

ier

Instituto de Estudios Riojanos

ZUBÍA. MONOGRÁFICO
REVISTA DE CIENCIAS.
Nº 29 (2017). Logroño (España).
P. 1-200, ISSN: 1131-5423



DIRECTORA

Patricia Pérez Matute

CONSEJO DE REDACCIÓN

Luis Español González

Rubén Esteban Pérez

Rafael Francia Verde

Juana Hernández Hernández

Alfredo Martínez Ramírez

Luis Miguel Medrano Moreno

Ana María Palomar Urbina

Ignacio Pérez Moreno

Enrique Requeta Loza

Purificación Ruiz Flaño

Angélica Torices Hernández

CONSEJO CIENTÍFICO

José Antonio Arizaleta Urarte

(Instituto de Estudios Riojanos)

José Arnáez Vadillo

(Universidad de La Rioja)

Susana Caro Calatayud

(Instituto de Estudios Riojanos)

Eduardo Fernández Garbayo

(Universidad de La Rioja)

Rosario García Gómez

(Universidad de La Rioja)

José M^a García Ruiz

(Instituto Pirenaico de Ecología)

Javier Guallar Otazua

(Universidad de La Rioja)

Teodoro Lasanta Martínez

(Instituto Pirenaico de Ecología)

Joaquín Lasierra Cirujeda

(Hospital San Pedro, Logroño)

Luis Lopo Carramiñana

(Dirección General de Medio Natural del Gobierno de La Rioja)

Fernando Martínez de Toda

(Universidad de La Rioja)

Juan Pablo Martínez Rica

(Instituto Pirenaico de Ecología-CSIC)

José Luis Nieto Amado

(Universidad de Zaragoza)

José Luis Peña Monné

(Universidad de Zaragoza)

Félix Pérez-Lorente

(Universidad de La Rioja)

Diego Troya Corcuera

(Instituto Politécnico y Universidad Estatal de Virginia, Estados Unidos)

Eduardo Viladés Juan

(Hospital San Pedro, Logroño)

Carlos Zaldívar Ezquerro

(Dirección General de Medio Natural del Gobierno de La Rioja)

DIRECCIÓN Y ADMINISTRACIÓN

Instituto de Estudios Riojanos

C/ Portales, 2

26071 Logroño

publicaciones.ier@larioja.org

Suscripción anual España (1 número y monográfico): 15 €

Suscripción anual extranjero (1 número y monográfico): 20 €

Número suelto: 9 €

Número monográfico: 9 €

INSTITUTO DE ESTUDIOS RIOJANOS

ZUBÍA

REVISTA DE CIENCIAS

Monográfico Núm. 29

VID Y VINO

Coordinador:
IGNACIO PÉREZ MORENO



Gobierno de La Rioja
Instituto de Estudios Riojanos
LOGROÑO
2017

Vid y vino / coordinador Ignacio Pérez Moreno. – Logroño : Instituto de Estudios Riojanos, 2017
197 p. : gráf. ; 24 cm– (Zubía. Monográfico, ISSN 1131-5423; 29).-
D.L. LR 413-2012

1. Vinos - España. I. Pérez Moreno, Ignacio. II. Instituto de Estudios Riojanos. III. Serie

634.8(460)

663.2(460)

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de esta publicación pueden reproducirse, registrarse o transmitirse por un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni por medio, sea electrónico, mecánico, fotoquímico, magnético o electroóptico, por fotocopia, grabación o cualquier otro, sin permiso previo por escrito de los titulares del copyright.

© Logroño, 2017
Instituto de Estudios Riojanos
C/ Portales, 2.
26001-Logroño, La Rioja (España)

© Diseño de cubierta e interior: ICE Comunicación

© Cubierta y contracubierta: Colores rojizos de parra silvestre en un rincón del río Iregua
(Fotografía de José Manuel Valle Melón)
Vid silvestre en la parcela experimental de la Universidad de La Rioja (Fotografía de Álvaro Rodríguez Miranda)

Imprime: Gráficas Isasa, S. L. - Arnedo (La Rioja)

ISSN 1131-5423

Depósito Legal LR 413-2012

Impreso en España - Printed in Spain

ÍNDICE

CARMEN BERLANAS, BEATRIZ LÓPEZ-MANZANARES, DAVID GRAMAJE

Desarrollo de un medio de cultivo para detectar propágulos viables de hongos asociados a la enfermedad del pie negro en viñedos

Estimation of viable propagules of black-foot disease pathogens in grapevine cultivated soils and their relation to production systems and soil properties 7-24

MARÍA ÁNGELES DEL-CASTILLO-ALONSO, LAURA MONFORTE, GONZALO SORIANO, RAFAEL TOMÁS-LAS-HERAS, JAVIER MARTÍNEZ-ABAIGAR, ENCARNACIÓN NÚÑEZ-OLIVERA

Diferencias en el perfil fenólico del hollejo entre dos variedades tintas de *vitis vinifera*, Tempranillo y Garnacha, y sus correspondientes variantes blancas

Differences in the phenolic profile of berry skins among two red varieties of vitis vinifera, tempranillo and garnacha, and their corresponding white variants 25-40

ESTEBAN GARCÍA RUIZ, VICENTE S. MARCO MANCEBÓN, IGNACIO PÉREZ MORENO

Análisis geoestadístico de la distribución espacio-temporal de *Lobesia Botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) en Rioja Alta (España)

Geostatistical analysis of space-time distribution of Lobesia Botrana (Lepidoptera: Tortricidae) in Rioja Alta (Spain) 41-66

JUANA MARTÍNEZ, ANA GONZALO-DIAGO, ELISA BAROJA, ENRIQUE GARCÍA-ESCUADERO

Características agronómicas y potencial enológico de las variedades de vid blancas autorizadas en la D.O.Ca. Rioja.

Agronomic characteristics and enological potential of white vine varieties authorized in the D.O.Ca. Rioja 67-82

FERNANDO MARTÍNEZ DE TODA FERNÁNDEZ, JESÚS GARCÍA MARTÍN, PEDRO BALDA

Adaptación al calentamiento climático de veinte variedades de vid, minoritarias de la DOCa Rioja, por su potencial de acidez

Adaptation to climate warming of twenty vine varieties, minorities in the DOCa Rioja, through their acidity potential 83-94

FERNANDO MARTÍNEZ DE TODA FERNÁNDEZ, RAFAEL OCETE RUBIO, EDUARDO PRADO VILLAR, ÁLVARO RODRÍGUEZ MIRANDA, JOSÉ MANUEL VALLE MELÓN

La vid silvestre en La Rioja (España): situación actual y difusión mediante infraestructuras de datos espaciales

Wild grapevine in La Rioja, Spain: current situation and dissemination through spatial data infrastructures 95-120

**MAITE RODRÍGUEZ-LORENZO, CAROLINA ROYO,
PABLO CARBONELL-BEJERANO, FÉLIX CIBRIÁIN SABALZA,
JULIÁN SUBERVIOLA RIPA, ANA SAGÜÉS SARASA, JAVIER IBÁÑEZ,
JOSÉ M. MARTÍNEZ ZAPATER**

Caracterización de deleciones causantes de cambios en el color de la uva mediante
evaluación de la heterocigosidad de marcadores SNP

*Characterization of deletions responsible for grape berry color changes through
the study of loss of heterozygosity of SNP markers.....*121-144

**JAVIER PORTU, ROSA LÓPEZ, PILAR SANTAMARÍA,
TERESA GARDE CERDÁN**

Efecto de la aplicación foliar de jasmonato de metilo en la composición fenólica
de la uva y del vino

*Effect of methyl jasmonate foliar application on the grape and wine phenolic
composition.....*141-154

**PILAR RUBIO-BRETÓN, MATTEO BORDIGA, JUANA MARTÍNEZ, ANA
GONZALO-DIAGO, EVA P. PÉREZ-ÁLVAREZ, TERESA GARDE-CERDÁN**

Envejecimiento de vinos en barricas y alternativos de roble

Aging of wines in oak barrels and alternatives155-176

**LUCÍA GONZÁLEZ-ARENZANA, PATROCINIO GARIJO,
ANA ROSA GUTIÉRREZ, ROSA LÓPEZ, PILAR SANTAMARÍA,
ISABEL LÓPEZ-ALFARO, CARMEN OLARTE, SUSANA SANZ**

Factores implicados en la alteración de vinos tintos por *Brettanomyces bruxellensis*

Factors involved in the red wines spoilage produced by Brettanomyces bruxellensis.....177-194

DIFERENCIAS EN EL PERFIL FENÓLICO DEL HOLLEJO ENTRE DOS VARIEDADES TINTAS DE *VITIS VINIFERA*, TEMPRANILLO Y GARNACHA, Y SUS CORRESPONDIENTES VARIANTES BLANCAS

MARÍA ÁNGELES DEL-CASTILLO-ALONSO^{1*}

LAURA MONFORTE¹

GONZALO SORIANO¹

RAFAEL TOMÁS-LAS-HERAS¹

JAVIER MARTÍNEZ-ABAIGAR¹

ENCARNACIÓN NÚÑEZ-OLIVERA¹

RESUMEN

La composición fenólica de los hollejos de cuatro variedades de vid (Garnacha tinta, Garnacha blanca, Tempranillo y Tempranillo blanco) cultivadas en Logroño (La Rioja, España), difería en lo siguiente: 1) los hollejos de las variedades blancas carecían de antocianos; 2) los flavonoles, especialmente los trihidroxilados, eran más abundantes en las tintas que en las blancas, y también eran mayoritarios en todas las variedades excepto en Garnacha blanca, donde predominaban los ácidos cinámicos; 3) Tempranillo presentaba más estilbenos y menos ácidos cinámicos que Tempranillo blanco, diferencias no encontradas entre las Garnachas; y 4) Tempranillo tenía la mayor cantidad total de compuestos fenólicos. Por tanto, las mutaciones somáticas responsables del paso de tinta a blanca provocaban algunos cambios comunes en las dos variedades blancas, pero cada blanca estaba más relacionada con su tinta original que con la otra blanca. En conclusión, los perfiles fenólicos de las cuatro variedades estudiadas estaban muy diferenciados.

Palabras clave: *Vitis vinifera*, variedades, Garnacha tinta, Garnacha blanca, Tempranillo, Tempranillo blanco, composición fenólica.

Phenolic composition of berry skins of four grapevine varieties (Garnacha tinta, Garnacha blanca, Tempranillo and Tempranillo blanco) cultivated in Logroño (La Rioja, Spain), differed in the following characteristics: 1) berry skins of white varieties lacked anthocyanins; 2) flavonols, especially

1. Universidad de La Rioja, Facultad de Ciencia y Tecnología, C/ Madre de Dios 53, 26006 Logroño, La Rioja, España.

* Autor de referencia (*corresponding author*): maria-angeles-del.castillo@unirioja.es.

trihydroxylated ones, were higher in red than in white varieties, and they also prevailed in every variety except Garnacha blanca, where cinnamic acids predominated; 3) Tempranillo showed higher stilbene and lower cinnamic acids contents than Tempranillo blanco, but these differences were not found between the two Garnacha varieties; and 4) Tempranillo showed the highest content of total phenolics. Thus, the somatic mutations causing the transition from red to white varieties produced some identical changes in the two white varieties, but each white variety was more related to its corresponding original red variety than to the other white variety. In conclusion, the phenolic profiles of the four varieties studied were very differentiated.

Key words: *Vitis vinifera*, varieties, Garnacha tinta, Garnacha blanca, Tempranillo, Tempranillo blanco, phenolic composition.

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos son producto del metabolismo secundario de las plantas, en las que cumplen diversas funciones, como la protección frente a la radiación ultravioleta o ataques de patógenos, la atracción de polinizadores (Croteau *et al.*, 2000) o su acción antioxidante, que protege a otros componentes de la planta susceptibles de ser oxidados. En cuanto a su estructura química, los compuestos fenólicos están constituidos por un anillo bencénico unido, al menos, a un grupo funcional hidroxilo (Downey *et al.*, 2006). Se dividen en dos grandes grupos: los no flavonoides (ácidos fenólicos y estilbenos), y los flavonoides (flavonoles, flavanoles, flavanones y antocianos, entre otros). Como otros muchos frutos, la uva es rica en compuestos fenólicos, que juegan un papel fundamental en sus propiedades organolépticas. Las diferencias a nivel cualitativo y cuantitativo en el contenido de los compuestos fenólicos repercuten directamente en el resultado final de los vinos elaborados, ya que influyen en gran manera en su color, sabor, textura, estabilidad y astringencia (Glories *et al.*, 2003), así como en sus propiedades antioxidantes. Además, estos compuestos fenólicos en la uva y el vino son de gran interés para la salud humana, por sus propiedades antioxidantes y cardioprotectoras (Khan *et al.*, 2015; Calabriso *et al.*, 2016).

La composición fenólica de la uva está marcada por las condiciones edafoclimáticas, la edad, el portainjerto o las prácticas culturales (Chamkha *et al.*, 2003; Sternad Lemut *et al.*, 2013). Entre los factores ambientales más influyentes están la temperatura, la radiación y la disponibilidad de agua (Downey *et al.*, 2006), y entre las técnicas culturales aplicadas al viñedo destacan el riego o el deshojado (Chamkha *et al.*, 2003; Sternad Lemut *et al.*, 2013). La edad de la planta es otro factor influyente, aunque con efectos menos intensos (Lee y Skinkis, 2013). Por último, la composición fenólica está muy determinada por el grado de madurez de la uva. Los factores ambientales pueden además interactuar entre sí, actuando de distinta forma según el grado de maduración (Carbonell-Bejerano *et al.*, 2014). Así, una misma variedad cultivada en diferentes regiones a lo largo de un gradiente

latitudinal en Europa, mostró grandes diferencias en los contenidos fenólicos (Del-Castillo-Alonso *et al.*, 2016a). A pesar de la importancia de todos estos factores, el perfil fenólico de la uva y el vino elaborado está condicionado fundamentalmente por la variedad (Rankovik-Vasic *et al.*, 2015).

Las diferencias en el color de la uva están determinadas por la cantidad y el perfil de los fenoles, fundamentalmente de los antocianos (Carrasco *et al.*, 2015). Las variedades tintas acumulan antocianos en el hollejo, mientras que las variedades blancas no los sintetizan (Boss *et al.*, 1996). Las variedades blancas parecen derivar de sus correspondientes tintas por mutaciones somáticas (Walker *et al.*, 2006), como se ha demostrado por ejemplo en Pinot Noir y Pinot Blanc, cuya mutación consistió en la delección de un alelo implicado en la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de antocianos (Yakushiji *et al.*, 2006). Estas mutaciones provocan no sólo cambios en los antocianos, sino también en otros grupos fenólicos como los flavonoles (Mattivi *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2017).

Entre las variedades autorizadas por la D. O. Ca. Rioja, se encuentran Tempranillo y Garnacha tinta y blanca, todas ellas admitidas desde 1925 para la elaboración de sus vinos, y Tempranillo blanco, admitida en 2008 para aumentar la tipicidad y singularidad de sus vinos. La Garnacha blanca es una variante somática de la Garnacha tinta (Balda y Martínez de Toda, 2017), mientras que Tempranillo blanco surgió recientemente en un viñedo de Murillo de Río Leza (La Rioja), por mutación somática de una cepa de Tempranillo. En la actualidad, es la segunda variedad blanca más cultivada, siendo esta región vitícola la única en la que está autorizada (Martínez y García-Escudero, 2017).

El objetivo global de este trabajo fue estudiar las diferencias en el perfil fenólico de los hollejos de cuatro variedades de vid autorizadas por la D. O. Ca. Rioja, dos de ellas tintas (Garnacha tinta y Tempranillo) y dos blancas (Garnacha blanca y Tempranillo blanco), poniendo especial énfasis en analizar si las diferencias eran semejantes al comparar las variantes blanca y tinta de Garnacha y Tempranillo. Para eliminar la influencia de otros factores, como los edafoclimáticos o los asociados al manejo del cultivo o la edad, se utilizó la colección de la Finca La Grajera (Logroño, La Rioja), que dispone de más de 500 variedades de vid, incluidas aquellas aceptadas por la D. O. Ca. Rioja. Para evitar el efecto de la maduración de la uva, el muestreo se realizó cuando todas las variedades alcanzaron un mismo estado de maduración.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Lugar de recolección y material vegetal

En 2014 se recolectaron bayas de vid (*Vitis vinifera* L.) de cuatro variedades amparadas por la D. O. Ca. Rioja, concretamente dos variedades tintas (Garnacha tinta y Tempranillo) y dos blancas (Garnacha blanca y Tem-

pranillo blanco). Todas ellas están cultivadas conjuntamente en un viñedo situado en Logroño (La Rioja, norte de España), en la parcela experimental “Finca La Grajera” (42° 26’ 34,18” N, 2° 30’ 53,07” W) del Gobierno de La Rioja, situada a 455 m de altitud. El clima es semiárido, con temperatura media anual de 14 °C y precipitación de 464 mm anuales. El suelo de la parcela de estudio es un cambisol calcáreo, de textura franca, con una pendiente de aproximadamente un 10 % (Pérez Sotés, 2011). Todas las variedades se plantaron en 2010 sobre el portainjerto Richter 110, con un marco de plantación de 3 x 1,2 m, conducción en espaldera, poda a doble cordón, y sin riego.

2.2. Recogida de las bayas

Con el objetivo de que las bayas de todas las variedades estuvieran en un estado semejante de maduración, se midió el contenido total de sólidos solubles (TSS) en la pulpa con un refractómetro digital (Zuzi, serie 300, Beriáin, Navarra, España). El momento de recolección se determinó cuando todas las variedades tenían entre 22 y 24 °Brix. Para cada variedad se seleccionaron tres cepas al azar entre las 10 disponibles, y se recogieron tres racimos bien expuestos que fueran representativos de cada cepa. El muestreo se realizó un día soleado y en las horas centrales del día. De cada racimo se seleccionaron *in situ* seis bayas representativas (dos de la zona de los hombros, dos de la zona central y otras dos del extremo basal), que se congelaron en nitrógeno líquido para su transporte y se mantuvieron a -80 °C hasta su posterior análisis.

2.3. Análisis de compuestos fenólicos

En el laboratorio, las bayas se descongelaron parcialmente para poder retirar el hollejo de la pulpa con un bisturí, teniendo cuidado de no romper la hipodermis. Los hollejos de cada muestra se sumergieron en nitrógeno líquido, se pesaron, se liofilizaron durante 24 h en un liofilizador (Virtis, NY, USA) y se volvieron a pesar. Para el análisis de los compuestos fenólicos, los hollejos liofilizados de cada muestra se molieron para obtener un polvo homogéneo. Para cada muestra analítica, se congelaron 50 mg de polvo en nitrógeno líquido y se molieron en un TissueLyser (Qiagen, Hilden, Alemania). El nivel global de compuestos fenólicos solubles en metanol (CFSM) se midió por espectrofotometría, según el método descrito por Del-Castillo-Alonso *et al.* (2015). Para la extracción, se tomaron 50 mg de polvo de hollejo, se añadieron 3 ml de metanol: agua: 7M HCl (70:29:1 v/v/v) y se mantuvieron 24 h a 4 °C en oscuridad. El extracto se centrifugó a 6000 g durante 15 min a 10 °C, y se recogió el sobrenadante. El contenido global de CFSM se midió por unidad de peso seco (PS) como el área bajo la curva del espectro de absorción en el intervalo 280 – 315 nm ($AUC_{280-315}$) y 280–400 nm ($AUC_{280-400}$), usando un espectrofotómetro Perkin-Elmer 135 (Perkin-Elmer, Wilton, CT, USA). Puesto que ambas fracciones se correlacionaron significativamente, se eligió el intervalo 280-400 nm para presentar todos los resultados.

La identificación y cuantificación de los CFSM individuales presentes en los hollejos se realizó con un cromatógrafo UPLC WatersAcquity (Milford, MA, USA) equipado con una columna ACQUITY UPLC® BEH-C18 (1,7 μm x 100 x 2,1 mm) mantenida a 40 °C y una precolumna Waters Van Guard, siguiendo a Del-Castillo-Alonso *et al.* (2016b). Los disolventes fueron: A, agua/ácido fórmico (0,1 %), y B, acetonitrilo/ ácido fórmico (0,1 %). El gradiente empleado fue: 0-7 min, 99,5 a 80 % A; 7-9 min, 80 a 50 % A; 9-11,7 min, 50-0 % A; 11,7-15 min, 0 a 99,5 % A. El sistema UPLC se acopló a un espectrómetro de masas de alta resolución micrOTOFII (BrukerDaltonik, Alemania) equipado con una fuente multimodo Apolo II ESI/APCI y controlado por el software Bruker Daltonics Data Analysis. La fuente electrospray se hizo funcionar en el modo negativo para todos los compuestos excepto para los antocianos, en los que se hizo funcionar en modo positivo. El potencial capilar se estableció en 4 kV; la temperatura del gas de secado fue de 200 °C y su flujo 9 l min⁻¹; el gas nebulizador se estableció en 3,5 bar y 25 °C. Los espectros se obtuvieron entre m/z 120 y 1505 en el modo negativo y positivo. Los diferentes compuestos fenólicos analizados se identificaron de acuerdo a su orden de elución y a los tiempos de retención de los compuestos puros: miricetina, quercetina, catequina, epicatequina, astilbina, *trans*-resveratrol, ácido *p*-cumárico, ácido cafeico y ácido ferúlico (Sigma, St. Louis, MO, USA); kaempferol-3-*O*-glucósido, isorhamnetina-3-*O*-glucósido, siringetina-3-*O*-glucósido, procianidina B1 y malvidina-3-*O*-glucósido (Extrasynthese, Genay, Francia); isorhamnetina, quercetina-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-glucopiranosido, quercetina-3-*O*-glucurónido y quercetina-3-*O*-rutinósido (Fluka, Buchs, Alemania). La cuantificación de los compuestos no comerciales se llevó a cabo usando las curvas de calibración del compuesto más similar: ácido cafeico para el ácido *p*-cafeoil-tartárico (ácido caftárico); ácido *p*-cumárico para el ácido *p*-cumaroil-tartárico (ácido cutárico); *trans*-resveratrol para su glucósido; y malvidina-3-*O*-glucósido para las antocianinas.

2.4. Tratamiento estadístico

Se aplicó un test de la *t* de Student para comprobar las diferencias en los compuestos fenólicos entre las variedades tintas y sus correspondientes blancas. Además, todas las variedades se ordenaron mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP), teniendo en cuenta sólo los grupos fenólicos comunes en todas. Todos los procedimientos estadísticos se realizaron con SPSS 24.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, USA).

3. RESULTADOS

La figura 1 muestra los valores globales de los compuestos fenólicos solubles en metanol (CFSM) y los valores de los distintos grupos fenólicos

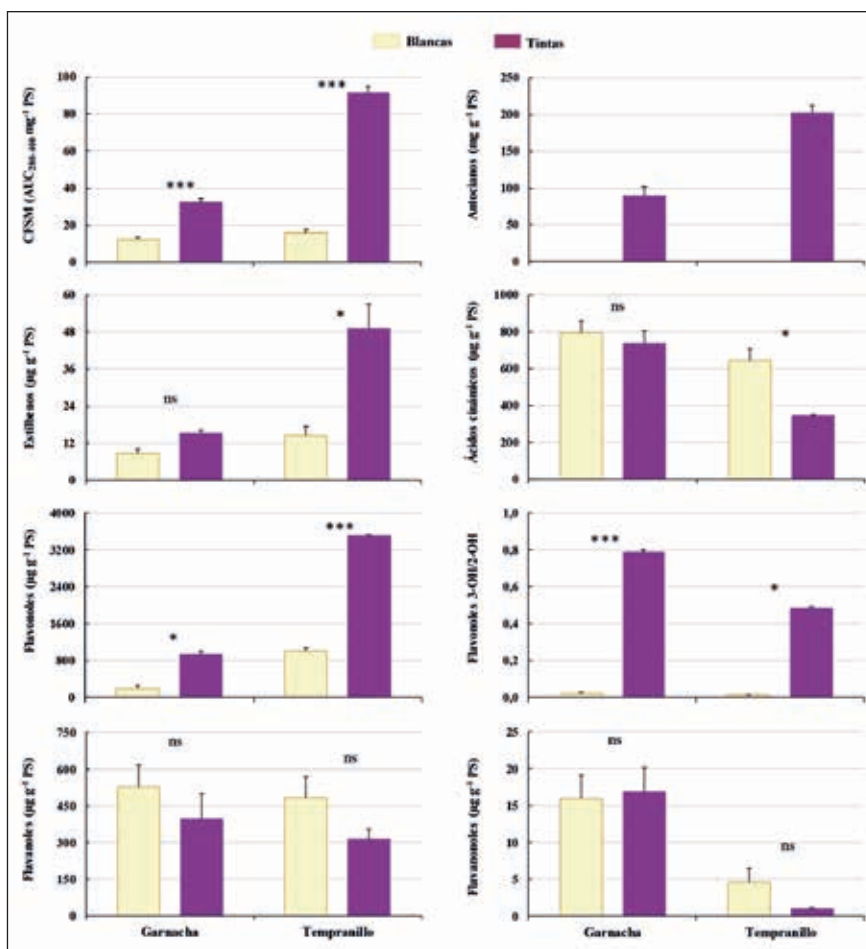


Figura 1. Contenidos globales de compuestos fenólicos solubles en metanol (CFSM), así como de los grupos fenólicos y el cociente entre los flavonoles tri-hidroxiados y di-hidroxiados (3-OH/2-OH) en hollejos de Tempranillo y Garnacha tinta (morado) y sus variantes blancas, Tempranillo blanco y Garnacha blanca (amarillo). Los valores se expresan como media \pm ET ($n = 3$). También aparece la significación del análisis de t de Student entre cada variedad tinta y su variante blanca (***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, diferencias no significativas).

en las variedades blancas y tintas. Las dos variedades tintas mostraron significativamente mayor contenido global de CFSM que sus correspondientes variedades blancas. En cuanto a los distintos grupos fenólicos, los antocianos estaban presentes únicamente en las variedades tintas, donde eran los compuestos fenólicos mayoritarios. Como los CFSM, los flavonoles y el cociente 3-OH/2-OH fueron también significativamente mayores en las tintas que en sus correspondientes blancas. Los estilbenos fueron superiores en las tintas, pero las diferencias fueron significativas solamente en Tempra-

nillo respecto a Tempranillo blanco. Los ácidos cinámicos no mostraron diferencias en Garnacha tinta respecto de Garnacha blanca y, por el contrario, Tempranillo blanco tuvo mayor concentración de ácidos cinámicos que Tempranillo. Por último, ni los flavanoles ni los flavanones mostraron distintas concentraciones entre las tintas y las blancas, aunque se observó una tendencia a ser mayores en las blancas que en las tintas, especialmente en Tempranillo.

Teniendo en cuenta solamente los grupos fenólicos comunes en las cuatro variedades, porcentualmente los flavonoles eran los más abundantes en todas ellas excepto en Garnacha blanca, variedad en la que abundaban los ácidos cinámicos (tabla 1). Especialmente significativo era el 83,25 % que suponían los flavonoles en Tempranillo.

TABLA 1. ABUNDANCIA RELATIVA, EN PORCENTAJE, DE LOS DIFERENTES GRUPOS DE COMPUESTOS FENÓLICOS COMUNES EN LOS HOLLEJOS DE TEMPRANILLO Y GARNACHA TINTA Y SUS VARIANTES BLANCAS, TEMPRANILLO BLANCO Y GARNACHA BLANCA

	Tempranillo	Garnacha tinta	Tempranillo blanco	Garnacha blanca
% Estilbenos	1,16	0,72	0,67	0,57
% Ácidos cinámicos	8,11	35,08	29,89	51,59
% Flavonoles	83,25	44,43	46,75	12,43
% Flavanoles	7,45	18,96	22,48	34,38
% Flavanonoles	0,03	0,80	0,21	1,03

La figura 2 muestra, en una gama de colores de mayor a menor concentración, los compuestos fenólicos identificados. En ambas variedades tintas se identificaron 15 antocianos, 3 estilbenos, 2 ácidos cinámicos, 15 flavonoles, 4 flavanoles y 1 flavanonol. En las variedades blancas no se halló ningún antociano y también estuvieron ausentes dos flavonoles, miricetina aglicona y quercetina-3-O-glucósido. Dentro de los 15 antocianos identificados en las dos variedades tintas se encontraron 5 antocianinas y sus correspondientes variantes cumariladas y acetiladas. Todas las antocianinas fueron más altas en Tempranillo que en Garnacha tinta. En cuanto a los flavonoles, Tempranillo mostró los valores más altos, excepto de isorhamnetina-3-O-glucuronido y siringetina-3-O-glucósido, cuyos valores más altos se encontraron en Tempranillo blanco y Garnacha tinta, respectivamente. Por el contrario, catequinas, procianidinas y astilbina mostraron valores más bajos en Tempranillo que en el resto de variedades. Los estilbenos, a excepción del resveratrol aglicona, mostraron valores más altos en Tempranillo que en el resto.

La figura 3 muestra la ordenación de las cuatro variedades mediante un análisis de componentes principales (ACP). Para este análisis se utilizaron únicamente los grupos de compuestos fenólicos comunes a las variedades blancas y tintas. Los dos primeros ejes absorben el 95 % de la varianza. En el

	Tempranillo	Garnacha tinta	Tempranillo blanco	Garnacha blanca
Resveratrol				
<i>Trans</i> -resveratrol-3- <i>O</i> -glucósido				
<i>Cis</i> -resveratrol-3- <i>O</i> -glucósido				
Ácido cutárico				
Ácido caftárico				
Kaempferol				
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucósido				
Kaempferol-3- <i>O</i> -galactósido				
Quercetina				
Quercetina-3- <i>O</i> -galactósido				
Quercetina-3- <i>O</i> -glucopiranosido				
Quercetina-3- <i>O</i> -glucósido				
Quercetina-3- <i>O</i> -glucurónido				
Quercetina-3- <i>O</i> -rutinósido				
Miricetina				
Miricetina-3- <i>O</i> -glucósido				
Miricetina-3- <i>O</i> -glucurónido				
Isorhamnetina-3- <i>O</i> -glucósido				
Isorhamnetina-3- <i>O</i> -glucurónido				
Siringetina-3- <i>O</i> -glucósido				
Catequina				
Epicatequina				
Catequina galato				
Procianidina B1				
Astilbina				
Delfinidina-3- <i>O</i> -glucósido				
Cianidina-3- <i>O</i> -glucósido				
Petunidina-3- <i>O</i> -glucósido				
Peonidina-3- <i>O</i> -glucósido				
Malvidina-3- <i>O</i> -glucósido				
Delfinidina-3- <i>O</i> -(6'-acetil) glucósido				
Cianidina-3- <i>O</i> -(6'-acetil) glucósido				
Petunidina-3- <i>O</i> -(6'-acetil) glucósido				
Peonidina-3- <i>O</i> -(6'-acetil) glucósido				
Malvidina-3- <i>O</i> -(6'-acetil) glucósido				
Delfinidina-3- <i>O</i> -(6'-p-cumaroil) glucósido				
Cianidina-3- <i>O</i> -(6'-p-cumaroil) glucósido				
Petunidina-3- <i>O</i> -(6'-p-cumaroil) glucósido				
Peonidina-3- <i>O</i> -(6'-p-cumaroil) glucósido				
Malvidina-3- <i>O</i> -(6'-p-cumaroil) glucósido				

Figura 2. Escala en color del contenido medio de compuestos fenólicos individuales identificados en hollejos de Tempranillo y Garnacha tinta y sus variantes blancas, Tempranillo blanco y Garnacha blanca. El color más oscuro indica el mayor contenido, y el color más claro el menor contenido para cada compuesto. En blanco se indica la ausencia del compuesto en esa variedad.

cuadrante positivo de los dos ejes se sitúan como factores de carga todos los flavonoles y los estilbenos, y en el cuadrante negativo de ambos ejes los ácidos cinámicos, la procianidina y el flavanonol astilbina. Hay una separación clara entre las variedades blancas y tintas, éstas con mayores niveles de flavonoles y menores de ácidos cinámicos y procianidinas. Las diferencias son mucho más acusadas en Tempranillo que en Garnacha. A su vez, también hay una clara separación por grupos de variedades, con las variedades de Tempranillo más ricas en flavonoles y menos en ácidos cinámicos que las variedades de Garnacha.

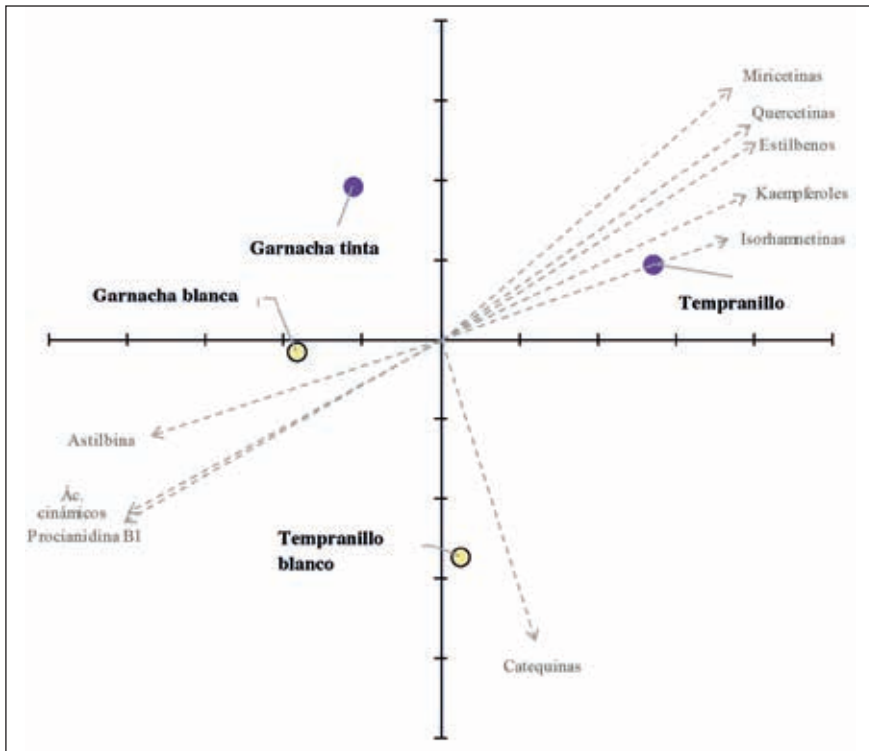


Figura 3. Ordenación de Tempranillo y Garnacha tinta y sus variantes blancas, Tempranillo blanco y Garnacha blanca, mediante un análisis de componentes principales (ACP), teniendo en cuenta solamente los grupos fenólicos comunes a las cuatro variedades. Se muestran con flechas los valores del coeficiente de cada variable en los dos ejes. El eje I es el horizontal, y el eje II el vertical.

4. DISCUSIÓN

En este estudio se han analizado de forma pormenorizada las diferencias en el perfil fenólico entre cuatro variedades de *Vitis vinifera*, dos tintas (Tempranillo y Garnacha tinta) y sus dos variantes blancas (Tempranillo

blanco y Garnacha blanca), todas ellas autorizadas en la D. O. Ca. Rioja. El origen de estas variantes cromáticas parece estar en una mutación somática de las variedades tintas (Kobayashi *et al.*, 2004), que se traduce en una falta de color del hollejo de la uva (Lijavetzky *et al.*, 2006). En nuestro estudio se han encontrado fuertes variaciones cuantitativas y cualitativas en el contenido fenólico, que han afectado tanto a los antocianos como a flavonoles y estilbenos. En estudios comparativos entre variedades blancas y tintas, una de las diferencias más significativas es la ausencia de antocianos en las primeras (Mattivi *et al.*, 2006; Ivanova *et al.*, 2011). Cuando se han comparado entre variedades tintas y sus variantes blancas, se han encontrado diferencias en la síntesis de antocianos y en otros grupos fenólicos (Ferreira *et al.*, 2017), como ocurre en este trabajo.

Si se analizan los compuestos fenólicos de forma global, se observa que los CFSM fueron significativamente mayores en Tempranillo y Garnacha tinta que en sus variantes blancas, de acuerdo con lo obtenido por Katalinic *et al.* (2010) en otras variedades. Esto se debe en gran parte a la ausencia de antocianos, que son los compuestos mayoritarios en las variedades tintas (Cantos *et al.*, 2002; Mattivi *et al.*, 2006), pero también a los flavonoles. Tempranillo mostró un valor superior de CFSM que Garnacha tinta, siendo también mayor su contenido en antocianos y flavonoles, de acuerdo con lo observado por Portu *et al.* (2017).

Además de las diferencias en los antocianos, únicamente se encontraron diferencias comunes a las dos tintas y sus correspondientes blancas en los flavonoles, con mayores concentraciones en las dos variedades tintas, especialmente en Tempranillo, que tuvo cinco veces más flavonoles que Tempranillo blanco. Se han descrito resultados similares al comparar Cabernet sauvignon y su variante blanca Sauvignon blanc (Mattivi *et al.*, 2006), ya que el contenido de flavonoles de la tinta fue 3.5 veces mayor que la blanca. Tempranillo también mostró diferencias con Tempranillo blanco en los estilbenos y en los derivados de los ácidos cinámicos, no así Garnacha. Tempranillo tiene más estilbenos y menos ácidos cinámicos que Tempranillo blanco, como ocurre en Moscatel (Degu *et al.*, 2015). Por el contrario, Cantos *et al.* (2002) no encontraron diferencias entre blancas y tintas, como sucede en nuestro estudio con Garnacha, lo que pone de manifiesto la enorme influencia varietal en la respuesta a las mutaciones somáticas que producen un cambio de color en las uvas. La influencia varietal es también muy importante en otros grupos fenólicos, como flavonoles y flavanoles, con respuestas muy heterogéneas en la bibliografía (Serratos *et al.*, 2014; Ivanova *et al.*, 2011; Landrault *et al.*, 2002), si bien ninguna de las dos variedades de nuestro estudio mostraron diferencias significativas entre blancas y tintas.

Las enzimas flavonoide-hidroxilasas F3'H y F3'5'H catalizan la hidroxilación del anillo B de los flavonoles, originando las formas dihidroxiladas (2-OH), como las quercetinas, o trihidroxiladas (3-OH), como las miricetinas (Bogs *et al.*, 2006). El nivel de hidroxilación determina, en gran medida, su capacidad de captar radicales, siendo por tanto los flavonoles más hidroxilados los que podrían ser más antioxidantes (Winkel-Shirley, 2002).

En nuestro estudio, la ratio 3-OH/2-OH fue significativamente mayor en las variedades tintas que en las blancas, lo que unido a la ausencia de antocianos en las blancas podría indicar una mayor capacidad antioxidante de las variedades tintas. Sin embargo, la mayor concentración de ácidos cinámicos en las blancas podría suplir la función antioxidante (Katalinic *et al.*, 2010), a pesar de que los ácidos cinámicos son antioxidantes menos efectivos que flavonoles o antocianos (Csepregi y Hideg, 2017).

Las diferencias entre tintas y sus variantes blancas se hacen mucho más acusadas al analizar la presencia de algunos compuestos individuales. Algunos trabajos previos han mostrado ausencia de flavonoles trihidroxilados como miricetinas en variedades blancas (Mattivi *et al.*, 2006), lo que se achacaba a una falta de expresión del enzima flavonoide 3',5'-hidroxilasa. Nuestros datos no concuerdan totalmente con estos resultados ya que, aunque en ninguna de las variedades blancas se detectó la presencia de miricetina aglicona, sí estaban presentes algunos derivados glucosilados, como miricetina 3-O-glucósido y miricetina 3-O-glucurónido, si bien en mucha menor concentración que en las tintas, lo que podría relacionarse con una menor actividad del enzima.

Al comparar las cuatro variedades conjuntamente, nuestros resultados muestran que Tempranillo se diferencia claramente de las demás en casi la totalidad de los compuestos analizados, con un alto contenido fenólico con respecto a otras variedades tintas, especialmente en antocianos y flavonoles. Esto concuerda con los resultados de Mattivi *et al.* (2006), que compararon el contenido de flavonoles en 64 variedades tintas y situaron a Tempranillo por encima de la media. Otra diferencia entre las cuatro variedades es la abundancia relativa de cada uno de los grupos fenólicos comunes (excluyendo antocianos). Excepto Garnacha blanca, en la que el 52 % del total de fenoles está constituido por ácidos cinámicos, las concentraciones más altas en el resto correspondieron a los flavonoles. Éstos son especialmente altos en Tempranillo y supusieron más del 80 % del total, resultados que están en consonancia con los encontrados en la bibliografía (Cantos *et al.*, 2002; Del-Castillo-Alonso *et al.*, 2016b; Portu *et al.* 2016).

Como conclusiones, este trabajo muestra que el cambio de color de los hollejos en las variantes somáticas blancas de Tempranillo y Garnacha tinta no sólo se explica por la ausencia de antocianos, sino que también están implicados cambios cualitativos y cuantitativos en otros grupos fenólicos, fundamentalmente flavonoles y en menor medida estilbenos y ácidos cinámicos. Aunque hay cambios comunes entre las variedades tintas y sus correspondientes variantes blancas (ausencia de antocianos y de algunos flavonoles, así como cambios en las proporciones de los distintos grupos fenólicos), hay otros que son específicos de cada una de ellas, como por ejemplo la disminución de estilbenos y el aumento de ácidos cinámicos en Tempranillo blanco respecto a Tempranillo, cosa que no ocurre en Garnacha. Por lo tanto, la mutación que provoca el cambio de tinta a blanca no hace que los perfiles fenólicos de las dos variedades blancas se parezcan más entre sí que a sus correspondientes tintas. La conjunción de los efectos

varietales y los debidos a la mutación somática es lo suficientemente importante como para originar perfiles fenólicos muy contrastados entre las cuatro variedades. Conocer pormenorizadamente la composición fenólica de la uva es crucial para facilitar a los enólogos la elección de unas variedades u otras, en función de los matices que se quieran aportar al vino.

5. AGRADECIMIENTOS

Este estudio es una parte de los resultados de un Proyecto de Temática Riojana (Orden 18/2013 de 10 de julio) financiado por el Instituto de Estudios Riojanos (IER) y el Gobierno de La Rioja. Gracias a Enrique García-Escudero y a Elisa Baroja Hernández (ICVV, CSIC - Gobierno de La Rioja - Universidad de La Rioja) por permitirnos la recogida de muestras en la finca experimental de La Grajera (La Rioja).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balda, P. y Martínez de Toda, F. (2017). *Variedades minoritarias de vid en La Rioja*. Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente, Gobierno de La Rioja, Logroño.
- Bogs, J., Ebadi, A., McDavid, D. y Robinson, S.P. (2006). Identification of the Flavonoid hydroxylases from grapevine and their regulation during fruit development. *Plant Physiology*, 140, 279-291.
- Boss, P.K., Davies, C., y Robinson, S.P. (1996). Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, 111, 1059-1066.
- Calabriso, N., Scoditti, E., Massaro, M., Pellegrino, M., Storelli, C., Ingrosso, I., Giovinazzo, G. y Carluccio, M.A. (2016). Multiple anti-inflammatory and anti-atherosclerotic properties of red wine polyphenolic extracts: differential role of hydroxycinnamic acids, flavonols and stilbenes on endothelial inflammatory gene expression. *European Journal of Nutrition*, 55, 477-489.
- Cantos, E., Espín, J.A. y Tomás-Barberán, F.A. (2002). Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5691-5696.
- Carbonell-Bejerano, P., Diago, M.P., Martínez-Abaigar, J., Martínez-Zapater, J.M., Tardáguila, J. y Núñez-Olivera, E. (2014). Solar ultraviolet radiation is necessary to enhance grapevine fruit ripening transcriptional and phenolic responses. *BMC Plant Biology*, 14, 183.

- Carrasco, D., De Lorenzis, G., Maghradze, D., Revilla, E., Bellido, A., Falla, O. y Arroyo-García, R. (2015). Allelic variation in the *VvMYBA1* and *VvMYBA2* domestication genes in natural grapevine populations (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*). *Plant Systematics and Evolution*, 301, 1613-1624.
- Chamkha, M., Cathala, B., Cheynier, V. y Douillard, R. (2003). Phenolic composition of champagnes from Chardonnay and Pinot noir vintages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3179-3184.
- Croteau, R., Kutchan, T.M. y Lewis, N.G. (2000). Natural products (Secondary Metabolites). En: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* second edition (Buchanan, B.B., Gruissem, W. y Jones, R.L., eds.). American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, USA, 1250-1318.
- Csepregi, K. y Hideg, E. (2017). Phenolic compound diversity explored in the context of photo-oxidative stress protection. *Phytochemical Analysis*, DOI 10.1002/pca.2720.
- Degu, A., Morcia, C., Tumino, G., Hochberg, U., Toubiana, D., Mattivi, F., Schneider, A., Bosca, P., Cattivelli, L., Terzi, V. y Fait, A. (2015). Metabolite profiling elucidates communalities and differences in the polyphenol biosynthetic pathways of red and white Muscat genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 24-33.
- Del-Castillo-Alonso, M.A., Diago, M.P., Monforte, L., Tardáguila, J., Martínez-Abaigar, J. y Núñez-Olivera, E. (2015). Effects of UV exclusion on the physiology and phenolic composition of leaves and berries of *Vitis vinifera* cv. Graciano. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 409-416.
- Del-Castillo-Alonso, M.A., Castagna, A., Csepregi, K., Hideg, É., Jakab, G., Jansen, M.A.K., Jug, T., Llorens, L., Máta, A., Martínez-Lüscher, J., Monforte, L., Neugart, S., Olejnickova, J., Ranieri, A., Schödl-Hummel, K., Schreiner, M., Soriano, G., Teszlák, P., Tittmann, S., Urban, O., Verdaguer, D., Zipoli, G., Martínez-Abaigar, J. y Núñez-Olivera, E. (2016a). Environmental factors correlated with the metabolite profile of *Vitis vinifera* cv. Pinot noir berry skins along a European latitudinal gradient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 8722-8734.
- Del-Castillo-Alonso M.A., Diago, M.P., Tomás-Las-Heras, R., Soriano, G., Monforte, L., Martínez-Abaigar, J. y Núñez-Olivera, E. (2016b). Effects of ambient solar UV radiation on grapevine leaf physiology and berry phenolic composition along one entire season under Mediterranean field conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 374-386.
- Downey, M.O., Dokoozlian, N.K. y Krstic, M.P. (2006). Cultural Practice and Environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 257-268.
- Ferreira, V., Fernandes, F., Carrasco, D., Gonzalez Hernandez M., Pinto-Carnide, O., Arroyo-García, R., Andrade, P., Valentão, P., Falco, V. y Castro, I. (2017). Spontaneous variation regarding grape berry skin color: A com-

- prehensive study of berry development by means of biochemical and molecular markers. *Food Research International*, 97, 149-161.
- Glories, Y., Dubourdieu, D. y Maujean, A. (2003). *Tratado de Enología. Tomo 2. Química del vino. Estabilizaciones y tratamientos*. Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires.
- Ivanova, V., Stefova, M., Vojnoski, B., Dörnyei, A., Márk, L., Dimovska, V., Stafilov, T. y Kilár, F. (2011). Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown in R. Macedonia and changes of their content during ripening. *Food Research International*, 44, 2851-2860.
- Katalinic, V., Smole Mozina, S., Skroza, D., Generalic, I., Abramovic, H., Miloš, M., Ljubenkov, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpinč, P. y Boban, M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chemistry*, 119, 715-713.
- Khan, N.Q., Patel, B., Kang, S.S., Dhariwal, S.K., Husain, F., Wood, E.G., Pothecary, M.R. y Corder, R. (2015). Regulation of vascular endothelial function by red wine procyanidins: implications for cardiovascular health. *Tetrahedron*, 71, 3059-3065.
- Kobayashi, S., Goto-Yamamoto, N. y Hirochika, H. (2004). Retrotransposon-induced mutations in grape skin color. *Science*, 304, 982.
- Landrault, N., Larronde, F., Delaunay, J.C., Castagnino, C., Vercauteren, J., Merillon, J.M., Gasc, F., Cros, G. y Teissedre, P.L. (2002). Levels of stilbene oligomers and astilbin in french varietal wines and in grapes during noble rot development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2046-2052.
- Lee, J. y Skinkis, P.A. (2013). Oregon 'Pinot noir' grape anthocyanin enhancement by early leaf removal. *Food Chemistry*, 139, 893-901.
- Lijavetzky, D., Ruiz-García, L., Cabezas, J.A., De Andrés, M.T., Bravo, G., Ibáñez, A., Carreño, J., Cabello, F., Ibáñez, J. y Martínez-Zapater, J.M. (2006). Molecular genetics of berry colour variation in table grape. *Molecular Genetics and Genomics*, 276, 427-435.
- Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M. y Velasco, R. (2006). Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7692-7702.
- Martínez, J. y García-Escudero, E. (2017). Tempranillo blanco: una variedad fruto de la variación genética de la vid (*Vitis vinifera* L.). *Acenología*, 159.
- Pérez Sotés, J.L. (2011). *Valoración de aspectos microclimáticos en cv. Tempranillo (Vitis vinifera L.) gestionado mediante cubierta vegetal*. Trabajo de investigación Programa de Doctorado.
- Portu, J., López, R., Baroja, B., Santamaría, P. y Garde-Cerdán, T. (2016). Improvement of grape and wine phenolic content by foliar application to grapevine of three different elicitors: methyl jasmonate, chitosan, and yeast extract. *Food Chemistry*, 201, 213-221.

- Portu, J., López, R., Santamaría, P. y Garde-Cerdán, T. (2017). Elicitation with methyl jasmonate supported by precursor feeding with phenylalanine: Effect on Garnacha grape phenolic content. *Food Chemistry*, 237, 416-422.
- Ranković-Vasić, Z., Nikolić, D., Atanacković, Z., Sivčev, B. y Ruml, M. (2015). Characterization and adaptation of some 'Pinot noir' clones to the environmental conditions of Serbian grape growing regions. *Vitis*, 54, 147-149.
- Serratos, M.P., Marquez, A., Moyano, L., Zea, L. y Merida, J. (2014). Chemical and morphological characterization of Chardonnay and Gewürztraminer grapes and changes during chamber-drying under controlled conditions. *Food Chemistry*, 159, 128-136.
- Sternad Lemut, M., Sivilotti, P., Franceschi, P., Wehrens, R. y Vrhovsek, U. (2013). Use of metabolic profiling to study grape skin polyphenol behavior as a result of canopy microclimate manipulation in a 'Pinot noir' vineyard. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8976-8986.
- Walker, A.R., Lee, E. y Robinson, S.P. (2006). Two new grape cultivars, bud sports of Cabernet Sauvignon bearing pale-coloured berries, are the result of deletion of two regulatory genes of the berry colour locus. *Plant Molecular Biology*, 62, 623-635.
- Winkel-Shirley, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 218-223.
- Yakushiji, H., Kobayashi, S., Goto-Yamamoto, N., Tae Jeong, S., Sueta, T., Mitani, N. y Azuma, A. (2006). A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot noir to white-skinned Pinot blanc, is caused by deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70, 1506-1508.



ZUBÍA

29



Gobierno de La Rioja
www.larioja.org

ier
**Instituto
de Estudios
Riojanos**