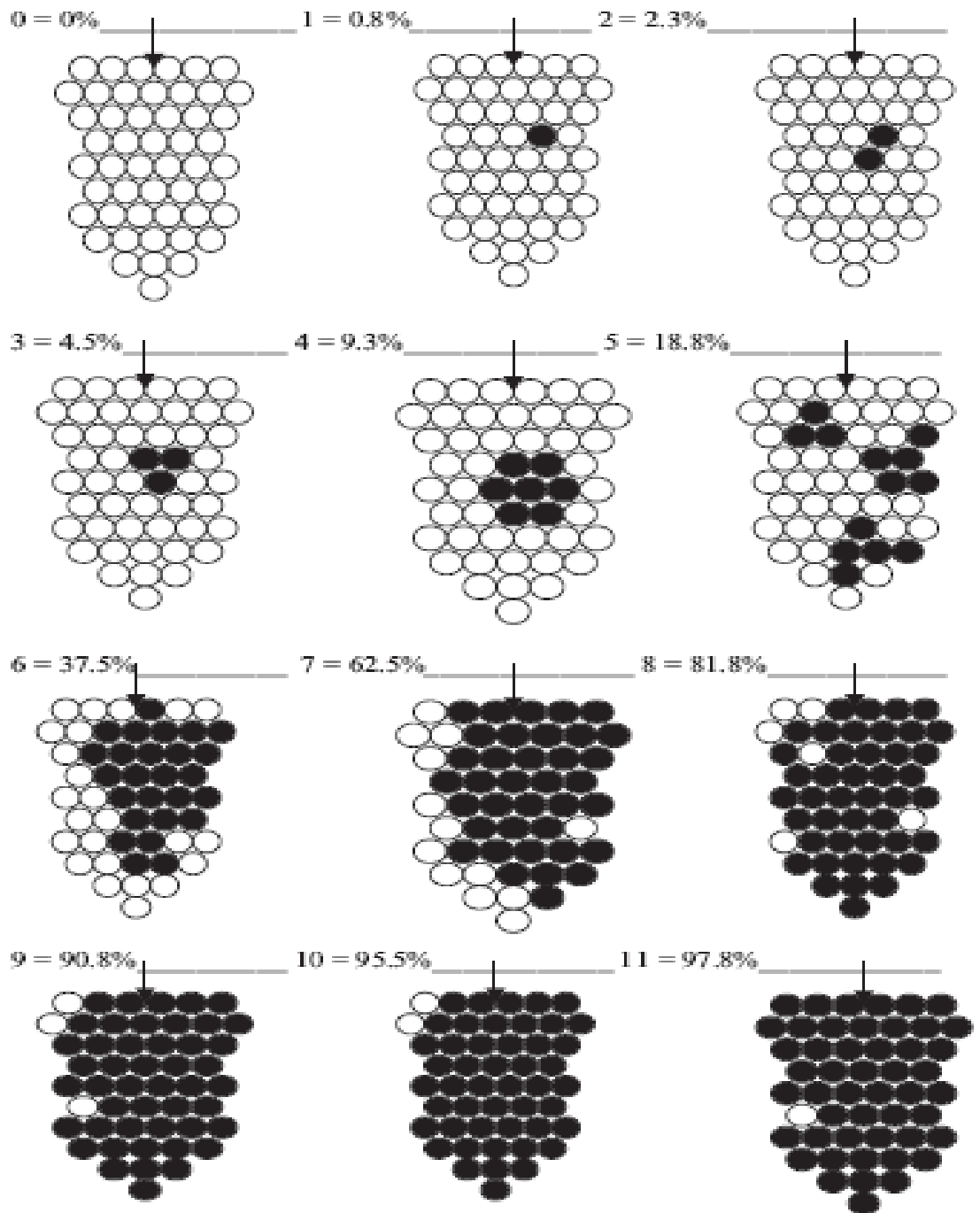
353. ZWIENIECKI, M.A.; MELCHER, P.J.; FIELD, T.S.; HOLBROOK, N.M. 2004. A potential role for xylem-phloem interactions in the hydraulic architecture of trees; effects of phloem girdling on xylem hydraulic conductance. *Tree Physiology*. 24: 911-917.

9. ANEXOS

Grapevine growth stages – The modified E-L system



Botrytis Assessment Key



Note: Shaded area on diagrams represents diseased area (category = % area diseased).

Estación experimental INIA “Las Brujas”

DIA	MES	AÑO	T.Media A	T.Maxima A	T.Minima A	HR Media	Precipitación	Tanque A	Viento	Heliofania	Penman
1	9	2006	12,9	18,7	7,3	89,7	0	3	253,2	0,7	1.3
2	9	2006	9,4	11,6	7,1	95,8	25	1,9	420,9	0	0.9
3	9	2006	8,5	11,2	6,6	87,5	0	4,6	367,1	9,2	1.7
4	9	2006	7,1	10,4	4,5	84,7	4,4	4	206,4	8,3	1.5
5	9	2006	8,2	13,7	2,5	79,2	0	2,4	116,3	9,8	1.6
6	9	2006	9,1	16,6	1,6	78,1	0	3,7	173,8	9,7	1.8
7	9	2006	12,4	19,9	5,9	81,8	0	3,7	139,5	9,3	1.9
8	9	2006	13	19,3	6,9	90,3	0	1,4	71,5	4,3	1.3
9	9	2006	11	17,1	5,3	88,1	0	2,9	154,7	9	1.7
10	9	2006	16,6	25,2	8,6	75,3	0	6,1	264,7	9,1	3.1
11	9	2006	15,1	19,7	9	93,4	0,3	1,6	86,6	2,4	1.3
12	9	2006	12,6	20,8	6,6	81,8	0	4	134,5	9	2.0
13	9	2006	9,4	17,9	1,7	84,9	0	4,2	111,8	5,8	1.5
14	9	2006	12,5	21	7,2	85,7	0	3,4	113,5	10	2.0
15	9	2006	12,9	20,8	6,3	75,5	0	2,8	162,5	10,7	2.5
16	9	2006	12,6	21,4	4,2	70,1	0	6,6	198,9	10,5	2.8
17	9	2006	14,8	25	6,6	68,9	0	3,3	137,1	10,5	2.9
18	9	2006	16,3	26,4	7,4	66	0	4,5	107,7	10,6	3.0
19	9	2006	17,1	26,7	8,1	70,9	0	2	134,3	4,4	2.6
20	9	2006	15	22,1	7,4	78,5	0	8,5	122,3	8,9	2.5
21	9	2006	12,1	21,5	2	82,4	0	2,4	136,3	10	2.3

22	9	2006	15,5	24,2	8,8	91,3	0	8	236,6	7,8	2.3
23	9	2006	11,5	13,8	7,4	90,7	0	4,8	201,4	2	1.5
24	9	2006	8,7	14,1	2,9	86,6	0	2	112,3	7	1.7
25	9	2006	13,2	23,2	4,1	79,3	11	3,2	166,2	9,4	2.6
26	9	2006	17	24,2	10,3	71,6	0	6	242,4	6,5	3.4
27	9	2006	15,7	20,7	12,2	86,5	0	2	132,9	2,9	1.9
28	9	2006	11,1	13,4	8,4	91,3	0	2,9	160,9	3,7	1.6
29	9	2006	13,1	21,2	7,8	81,4	0	4	139,6	9,8	2.6
30	9	2006	15,6	23,4	7,9	78,7	0	5,4	191,6	10,8	3.2
1	10	2006	18,7	26,8	11,9	85	0	6,8	145,8	9,8	3.2
2	10	2006	17,4	21,6	14,6	99,5	0	1,9	95,5	1,2	1.3
3	10	2006	15,8	19	14,6	99,9	22,4	1,9	247,3	1,5	1.3
4	10	2006	20,2	29	14,6	92,2	0	7,8	316,3	9,2	3.3
5	10	2006	14,5	18	9,3	81,5	16	2,1	207,8	8,8	2.9
6	10	2006	14,1	21,2	6,8	77,5	0	8,9	125,6	10,9	3.1
7	10	2006	15,9	22,6	10,6	78,9	0	7	108,6	9,2	3.0
8	10	2006	17	25,2	9,1	75,1	0	3	176,4	9,9	3.6
9	10	2006	18,3	26,9	10,1	78,1	0	4,8	131,4	11,1	3.7
10	10	2006	18	27,4	13,1	91,5	0	4,3	136	4,1	2.2
11	10	2006	17,1	22,5	12,4	89	0	6,6	164,4	11	3.3
12	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	4,6	ND	5,1	ND
13	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	3,7	ND	2	ND
14	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	2,5	ND	1,4	ND
15	10	2006	ND	ND	ND	ND	8,4	10,6	ND	9,9	ND
16	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	6,6	ND	10,9	ND
17	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	5,8	ND	9,5	ND
18	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	5,7	ND	10,8	ND

19	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	6,8	ND	10	ND
20	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	6	140,4	12,9	4,9
21	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	5,9	ND	11	ND
22	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	6,9	ND	11,2	ND
23	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	8	ND	11,6	ND
24	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	6,2	ND	11,8	ND
25	10	2006	ND	ND	ND	ND	0	1,8	ND	1,6	ND
26	10	2006	ND	ND	ND	ND	37,5	6,4	ND	11,8	ND
27	10	2006	13,3	17,3	9,3	94,9	0	1,5	94,4	2,9	1.8
28	10	2006	17,7	23	9,5	90,9	7,1	3,5	226,6	11,7	3.9
29	10	2006	18	22	16,1	99,7	0	1,2	166,1	1	1.6
30	10	2006	16,4	19,2	14,5	98,7	37,5	3	163,3	4,6	2.2
31	10	2006	17,1	20,7	14,5	90,2	0	6,5	159,5	7,7	3.1
1	11	2006	17,3	23	12,2	79,6	0	8	140,7	11,6	4.1
2	11	2006	17,9	26,1	10	82,3	0	5	124,7	9,8	3.8
3	11	2006	15,2	19,4	7,8	80,2	0	7	185,9	9,8	3.7
4	11	2006	15	22,1	7,3	74,7	0	4	195,1	11,2	4.2
5	11	2006	16,9	21,1	11,4	97,5	0	6,1	240,9	2,1	1.9
6	11	2006	18,2	22,5	14,9	85	49	7,5	334,3	9,3	4.2
7	11	2006	13,8	17,3	8,6	76	0	5,7	154,3	12,6	4.1
8	11	2006	12,7	19	4,5	69,7	0	6,5	113,6	11,4	3.8
9	11	2006	16,8	23,5	8,3	62,3	0	6,7	150,5	13	5.0
10	11	2006	15,6	19,4	10,6	85,1	0	6,6	129,1	10,9	3.8
11	11	2006	16,1	23,1	8,5	79,7	0	5,5	179,5	12	4.3
12	11	2006	19,2	25,4	12,7	78,4	0	7,9	243,1	12,9	5.2
13	11	2006	22,4	30,6	14,4	77,4	0	8,2	211,4	13,1	5.8
14	11	2006	24,2	31,8	16,8	71,7	0	7	217,5	12,4	6.3

15	11	2006	21,3	29,8	16	85,8	0	7	199,8	7,9	4.1
16	11	2006	18,3	23,6	15,5	94,3	23	3,6	206	3,8	2.6
17	11	2006	14,9	18,1	10,9	82,1	1,6	4,5	181,2	6,1	3.2
18	11	2006	14,8	20,3	7,7	81,3	0	4,8	135,7	6,7	3.2
19	11	2006	14,8	20,3	7,7	81,3	0	4,8	135,7	6,7	3.2
20	11	2006	14,8	20,3	7,7	81,3	0	4,8	135,7	6,7	3.2
21	11	2006	14,8	20,3	7,7	81,3	0	4,8	135,7	6,7	3.2
22	11	2006	14,8	20,3	7,7	81,3	0	4,8	135,7	6,7	3.2
23	11	2006	14,8	20,3	7,7	81,3	0	4,8	135,7	6,7	3.2
24	11	2006	14,8	20,3	7,7	81,3	0	4,8	135,7	6,7	3.2
25	11	2006	20	25,2	16	89,4	4,5	1,8	224,7	6	3.5
26	11	2006	17,3	22	15,1	80,3	0	0,3	238,9	0,2	2.8
27	11	2006	15,8	19,6	13,9	88,5	2,2	4,7	162,9	1,1	2.2
28	11	2006	17,6	23,5	11,4	79,1	3,8	5,2	131	11,1	4.5
29	11	2006	20	27,1	12,8	79,5	0	6,7	146,9	12,9	5.3
30	11	2006	21,6	28,2	14,1	73,2	0	10,5	184,9	13,4	6.0
1	12	2006	23,2	30,2	16,3	77,8	0	4,8	178,1	13,1	6.1
2	12	2006	22,9	30,1	18,6	91,8	0	4,6	168,6	7,4	4.1
3	12	2006	19,5	22,5	16,1	84,3	0	4,7	159,8	13	5.1
4	12	2006	17,9	23,1	12,1	89	1,5	7,5	156,8	11,5	4.4
5	12	2006	18,6	25	12,6	87,8	0	4,7	159,4	3,3	2.9
6	12	2006	20,2	26,5	13,5	79,1	0	7,8	163,5	12,5	5.3
7	12	2006	20,3	29,1	11	74,9	0	9,1	198	13,6	5.8
8	12	2006	21,7	29,1	14,4	70,7	0	7,8	158,8	13,5	6.1
9	12	2006	22,3	29	15,5	73,6	0	5,8	160,5	13,4	6.1
10	12	2006	24,4	33,1	14,6	61,3	0	7,3	121,3	13,3	6.5
11	12	2006	24,6	34,1	18	66,9	0	7,4	127,8	7,7	5.3

12	12	2006	24,9	32,9	18,4	76,9	2,5	5,7	152	12,5	6.2
13	12	2006	24,3	31,2	20,3	86,9	0	4	145	4,6	3.7
14	12	2006	22,1	28,4	19,4	96,8	1	3,3	136,4	2,7	2.6
15	12	2006	22,6	27,2	18,9	85,9	3,7	11,3	213,8	13	5.8
16	12	2006	26,6	34,4	18,8	75,9	0	8	267,1	13,2	7.3
17	12	2006	20,7	26,6	18,3	98,3	64	1,7	110,3	0	1.8
18	12	2006	22,4	28,8	16,3	90,9	0,7	6,8	138,7	8,3	4.3
19	12	2006	24,1	30,6	19,9	95,3	0	2,8	141,1	4,7	3.4
20	12	2006	20,1	22,5	14,4	93,9	8,8	5,6	211,1	3,1	2.8
21	12	2006	20,7	28,2	13,1	81,8	0	7	161,9	13,4	5.6
22	12	2006	23,8	30,8	16,3	74,8	0	10,5	161,9	13,6	6.5
23	12	2006	23,2	31,1	18,2	89,3	0	6,7	143,5	8,5	4.5
24	12	2006	22,6	28,2	18,5	90,9	0	5,5	120,5	7,3	4.1
25	12	2006	20,6	24,5	15,6	93,9	13,7	3,9	113,5	7	3.6
26	12	2006	20,3	25,8	14,2	76,8	0	5,7	150,5	11,8	5.3
27	12	2006	22,4	30,3	14,9	81,1	0	6,4	188,4	10,2	5.3
28	12	2006	23,5	30,9	16,9	78,4	0	7,2	205,9	13,4	6.4
29	12	2006	26,1	33,3	19,9	74,2	0	7,7	201	8,3	5.7
30	12	2006	22,7	27,1	18,9	92,9	15,7	1,7	176,2	4	3.2
31	12	2006	25,6	33,5	17,6	80	0	5,1	203,7	13,5	6.7
1	1	2007	28,5	35,6	21,6	79,9	0	10,1	174,8	13,5	7.3
2	1	2007	24,5	27,8	22,7	96,1	0	7,7	248	5,3	3.6
3	1	2007	24,2	29,8	20,7	96	31	5,1	149,2	5,2	3.5
4	1	2007	24,9	29,8	21,3	94,5	0	4,7	165,6	7,2	4.2
5	1	2007	22	24,5	17,6	90,6	0	10	152	9,4	4.5
6	1	2007	20,4	25,6	14,4	86	0	6	165,5	10,1	4.6
7	1	2007	20,3	26,4	15	81,4	0	7,3	171	10,2	4.8

8	1	2007	22,5	30,8	13,2	77,4	0	8,9	196,6	13,5	6.2
9	1	2007	24,6	32,4	17,4	76,1	0	6,1	150,7	11,1	5.8
10	1	2007	24,9	29,9	21,5	93,3	0	4,3	125,6	4,3	3.4
11	1	2007	24	28,9	21,2	94,8	0	4,5	143,9	6,4	3.8
12	1	2007	24,5	29,5	20,2	82,1	0	8,7	154,6	12,2	5.9
13	1	2007	23	31,6	17,8	74,7	0	10,1	335,6	13,4	6.9
14	1	2007	17,9	21,2	11,5	64,7	0	4,1	153,7	10,7	5.0
15	1	2007	17,5	24,3	8,6	66,2	0	7,4	159,2	13,4	5.1
16	1	2007	20	29,6	10,1	63,9	0	6,8	126,4	13,1	5.6
17	1	2007	23,2	31,8	13,2	61	0	9,6	185,2	11,8	6.4
18	1	2007	22,3	28,1	18,2	85,7	0	9,4	197,9	11,9	5.3
19	1	2007	20,4	26,1	13,9	67	0	9,3	180,2	10,6	5.4
20	1	2007	20,6	27,8	15,2	73,1	0	8	167	10,7	5.2
21	1	2007	21	29,2	12,2	70,7	0	8,3	168,3	12,3	5.6
22	1	2007	22,6	31	13	68,2	0	7,2	207,3	13,4	6.4
23	1	2007	24,3	31	19	86,1	0	6,2	108,8	6,1	3.9
24	1	2007	25	31,4	19,4	84,2	0	7,2	129,9	9,3	5.0
25	1	2007	23,1	29,1	18,6	92,2	0	3,8	195,3	0	2.2
26	1	2007	24	28,4	21,7	95,3	0	2,9	139,7	3,5	2.9
27	1	2007	23	26,6	20,3	92,6	5,4	7,2	186,5	6,3	3.7
28	1	2007	21,9	26,2	16	68	0	7,9	154	12	5.6
29	1	2007	19,7	26,5	10,3	75,4	0	8,3	159,7	12,4	5.1
30	1	2007	21,8	28,2	15,3	79,6	0	6,8	158,3	10	4.8
31	1	2007	22,5	29,8	15,6	80,5	0	7,1	128	12,9	5.4

Establecimiento “Joanicó” Ruta 5

REGISTROS METEOROLOGICOS Y AMPLITUDES TERMICAS 2007

Día	Enero				Febrero				Marzo			
	Max.	Min.	A.T	Lluv.	Max.	Min.	A.T	Lluv.	Max.	Min	A.T	Lluv.
1	35,0	20,0	15,0		34,0	14,0	20,0		24,0	16,0	8,0	28,3
2	28,0	23,0	5,0		36,0	17,0	19,0		24,0	16,0	8,0	
3	31,0	21,0	10,0	0,5	38,0	22,0	16,0		24,0	11,0	13,0	19,8
4	30,0	22,0	8,0		36,0	20,0	16,0	15,8	20,0	13,0	7,0	23,5
5	30,0	22,0	8,0		29,0	20,0	9,0	1,1	25,0	15,0	10,0	
6	26,0	20,0	6,0		31,0	20,0	11,0	10,8	31,0	13,0	18,0	
7	28,0	16,0	12,0		30,0	24,0	6,0		30,0	16,0	14,0	1,1
8	30,0	12,0	18,0		28,0	17,0	11,0		26,0	15,0	11,0	64,6
9	29,0	14,0	15,0		32,0	18,0	14,0	11,6	24,0	14,0	10,0	
10	31,0	14,0	17,0		30,0	18,0	12,0		22,0	14,0	8,0	
11	30,0	20,0	10,0		28,0	18,0	10,0		25,0	13,0	12,0	
12	31,0	21,0	10,0		28,0	18,0	10,0		24,0	12,0	12,0	
13	21,0	20,0	1,0		31,0	14,0	17,0		27,0	12,0	15,0	
14	24,0	16,0	8,0		35,0	16,0	19,0		24,0	12,0	12,0	0,7
15	25,0	12,0	13,0		32,0	21,0	11,0	10,9	26,0	20,0	6,0	
16	30,0	12,0	18,0		32,0	21,0	11,0	1,3	24,0	13,0	11,0	1,4
17	32,0	11,0	21,0		24,0	20,0	4,0	1,7	24,0	14,0	10,0	
18	30,0	15,0	15,0		25,0	15,0	10,0		25,0	12,0	13,0	
19	27,0	14,0	13,0		29,0	11,0	18,0		26,0	14,0	12,0	
20	29,0	14,0	15,0		30,0	11,0	19,0		28,0	14,0	14,0	
21	27,0	13,0	14,0		31,0	14,0	17,0	15,4	28,0	14,0	14,0	

22	31,0	14,0	17,0		29,0	18,0	11,0		28,0	16,0	12,0	3,6
23	31,0	14,0	17,0		31,0	18,0	13,0	1,3	22,0	14,0	8,0	
24	33,0	21,0	12,0		31,0	18,0	13,0		24,0	12,0	12,0	
25	32,0	13,0	19,0		35,0	20,0	15,0	5,6	25,0	12,0	13,0	27,4
26	28,0	13,0	15,0	2,4	31,0	21,0	10,0		27,0	14,0	13,0	20,7
27	28,0	20,0	8,0		24,0	20,0	4,0	20,7	21,0	20,0	1,0	40,7
28	27,0	12,0	15,0		24,0	16,0	8,0	1,4	22,0	18,0	4,0	2,6
29	28,0	14,0	14,0				0,0		25,0	20,0	5,0	27,6
30	30,0	13,0	17,0				0,0		25,0	20,0	5,0	
31	32,0	15,0	17,0				0,0				0,0	
Promedio	29,2	16,2	13,0		29,4	17,2	12,2		24,2	14,2	10,0	
Lluvia				2,9				97,6				262,0
Max-Min	35,0	11,0			38,0	11,0			31,0	11,0		