

Aplicación en vid de Prohexadiona de calcio como regulador del crecimiento. Influencia en la calidad del vino.

Vaquero-Fernández, L.; Martínez-Soria, M.T.; Fernández-Zurbano, P.; Sanz-Asensio, J.; ⁽¹⁾ López-Alonso, M.; ⁽²⁾ Mateo-García, L.C.

Departamento de Química y ⁽¹⁾Departamento de Agricultura y Alimentación. Universidad de La Rioja. Madre de Dios, 51. 26006 Logroño.

Tfno: 34 941 299 622. e-mail: puri.fernandez@unirioja.es

⁽²⁾Delegado técnico de BASF Española, S.A..

1. Introducción

La Prohexadiona cálcica es un regulador del crecimiento de las plantas de reciente desarrollo con buenos resultados en particular sobre manzanos y otros árboles frutales [2-4] y actualmente comercializado por la BASF como Regalis. Este compuesto posee unas características toxicológicas y medioambientales muy favorables [5,6]. La Prohexadiona calcica (3-oxido-4-propionyl-5-oxo-3-ciclohexeno-carboxilato) actúa como una estructura similar al 2-oxoglutarato y por ello como inhibidor de la dioxigenasa, la cual cataliza distintas etapas en la biosíntesis de la hormona de crecimiento giberelina afectando al comportamiento vegetativo [7,8]. Uno de los resultados de su utilización es la reducción del crecimiento longitudinal de los brotes, su utilización reduce la posibilidad de infección debido a un endurecimiento de la piel aunque el compuesto no posee actividad bactericida alguna [1,9]. Las primeras referencias de las que se tiene constancia que relaciona la vid con la Prohexadiona calcica son los trabajos realizador por Lo Giudice y col. en los años 2003 y 2004 [10,11] donde se estudia el impacto que se produce sobre el desarrollo reproductivo y vegetativo cuando se aplica la Prohexadiona calcica a los cultivos de la vigorosa "*Vitis vinifera*", y en particular a las variedades Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Chardonnay y Seyval.

En los hollejos de las uvas se encuentran compuestos muy importantes para la calidad de los vinos como son los fenoles flavonoides (antocianos, flavonoles, etc...) compuestos responsables del color, de la astringencia, del amargor y de la estructura del vino, los compuestos aromáticos y los precursores aromáticos importantes en el aroma varietal de los vinos. Una disminución en el tamaño de la uva puede llevar a un incremento en la proporción de los precursores de estos gustos y aromas en el mosto y vino, incrementando potencialmente la calidad del vino. Además la reducción del tamaño de uva y la obtención de racimos menos compactos pueden hacer disminuir la incidencia y severidad de la Botrytis y otras podredumbres de los racimos, particularmente en ambientes húmedos. Para la variedad de Cabernet Sauvignon la reducción del peso de la uva está relacionado con el incremento de la intensidad del color (420 nm + 520 nm), con el total de antocianos y con el total de fenoles. Para Lo Giudice y col. (2004) [11] los efectos concurrentes sobre la composición de la uva fueron generalmente positivos, si bien se desconocen el efecto sobre la calidad final del vino elaborado con esas uvas.

La investigación de este trabajo está centrada en el efecto sobre el proceso fermentativo y sobre las propiedades organolépticas del vino elaborado con uvas de la variedad Tempranillo, variedad de uva tinta mayoritaria de la Denominación de Origen Calificada Rioja.

2. Tratamiento y Elaboración

La aplicación de este producto se ha realizado durante dos años consecutivos en la misma parcela de viña en la zona de La Rioja Alta para poder realizar vinificaciones en años diferentes y disminuir la posible variabilidad anual. La variedad elegida es Tempranillo representativa de la zona y de la que se obtienen uvas de calidad. La parcela de viñedo tiene 13 años de edad y posee unas condiciones de cultivo uniformes en lo que refiere a plantas, crecimiento y desarrollo vegetativo, marco y distancia entre cepas, método de cultivo, abonados, riegos, etc.

Las cepas variedad Tempranillo procedentes de la misma parcela fueron tratadas con Prohexadiona cálcica a través del producto comercializado por BASF como Regalis, en una sola dosis de 3 kg/Ha en el período vegetativo de prefloración (12/06/04 y 11/06/05). Se dejaron un número de filas sin tratar con el fin de tener un control o testigo de la parcela.

La elaboración se llevó a cabo en la bodega experimental de la Universidad de La Rioja. La uva se vendimió en el mes de octubre (2004, 2005 y 2006), cosechando aproximadamente 200 kg de uva con tratamiento y otros 200 kg sin tratamiento. La uva se pasó a la despalilladora-estrujadora y la pasta fue conducida mediante bomba peristáltica a los depósitos de fermentación de 100 L. Se añadió anhídrido sulfuroso en una cantidad de 30 mg/L. La elaboración se realizó por duplicado tanto para el control como para la uva con tratamiento.

A continuación se inocularon (30 g/HL) los depósitos con la cepa neutra de *Saccharomyces cerevisiae* VRB Uvaferm (Lallemand), autóctona de La Rioja. Se realizó un seguimiento de la fermentación midiendo los parámetros más importantes: densidad, temperatura y acidez volátil. Los depósitos fueron remontados dos veces por día. Una vez finalizada la fermentación alcohólica (comprobando que los azúcares residuales estaban por debajo de 5 g/L en todos los depósitos), se procedió al descube y el vino yema obtenido se llevó a depósitos de 50 L. Posteriormente se llevó a cabo la fermentación maloláctica sembrando (1 g/HL) las bacterias lácticas MBR Alpha *Oenococcus oeni*. Se siguió la fermentación realizando un control periódico de la cantidad de ácido málico mediante método enzimático con espectrofotómetro, y por cromatografía de papel para observar la aparición de ácido láctico. Una vez finalizadas las fermentaciones se tomaron muestras para realizar los correspondientes análisis y acondicionar el vino obtenido para resguardarlo de futuras alteraciones hasta ser embotellado.

3. Análisis Sensorial

Aproximadamente tres meses más tarde, febrero de 2005 y 2006, se realizó el análisis sensorial de los vinos a través de un test Duo-Trio para comprobar si los vinos procedentes de distintos tratamientos podían ser diferenciados de forma significativa. Una semana más tarde se realizó un análisis descriptivo sobre los mismos vinos. A partir de este momento los vinos fueron embotellados para su estabilización y para volver a ser analizados organolépticamente. Los análisis organolépticos fueron realizados por un panel de expertos pertenecientes a la Asociación de Enólogos de La Rioja junto con egresados y alumnos de la Licenciatura de Enología en la Universidad de La Rioja.

4. Resultados

4.1 Año 2004

A) Uva

Se observa un efecto positivo en el estado sanitario de las uvas vendimiadas tratadas con el regulador de crecimiento Prohexadiona de calcio. Las diferencias entre las uvas tratadas y sin tratar es más acusado en la vendimia del 2004 respecto al 2005. Este efecto es debido a la climatología que las uvas y producto fitosanitario tuvieron que soportar. Se comprueba que como media ha existido una reducción en la cosecha total de aproximadamente un 25% debido a la aplicación del producto. La forma y tamaño de los racimos es diferente para las cepas tratadas, siendo más alargados, sin hombros, y con menor número y tamaño de granos. De cada 10 hombros en uvas testigo aparecía 1 hombro en las tratadas.

B) Fermentación alcohólica y maloláctica

En la Tabla 1 se muestran los valores encontrados para diferentes parámetros tanto al inicio como al final de la fermentación para cada uno de los depósitos. En la elaboración con uvas tratadas aparecen unos valores ligeramente superiores para grado Brix, grado alcohólico, pH y acidez total respecto al control. Lo mismo sucede para los valores de Índice de Polifenoles Totales (IPT) y cantidad de taninos. El Índice de Color (IC) obtenido presenta valores inferiores a los del control en las muestras de mosto, mientras que en las muestras de vino (final del proceso) los valores son superiores a los del control. Para la tonalidad aparecen valores inicialmente inferiores en el mosto para terminar con valores superiores al control al final de la fermentación. Cabe destacar los bajos valores encontrados en la determinación de la lacasa, debido al buen estado sanitario de la uva.

Tabla 1. Valores de algunos parámetros al inicio y final de la fermentación

Muestras	° Brix	% Etanol (v/v)	pH		Acidez Total (g/L ác. tartárico)		Acidez Volátil (g/L)	Lacasa (nmol/mL)	Ácido málico (g/L)
	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Vino	Mosto	Vino
Control	20,6	13,0	3,49	3,68	4,35	3,92	0,21	0,231	0,00
Pro-Ca	24,4	13,8	3,78	4,04	5,34	4,72	0,21	0,032	0,00

Muestras	IPT		Taninos (g/L)		IC		Tonalidad	
	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino
Control	26,4	44,3	1,85	3,10	3,80	12,7	1,16	0,41
Pro-Ca	27,8	61,6	1,94	4,31	2,90	14,6	0,95	0,54

Respecto al proceso fermentativo de las uvas tratadas, existen diferencias respecto al control sin tratar al producirse de un modo más rápido y alcanzando en menor tiempo el final de la fermentación. La fermentación maloláctica tuvo una duración de 23 días, no encontrándose málico con el método utilizado.

C) Análisis Sensorial

El test Duo-Trio realizado en el análisis sensorial para comprobar si los vinos procedentes de distintas uvas pueden diferenciarse, demostró que los vinos elaborados no difieren entre sí a un nivel de significación del 5% y los resultados apuntan a una cierta diferenciación que no llega a ser del todo significativa. Se realizó un análisis descriptivo de los dos tipos de vino y se matizaron las características de la fase visual, olfativa y gustativa. En la fase visual se encuentran diferencias en la capa (muy superior en el vino de Prohexadiona-Ca) y en el color: el vino control presenta un color más cereza y granate y en el vino de Prohexadiona-Ca se observan tonos picota y negruzcos. En la fase olfativa, los vinos no presentan diferencias en la intensidad ni en los tipos de aroma; se observan aromas frutales y en ambos vinos y aromas especiados en el vino de Prohexadiona-Ca. El test olfativo considera más complejo aromáticamente al vino de Prohexadiona-Ca, mientras que el control lo cataloga más sucio. En la fase gustativa, los sabores se encuentran más equilibrados en el vino tratado con Prohexadiona-Ca respecto al control; el tacto fue considerado suave y ligero en el vino control frente a una gran astringencia y untuosidad en el vino tratado. El postgusto es muy frutal en ambos, con toques especiados y balsámicos en el vino tratado. El vino tratado con Prohexadiona-Ca es más persistente que el vino control.

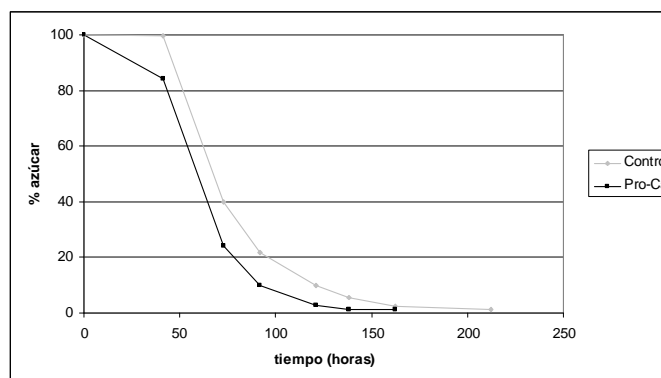


Figura 1. Evolución del % de azúcar durante la fermentación en cada depósito

4.2 Año 2005

A) Uva

En este año, la aplicación de Prohexadiona-Ca ha tenido un efecto menos acusado que en el año anterior. La evolución en campo ha sido similar a las de las uvas sin tratar, obteniéndose racimos de similar

forma y número de bayas. De cada 10 hombros en uvas testigo aparecían 7 en las tratadas. La cosecha se redujo entre un 10 y 15 %.

B) Fermentación alcohólica y maloláctica

En la Tabla 2 se muestran los valores encontrados para diferentes parámetros tanto al inicio como al final de la fermentación para cada uno de los depósitos. En la elaboración con uvas tratadas se observan unos valores ligeramente inferiores para grado Brix, pH y acidez total respecto al control, tanto en mosto como en vino. El Índice de Polifenoles Totales (IPT), cantidad de taninos e Índice de Color (IC) son ligeramente inferiores para las uvas tratadas en el mosto, mientras que en el vino los parámetros son superiores a los encontrados en el vino testigo. El grado alcohólico obtenido es similar en ambos Cabe destacar la ausencia de lacassa, debido al buen estado sanitario de la uva.

Tabla 2. Valores de algunos parámetros al inicio y final de la fermentación

Muestras	° Brix	% Etanol (v/v)	pH		Acidez Total (g/L ác. tartárico)		Acidez Volátil (g/L)	Lacassa (nmol/mL)	Ácido málico (g/L)
	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Vino	Mosto	Vino
Control	22,2	13,4	3,55	3,73	4,65	4,74	0,37	0,000	
Pro-Ca	20,2	13,6	3,49	3,68	4,58	4,42	0,38	0,000	0,02

Muestras	IPT		Taninos (g/L)		IC		Tonalidad	
	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino
Control	17,4	39,5	1,21	2,76	3,01	12,7	1,11	0,59
Pro-Ca	15,5	44,5	1,09	3,12	2,89	13,3	0,95	0,55

Respecto al proceso fermentativo de las uvas tratadas, se observa en la Figura 2 que no existen diferencias con el control sin tratar, realizándose de un modo similar y finalizando la fermentación en el mismo período de tiempo (10 días). La fermentación maloláctica tuvo una duración de 20 días, agotándose el ácido málico.

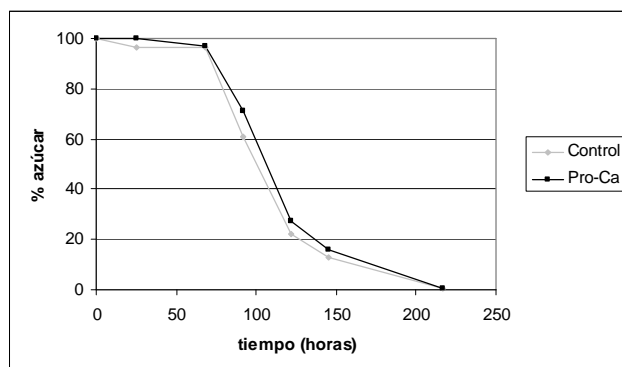


Figura 2. Evolución del % de azúcar durante la fermentación en cada depósito

C) Análisis Sensorial

El test Duo-Trio realizado en el análisis sensorial para comprobar si los vinos procedentes de distintas uvas pueden diferenciarse, demostró que los vinos elaborados no difieren entre sí a un nivel de significación del 5%. Se realizó un análisis descriptivo de los dos tipos de vino y se matizaron las características de la fase visual, olfativa y gustativa. En la fase visual se encuentran diferencias en la capa (muy superior en el vino de Prohexadiona-Ca) y en el color: el vino control presenta un color más granate y en el vino de Prohexadiona-Ca se observan tonos más violáceos y púrpuras. En la fase olfativa, el vino de Prohexadiona-Ca presenta una intensidad aromática superior y una calidad más franca, limpia y compleja; se observan aromas muy frutales en ambos vinos. En la fase gustativa, los sabores se encuentran más equilibrados en el vino tratado con Prohexadiona-Ca respecto al control; el tacto fue considerado suave y

ligero en el vino control frente a una gran untuosidad en el vino tratado. El postgusto es muy frutal en ambos, con toques especiados y balsámicos en el vino tratado. El vino tratado con Prohexadiona-Ca es más persistente que el vino control.

4.3 Año 2006

A) Uva

En este año, la aplicación de Prohexadiona-Ca ha tenido un efecto menos acusado. La evolución en campo ha sido similar a las de las uvas sin tratar, obteniéndose racimos de similar forma y número de bayas. De cada 10 hombros en uvas testigo aparecían 7 en las tratadas. La cosecha se redujo entre un 10 y 15 %.

B) Fermentación alcohólica y maloláctica

En la Tabla 3 se muestran los valores encontrados para diferentes parámetros tanto al inicio como al final de la fermentación para cada uno de los depósitos. El mosto de uvas tratadas no presenta diferencias en ° Brix, mientras que la acidez es mayor y el pH menor, respecto de las uvas testigo. En el vino procedente de uvas tratadas se obtienen valores mayores de grado alcohólico y pH, con acidez similar con respecto al control. En los vinos procedentes de uvas tratadas se obtienen menores valores de Índice de Polifenoles Totales (IPT), taninos e Índice de Color (IC).

Tabla 2. Valores de algunos parámetros al inicio y final de la fermentación

Muestras	° Brix	% Etanol (v/v)	pH		Acidez Total (g/L ác. tartárico)		Acidez Volátil (g/L)	Lacassa (nmol/mL)	Ácido málico (g/L)
	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Vino	Mosto	Vino
Control	25,0	13,4	3,68	3,68	4,28	4,50	0,29	0,046	0,12
Pro-Ca	24,9	14,2	3,57	3,79	4,72	4,48	0,18	0,054	0,07

Muestras	IPT		Taninos (g/L)		IC		Tonalidad	
	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino	Mosto	Vino
Control	18,8	45,4	0,62	3,32	1,12	12,7	1,76	0,73
Pro-Ca	14,7	49,0	0,33	2,71	0,65	15,1	1,77	0,68

Respecto al proceso fermentativo de las uvas tratadas, transcurrió de forma más rápida (Figura 3). La fermentación maloláctica tuvo una duración de 54 días para ambas muestras.

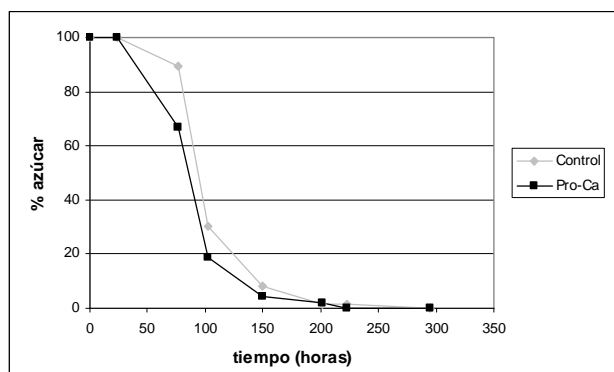


Figura 3. Evolución del % de azúcar durante la fermentación en cada depósito

5. Conclusiones

- ✓ La aplicación de Prohexadiona cálcica produjo un efecto más acusado en campo en el año 2004, respecto a la forma, número de hombros y tamaño de los racimos, así como en el rendimiento total de cosecha.
- ✓ Es importante destacar que durante el proceso fermentativo y para los tres años estudiados existe una mayor extracción de polifenoles en el caso de las uvas tratadas al producirse un aumento en los valores de IPT, taninos e IC.
- ✓ Los valores de lacasa encontrados en el año 2004 son significativamente más bajos para las uvas tratadas con Prohexadiona-Ca.
- ✓ La presencia de Prohexadiona-Ca no alteró la evolución del proceso de fermentación alcohólica.
- ✓ El análisis sensorial muestra que no se aprecian diferencias significativas entre los diferentes vinos elaborados.
- ✓ La aplicación de Prohexadiona-Ca hace modificar las características organolépticas de los vinos elaborados con las uvas procedentes de las cepas tratadas. Los vinos tratados presentaron mayor capa, complejidad aromática y con un postgusto más persistente.

6. Bibliografía

1. ROEMMELT, S.; ZIMMERMANN, N.; RADEMACHER, W.; TREUTTER, D. 2003. **Formation of novel flavonoids in apple (*Malus domestica*) treated with the 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase inhibitor prohexadione-Ca.** *Phytochemistry* 64, 709-716.
2. BASEK, A.; RADEMACHER, W. 2000. **Growth regulation of pome and stone fruit trees by use of prohexadione-Ca.** *Acta Hort.* 514, 41-50.
3. GUAK, S.; NEILSEN, D.; LOONEY, N.E. 2001. **Growth allocation of N and carbohydrates, and stomatal conductance of greenhouse grown apple treated with prohexadione-Ca and gibberellins.** *J. Hort. Sci. and Biotechnol.* 76, 746-752.
4. BAZZI, C.; MESSINA, CH.; TORTORETO, L.; STEFANI, E.; BINI, FF.; SABATINI, E.; SPINELLI, F.; COSTA, G.; AUPMANN, S.; STAMLER G. 2003. **Control of pathogen incidence in pome fruits and other horticultural crop plants with Prohexadione-Ca.** *Europ. J. Hort. Sci.* 68 108-114.
5. EVANS, J.R.; EVANS, R.R.; REGUSCI, C.L. 1999. **Mode of action, metabolism, and uptake of BASF 125 W prohexadione calcium.** *Hort. Science*, 34, 1200-121.
6. ROEMELT, S.; FISCHER, T.C.; HALBWIRTH H.; PETEREK, S.; SCHLANGEN, K.; SPEAKMAN, J-B.; TREUTTER, D.; FORKMANN, G.; STICH, K. 2003. **Effect of dioxigenase inhibitors on the resistance-related flavonoid metabolism of apple and pears: chemical, biochemical and molecular biological aspects.** *Europ. J. Hort. Sci.*, 68, 129-136.
7. RADEMACHER, W. 2000. **Growth retardants: Effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways.** *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 51, 501-531.
8. DEKERS, T.; SCHOOF, H. 2002. **Control strategies of bacterial diseases in european pear growing.** *Acta Hort.*, 587, 639-645.
9. MOHAMED, A.A.; ANTON DE J. 2002. **Formation of flavonoids, especially anthocyanin and chlorogenic acid in "Jonagold" apple skin: influences of growth regulators and fruit maturity.** *Scientia Horticulturae*, 93,257-266.
10. LO GIUDICE, D.; WOLF, T.K.; MARINI, R.P. 2003. **Vegetative response of *Vitis vinifera* to prohexadione-calcium.** *Hort. Science*, 38, 1435-1438.
11. LO GIUDICE, D.; WOLF, T.K.; ZOECKLEIN, B.W. 2004. **Effects of prohexadione-calcium on grape yield components and fruit and wine composition.** *Am. J. Enol. Vitic.*, 55, 73-83.

7. Agradecimientos

Al Gobierno de La Rioja por la Beca FPI concedida a D. Luis Vaquero y el proyecto ANGI 2004/18 concedido. Al INIA por la Infraestructura (proyecto VIN00-054-C2-01). Al MEC por la concesión del proyecto AGL2005-02313/ALI. A la Universidad de La Rioja. A Bodega Dinastía Vivanco y D. Mateos S.L. A la Asociación de Enólogos de La Rioja.