



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

## TESIS DOCTORAL

Título
<b>Influencia del uso de cubiertas vegetales sobre la fertilidad del suelo, la expresión vegetativa de la vid y la composición de la uva y del vino en un viñedo de Tempranillo (<i>Vitis vinifera</i> L.) de la D.O.Ca. Rioja</b>
Autor/es
<b>Eva Pilar Pérez Álvarez</b>
Director/es
Fernando Peregrina Alonso y Teresa Garde Cerdán
Facultad
Titulación
Departamento
Curso Académico
2014-2015



**Influencia del uso de cubiertas vegetales sobre la fertilidad del suelo, la expresión vegetativa de la vid y la composición de la uva y del vino en un viñedo de Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) de la D.O.Ca. Rioja**, tesis doctoral de Eva Pilar Pérez Álvarez, dirigida por Fernando Peregrina Alonso y Teresa Garde Cerdán (publicada por la Universidad de La Rioja), se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported. Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

© El autor  
© Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2015  
publicaciones.unirioja.es  
E-mail: publicaciones@unirioja.es

**Influencia del uso de cubiertas vegetales sobre la fertilidad del suelo, la expresión vegetativa de la vid y la composición de la uva y del vino en un viñedo de Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) de la D.O.Ca. Rioja**

**TESIS DOCTORAL**

**EVA PILAR PÉREZ ÁLVAREZ**





# TESIS DOCTORAL

**Influencia del uso de cubiertas vegetales sobre la fertilidad del suelo, la expresión vegetativa de la vid y la composición de la uva y del vino en un viñedo de Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) de la D.O.Ca. Rioja**

-----

**Influence of cover crops on soil fertility, grapevine vegetative expression and grape and wine composition in a cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) vineyard of Rioja A.O.C.**

**Eva Pilar Pérez Álvarez**

**Logroño, 2015**





CONSEJO SUPERIOR  
DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS

El **Dr. FERNANDO PEREGRINA ALONSO** y la **Dra. TERESA GARDE CERDÁN**, investigadores del Servicio de Investigación Vitivinícola del Gobierno de La Rioja, perteneciente al Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino,

**CERTIFICAN:**

Que la presente Memoria titulada: **“Influencia del uso de cubiertas vegetales sobre la fertilidad del suelo, la expresión vegetativa de la vid y la composición de la uva y del vino en un viñedo de Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) de la D.O.Ca. Rioja”** que presenta **Dña. EVA PILAR PÉREZ ÁLVAREZ**, ha sido realizada, bajo nuestra tutela y dirección en el Servicio de Investigación Vitivinícola del Gobierno de La Rioja, y reúne las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor Internacional por la Universidad de La Rioja.

Logroño, 7 de octubre de 2015

Fdo.: Dr. Fernando Peregrina Alonso

Fdo.: Dra. Teresa Garde Cerdán



Esta Tesis Doctoral se ha desarrollado con base en el Proyecto titulado: **“Influencia del uso de cubiertas vegetales sobre la fertilidad del suelo, la expresión vegetativa de la vid y la composición de la uva y del vino en un viñedo de Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) de la D.O.Ca. Rioja”** con referencia RTA2009-00101-00-00, concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) perteneciente al Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España y, cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional. Para llevarlo a cabo se ha contado con una Beca Predoctoral otorgada por el INIA desde el año 2009 hasta el 2012.

El trabajo se ha realizado en la Sección de Viticultura y Enología del Servicio de Investigación Vitivinícola, perteneciente a la Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente del Gobierno de La Rioja.



## **AGRADECIMIENTOS**

Tras realizar y defender mi primer Proyecto Final de Carrera me dije a mí misma que no volvería a hacer una cosa semejante, sin embargo, me embauqué en otra aventura de similar magnitud, estudiar una Ingeniería Superior y, por tanto, realizar un segundo Proyecto Final de Carrera. Esta vez fui a Florencia donde, sin entonces ser consciente de ello, comencé mi carrera en el mundo de la investigación...Ahora, finalizando esta memoria de la Tesis Doctoral y, por tanto, próxima a la conclusión de esta etapa, quiero hacer extensivo el agradecimiento a todas las personas que, de una u otra manera, han compartido conmigo estas vivencias y experiencias, influyendo en mi vida y contribuyendo, en distinta medida, en la consecución de este trabajo.

Quisiera dar las gracias, especialmente, a mis dos directores de Tesis, el Dr. Fernando Peregrina Alonso y la Dra. Teresa Garde Cerdán, por haberme transmitido su infinita pasión por la investigación y por el trabajo bien hecho, aunque en ámbitos distintos de la ciencia pero ambos con la misma rigurosidad, constancia, paciencia, tesón, dedicación y trabajo, mucho trabajo. Por confiar en mí y compartir conmigo sus experiencias, laborales y personales y porque, a pesar de las adversidades y los contratiempos surgidos a lo largo de estos años, han tenido palabras constantes de apoyo y de ánimo, y me han guiado por este mundo de la investigación, siempre tan competitivo y, a veces, con tantos sinsabores.

Agradecer al Dr. Enrique García-Escudero por la confianza, entusiasmo y energía depositados en el Proyecto en el que se engloba esta investigación, sus innumerables y valiosas consideraciones y reflexiones realizadas desde la voz de la experiencia y la responsabilidad en el ámbito de la investigación vitivinícola. Gracias por los comentarios, observaciones y paciencia infinita que ha tenido al revisar y corregir cada una de las frases kilométricas que he construido en esta memoria, contribuyendo a mejorar su calidad y claridad de lectura.

Agradezco también a M<sup>a</sup> Carmen Arroyo y a todo su grupo del Departamento de Química de Producción del Laboratorio Regional de La Grajera, especialmente a

Miriam, que con tanta minuciosidad, perseverancia, disciplina y celeridad han analizado las muestras de suelo y de material vegetal que les hemos ido llevando. Gracias por hacernos valorar la dificultad de interpretación que conlleva cada uno de los datos obtenidos, especialmente de los análisis de las muestras de suelo, por interesarnos tanto en la rigurosidad y exactitud de nuestros resultados, y por recibirnos, explicarnos y atendernos siempre con buenas palabras y con una sonrisa, aunque llegáramos fuera del horario o estuviérais a tope de trabajo.

A todos mis compañeros del Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario (S.I.D.T.A.), que para mi siempre será el C.I.D.A., tanto a los de la Sección de Viticultura y Enología, con los que más estrechamente he trabajado y colaborado, como a los de las demás Secciones, con los que tan buenos ratos he pasado, especialmente en el tiempo del almuerzo, donde hemos arreglado el mundo en más de una ocasión. Gracias a todos porque el tiempo que compartí con vosotros fue, sin lugar a dudas, el mejor de mi vida profesional.

Quisiera hacer una mención especial a José M<sup>a</sup> Martínez Vidaurre, por compartir conmigo tantas horas en el despacho, por su cercanía y constante apoyo, por transmitirme su entusiasmo y vastos conocimientos del complejísimo e interesante mundo de la edafología y, por acercarme el mundo ornitológico que rodeaba el Centro y que podíamos contemplar desde la ventana. Ánimo, que algún día no tan lejano también escribirás el punto y final de tu Tesis.

También quisiera agradecer de manera especial a Izaskun Romero, Ana Benito, y Natalia Domínguez, compañeras de fatiga en campo y laboratorio, además de en el arduo proceso de desarrollo y redacción de nuestras respectivas Tesis Doctorales, por vuestros consejos sinceros, tanto laborales como personales, con los que tanto he aprendido y por haber compartido tantos momentos y experiencias juntas. A Mikel Colina, por su ayuda y colaboración en el Proyecto, en la parte de campo así como con el procesado de todas las muestras en el laboratorio. A Clara Larrieta, Ignacio Martín y Fernando Pavón, por ayudarme siempre que lo he necesitado y por tener palabras de apoyo y de ánimo constantes. A Elisa Baroja, por escucharme, comprenderme y apoyarme siempre, por hacerme ver la vida desde una perspectiva mucho más optimista y por sacarme siempre una sonrisa. A Joaquín Huete, que me ha ayudado con la ingente

## AGRADECIMIENTOS

---

labor del procesado de los datos registrados por los sensores de humedad del suelo y, por la revisión y corrección de las traducciones. A Pilar Rubio, por sus constantes palabras de apoyo e interés por el desarrollo de esta memoria, que tanto se agradecen cuando estás inmerso en esta etapa. A Michel López de Dicastillo, por compartir conmigo su pasión por la historia logroñesa y la cultura popular navarra y por tener siempre palabras cariñosas que hacían que salir del despacho y pasar por donde estaba fuera un agradable momento de relax, casi terapéutico.

Al personal que ha formado parte del laboratorio de Enología del C.I.D.A. durante este tiempo (Rosa López, Pilar Santamaría, Laura Santamaría, Araceli Aguado, Isabel Celada, Pilar Rubio, Rocío Rodríguez, Elena Redondo, Leticia Ortiz), por habernos facilitado unas analíticas tan completas y exhaustivas de los mostos y de los vinos.

Igualmente agradezco la labor realizada por el personal de campo del Centro (Jesús, Óscar, Quico, José Miguel, Fernando, Roberto, Ángel) por hacerme ver *in situ* muchas de las cosas estudiadas de manera teórica durante la Licenciatura y, por su colaboración en las tareas desarrolladas en el viñedo. A Ricardo Leza, que tan amablemente nos cedió la parcela para que pudiéramos desarrollar en ella el ensayo y que tanto interés mostró por los resultados que se iban obteniendo y por colaborar en todo lo que estaba en su mano.

Al Dr. Andrew McElrone, investigador del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (U.S.D.A.-A.R.S.) que me permitió realizar una estancia inolvidable, tanto a nivel personal como laboral, en su Laboratorio de la Universidad de Davis en California, acogiéndome y haciéndome sentir como una más de su equipo. A todos mis amigos de Davis, que me hicisteis sentir en todo momento como en casa, a pesar de encontrarme tan lejos.

A la Dra. Ana M<sup>a</sup> Martínez Gil y al Dr. Jorge A. Pérez Peña, que tan desinteresadamente y concienzudamente han leído, revisado y corregido esta Tesis desde el otro lado del Atlántico.

Agradezco al Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (I.N.I.A.) la beca predoctoral concedida y, los fondos que, junto con el Fondo Social Europeo otorgaron para el desarrollo del Proyecto en el que se enmarcaba esta Tesis. A la Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente del Gobierno de La Rioja, por permitir el uso de las instalaciones y de todos los equipos disponibles en el C.I.D.A.

A mi círculo de amigos de Logroño (en especial a Almu, Luisja, Txema, Ugutz, Javi y Bea), de Lérida (Marta, Eva E., Eva C., Pili y Cris) y de otras partes del mundo, que aunque muchas veces no entendieran la necesidad y motivo de tantas ausencias y sacrificio, con sus constantes muestras de apoyo me han dado ánimos para seguir adelante. Especial mención para mi grupo de Amigos de La Tierra de La Rioja, con los que tan buenos ratos he pasado y tanta energía he recargado, conociendo, aprendiendo y disfrutando de las montañas, flora, fauna y paisajes riojanos. También quiero mencionar al equipo de Ultimate Frisbee de Logroño, DiscTintos, que con el cálido recibimiento que me dieron al formar parte del equipo, su entusiasmo, vehemencia y motivación, han hecho que de la noche a la mañana me apasione por este deporte tan dinámico y entretenido, que me ha servido de válvula de escape en muchos momentos de tensión y decaimiento. ¡Ánimo chicos, Road to Primera! ¡Lo conseguiremos! y sino...siempre quedará el “Spirit”, que para mi, ya lo habéis ganado...!!

Me resulta difícil encontrar palabras para agradecer a mis compañeras y amigas, la Dra. Teresa Garde y la Dra. Ana Gonzalo todo el apoyo y ayuda que me han brindado, especialmente en esta última fase de escritura, revisión y corrección de esta memoria. Porque me abristeis los ojos en un momento de gran oscuridad y porque sin todos esos ánimos, consejos y palabras de aliento diarios, me hubiera costado horrores sacar adelante esta Tesis. Gracias Ana por estar siempre pendiente y solventar cualquier duda que te consultara, del tema que fuera, por la revisión de la traducción al inglés, por tu amistad sincera y por todos los ratos que hemos pasado juntas. Gracias inmensas Tere por todo lo que me has ayudado, es impagable todo el esfuerzo, dedicación, responsabilidad, apoyo constante, disponibilidad, minuciosidad y paciencia que has tenido a la hora de corregir y revisar esta memoria y, porque a pesar de las jornadas maratónicas que te he hecho pasar, nunca te has quejado, más bien al contrario, tu pasión por la investigación y por el trabajo concienzudo y bien hecho son difíciles de

## AGRADECIMIENTOS

---

superar y dignos de destacar y valorar. Como profesionales son buenísimas pero como personas, excepcionales.

Y por supuesto, manifiesto mi más sincero agradecimiento a mi familia, mis padres Ángel y M<sup>a</sup> Dolores y mi hermana Angélica, por confiar en mi y apoyarme en todas las decisiones de mi vida, personales y profesionales, por su cariño, paciencia y comprensión, por estar siempre ahí, incondicionalmente, en el día a día durante todos estos años de estudio y de trabajo. Porque me habéis inculcado muchísimos valores importantes válidos para todos los ámbitos de la vida, gracias a los cuales he podido sacar adelante esta Tesis, con mi esfuerzo e ilusión pero también con los vuestros. Muchas gracias.

A Urtzi, que también forma parte de la familia, por compartir mi profesión y por hacer feliz a mi hermana, ánimo que enseguida serás tú también Doctor.

¡Muchas gracias a todos!

*Eva Pilar Pérez Álvarez*



# *PUBLICACIONES*



Algunos de los resultados obtenidos en el ensayo que se describe en esta Tesis Doctoral han sido publicados en revistas de ámbito científico y presentados en congresos nacionales e internacionales como se detalla a continuación:

## **ARTÍCULOS CIENTÍFICOS**

- Pérez-Álvarez, E.P., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2015). Soil nutrient availability under cover crops and its delayed effects on vine, must and wine in a Tempranillo vineyard. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66: 311-320.
- Pérez-Álvarez, E.P., Garde-Cerdán, T., Santamaría, P., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2015). Influence of two different cover crops on soil N availability, N nutritional status, and grape yeast-assimilable N (YAN) in a cv. Tempranillo vineyard. *Plant and Soil*, 390: 143-156.
- Pérez-Álvarez, E.P., Pérez-Sotés, J.L., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2013). Cover crop short-term effects on soil N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> availability, grape nutritional status, yield and must quality of a calcareous vineyard from D.O.Ca. Rioja (Spain). *Communications in Soil Science and Plant Analysis, special edition*, 44: 711-721.
- Peregrina, F., Pérez-Álvarez, E.P., Colina, M., García-Escudero, E. (2012). Cover crops and tillage influence soil organic matter and nitrogen availability in a semiarid vineyard. *Advances in Agronomy and Soil Science*, 58: 1-8. 2012.

## **COMUNICACIONES PRESENTADAS A CONGRESOS**

- Pérez-Álvarez, E.P., Garde-Cerdán, T., Santamaría, P., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2014). Relación entre el nitrógeno disponible en el suelo del viñedo, los aminoácidos del mosto y las aminas biógenas del vino. *XIII Jornadas Grupo de Horticultura y I Jornada Grupo Alimentación y Salud de la SECH. Actas Horticultura*, 65: 95-100. 3-4 junio, Logroño, España.
- Pérez-Álvarez, E.P., Garde-Cerdán, T., Santamaría, P., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2014). Grape yield to soil N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ratio can explain the different levels of biogenic amines in wine from two vineyards in the A.O.C. Rioja (Spain).

*European Geoscience Union, General Assembly.* 28 abril-2 mayo, Viena, Austria.  
Ref. nº C0259.

- Pérez-Álvarez, E.P., Garde-Cerdán, T., Santamaría, P., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2013). Efecto de la cubierta vegetal en el N del suelo, de la vid y en los aminoácidos de la uva. *VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas.* 26-29 agosto, Madrid, España.
- Pérez-Álvarez, E.P., Huete, J., Ibáñez, S., Martín, I., García-Escudero, E., Peregrina, F. Efecto de la competencia por el agua y el nitrógeno del suelo en el desarrollo vegetativo de un viñedo de La Rioja con diferentes cubiertas vegetales. *XIII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas (SECH). Actas Nº 60: 647-650.* 16-20 abril, Almería, España.
- Pérez-Álvarez, E.P., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2012). Relation between the soil N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> availability at flowering of the grapevine with berry weight, yield and anthocyanins content, along three years in a semiarid vineyard under tillage and cover crops. *4<sup>th</sup> International Congress EUROSIL.* 2-6 julio, Bari, Italia.
- Pérez-Álvarez, E.P., Pérez-Sotés, J.L., Ibáñez, S., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2011). Competencia por el nitrógeno del suelo en un viñedo con cubierta vegetal en la D.O.Ca. Rioja (España). *XXXIV World Congress of Vine and wine (OIV).* 20-27 junio, Oporto, Portugal.
- Pérez-Álvarez, E.P., Pérez-Sotés, J.L., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2011). Short-term effects of cover crop on soil NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N availability, nitrogen nutritional status, yield and must quality of a Calcareous vineyard from A.O.C. Rioja (Spain). *12<sup>th</sup> International Symposium on Soil and Plant Analysis.* 6-10 junio, Chania, Creta, Grecia.

# *ÍNDICES*



# ÍNDICE GENERAL

## RESUMEN/ABSTRACT

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>I.1. LA VID Y SU CULTIVO EN EL MUNDO</b>	<b>3</b>
I.1.1. SISTEMÁTICA DE LA VID	3
I.1.2. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DEL CULTIVO DE LA VID	4
<b>I.2. HISTORIA DE LA VID Y DEL VINO EN LA RIOJA</b>	<b>5</b>
I.2.1. HISTORIA DE LA D.O.CA. RIOJA	5
I.2.2. CARACTERÍSTICAS VITIVINÍCOLAS DE LA D.O.CA. RIOJA	7
<b>I.3. EL MANEJO DEL SUELO EN EL VIÑEDO</b>	<b>11</b>
I.3.1. EL LABOREO COMO SISTEMA DE MANEJO DEL SUELO EN EL VIÑEDO	12
I.3.2. SISTEMA DE MANEJO DE SUELO ALTERNATIVO AL LABOREO: LAS CUBIERTAS VEGETALES	14
I.3.2.1. Características agronómicas de la cebada y del trébol	17
<b>I.4 EFECTOS DERIVADOS DE LA IMPLANTACIÓN DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN VITICULTURA</b>	<b>21</b>
I.4.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUELO	21
I.4.1.1. Calidad del suelo	22
I.4.1.2. Estructura del suelo e infiltración del agua	25
I.4.1.3. Erosión del suelo	26
I.4.1.4. Fertilidad y estado hídrico del suelo	26
I.4.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL VIÑEDO	28
I.4.2.1. Volumen de suelo explorable por las raíces	29
I.4.2.2. Estado hídrico de la vid	29
I.4.2.3. Estado nutritivo de la vid	30
I.4.2.4. Vigor y producción de la vid	32
I.4.3. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL MOSTO Y DEL VINO	33
I.4.4. OTROS EFECTOS DE LAS CUBIERTAS VEGETALES	35
I.4.4.1. Control biológico de plagas	35
I.4.4.2. Proliferación de malas hierbas	35
I.4.4.3. Imagen comercial del vino	36
I.4.4.4. Desarrollo de hongos parásitos, reservorio de plagas y susceptibilidad a heladas	36
<b>I.5. IMPLICACIÓN DEL NITRÓGENO EN LA VITIVINICULTURA</b>	<b>37</b>
I.5.1. DISPONIBILIDAD DEL NITRÓGENO EN EL SUELO. EL CICLO DEL NITRÓGENO	38
I.5.1.1. Relevancia de la fijación biológica del nitrógeno: fijación simbiótica con leguminosas	48

I.5.2. IMPORTANCIA DEL NITRÓGENO EN EL DESARROLLO DE LA VID	49
I.5.3. EFECTO DEL NITRÓGENO EN EL MOSTO Y EN EL VINO	51
<b>I.5.3.1. Relación del nitrógeno con la composición fenólica del vino</b>	52
<b>I.5.3.2. Relación del nitrógeno con los aminoácidos en mosto y las aminas biógenas en vino</b>	55

## **II. OBJETIVOS/OBJECTIVES** 61

## **III. MATERIAL Y MÉTODOS** 67

<b>III.1. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA DE ESTUDIO</b>	<b>72</b>
III.1.1. DESCRIPCIÓN CLIMÁTICA	72
<b>III.1.1.1. Precipitación y temperatura</b>	72
<b>III.1.1.2. Régimen de temperatura y de humedad del suelo</b>	76
<b>III.1.1.3. Índices y clasificaciones climáticas y vitícolas</b>	76
III.1.1.3.1. Índices climáticos de aridez	76
III.1.1.3.2. Índices bioclimáticos del viñedo	76
III.1.1.3.3. Clasificaciones climáticas	79
<b>III.1.1.4. Condiciones climáticas del período estudiado</b>	80
III.1.2. CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE LA PARCELA	82
<b>III.1.2.1. Caracterización edafológica general del área vitícola</b>	83
<b>III.1.2.2. Caracterización del suelo de la parcela de ensayo. Estudio de su humedad</b>	84
<b>III.1.2.3. Determinaciones realizadas en las muestras de suelo procedentes de las calicatas</b>	90
<b>III.2. DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>94</b>
III.2.1. CARACTERÍSTICAS VITÍCOLAS DE LA PARCELA	94
III.2.2. TRATAMIENTOS REALIZADOS	95
III.2.3. MUESTREOS REALIZADOS EN CAMPO A LO LARGO DEL CICLO DE LA VID	97
<b>III.2.3.1. Calendario general de las operaciones realizadas en campo</b>	97
<b>III.2.3.2. Siembra de las cubiertas</b>	99
<b>III.2.3.3. Manejo del viñedo</b>	100
<b>III.2.3.4. Determinación de la disponibilidad de macronutrientes en el suelo</b>	101
III.2.3.4.1. Muestreo de suelos	101
III.2.3.4.2. Procesado de las muestras de suelo	102
<b>III.2.3.5. Determinación del estado nutricional de la vid</b>	104
III.2.3.5.1. Muestreo foliar	105
III.2.3.5.2. Procesado del material foliar	105
<b>III.2.3.6. Determinación del desarrollo de los órganos renovables de la vid y estimación de los nutrientes asimilados</b>	108
III.2.3.6.1. Muestreo de pámpanos, hojas y racimos	109
III.2.3.6.2. Procesado del material vegetal	109
<b>III.2.3.7. Determinación de la biomasa y los nutrientes absorbidos por las cubiertas vegetales</b>	110

III.2.3.7.1. Muestreo de la biomasa de las cubiertas	110
III.2.3.7.2. Procesado del material vegetal de las cubiertas	110
<b>III.2.3.8. Determinación de los parámetros de producción y de desarrollo vegetativo del viñedo</b>	<b>112</b>
III.2.3.8.1. Producción	112
III.2.3.8.2. Estimación del vigor	112
<b>III.2.3.9. Evaluación de la calidad del fruto</b>	<b>113</b>
III.2.3.9.1. Control de maduración	113
III.2.3.9.2. Vendimia	114
III.2.4. ELABORACIÓN DE LOS VINOS	114
<b>III.3. MÉTODOS ANALÍTICOS</b>	<b>116</b>
III.3.1. DETERMINACIONES REALIZADAS EN EL SUELO	116
III.3.1.1. Textura	116
III.3.1.2. Contenido en materia orgánica oxidable	117
III.3.1.3. pH en agua	117
III.3.1.4. Conductividad eléctrica	117
III.3.1.5. Nitrógeno total	118
III.3.1.6. Carbonatos totales	118
III.3.1.7. Caliza activa	118
III.3.1.8. Capacidad de intercambio catiónico	119
III.3.1.9. Bases de cambio	119
III.3.1.10. Elementos extraíbles con el extractante Mehlich III	119
III.3.1.11. Nitratos (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) y amonio (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) extraíbles	119
III.3.1.12. Fósforo asimilable	120
III.3.1.13. Bases intercambiables (Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , K <sup>+</sup> y Na <sup>+</sup> )	120
III.3.2. DETERMINACIONES REALIZADAS EN EL MATERIAL VEGETAL	121
III.3.2.1. Nitrógeno	121
III.3.2.2. Fósforo, potasio, magnesio, calcio, hierro, manganeso, zinc, cobre, boro y sodio	121
III.3.3. ESTIMACIÓN DE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE LA VID	121
III.3.3.1. Número de cepas vendimiadas y de racimos por cepa	121
III.3.3.2. Producción unitaria	122
III.3.3.3. Peso medio del racimo	122
III.3.4. DETERMINACIONES FÍSICO-QUÍMICAS DE MOSTOS Y VINOS	122
III.3.4.1. Peso de 100 bayas	122
III.3.4.2. Concentración de azúcares	122
III.3.4.3. Azúcares reductores	123
III.3.4.4. Grado alcohólico	123
III.3.4.5. pH	123
III.3.4.6. Acidez total	124
III.3.4.7. Acidez volátil	124
III.3.4.8. Ácido málico	124
III.3.4.9. Ácido tartárico	124
III.3.4.10. Ácido láctico	125
III.3.4.11. Potasio	125
III.3.4.12. Antocianos	125
III.3.4.13. Índice de polifenoles totales (I.P.T.)	126

III.3.4.14. Intensidad de color (I.C.)	126
III.3.4.15. Tonalidad	126
III.3.4.16. Aminoácidos en mostos y vinos	126
III.3.4.17. Nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.) y amonio en mosto	128
III.3.4.18. Aminas biógenas en el vino	128
III.3.5. PARÁMETROS QUE DETERMINAN EL DESARROLLO VEGETATIVO Y EL VIGOR	129
III.3.5.1. Número de pulgares y sarmientos	129
III.3.5.2. Peso de madera de poda (P.M.P.)	129
III.3.5.3. Peso medio del sarmiento	130
III.3.5.4. Índice de Ravaz	130
III.3.6. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LOS VINOS	130
III.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	131

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 133

IV.1. CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE LA PARCELA	135
IV.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PERFIL DEL SUELO Y CLASIFICACIÓN	135
IV.1.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL PERFIL DEL SUELO	136
IV.2. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD DEL SUELO	141
IV.2.1. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD EN LA CAPA SUPERFICIAL DEL SUELO	142
IV.2.2. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD EN LA CAPA INTERMEDIA DEL SUELO	146
IV.2.3. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD EN LA CAPA DE MAYOR PROFUNDIDAD DEL SUELO	150
IV.3. EFECTO DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL NITRÓGENO TOTAL, EN EL N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> INTERCAMBIABLE Y EN EL N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> EXTRAÍBLE DEL SUELO	156
IV.3.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL NITRÓGENO TOTAL DEL SUELO	156
IV.3.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> INTERCAMBIABLE DEL SUELO	158
IV.3.3. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> EXTRAÍBLE DEL SUELO	161
IV.4. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL FÓSFORO DISPONIBLE Y EN EL CALCIO, MAGNESIO, POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLES DEL SUELO	165
IV.4.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL FÓSFORO DISPONIBLE EN EL SUELO EN LA FLORACIÓN DE LA VID	165
IV.4.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN LOS CATIONES INTERCAMBIABLES DEL SUELO	166
IV.5. BIOMASA AÉREA DE LAS CUBIERTAS Y SU CONTENIDO EN MACRO Y MICRONUTRIENTES	169
IV.5.1. BIOMASA AÉREA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES	169

IV.5.2. MACRONUTRIENTES TOMADOS POR LAS CUBIERTAS VEGETALES	170
IV.5.3. MICRONUTRIENTES TOMADOS POR LAS CUBIERTAS VEGETALES	173
<b>IV.6. EFECTO DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL ESTADO NUTRICIONAL DE LA VID</b>	<b>176</b>
IV.6.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN LOS TEJIDOS FOLIARES DE LA VID: MACRONUTRIENTES	177
IV.6.1.1. Nitrógeno	177
IV.6.1.2. Fósforo	182
IV.6.1.3. Potasio	183
IV.6.1.4. Magnesio	185
IV.6.1.5. Calcio	186
IV.6.2. INCIDENCIA EN LOS TEJIDOS FOLIARES DE LA VID: MICRONUTRIENTES	187
IV.6.2.1. Hierro	190
IV.6.2.2. Manganeseo	191
IV.6.2.3. Zinc	192
IV.6.2.4. Cobre	192
IV.6.2.5. Boro	193
IV.6.2.6. Sodio	195
<b>IV.7. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LA CEPA Y EN LAS EXPORTACIONES DE NUTRIENTES</b>	<b>196</b>
IV.7.1. INCIDENCIA EN LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO: LONGITUD DE PÁMPANOS Y NIETOS, Y PESO SECO DE PÁMPANOS, HOJAS Y RACIMOS	196
IV.7.1.1. Desarrollo de pámpanos y nietos	196
IV.7.1.2. Peso seco de pámpanos, hojas y racimos	198
IV.7.2. INCIDENCIA EN LAS EXPORTACIONES: MACRONUTRIENTES	200
IV.7.3. INCIDENCIA EN LAS EXPORTACIONES: MICRONUTRIENTES	204
<b>IV.8. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES SOBRE EL RENDIMIENTO Y VIGOR DE LAS CEPAS</b>	<b>209</b>
IV.8.1. INCIDENCIA EN LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS	209
IV.8.2. INCIDENCIA EN LOS PARÁMETROS VEGETATIVOS	212
IV.8.2.1. Número de pulgares y de sarmientos por cepa	212
IV.8.2.2. Peso medio del pámpano y peso de madera de poda	212
IV.8.2.3. Índice de Ravaz	215
<b>IV.9. EFECTO DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL MOSTO Y DEL VINO</b>	<b>216</b>
IV.9.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS MOSTOS	216
IV.9.1.1. Parámetros físico-químicos generales	216
IV.9.1.2. Parámetros de color	219
IV.9.1.3. Nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.), amonio y aminoácidos libres	223
IV.9.1.4. Relaciones entre los compuestos nitrogenados en planta y uva	231

IV.9.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS	234
<b>IV.9.2.1. Parámetros físico-químicos generales</b>	234
<b>IV.9.2.2. Parámetros de color</b>	237
<b>IV.9.2.3. Efecto sobre los aminoácidos del vino</b>	240
<b>IV.9.2.4. Efecto de las cubiertas vegetales sobre la concentración de aminas biógenas en el vino. Correlación entre aminoácidos y aminas biógenas</b>	246
IV.10. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LOS VINOS	255
<b>V. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS</b>	<b>259</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>271</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>315</b>
ANEXO I. CLIMA	317
ANEXO II. SUELO	319
ANEXO III. MATERIAL FOLIAR	323

## ÍNDICE DE TABLAS

### INTRODUCCIÓN

<b>Tabla I.1.</b> Variedades de vid autorizadas por el Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja.	9
---	---

### MATERIAL Y MÉTODOS

<b>Tabla III.1.</b> Valores de precipitación y temperatura recogidos en la estación “Cenicero-Bodega” para el período 1951-2001.	74
<b>Tabla III.2.</b> Valores de precipitación y evapotranspiración de referencia (mm) registrados en la estación agroclimática “Hoyos” durante el período de ensayo (2009-2012).	81
<b>Tabla III.3.</b> Datos de temperatura (°C) registrados durante el período 2009-2012 por la estación agroclimática “Hoyos” de Uruñuela.	82
<b>Tabla III.4.</b> Fechas de los muestreos de suelo realizados en la parcela durante las cuatro campañas estudiadas (2009-2012).	101
<b>Tabla III.5.</b> Fecha de los muestreos foliares realizados en la parcela durante los cuatro años de ensayo (2009-2012).	105
<b>Tabla III.6.</b> Fecha de los muestreos de exportaciones realizados en la parcela.	108
<b>Tabla III.7.</b> Gradiente utilizado para la separación cromatográfica de los aminoácidos.	127

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

<b>Tabla IV.1.</b> Características edáficas de la parcela estudiada.	138
<b>Tabla IV.2.</b> Proporciones de $K^+$ y $Mg^{2+}$ en función de la C.I.C. obtenidos en el perfil del suelo.	141
<b>Tabla IV.3.</b> Estimación de las diferencias promedio del contenido de agua ( $l\ m^{-2}$ ) del suelo obtenidas entre los tratamientos en cada una de las profundidades (30, 60, 100 cm) y en el conjunto del perfil del suelo estudiado (0-100 cm), en cada una de las campañas del ensayo (2009-2012). Se representa la diferencia entre los tratamientos laboreo y cebada, entre el laboreo y el trébol y entre las dos cubiertas.	154

<b>Tabla IV.4.</b> Nitrógeno total ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) presente, en floración, en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio (0-15 y 15-45 cm).	157
<b>Tabla IV.5.</b> Fósforo Olsen disponible ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en floración, en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio (0-15 y 15-45 cm).	166
<b>Tabla IV.6.</b> Calcio, magnesio, potasio y sodio intercambiables ( $\text{cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$ ) presentes en el suelo de cada uno de los tratamientos (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en floración en los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades (0-15 y 15-45 cm).	168
<b>Tabla IV.7.</b> Biomasa obtenida, en peso seco ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), en cada cubierta vegetal utilizada en los tratamientos (CB: cebada, TR: trébol) durante la floración de los cuatro años de ensayo (2009-2012).	169
<b>Tabla IV.8.</b> Nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y calcio ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) presentes en la biomasa de cada cubierta vegetal (CB: cebada, TR: trébol) durante la floración de la vid en los cuatro años de ensayo (2009-2012).	171
<b>Tabla IV.9.</b> Hierro, manganeso, cobre, zinc, boro y sodio ( $\text{g ha}^{-1}$ ) presentes en la biomasa de las cubiertas vegetales (CB: cebada y TR: trébol), en los cuatro años de ensayo (2009-2012) durante la floración de la vid.	174
<b>Tabla IV.10.</b> Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, peso seco, $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), determinados durante la floración del viñedo para cada uno de los años del ensayo (2009-2012) en los tres tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol).	178
<b>Tabla IV.11.</b> Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, peso seco, $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), determinados durante el envero del viñedo para cada uno de los años del ensayo (2009-2012) en los tres tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol).	179
<b>Tabla IV.12.</b> Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na, peso seco, $\text{mg kg}^{-1}$ ) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), en floración, en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).	188
<b>Tabla IV.13.</b> Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na, peso seco, $\text{mg kg}^{-1}$ ) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), en envero, en cada tratamiento (L:	

laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).	189
<b>Tabla IV.14.</b> Longitud media (cm) de pámpanos y nietos medida en floración y envero en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).	197
<b>Tabla IV.15.</b> Peso seco de pámpanos, hojas y racimos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) determinados en floración y envero en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).	199
<b>Tabla IV.16.</b> Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, $\text{kg ha}^{-1}$ ) analizados en los pámpanos, hojas y racimos muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante la floración de cada uno de los años estudiados (2009-2012).	202
<b>Tabla IV.17.</b> Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, $\text{kg ha}^{-1}$ ) analizados en los pámpanos, hojas y racimos muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) en el envero de cada uno de los años estudiados (2009-2012).	203
<b>Tabla IV.18.</b> Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na, $\text{g ha}^{-1}$ ) analizados en los pámpanos, hojas y racimos muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante la floración de cada uno de los años estudiados (2009-2012).	206
<b>Tabla IV.19.</b> Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na) analizados en los pámpanos, hojas y racimos ( $\text{g ha}^{-1}$ ) muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante el envero de cada uno de los años estudiados (2009-2012).	207
<b>Tabla IV.20.</b> Parámetros productivos (número de racimos vendimiados por cepa, peso medio del racimo y producción de uva por cepa) obtenidos para las cepas de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) en los cuatro años estudiados (2009-2012).	210
<b>Tabla IV.21.</b> Parámetros de crecimiento vegetativo (número de pulgares y sarmientos por cepa, peso medio del pámpano, peso de madera de poda, e índice de Ravaz) obtenidos en las cepas de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante los cuatro años estudiados (2009-2012).	213
<b>Tabla IV.22.</b> Parámetros físico-químicos en los mostos obtenidos de las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).	217
<b>Tabla IV.23.</b> Parámetros de color de los mostos y de los extractos de uvas obtenidos de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).	221

<b>Tabla IV.24.</b> Compuestos nitrogenados (N.F.A., amonio y aminoácidos expresados en mg N kg <sup>-1</sup> uva) determinados en las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).	225
<b>Tabla IV.25.</b> Coeficientes de correlación de Pearson observados entre el % de N de los tejidos foliares (limbo y pecíolo) muestreados en floración y envero, y la concentración de aminoácidos (mg N kg <sup>-1</sup> uva) determinados en las uvas procedentes de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas de ensayo (2009-2012).	232
<b>Tabla IV.26.</b> Parámetros generales determinados en los vinos elaborados a partir de las uvas de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).	236
<b>Tabla IV.27.</b> Parámetros de color determinados en los vinos elaborados a partir de las uvas vendimiadas en cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).	240
<b>Tabla IV.28.</b> Concentración de aminoácidos (mg N l <sup>-1</sup> ) determinados en los vinos obtenidos de las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).	242
<b>Tabla IV.29.</b> Consumo de aminoácidos (mg N l <sup>-1</sup> ) en la fermentación de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012). El consumo de los aminoácidos corresponde a la diferencia entre la concentración en el mosto y en el vino, el signo negativo indica excreción de los aminoácidos al medio.	245
<b>Tabla IV.30.</b> Concentración de aminas biógenas (mg l <sup>-1</sup> ) en los vinos obtenidos de las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).	247
<b>Tabla IV.31.</b> Correlación observada entre la concentración de aminoácidos (mg N kg <sup>-1</sup> uva) en los mostos y la concentración de aminas biógenas (mg l <sup>-1</sup> ) presentes en los vinos.	248
<b>Tabla IV.32.</b> Correlación existente entre el % de N de los tejidos foliares (limbo y pecíolo) en floración y en envero y la concentración de aminas biógenas (mg l <sup>-1</sup> ) en los vinos.	254

ANEXOS

**Anexo I, Tabla 1.** Zonas de aridez definidas por el índice de Lang ( $P_f$ ), Lang (1915).\_\_\_\_\_317

**Anexo I, Tabla 2.** Zonas de aridez definidas por el índice de Martonne ( $I_a$ ), Martonne (1926).\_\_\_\_\_317

**Anexo I, Tabla 3.** Regiones vitícolas establecidas según el índice de Winkler y Amerie ( $I_{Te}$ ), Winkler *et al.* (1984).\_\_\_\_\_ 317

**Anexo II, Tabla 1.** Referencia de diagnóstico de la materia orgánica en función del grupo textural (Yáñez, 1989).\_\_\_\_\_319

**Anexo II, Tabla 2.** Referencia de diagnóstico de la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.), (Gagnard *et al.*, 1988).\_\_\_\_\_319

**Anexo II, Tabla 3.** Norma de diagnóstico de carbonatos y de caliza activa (Yáñez, 1989).\_\_\_\_\_ 319

**Anexo II, Tabla 4.** Rangos de diagnóstico del contenido en el suelo de  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $K^+$  intercambiables (Fuentes Yagüe, 1999).\_\_\_\_\_322

**Anexo II, Tabla 5.** Escalas de diagnóstico de  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  en función de la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) (Gagnard *et al.*, 1988). \_\_\_\_\_322

**Anexo II, Tabla 6.** Niveles de P Olsen y de K Mehlich-III en el suelo recomendados para cultivos herbáceos (Sawyer *et al.*, 2003). \_\_\_\_\_322

**Anexo III, Tabla 1.** Niveles de referencia para diagnosis nutricional de macronutrientes (peso seco, g 100 g<sup>-1</sup>) en limbo y pecíolo medidos en floración y en envero para cv. Tempranillo en la D.O.Ca. Rioja (García-Escudero *et al.*, 2013).\_\_\_\_\_323

**Anexo III, Tabla 2.** Niveles de referencia para diagnosis nutricional de micronutrientes (peso seco, mg kg<sup>-1</sup>) en limbo y pecíolo medidos en floración y en envero para cv. Tempranillo en la D.O.Ca. Rioja (García-Escudero *et al.*, 2013).\_\_\_\_\_324

## ÍNDICE DE FIGURAS

### INTRODUCCIÓN

<b>Figura I.1.</b> Subgéneros de la vid. Elaboración propia a partir de datos de Martínez de Toda (1991)	3
<b>Figura I.2.</b> Distribución de las plantaciones de vid alrededor del mundo. Fuente: <a href="http://www.catadelvino.com">www.catadelvino.com</a> , consultada en junio de 2015	4
<b>Figura I.3.</b> Mapa de distribución del viñedo en las tres subzonas de la D.O.Ca. Rioja: Rioja Alta, Rioja Alavesa y Rioja Baja. Fuente: <a href="http://www.vibrantrioja.com">www.vibrantrioja.com</a> , consultada en junio de 2015.	8
<b>Figura I.4.</b> Racimo, hojas (haz y envés) y zarcillo de la variedad tinta Tempranillo. Fuente: <a href="http://www.riojawine.com">www.riojawine.com</a> , consultada en agosto de 2015.	10
<b>Figura I.5.</b> Partes principales de la hoja ligulada de una cebada. Fuente: <a href="http://image.slidesharecdn.com">http://image.slidesharecdn.com</a> , consultada en septiembre de 2015.	18
<b>Figura I.6.</b> Espiguillas de cebada de dos carreras (A) y de seis carreras (B). Fuente: <a href="http://www.magrama.gob.es">www.magrama.gob.es</a> , consultada en septiembre de 2015.	19
<b>Figura I.7.</b> Vista general de la cebada espigada en la parcela.	19
<b>Figura I.8.</b> Vista del trébol de la parcela en flor.	20
<b>Figura I.9.</b> Esquema general del ciclo del nitrógeno en el sistema suelo-planta-atmósfera. Adaptado de Havlin <i>et al.</i> (1999) y Rowell (1996). Procesos más importantes: 1) Aportes de N al suelo, 2) Mineralización/Inmovilización, 3) Nitrificación, 4) Absorción del N del suelo por los cultivos, 5) Pérdida de nitratos, 6) Desnitrificación biológica, 7) Volatilización del N	40
<b>Figura I.10.</b> Cambios en el nivel de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> durante la descomposición de residuos de cultivo en el suelo. Stevenson y Cole (1999).	43

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Figura III.1.** Situación de la parcela de estudio respecto al río Najerilla, Nájera y Logroño. Cartografía ráster ©Instituto Geográfico Nacional de España. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, IDERioja 2015, consultado

en agosto de 2015. El círculo amarillo representa el área donde se localiza la parcela de estudio. \_\_\_\_\_ 69

**Figura III.2.** Situación de la parcela respecto al río Najerilla y las localidades de Nájera y Uruñuela. El rectángulo amarillo representa el área donde se localiza la parcela. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, IDERioja 2015, consultado en agosto de 2015. \_\_\_\_\_ 70

**Figura III.3.** Localización de la parcela respecto al río Najerilla y al municipio de Uruñuela. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, IDERioja 2014, consultado en marzo de 2015. \_\_\_\_\_ 70

**Figura III.4.** Vista aérea de la parcela y situación respecto al río Najerilla. A) Ortofoto del 2009 B) Ortofoto del año 2012. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, Geovisor IDERioja 2015, consultado en agosto de 2015. \_\_\_\_ 71

**Figura III.5.** Estación meteorológica “Hoyos”, situada en el término municipal de Uruñuela, La Rioja. \_\_\_\_\_ 73

**Figura III.6.** Diagrama ombrotérmico de Gausson realizado con los datos registrados en la estación “Cenicero-Bodega” en el período 1951-2001. \_\_\_\_\_ 75

**Figura III.7.** Vista aérea del tramo de la terraza I del río Najerilla dirección norte sobre la que se sitúa la parcela (identificada en color amarillo). Fuente: Google Earth, consultado en septiembre de 2015. \_\_\_\_\_ 83

**Figura III.8.** Esquema de la situación en la que se abrió cada una de las nueve calicatas, en cada una de las repeticiones. \_\_\_\_\_ 85

**Figura III.9.** Fotografía del momento de la apertura de una de las calicatas mediante la mini-excavadora. \_\_\_\_\_ 85

**Figura III.10.** Fotografía de una de las nueve calicatas realizadas en la parcela. \_\_\_\_ 86

**Figura III.11.** Detalle de la separación por horizontes del material obtenido al abrir una calicata. \_\_\_\_\_ 87

**Figura III.12.** Instalación, a 60 cm de profundidad, de uno de los sensores de humedad del suelo. \_\_\_\_\_ 87

**Figura III.13.** Detalle de la realización de la “cama”, con tierra tamizada (< 2 mm de diámetro), para uno de los sensores. \_\_\_\_\_ 88

<b>Figura III.14.</b> Compactación manual del suelo de la calicata abierta. _____	88
<b>Figura III.15.</b> Fotografía de un “datalogger” que registraba los datos de humedad del suelo recogidos por los tres sensores colocados en cada repetición (a 30, 60 y 100 cm de profundidad). _____	89
<b>Figura III.16.</b> Detalle del momento de la descarga de los datos registrados en el suelo al “shuttle”. _____	90
<b>Figura III.17.</b> Anillos y herramientas utilizados para coger muestra de suelo con la que poder determinar su densidad aparente. _____	91
<b>Figura III.18.</b> Muestreo de suelo realizado para determinar la densidad aparente, introduciendo un anillo en una de las paredes de la calicata. _____	91
<b>Figura III.19.</b> Detalle de la pared de una calicata tras la toma de muestras para la determinación de la densidad aparente del suelo. _____	92
<b>Figura III.20.</b> Muestra de suelo procedente de uno de los horizontes de un perfil del suelo. _____	93
<b>Figura III.21.</b> Tamizadora-molino de las muestras de suelo (diámetro de partícula < 2 mm). _____	93
<b>Figura III.22.</b> Detalle del tamaño de partícula (diámetro de partícula < 2 mm) de una muestra de suelo ya procesada, lista para su determinación analítica. _____	94
<b>Figura III.23.</b> Esquema de la distribución en la parcela de los tratamientos utilizados en el ensayo. Creación propia sobre ortofoto del Sistema de Información Geográfica de Parcelas Agrícolas (S.I.G.P.A.C.) de La Rioja, Gobierno de La Rioja. Ortofoto consultada en mayo de 2015. _____	96
<b>Figura III.24.</b> Estados del ciclo vegetativo y productivo de la vid en los que se han realizado muestreos en las parcelas en campo. Elaboración propia basada en el esquema del ciclo de la vid de Martínez de Toda (1991). _____	98
<b>Figura III.25.</b> Fotografía del momento de la siembra de las cubiertas. _____	99
<b>Figura III.26.</b> Fotografía de los pámpanos dejados en la parcela tras la poda. _____	100
<b>Figura III.27.</b> Barrena helicoidal (izquierda) acoplada a la ahoyadora empleada para el muestreo del suelo (derecha). _____	102

<b>Figura III.28.</b> Fotografía del secado a temperatura ambiente de las muestras de suelo recogidas en campo. _____	103
<b>Figura III.29.</b> A) Tamizadora que permitió separar las fracciones de suelo con distintos tamaños de partícula. B) Partículas de diámetro mayor de 2 mm, C) Partículas de diámetro menor de 2 mm. _____	104
<b>Figura III.30.</b> Detalle del muestreo foliar de floración, hoja opuesta al segundo racimo, envero _____	105
<b>Figura III.31.</b> Separación de limbos y pecíolos de las muestras. _____	106
<b>Figura III.32.</b> Detalle del procesado del material foliar, secado en estufa. _____	106
<b>Figura III.33.</b> Material foliar tras su secado en estufa, A) limbos y B) pecíolos secos. _____	107
<b>Figura III.34.</b> Molino ultracentrífugo y pistola de aire comprimido para su correcta limpieza entre muestra y muestra. _____	107
<b>Figura III.35.</b> Detalle del tamiz anular de 0,5 mm de luz de malla tras procesar una muestra. _____	107
<b>Figura III.36.</b> Muestra del material foliar (limbos) procesada y preparada para su análisis mineral. _____	108
<b>Figura III.37.</b> Medida en laboratorio de la longitud del pámpano principal y de los nietos. _____	109
<b>Figura III.38.</b> Cuadrado de 0,25 m <sup>2</sup> de área utilizado en el muestreo de biomasa de las cubiertas. _____	110
<b>Figura III.39.</b> Aspecto de la biomasa procesada, A) trébol, B) cebada, antes de ser introducida en la estufa a 60 °C. _____	111
<b>Figura III.40.</b> Detalle de una calle de la parcela en el momento de la vendimia. _____	112
<b>Figura III.41.</b> Refractómetro digital portátil. _____	113
<b>Figura III.42.</b> Cajas con la uva vendimiada a la entrada en bodega. _____	115
<b>Figura III.43.</b> Depósitos en los que se realizó la fermentación alcohólica de los vinos (azules) y, la fermentación maloláctica (recipientes de acero inoxidable de 25 litros que se encuentran detrás de estos). _____	115

<b>Figura III.44.</b> Pesado en campo del material de poda. _____	129
<b>Figura III.45.</b> Ficha de cata utilizada para el análisis organoléptico de cada uno de los vinos. _____	131

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

<b>Figura IV.1.</b> Perfil edáfico representativo de la parcela de estudio con los horizontes genéticos descritos (Ap, Bw y C) y sus espesores. _____	136
<b>Figura IV.2.</b> Diagrama triangular para la determinación de la clase textural de los horizontes Ap, Bw y C del suelo según escala de texturas del U.S.D.A. _____	139
<b>Figura IV.3.</b> Evolución de la humedad del suelo (%) en los tres tratamientos estudiados, a 30 cm de profundidad, a lo largo del período de ensayo. Las barras grises verticales indican la menor diferencia significativa entre los tres tratamientos ( $p \leq 0,05$ con el test LSD). _____	144
<b>Figura IV.4.</b> Evolución de la humedad del suelo (%) en los tres tratamientos estudiados, a 60 cm de profundidad, a lo largo del período de ensayo. Las barras grises verticales indican la menor diferencia significativa entre los tres tratamientos ( $p \leq 0,05$ con el test LSD). _____	148
<b>Figura IV.5.</b> Evolución de la humedad del suelo (%) en los tres tratamientos estudiados, a 100 cm de profundidad, a lo largo del período de ensayo. Las barras grises verticales indican la menor diferencia significativa entre los tres tratamientos ( $p \leq 0,05$ con el test LSD). _____	152
<b>Figura IV.6.</b> Evolución del $N-NH_4^+$ ( $kg\ ha^{-1}$ ) obtenido en los muestreos de brotación (B), floración (F), cuajado (C), envero (E) y postvendimia (P) realizados en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio A: 0-15 cm; B: 15-45 cm. Letras distintas en el mismo muestreo indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias entre tratamientos. Barras verticales representan la desviación estándar _____	159
<b>Figura IV.7.</b> Evolución del $N-NO_3^-$ ( $kg\ ha^{-1}$ ) disponible obtenido en los muestreos de brotación (B), floración (F), cuajado (C), envero (E) y postvendimia (P) realizados en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio A: 0-15 cm; B: 15-45 cm.	

Letras distintas en el mismo muestreo indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias entre tratamientos. Barras verticales representan la desviación estándar. \_\_\_\_\_ 163

**Figura IV.8.** Perfil de aminoácidos mayoritarios (%) obtenido en las uvas bajo la influencia de cada tratamiento estudiado (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en cada año de ensayo (2009-2012). Barras verticales muestran la desviación estándar de las muestras. \_\_\_\_\_ 229

**Figura IV.9.** Perfil de aminoácidos (%) obtenido en las uvas bajo la influencia de cada tratamiento estudiado (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en cada año de ensayo (2009-2012). Los aminoácidos se muestran, en cada campaña, de mayor a menor concentración tomando como referencia el laboreo. \_\_\_\_\_ 230

**Figura IV.10.** Puntuación total obtenida en los paneles de cata de los vinos procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en cada año de ensayo (2009-2012). Vinos mejor valorados son aquellos con menor puntuación en cada año.  Orden de preferencia dada por los catadores a un vino respecto a los vinos de los otros tratamientos, en cada campaña (el 1º será el vino preferido en su conjunto por el catador, aunque no tiene por qué ser el mejor valorado por fases). \_\_\_\_\_ 257

**Figura IV.11.** Puntuación obtenida en el panel de cata realizado a los vinos de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los años de ensayo. Vinos mejor valorados son aquellos con menor puntuación en cada fase estudiada (visual, intensidad y calidad olfativa y gustativa y armonía). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ , usando el test LSD). \_\_\_\_\_ 258

## ANEXOS

**Anexo I, Figura 1.** Mapa mundial de la clasificación climática de Köppen para el período 1951-2000. Fuente: Kottek *et al.* (2006). \_\_\_\_\_ 318

**Anexo II, Figura 1.** Hoja de la tabla Munsell correspondiente al matiz 5YR (“Yellow-Red”), tonalidad 5, utilizada para la evaluación del color del suelo mediante los parámetros claridad, brillo o value y pureza o chroma. Fuente: Munsell Soil Color Charts, (1998). \_\_\_\_\_ 320

**Anexo II, Figura 2.** Hoja de la tabla Munsell correspondiente al matiz 10YR (“*Yellow-Red*”), tonalidad 10, utilizada para la evaluación del color del suelo mediante los parámetros claridad, brillo o value y pureza o chroma. Fuente: Munsell Soil Color Charts (1998).

---





# *RESUMEN/ABSTRACT*



El laboreo es la técnica de manejo de suelo más utilizada en viñedos de regiones con clima mediterráneo. Sin embargo, para mejorar algunas de las propiedades de los suelos y las características productivas y cualitativas de las vides, una técnica alternativa es el uso de cubiertas vegetales. Por ello, el principal objetivo de esta Tesis Doctoral ha sido estudiar el efecto del uso de dos especies vegetales, con comportamiento agronómico distinto y como alternativa al laboreo, sobre la disponibilidad de nutrientes del suelo, los parámetros productivos y vegetativos de la vid y la composición de la uva y del vino. En este contexto, se llevó a cabo un ensayo con tres sistemas distintos de gestión del suelo (tratamientos) en las calles del viñedo: laboreo, cubierta vegetal en la que se sembró una gramínea (cebada, *Hordeum vulgare* L.) y otra cubierta con una leguminosa (trébol, *Trifolium resupinatum* L.), durante cuatro años (2009-2012). La parcela vitícola, de la variedad Tempranillo (*Vitis vinifera* L.), se plantó en 1999 con un marco de plantación de 2,70 x 1,30 m y sistema de conducción en espaldera (doble cordón Royat). El suelo de la parcela se clasificó como *Xerorthent oxiácuico*. Presentaba un pH básico, un contenido en materia orgánica bajo (< 1%) y una clase textural franca en los horizontes superficiales, y franco-arenosa en profundidad.

Los resultados han mostrado diferencias de humedad en el suelo debidas a los tratamientos en períodos concretos a partir de julio hasta finales de agosto, especialmente a los 60 cm de profundidad con la utilización de cubierta de trébol. La velocidad de consumo de agua y secado del suelo fue más intensa en las dos cubiertas que en el laboreo; si bien las precipitaciones registradas recargaron el perfil del suelo de manera similar en los tres tratamientos. Por su parte, la disponibilidad nutricional del suelo estuvo marcada por la capacidad fijadora del nitrógeno atmosférico por parte de la leguminosa. Así, respecto al laboreo, con el trébol aumentó, desde el segundo año de ensayo, la disponibilidad en el suelo de nitrógeno en forma nítrica, la forma iónica que principalmente asimila la vid. Sin embargo, con la cubierta de cebada se redujo el nitrógeno nítrico en un rango similar al nitrógeno presente en la biomasa aérea de la cubierta gramínea. Asimismo, la reincorporación de los restos aéreos de las cubiertas tras su agostado favoreció, al cuarto año de ensayo, una mayor disponibilidad de potasio, magnesio y sodio en la superficie del suelo con cubierta de trébol respecto a los otros dos tratamientos. La presencia de las cubiertas no afectó a la disponibilidad de fósforo ni de calcio del suelo.

A pesar de que no se observaron diferencias significativas en la producción de biomasa aérea de las dos cubiertas vegetales, a partir del 2010 la concentración de nitrógeno, potasio, magnesio, calcio, cobre, boro y sodio fue mayor en la biomasa del trébol que en la de la cebada, donde se produjo una mayor concentración de hierro y zinc. No obstante, la diferente competencia de las cubiertas vegetales por los nutrientes disponibles en el suelo, afectó de manera significativa al estado nutricional de las cepas, disminuyendo el contenido de N foliar con la cubierta de cebada en 2011 y 2012. Respecto al desarrollo vegetativo, el desarrollo longitudinal de los pámpanos con el tratamiento de cebada disminuyó en la floración del tercer año de ensayo, así como el peso de las hojas con ambas cubiertas. La presencia de las cubiertas vegetales no modificó significativamente la producción del viñedo. El vigor de las cepas disminuyó en los dos últimos años de ensayo con el tratamiento de cebada, alcanzando valores de peso medio del pámpano y de peso de madera de poda menores respecto a los otros dos tratamientos. Con esta reducción del vigor, se consiguió un mejor equilibrio en la relación vigor/producción de las cepas del tratamiento con cubierta de cebada, obteniendo valores del índice de Ravaz dentro del rango considerado óptimo para la variedad Tempranillo en el ámbito de la D.O.Ca. Rioja. En relación a la incidencia de las cubiertas sobre las características de la uva, se observó una disminución del peso de la baya en 2010, y un aumento de los compuestos fenólicos en 2012 con la cubierta de cebada frente a los otros dos tratamientos. Por su parte, los niveles de nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.) de los mostos se vieron afectados por la especie de cubierta utilizada. Así, respecto al laboreo, el N.F.A. aumentó con la leguminosa al cuarto año de ensayo y disminuyó con la gramínea. De igual modo, la presencia de las cubiertas vegetales modificó el perfil aminoacídico de los mostos. El vino procedente del tratamiento de cubierta de cebada, presentó mayor acidez total, contenido de ácido tartárico e índice de polifenoles totales respecto a los de los otros dos tratamientos. Con la cubierta de cebada también se redujo la concentración de numerosos aminoácidos y la concentración total de aminas biógenas de los vinos. Organolépticamente, los catadores no apreciaron diferencias significativas entre los vinos, si bien mostraron cierta preferencia por los vinos elaborados a partir de uva procedente de parcelas mantenidas con laboreo.

Por todo ello, se puede concluir que en las condiciones de nuestro ensayo, la técnica de cubiertas vegetales podría considerarse apropiada como alternativa al laboreo, ya que no supone competencia hídrica ni nutricional excesiva para las cepas e,

## ***RESUMEN***

---

incluso, a largo plazo, puede conseguir regular el desarrollo vegetativo del viñedo, su rendimiento productivo y mejorar la calidad de la uva y del vino.

Tillage is the most commonly used soil management technique in vineyards with Mediterranean climate. In order to improve some of the properties of soils as well as the productive and qualitative characteristics of the vines, alternative techniques such as cover crops are employed. Therefore, the main objective of this Thesis was to study the effect of two cover crops, with different agronomic performance, on the soil nutrients availability, the productive and vegetative parameters of the vine and the grape and wine composition, comparing these results to tillage. In this context, an experiment with three different soil management treatments in the inter-row of the vineyard, was carried out for four years (2009-2012). Treatments were: tillage, a cereal cover crop (barley, *Hordeum vulgare* L.), and, a leguminous cover crop (clover, *Trifolium resupinatum* L.). The vineyard was a cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.), planted in 1999 with a 2.70 x 1.30 m spacing and a VSP (double cordon Royat) trellis system. Soil was classified as *Oxyaquic Xerorthent*, its pH was basic and the organic matter content was low (< 1 %), texture was loamy for the topsoil and sandy loam in deeper horizons.

Results showed differences in soil moisture between treatments for short periods of time from July until the end of August, especially in the clover cover crop treatment at 60 cm deep. The water consumption rate was higher for both cover crops treatments with respect to tillage, although rainfall recharged the soil profile similarly in the three treatments. Regarding soil nutrients availability, the nitrogen fixation capacity of the leguminous crop marked a difference and, in fact, the soil nitrogen availability, in its nitrate form, which is the one that the vine assimilates primarily, was higher in the clover crop treatment from the second year of the experiment with respect to tillage. However, the nitrate form from the soil N was lower for the barley cover crop. This reduction was linked to the nitrogen content of the cover crop aerial biomass. Furthermore, the reintroduction of the cover crop remains in the soil after withering favoured a greater availability of potassium, magnesium and sodium in the soil surface in the fourth year of trial and for the clover treatment when compared to the other two treatments. Cover crops did not affect the phosphorus and calcium soil availability.

Although no significant differences were observed in the total biomass production of the two cover crops, from 2010 onwards the concentration of nitrogen, potassium, magnesium, calcium, copper, boron and sodium was higher for clover than for barley cover crop, which reversely had a higher concentration of iron and zinc. However, the different competition of the cover crops for nutrients only had a significant effect over the leaf nitrogen content in the barley treatment in 2011 and 2012. Regarding the vegetative development, the shoot longitudinal development in the barley treatment decreased at bloom in the third year of trial, and the total leaf weight was lower in both cover crops. Cover crops did not significantly change the vineyard production either; although the vine vigour was lower in the barley treatment during the last two years, with lower values of shoot and pruning weights with respect to the other two treatments. Thanks to the vigour reduction, a better balance between vigour and production was achieved with the barley treatment and, therefore, Ravaz index values were within the optimal range for cv. Tempranillo in the A.O.C. Rioja. Regarding the cover crops impact on the grape characteristics, only a berry weight reduction in 2010 and an increase of phenolic compounds in 2012 were observed for the barley cover crop. Levels of Yeast Assimilable Nitrogen (YAN) in the musts changed in the cover crop treatments with respect to tillage; in the clover treatment YAN values were higher in the fourth year of the trial whilst they were lower for barley. Similarly, the presence of cover crops modified the amino acid profile of musts. Total titratable acidity as well as the tartaric acid content and the total polyphenol index showed higher values in the barley than in the other two treatments; as well as the concentrations of biogenic amines and most of the amino acids studied showed lower content for barley treatment. Organoleptically, tasters did not appreciate significant differences between wines, although they showed a preference for those made from the tillage treatment grapes.

With all these results in mind, it can be concluded that under the conditions of our experiment, cover crops can be an appropriate alternative to tillage as, in the long term, they can regulate both, the vine vegetative development and its yield, therefore improving the quality of grape and wine and, at the same time, their use does not imply an excessive competition with the vine for both water and nutrients.



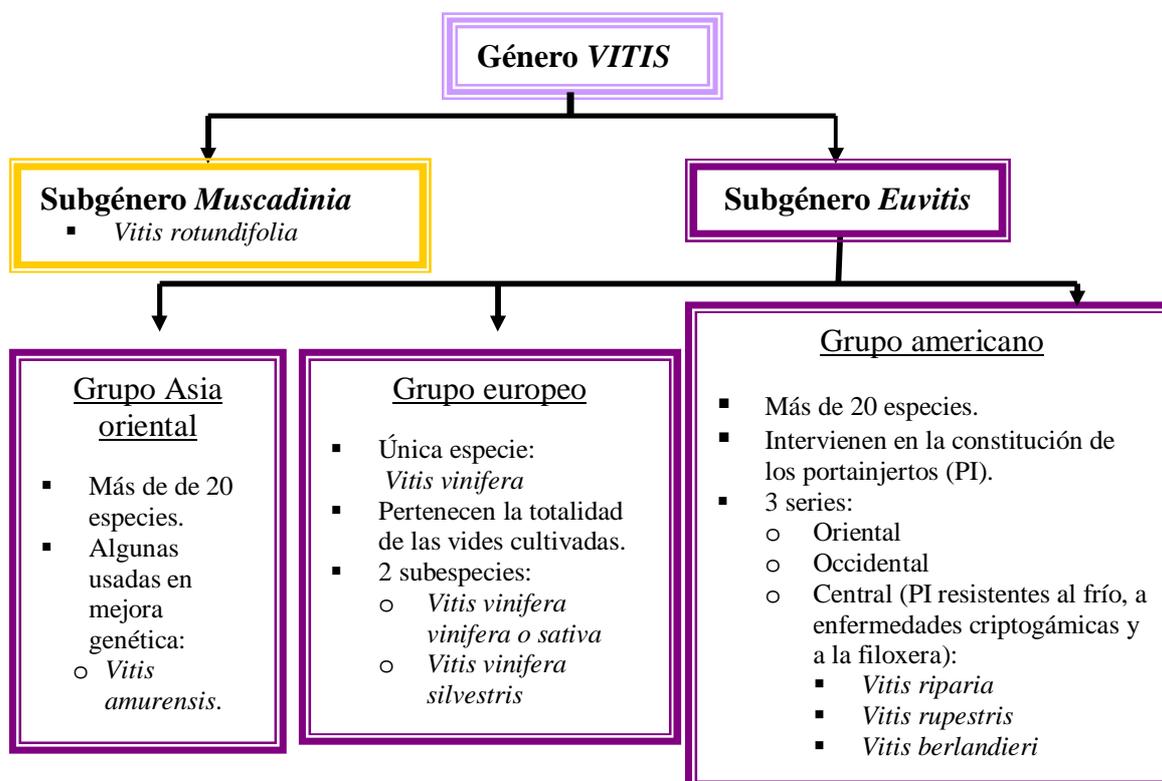
# *I. INTRODUCCIÓN*



## I.1. LA VID Y SU CULTIVO EN EL MUNDO

### I.1.1. SISTEMÁTICA DE LA VID

La vid es una planta de división espermafita perteneciente a la subdivisión de las angiospermas, de la clase de las dicotiledóneas y de la familia de las *Vitaceae*, compuesta por casi mil especies, agrupadas en 17 géneros (Martínez de Toda, 1991). La mayoría de los géneros se encuentran en regiones intertropicales, siendo muchas de sus plantas empleadas como ornamentales. El género *Vitis* es el único de importancia agronómica, formado por 60 especies interfértiles, aproximadamente. Dentro de este género hay dos subgéneros o secciones: *Muscadinia* y *Euvitis*. El primero lo forman vides situadas en zonas cálidas y templadas del sudeste de América del Norte y comprende tres especies, entre las que destaca *Vitis rotundifolia*, la única inmune a la filoxera (*Dactylospheera vitifoliae*) y, al segundo subgénero, pertenecen prácticamente todas las especies de vid cultivadas (Figura I.1).



**Figura I.1.** Subgéneros de la vid. Elaboración propia a partir de datos de Martínez de Toda (1991).

### I.1.2. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DEL CULTIVO DE LA VID

Únicamente los fósiles de pepitas y polen son suficientemente inimitables como para confirmar la presencia de la vid en otras épocas (Martínez de Toda, 1991). La presencia de restos de éstos permite afirmar que el género *Vitis* estaba extendido al final de la Era Terciaria en todo el Hemisferio Norte, representado por dos categorías de pepitas distintas. Las sucesivas glaciaciones de la Era Cuaternaria hicieron que se refugiaron en regiones protegidas del frío y fueran diferenciándose entre ellas. La vid europea se desarrolló, diversificó y cultivó inicialmente en el este del Mediterráneo. A partir del siglo XV, a través de las rutas de colonización de los imperios español, portugués, inglés y holandés se fue distribuyendo al resto de regiones vitícolas que actualmente se conocen.

Hoy en día, el cultivo de la vid se encuentra, principalmente, comprendido geográficamente en dos franjas, entre las latitudes 50 y 30 grados Norte sobre el Ecuador y 30 y 50 grados Sur por debajo del mismo (Figura I.2). Sin embargo, el cambio que está experimentando el clima a nivel mundial puede que modifique este escenario, con plantaciones en otros lugares hasta ahora con poca vocación vitícola.



**Figura I.2.** Distribución de las plantaciones de vid alrededor del mundo. Fuente: [www.catadelvino.com](http://www.catadelvino.com), consultada en junio de 2015.

## I.2. HISTORIA DE LA VID Y DEL VINO EN LA RIOJA

### I.2.1. HISTORIA DE LA D.O.C.A. RIOJA

Los numerosos restos arqueológicos de lagares y bodegas encontrados por la geografía riojana testimonian que, probablemente, el cultivo de la vid en La Rioja sea anterior a la época de la dominación romana. Se cree que los berones y otros pueblos riojanos ya vendían el vino a los mercaderes tartesios, cretenses, egeos y fenicios a través del río Ebro (Larrea Redondo, 1974). En los siglos II y I a.C., coincidiendo con la llegada de los romanos a la región y, en torno a la calzada romana que unía el Noroeste de la Península Ibérica con el Mediterráneo, los habitantes de la zona incorporaron tradiciones, costumbres sociales y hábitos alimentarios de los romanos, sobre todo en lo relativo al consumo de aceite y de vino. Tras la Caída del Imperio Romano y durante los tres siglos de dominación visigoda, la viticultura riojana prácticamente desapareció. No fue hasta la conquista de Nájera por los cristianos (siglo X) y, posteriormente la de Calahorra (siglo XI), cuando la viticultura volvió a resurgir. En la Edad Media, la producción vitivinícola riojana estuvo vinculada a los centros monásticos, como San Millán de la Cogolla, San Martín de Albelda y Santa María la Real de Nájera, donde con la llegada de muchos monjes de zonas con tradición vitícola (especialmente franceses), fomentaron y mejoraron las técnicas de cultivo. En el siglo XIII, Gonzalo de Berceo, monje riojano considerado el primer mester de clerecía, ya mencionó el vino en algunos de sus versos, siendo el más popular el recogido en su obra *Vida de Santo Domingo de Silos*:

*Qiero fer una prosa en romanz paladino,  
en qal suele el pueblo fablar con so vezino,  
ca no so tan letrado per fer otro latino:  
bien valdra, commo creo, un vaso de bon vino.*

Que se puede traducir como:

Quiero hacer un poema en romance,  
en el cual suele hablar el pueblo [la gente] con su vecino,  
pues no soy tan culto como para hacer otro [poema] en latín;

[el que te cuente yo esta historia] bien valdrá, como creo, un vaso de buen vino.

El auge experimentado en esa época por el Camino de Santiago y la concesión de los fueros otorgados por los reyes navarros y castellanos a distintas poblaciones riojanas, contribuyeron al asentamiento de población foránea que impulsó las plantaciones de vid. A finales del siglo XV, el vino de Rioja, asentado en zonas de Castilla, Navarra y provincias Vascongadas, experimentó un notable crecimiento. Así, en tiempos de los Reyes Católicos, las cosechas ya alcanzaban los 10 millones de litros (Gómez Urdáñez, 2000).

En el siglo XVI, La Rioja era ya una de las principales regiones productoras y exportaba vino al resto de España e incluso a Europa. En 1787, se fundó la *Real Sociedad Económica de Cosecheros de La Rioja Castellana*, cuyos objetivos fueron el fomento del cultivo de la vid y la elaboración del vino y su comercio. En el año 1827, impulsó la construcción de un camino entre Logroño y Haro para facilitar el comercio del vino por Vitoria y el puerto de Santander, creando además un consultorio vitícola y haciendo un proyecto de *Escuela de Enología* (la actual Estación Enológica de Haro, que no se fundó hasta 1892).

Durante la primera mitad del siglo XIX apareció en Europa, procedente de América, el oídio (*Uncinula necator*), un hongo contra el cual no se disponía de medios eficaces, lo que en La Rioja provocó la sustitución parcial de las variedades Tempranillo y Mazuelo, sensibles a dicho hongo, por la Garnacha tinta, más resistente al oídio. En la segunda mitad de siglo se comenzó a superar la crisis, utilizando azufre como medio de lucha contra dicho hongo. En 1852 Luciano Murrieta, después de aprender el proceso de elaboración en Burdeos, creó el primer vino fino de la zona, y en 1860 varias familias nobiliarias de tradición vinícola impulsaron la industrialización del vino de Rioja, mediante la crianza y el embotellado del mismo. Los problemas sufridos durante la década de los ochenta del siglo XIX por el viñedo francés, provocados por los sucesivos ataques de mildiu (*Plasmopora viticola*), oídio y filoxera, hicieron que las exportaciones de los vinos riojanos hacia Francia aumentaran, transportándose el vino en barricas bordelesas de 225 litros de capacidad. En 1898, comenzó la invasión de la filoxera en España, organizándose en La Rioja una *Comisión Provincial* con el objetivo de trabajar

en su prevención. En 1899, se percibieron los primeros ataques de filoxera y, en 1901, prácticamente la totalidad de las 52.592 hectáreas de viñedo que había en la provincia de Logroño estaban afectadas o destruidas (Larrea Redondo, 1974), por lo que hubo que replantar todo el viñedo riojano, creándose para ello el *Servicio Vitivinícola Provincial*. Para proteger el nombre del vino de Rioja, delimitar la zona de producción y expedir la garantía del vino se constituyó, por Real Decreto el 22 de octubre de 1926, el *Consejo Regulador de la Denominación Vinícola Rioja*. La protección del nombre Rioja como Denominación de Origen se plasmó en el Estatuto del Vino de 1932 (Coello *et al.*, 2007). En 1991, por orden Ministerial del 3 de abril, se le otorgó a la Denominación de Origen Rioja el carácter de *Calificada* (D.O.Ca. Rioja), la primera en España. Actualmente, la Orden APA/3465/2004 del 20 de octubre es la que rige el Reglamento de la D.O.Ca. Rioja y de su Consejo Regulador.

### I.2.2. CARACTERÍSTICAS VITIVINÍCOLAS DE LA D.O.CA. RIOJA

La zona vitícola que comprende la D.O.Ca. Rioja, se encuentra delimitada geográficamente por las Sierra de Cantabria al Norte y la de la Demanda al Sur, conformando una región natural diferenciada. Administrativamente, las 63.593 hectáreas de viñedo protegidas por la Denominación se distribuyen en el territorio de tres provincias del curso alto del Ebro: La Rioja (43.885 ha), Álava (12.934 ha) y Navarra (6.774 ha). Las localidades más distanciadas, Alfaro la más oriental y Haro la más occidental, están separadas por 100 km, siendo de unos 40 kilómetros la anchura máxima del valle ocupado por viñedos que, en sucesivas terrazas escalonadas, alcanzan una altitud máxima de 700 m (Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja; [www.riojawine.com](http://www.riojawine.com)).

La influencia de los climas atlántico y mediterráneo que confluyen en la región, propician características climáticas diferenciadas, lo que permite dividir a la Denominación en tres subzonas: Rioja Alta (26.786 ha de viñedo), influenciada por el clima atlántico, Rioja Alavesa (12.934 ha) también de clima atlántico pero con otro tipo de suelos y Rioja Baja (23.873 ha), de influencia mediterránea, con clima más seco y cálido (Figura I.3).



**Figura I.3.** Mapa de distribución del viñedo en las tres subzonas de la D.O.Ca. Rioja: Rioja Alta, Rioja Alavesa y Rioja Baja. Fuente: [www.vibrantrioja.com](http://www.vibrantrioja.com), consultada en junio de 2015.

De acuerdo a la diferenciación climática y a la orografía y geomorfología de las subzonas, los suelos también presentan diferencias, aportando complejidad a los vinos. Por lo general, los suelos de la D.O.Ca. Rioja son ligeramente alcalinos, pobres en materia orgánica y presentan moderada disponibilidad hídrica durante el verano. A grandes rasgos, el Consejo Regulador los ha catalogado como arcillo-calcáreos, los cuales representan un 25 % de la superficie total de la D.O.Ca. Rioja y, por lo general, se sitúan en pequeñas parcelas estructuradas en terrazas de la zona de Rioja Alavesa y terrenos de Rioja Alta; arcillo-ferrosos, que se pueden encontrar por toda la geografía de la Denominación y que se suelen situar en terrenos alomados, rojizos, con roca dura y profunda y que representan otro 25 % de la superficie total; y los suelos aluviales, también presentes por toda la geografía de la D.O.Ca. Rioja en zonas cercanas a los ríos, de terrenos llanos, profundos y con presencia de cantos rodados (Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja; [www.riojawine.com](http://www.riojawine.com)).

La D.O.Ca. Rioja mantiene una política restrictiva respecto al rendimiento productivo de las parcelas, según sean variedades tintas ( $6.500 \text{ kg ha}^{-1}$ ) o variedades blancas ( $9.000 \text{ kg ha}^{-1}$ ), con el objetivo de optimizar la calidad de los vinos. La producción media anual de la Denominación se sitúa entre los 280 y los 300 millones de litros, de los que el 90 % corresponde a vino tinto y el resto a blanco y rosado. En los

años en los que se desarrolló la presente Tesis Doctoral (2009-2012) y, según datos del Consejo Regulador, el volumen total de producción por campaña fue de 412,3 millones de kg de uva, de los cuales se calificaron 246,7 millones de litros de vino en el 2009; 395 millones de kg de uva (255,1 millones de litros amparados en el 2010); 387 millones de kg de uva, unos 266,4 millones de litros en el 2011; y 354,9 millones de kg de uva, 244,6 millones de litros de vino calificados por el Consejo Regulador en 2012, con uno de los rendimientos por hectárea más bajos de las últimas dos décadas (5.710 kg ha<sup>-1</sup>). En el año 2007, el Consejo Regulador autorizó la incorporación de nuevas variedades (Tabla I.1), las cuales para no incrementar la masa vegetal total de la Denominación se deben plantar en sustitución de arranques (Orden ARM/1372/2009) (Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja; [www.riojawine.com](http://www.riojawine.com)).

**Tabla I.1.** Variedades de vid autorizadas por el Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja.

Variedades	Tradicionalmente autorizadas	Autorizadas recientemente
<b>TINTAS</b>	▪ Tempranillo	
	▪ Garnacha	▪ Maturana tinta
	▪ Graciano	
	▪ Mazuelo	
<b>BLANCAS</b>		▪ Tempranillo blanco (a)
	▪ Viura	▪ Maturana blanca (a)
	▪ Malvasía de Rioja	▪ Turruntés de Rioja (a)
	▪ Garnacha blanca	▪ Chardonnay (f)
		▪ Sauvignon blanc (f)
		▪ Verdejo (f)

(a): variedad autóctona, (f): variedad foránea.

De todas ellas, Tempranillo, considerada autóctona de Rioja y la variedad más característica de la D.O.Ca. Rioja y calificada como preferente, representa un 81 % del total de la superficie del viñedo de la Denominación (Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja, 2014). Agronómicamente es una variedad muy segura en el cuajado aunque sensible a plagas y enfermedades, poco resistente a la sequía y a las altas temperaturas y, con un ciclo de maduración corto. Enológico es muy versátil, produce vinos muy equilibrados en grado alcohólico, color y acidez y con un paladar suave y afrutado que evoluciona a aterciopelado cuando envejece. Potencialmente puede producir vinos

con envejecimiento largo. Cencibel, Tinto de Madrid, Tinto del País y Tinto Fino son sinonimias de Tempranillo (Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja, 2014) (Figura I.4).



**Figura I.4.** Racimo, hojas (haz y envés) y zarcillo de la variedad tinta Tempranillo. Fuente: [www.riojawine.com](http://www.riojawine.com), consultada en agosto de 2015.

La crianza de los vinos de Rioja se realiza en barricas de roble de 225 litros, con trasiegos periódicos, complementándose después en botella donde sigue evolucionado en un ambiente reductor. Según el proceso de envejecimiento seguido, el Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja establece cuatro categorías de vinos:

- *Garantía de Origen:* son los vinos del año, en su segundo año u otros vinos que no encajan en las restantes categorías, aunque hubiesen sido sometidos a procesos de envejecimiento, por no estar éstos certificados por el Consejo Regulador. Conservan las características primarias de frescor y afrutado.

- *Crianza:* hace referencia a vinos en su tercer año que han permanecido 12 meses como mínimo en barrica de roble (tintos) o seis meses (blancos y rosados).

- *Reserva:* corresponde a vinos muy seleccionados con una crianza mínima, entre barrica de roble y botella, de 36 meses (tintos), de los cuales al menos 12 en barrica de roble. En vinos blancos el período de crianza es de 24 meses, de los cuales como mínimo tienen que pasar 6 meses en barrica de roble.

- *Gran Reserva:* se trata de vinos de grandes cosechas que han sido criados un mínimo de 24 meses en barrica de roble y, también como mínimo 36 meses en botella.

En los vinos blancos y rosados de esta categoría el período mínimo de crianza es de 48 meses, de los cuales al menos tienen que pasar 6 meses en barrica de roble.

### **I.3. EL MANEJO DEL SUELO EN EL VIÑEDO**

La productividad y el desarrollo del viñedo, así como la composición de las bayas, están ligados a determinadas operaciones de tipo agronómico, tanto de cultivo (características del suelo, elección de la variedad y del portainjerto, fertilización, riego, sistemas de manejo de suelo, podas en verde, aclareo, poda invernal, ...) como a otros factores vitícolas que dependen del diseño de la propia plantación (marco y densidad de plantación, sistema de conducción, altura de la pared vegetal, ...) y a las propias características del medio natural (clima, orografía, ...) (Jackson y Lombard, 1993). A su vez, cada una de las operaciones de tipo agronómico o vitícola realizadas en el viñedo influye de una manera más o menos directa sobre las otras. En este trabajo de investigación se han estudiado las implicaciones y condicionantes provocados sobre la vid, la uva y el vino por el uso de un determinado sistema de manejo del suelo del viñedo.

El *manejo o mantenimiento del suelo* puede definirse como “todas aquellas técnicas cuya finalidad es crear y mantener un medio favorable para el crecimiento y actividad de las raíces a corto y a largo plazo, y facilitar otras operaciones de cultivo” (McCarthy *et al.*, 1992). Estos objetivos generales engloban otros aspectos más específicos, como son:

- Mantener un equilibrio físico, químico y biológico adecuado del suelo.
- Incrementar el contenido en materia orgánica del suelo.
- Evitar la erosión, la degradación y la sobreexplotación del suelo y del medioambiente.
- Facilitar la aplicación de enmiendas y fertilizantes.
- Permitir el acceso a la parcela en períodos húmedos.
- Disminuir el riesgo de heladas.
- Controlar la vegetación espontánea para eliminar o limitar la competencia de las malas hierbas.
- Aumentar la efectividad de los riegos que se efectúen en el viñedo.
- Controlar el desarrollo vegetativo excesivo de las vides.

- Mejorar las características químicas y organolépticas del mosto y del vino.

Las técnicas de manejo del suelo utilizadas en viticultura han ido evolucionando desde labores manuales y de tracción animal, hasta la mecanización total. Dichas técnicas son numerosas y se pueden englobar principalmente en dos grupos:

### **a) Suelo desnudo, libre de vegetación**

El suelo de la calle del viñedo se labra o se trata con productos químicos, herbicidas, que eliminan las hierbas que pudieran aparecer, dejando el suelo libre de vegetación.

### **b) Suelo cubierto**

El suelo del viñedo se mantiene cubierto, durante al menos una parte del período vegetativo de la vid, mediante cubiertas vegetales vivas o cubiertas inertes: restos de poda triturados, paja, piedras, *mulch* o acolchado, compost, lodos.

Los criterios que determinan la elección del sistema de manejo óptimo para el cultivo, no siempre responden a decisiones o estudios técnicos sino que, generalmente, suelen corresponder a motivos económicos o tradicionales.

## I.3.1 EL LABOREO COMO SISTEMA DE MANEJO DEL SUELO EN EL VIÑEDO

De entre las técnicas pertenecientes al grupo “suelo desnudo”, en España el laboreo es la más ampliamente utilizada en viticultura, especialmente en zonas con baja precipitación. Consiste en mantener la mayor parte del año sin vegetación la calle o superficie del suelo comprendida entre las filas de cepas, mediante el paso más o menos frecuente y profundo de un apero especializado. Sus objetivos principales pasan por reducir la competencia por los nutrientes y el agua del suelo que pudiera provocar la proliferación de vegetación espontánea en la calle, aumentar la aireación y la infiltración del agua de lluvia y, por tanto, el agua disponible para la vid. A pesar de los inconvenientes que puede generar en la parcela, como son la formación de suelo de labor que disminuye la capacidad de infiltración, el aumento de la erosión y la degradación de la estructura del suelo por debajo de los horizontes labrados (Elliot,

1986) o la dificultad de circulación de maquinaria en períodos lluviosos, su facilidad de ejecución, que incluso favorece la incorporación de abonos y enmiendas y, el bajo coste económico que supone su práctica, han hecho que sea la técnica de manejo de suelo más extendida tradicionalmente en viñedos con condiciones climáticas mediterráneas, siendo así como ha ocurrido en La Rioja donde es la técnica de manejo de suelo más utilizada.

En el contexto de la viticultura mediterránea tradicional, condicionada por una serie de limitaciones como son las condiciones de secano, no disponer de infraestructuras de riego, ni realizar una selección previa del material vegetal (portainjertos y clones de vid), con poca disponibilidad de productos fitosanitarios y fertilizantes y en la que la calidad de la uva no era un factor tan determinante ni valorado como actualmente, el laboreo tradicional cumplía el objetivo de obtener un rendimiento adecuado para la rentabilidad del viñedo. Sin embargo, desde finales del siglo XX, esta situación ha ido cambiando. Han aparecido nuevas técnicas y equipos que han permitido manejar y controlar la vegetación, sistemas de conducción más adaptados a la mecanización de los diversos procesos realizados en campo durante el ciclo vegetativo de la vid, predominando especialmente el sistema de conducción en espaldera, se ha aumentado el número de yemas en la poda, efectuado operaciones en verde como el despunte y el desnietado que mejoran el proceso de cuajado, etc. Además, las nuevas plantaciones se han realizado con clones seleccionados según unas características determinadas, como por ejemplo, mayor producción y resistencia a sequía y, también se han ido introduciendo sistemas de riego localizado y se ha extendido el uso de productos fitosanitarios y de fertilizantes cada vez más específicos. Además, las nuevas plantaciones se han realizado en suelos de mayor fertilidad, no tan marginales como en los que se plantaba antiguamente la vid, los criterios de calidad de la uva se han ido modificando y, por todo ello, los rendimientos de los viñedos se han incrementado en los últimos años. En determinadas zonas vitícolas, este aumento en el rendimiento productivo puede acarrear problemas tanto a nivel legislativo (algunas denominaciones de origen, como la D.O.Ca. Rioja, limitan los rendimientos), como a nivel de desarrollo vegetativo de la vid y de la calidad de la uva debido a los desequilibrios provocados en las plantas, los cuales van en detrimento de la calidad de la uva. Así, tradicionalmente se han utilizado algunas técnicas vitícolas como la poda, el despampanado y el aclareo manual de racimos o químico para el control de la

producción de uva, aunque no en todas las condiciones aseguran una mejora de la calidad de la uva (Diago, 2010).

### I.3.2. SISTEMA DE MANEJO DE SUELO ALTERNATIVO AL LABOREO: LAS CUBIERTAS VEGETALES

Como alternativa al laboreo y debido a los cambios, mencionados anteriormente, que han ido surgiendo en la viticultura moderna, en muchas zonas vitícolas se están implantando cubiertas vegetales en las calles de las parcelas. El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (U.S.D.A., 2009) definió la *cubierta vegetal o cultivo de cobertura* como “aquel que se produce entre períodos de producción regular del cultivo principal, o bien entre árboles en el caso de cultivos arbóreos, con el objetivo de proteger el suelo contra la erosión y mejorar su productividad, salud y calidad”.

A pesar de que los primeros escritos del uso de cubiertas vegetales como técnica de mantenimiento del suelo datan de la dinastía china Chou, de hace 3.000 años (Burket *et al.*, 1997), tras la II Guerra Mundial con la aparición de los fertilizantes de síntesis, la maquinaria pesada y los herbicidas se redujo su utilización en favor del laboreo o tratamiento del suelo con herbicidas, que favorecían el aumento productivo del cultivo (Hanson, 2006). En la agricultura moderna, la técnica de cubiertas vegetales fue desarrollada por van Huyssteen *et al.* (1984) para el cultivo de la vid en Sudáfrica y, debido a las numerosas ventajas de tipo agronómico y medioambiental que presentaba con respecto al laboreo, fue extendiéndose posteriormente a otros sectores de la agricultura como la fruticultura (Pastor, 1989; Lanini *et al.*, 1991) y la olivicultura (Castro, 1993). El uso de este sistema de manejo de suelo se encuentra mucho más generalizado en regiones vitícolas con climas frescos y húmedos, y suelos profundos y fértiles como, por ejemplo, Champagne, Alsacia y Borgoña en Francia, Lombardía, Frioulli, Piamonte y Chianti en Italia, región del Palatinado en Alemania, Nueva Zelanda (Wheeler *et al.*, 2005), Valais en Suiza (Maigre y Aerny, 2001), Australia (Tesic *et al.*, 2007) y Oregón (Sweet y Schreiner, 2010) en Estados Unidos; que en climas más secos y áridos como los de la D.O.Ca. Rioja, en los que el laboreo sigue siendo la técnica más extendida.

Las cubiertas vegetales utilizadas en viticultura pueden ser de materias vegetales inertes (acolchados o *mulch* de cortezas de distintas especies o de restos de poda del viñedo, lodos, compost, piedras, ...) o de especies vegetales vivas. Estas últimas pueden clasificarse en distintos grupos en función de:

- el espacio o superficie que ocupen en el terreno (total o parcial),
- el tiempo de permanencia de la cubierta en el terreno (perenne o temporal),
- el método utilizado para su implantación (sembrada o espontánea),
- si se compone de una única especie vegetal o son varias (puras o mixtas).

Además, según la naturaleza de la especie que se vaya a utilizar, la Cooperativa Sudaustraliana de Productores de Semillas (*South Australian Seed Growers Cooperative*, 1997), definió cuatro tipos de cubiertas vegetales: abono verde, crucíferas o brasicáceas, pradera anual de resiembra y pradera perenne. Cada una de ellas presenta características y requerimientos propios que se deberían estudiar y valorar antes de su implantación en la parcela como sistema de manejo del suelo.

#### ▪ **Abono verde**

En este tipo de cubierta se deja desarrollar a la especie sembrada hasta un momento determinado de su ciclo vegetativo, a partir del cual se siega o seca mediante herbicidas y se incorpora al suelo como fertilizante o abono, con el objetivo de que aporte materia orgánica y mejore la estructura del suelo. La competencia con la viña por la humedad y nutrientes del suelo es mínima e incluso, las especies más vigorosas son capaces de competir con las malas hierbas de invierno. Es adecuado para plantaciones nuevas y suelos cultivados regularmente. Si se deja como rastrojo puede proporcionar protección contra la erosión eólica e hídrica, aunque es preferible evitar su uso en áreas propensas a heladas. Tampoco se recomienda para zonas con pluviometría alta o para viñedos con terreno ondulado, por la erosión potencial y los problemas de transitabilidad producidos por el arrastre del suelo.

### ▪ **Crucíferas o brasicáceas**

Las brasicáceas o crucíferas son una familia de angiospermas dicotiledóneas, de crecimiento anual, bianual o perenne, con savia acuosa y frecuentemente picante, con hojas alternas o en roseta y flores en cruz. Utilizadas como cubiertas vegetales se caracterizan por su potencial control de las poblaciones de nemátodos y patógenos del suelo, además de que aportan gran cantidad de biomasa que permite aumentar la materia orgánica del suelo, con una mínima competencia con la viña durante el verano. Algunas crucíferas pueden rebrotar después de ser segadas por lo que requieren una aplicación de herbicida o bien una siega para evitar la producción de semillas. Poseen una raíz pivotante que puede penetrar y competir con la mayoría de las malas hierbas invernales.

### ▪ **Pradera anual de resiembra**

La pradera anual de resiembra agrupa a las gramíneas perennes con dormancia estival, leguminosas y gramíneas forrajeras anuales que pasan el verano en forma de semilla en el suelo, evitando los momentos con riesgo de déficit hídrico, para volver a germinar con las primeras lluvias de finales de verano y otoño. Este tipo de cubierta vegetal mejora la estructura del suelo, la transitabilidad y controla eficazmente la erosión del suelo. Además, no necesita siembra anual ni labranza de la calle, aunque es necesario controlar las malas hierbas antes de la siembra, para evitar el tránsito continuo de maquinaria al realizar siembras nuevas ya que perjudica el desarrollo de la pradera. Ésta puede secarse al final de la primavera, después de que produzcan las semillas y de esa forma, limitar la competencia por el agua con la viña durante su período de crecimiento. Para reducir el riesgo de heladas, la pradera se debe cortar a comienzos de primavera. Se recomienda su uso en viñas con riego y en áreas donde la precipitación anual sea al menos de 450 mm.

### ▪ **Pradera perenne**

Este tipo de cubierta vegetal es muy similar a la pradera anual de resiembra, con especies perennes de elevada capacidad de resiembra que permiten controlar la erosión durante todo el año, y las malas hierbas tanto en invierno como en verano. Controlan el excesivo vigor de las viñas, aunque es necesario fertilizar cada año la pradera y

controlar las plagas asociadas. Por otro lado, se considera que son beneficiosas como reservorio de fauna útil. Se recomienda su uso para viñas con riego o en regiones con una precipitación anual superior a 700 mm. En años secos, se puede dejar secar la pradera para limitar la competencia con la viña por el agua.

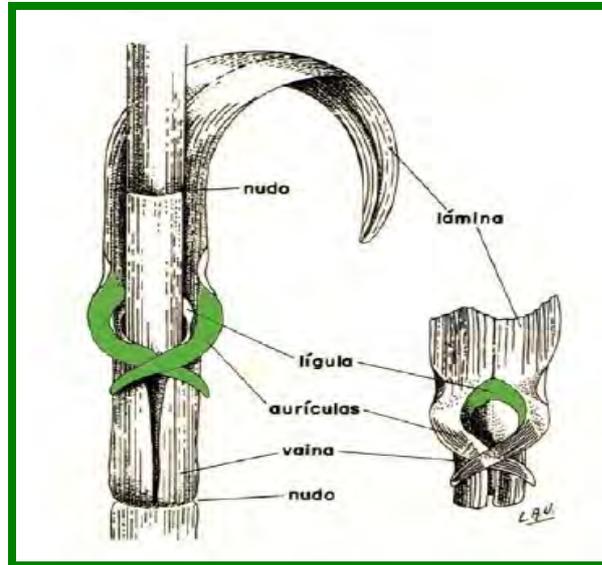
### 1.3.2.1. Características agronómicas de la cebada y del trébol

La cebada y el trébol fueron las dos especies, de familias y comportamiento frente al nitrógeno distintos, propuestas en la Tesis Doctoral como cubiertas vegetales, en comparación al laboreo, la técnica de manejo del suelo desnudo o laboreo tradicional utilizado habitualmente en la zona. A continuación, se describen algunas de las principales características morfológicas y agronómicas de ambas especies.

- **Cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Natural/Samson)**

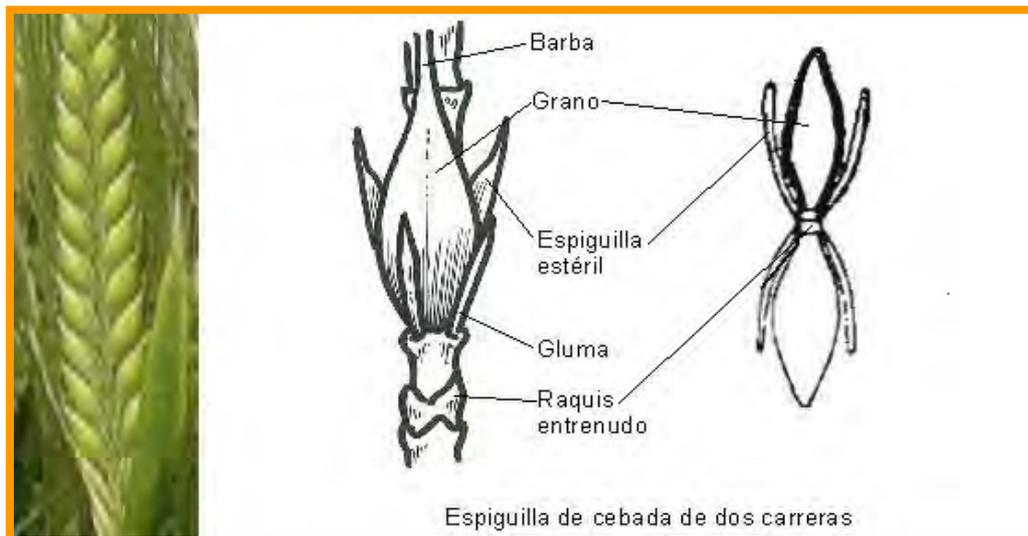
La cebada es una monocotiledónea anual de la familia de las Poáceas (gramíneas), de entre unos 40 y 120 cm de altura. Entre los cereales, ocupa el cuarto lugar en importancia después del trigo, maíz y arroz (Mauri y Vergara, 2003). Presenta raíz fasciculada en la que se pueden identificar raíces primarias y secundarias. El tallo es una caña hueca formada por siete u ocho entrenudos, separados por diagramas nudosos de los que salen las hojas. Cada tallo presenta una espiga. Las hojas, estrechas y de color verde claro, tienen entre 15 y 20 nervios, son liguladas y presentan dos prolongaciones membranosas, denominadas aurículas (Figura I.5). La espiga es la inflorescencia, con tres espiguillas en cada nudo del raquis. Según sean fértiles las flores de las tres espiguillas o sólo la flor central, las cebadas se clasifican como de seis carreras o “caballar”, de cuatro carreras o de dos carreras o “cervecera”, respectivamente (Figura I.6A,B). Las glumas, hojitas que a modo de brácteas rodean las espiguillas, son pequeñas y acuminadas. Los granos presentan forma ahusada, siendo más gruesos en el centro y disminuyendo hacia los extremos. Al inicio de su desarrollo, la cebada necesita agua, aunque tolera las bajas temperaturas y resiste bien la sequía, la salinidad y los suelos pedregosos, pero no los arcillosos ni los encharcados (Figura I.7). Existen variedades de ciclo largo, más productivas y adecuadas para siembras otoñales y variedades de ciclo corto, adecuadas para siembras de invierno o primavera. Por lo general, es un cereal “de invierno”, que en el Hemisferio Norte se cosecha en

primavera, y tiene gran importancia tanto para el consumo humano, especialmente para la elaboración de cerveza, azúcares, preparados de productos alimenticios y harinas para panificación, como para forraje y grano para alimentación animal (Mauri y Vergara, 2003).

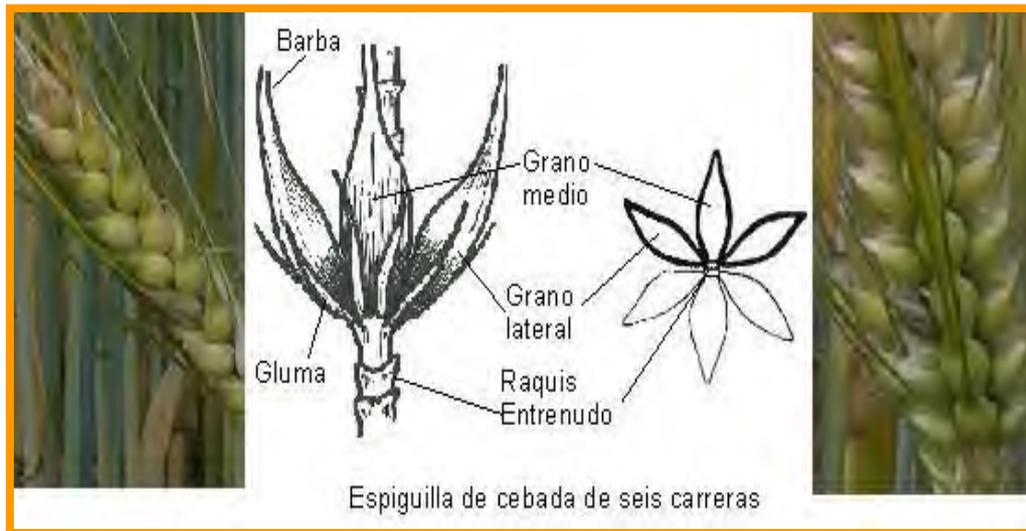


**Figura I.5.** Partes principales de la hoja ligulada de una cebada. Fuente: <http://image.slidesharecdn.com>, consultada en septiembre de 2015

A)



B)



**Figura I.6.** Espiguillas de cebada de dos carreras (A) y de seis carreras (B). Fuente: [www.magrama.gob.es](http://www.magrama.gob.es), consultada en septiembre de 2015.



**Figura I.7.** Vista general de la cebada espigada en la parcela.

- **Trébol persa (*Trifolium resupinatum* L. cv. Láser)**

El trébol es una dicotiledónea perenne de la familia de las leguminosas, de porte semirastrero (15-30 cm). Presenta hojas alternas, trifoliadas, con folíolos obovados y denticulados, las inferiores pecioladas y las superiores subsésiles. El color de la corola de las flores puede ser blanco, amarillo, rosa o morado. Las flores, con pequeñas brácteas en su base, presentan pedúnculo corto y se encuentran agrupadas. Se da en climas mediterráneos con humedad climática y/o edáfica. Tolera suelos de amplio rango de pH (5,5-9); el encharcamiento, la salinidad y las heladas intensas, aunque a baja temperatura se desarrolla muy lentamente. Puede utilizarse como cultivo de ciclo invernal en países meridionales o como cultivo de verano en áreas más septentrionales o de mayor altitud. Presenta gran interés desde el punto de vista forrajero, si bien el crecimiento invernal es lento, pero en primavera, con buenos niveles de fósforo y potasio en el suelo, es muy productivo. Puede ser de implantación anual o bianual de autosiembra. El trébol persa es una variedad procedente de Irán, cuyo uso está actualmente muy extendido por su capacidad de autosiembra y por su rápido rebrote primaveral, superior al de cualquier otra forrajera. Es una planta que se adapta muy bien a terrenos sueltos y húmedos, de fertilidad media y que presenta raíces ramificadas. La subespecie de trébol persa *resupinatum* cv. láser es considerada de ciclo medio tardío, con crecimiento erguido, lo que facilita el segado, y de floración medio tardía. Se suele sembrar en seco (> 450 mm anuales) a diferencia de la subespecie de trébol persa *majus* más adaptada a regadíos (> 600 mm anuales) (Figura I.8).



**Figura I.8.** Vista del trébol de la parcela en flor.

## **I.4. EFECTOS DERIVADOS DE LA IMPLANTACIÓN DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN VITICULTURA**

Inicialmente, las cubiertas fueron utilizadas como una técnica eficaz para prevenir la erosión del suelo, aunque pronto se observaron otros efectos positivos, principalmente sobre el control del vigor excesivo y la mejora de la calidad de la uva (van Huyssteen y Weber, 1980a,b; Scienza *et al.*, 1988; Hernández *et al.*, 2000; Tesic *et al.*, 2007). A pesar de que los efectos o la intensidad de los mismos aún no se conocen bien, en un principio fueron atribuidos a la competencia o acción depresiva ejercida por la especie implantada sobre la alimentación hídrica de la vid (Morlat, 1987). Sin embargo, estudios posteriores atribuyeron esos efectos también a la competencia ejercida por las cubiertas sobre los nutrientes del suelo, principalmente por el nitrógeno requerido para su desarrollo (Tan y Crabtree, 1990; Maigre *et al.*, 1995; Soyer *et al.*, 1995; Lopes *et al.*, 2004; Celette *et al.*, 2005; Monteiro y Lopes, 2007).

### **I.4.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUELO**

El suelo es el principal reservorio de la mayor parte del agua y de los nutrientes esenciales que precisan las plantas para vivir, exceptuando carbono, hidrógeno y oxígeno que los obtienen principalmente del aire. Además, es un recurso no renovable que juega un papel determinante en todos los procesos y dinámicas químicas de los elementos, y que permite que sus concentraciones alcancen los niveles adecuados que requieren los cultivos (Kibblewhite *et al.*, 2008). Por lo general, los suelos sobre los que se desarrollan los ecosistemas mediterráneos se consideran pobres en nutrientes, debido a que están sometidos a tasas de meteorización de la roca sensiblemente inferiores a los de los suelos tropicales. Suelen ser suelos más jóvenes y menos profundos que los suelos tropicales y, además, están sujetos a tasas de erosión antrópica muy intensas y prolongadas. La escasa profundidad de estos suelos supone un límite al tamaño de las plantas, mientras que la erosión limita la cantidad de materia orgánica y los nutrientes que aporta (Yaalon, 1997). Además, las características climáticas de la región mediterránea, con ciclos cortos y frecuentes de secado y humedecido, determinan en gran medida los recursos nutricionales de los suelos. En estas regiones, las condiciones

de temperatura y humedad óptimas para el crecimiento bacteriano, determinan que las tasas de descomposición y mineralización de la materia orgánica en el suelo sólo sean elevadas en períodos cortos e impredecibles a lo largo del año (Kruger *et al.*, 1983).

El uso de cubiertas vegetales como técnica de manejo del suelo puede mejorar las características físicas, químicas y biológicas del suelo, creando condiciones adecuadas para el desarrollo del sistema radicular de la vid, además de la mejora de las operaciones de mantenimiento del viñedo (Merwin y Stiles, 1994; Cass y McGrath, 2004; Linares, 2009).

### **I.4.1.1. Calidad del suelo**

La *calidad del suelo* puede definirse, según Karlen *et al.* (1997), como “la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, sostener la productividad de plantas y animales, mantener o mejorar la calidad del aire, la salud humana y el hábitat”. Por tanto, proteger, conservar y mejorar la calidad del suelo son acciones críticas para conseguir el mantenimiento de la productividad agrícola (Reeves, 1997). Así, la calidad está relacionada con las funciones del suelo, proveer un medio para el crecimiento de las plantas, regular el aporte de agua y de nutrientes (Riches *et al.*, 2013) que, a su vez, condicionan distintos procesos como son la descomposición de la materia orgánica, los ciclos de los nutrientes, la retención y pérdida de agua y la regulación de la población biológica (Ritz *et al.*, 2009). La calidad del suelo depende de la composición inherente del suelo, determinada por factores como su material parental y la topografía, y también por sus propiedades dinámicas que pueden ser modificadas por el sistema de manejo y por el uso del suelo (Pierce y Larson, 1993).

Uno de los efectos más importantes producidos por el sistema de manejo del suelo es la modificación del contenido en materia orgánica del suelo, compuesta principalmente por restos de plantas y tejidos de animales en distintos grados de descomposición. El contenido en materia orgánica de los horizontes superficiales incide directamente sobre diferentes propiedades físicas relacionadas con la calidad del suelo como son el porcentaje de agregados y su estabilidad (Chaney y Swift, 1984; Franzluebbbers y Arshad, 1996; Ternan *et al.*, 1996), la densidad aparente, la porosidad,

la infiltración del agua y su capacidad de almacenamiento (Hudson, 1994; Moreno *et al.*, 1997). Por ejemplo, por cada unidad que se incrementa el contenido en materia orgánica en el suelo, se estima que aumenta en un 3,7 % el agua útil retenida por el mismo (Hudson, 1994).

El uso de las cubiertas vegetales como técnica de manejo del suelo, por lo general, reduce su densidad aparente (Whitelaw-Weckert *et al.*, 2007) y provoca un incremento del contenido en materia orgánica (Sicher *et al.*, 1995; Celette, 2007; Peregrina *et al.*, 2010a, 2014). El aumento del contenido de materia orgánica en el suelo, principalmente de la fracción de materia orgánica particulada (Peregrina *et al.*, 2010a), junto al incremento de la saturación por bases del complejo de cambio (Tisdall y Oades, 1982), favorece la formación de agregados estables al agua, incluso en condiciones climáticas mediterráneas semiáridas (Goulet *et al.*, 2004; Álvaro-Fuentes *et al.*, 2008; Peregrina *et al.*, 2010a,b). Este incremento de los agregados estables al agua es una de las razones por las cuales las cubiertas vegetales reducen la erosión del suelo, lo que a su vez disminuye la pérdida de macro y micronutrientes (Bustamante *et al.*, 2011), limitando por tanto los costes asociados al problema de la erosión (Martínez-Casasnovas y Ramos, 2009). Por ejemplo, en una parcela vitícola con pendiente, situada en Madrid, Marqués *et al.* (2009) observaron con dos especies de gramíneas distintas, *Brachypodium distachyon* L. y *Secale cereale* L. (centeno), que la pérdida de suelo era diez veces menor que el perdido cuando se labra el suelo.

La actividad metabólica desarrollada por los microorganismos del suelo, responsables de procesos tan determinantes como la mineralización y la humificación de la materia orgánica, incide directamente en la disponibilidad de los nutrientes, especialmente nitrógeno, carbono, fósforo y azufre, así como en todas las transformaciones en las que interviene la biomasa microbiana presente en dicho suelo. A su vez, la velocidad de mineralización depende de la humedad, la temperatura, el pH, la aireación y la relación C/N de la materia orgánica del suelo (van Leeuwen *et al.*, 2000), parámetros que, en diferente medida, son modificados por la acción de las cubiertas vegetales implantadas en el suelo. Las cubiertas vegetales también pueden influir en las micorrizas, asociaciones simbióticas que se establecen entre las hifas de algunos hongos y las raíces de las cepas. Las vides dependen de esas asociaciones para conseguir niveles adecuados de ciertos nutrientes, especialmente de fósforo (Gosling *et*

*al.*, 2006), por lo que el estado P-nutricional de la vid se verá afectado negativamente por la falta de dichas asociaciones (Schreiner, 2005). En un estudio con vides en invernadero, Cheng y Baumgartner (2004) realizaron el seguimiento del nitrógeno transferido a las cepas por medio de las asociaciones formadas por diversas especies leguminosas y gramíneas utilizadas como cubiertas vegetales, aunque observaron que ese nitrógeno provenía de los exudados o de la descomposición de las raíces de las cubiertas vegetales, no de una transferencia directa de las cubiertas a las cepas.

Por otro lado, Baldini (1992) observó que un suelo con cubierta vegetal presenta menor oscilación térmica que uno labrado e, incluso, con las cubiertas la eventual congelación alcanza menor profundidad. En primavera y verano, el calentamiento del suelo es más gradual y la temperatura se mantiene más estable, lo que promueve el desarrollo y mantenimiento de la fauna edáfica y de la biomasa microbiana (Reuter y Kubiak, 2003; Ingels *et al.*, 2005; Whitelaw-Weckert *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2008; Steenwerth y Belina, 2008). Montecinos (1998) observó que la actividad microbiológica y radicular se ve favorecida con las cubiertas en el suelo al controlar la humedad y la temperatura, lo que también evita cambios en el estado de oxidación del nitrógeno y su eventual pérdida por lixiviación u oxidación, resultados que posteriormente también observaron los autores anteriormente citados.

Además, la relación carbono soluble/nitrógeno inorgánico (suma de nitrato,  $\text{NO}_3^-$  y amonio,  $\text{NH}_4^+$ ), indicadora de la calidad del suelo, ya que determina el grado de mineralización de la materia orgánica, así como el tipo de humus y también la fertilidad del nitrógeno en el suelo, es menor en suelos cultivados que en suelos bajo praderas (Deluca y Keeney, 1993). Así, en los suelos donde el carbono disponible es limitante para la acción de los microorganismos, se produce la acumulación del  $\text{NO}_3^-$ . Por otro lado, la cantidad de carbono lábil (aquel cuya capacidad de mineralización es rápida, que representa la fracción de la materia orgánica más recientemente adicionada al suelo, que es un sustrato disponible para los microorganismos del suelo (Gregorich *et al.*, 1994) y que juega un papel esencial en el aporte de nutrientes del suelo (Zou *et al.*, 2005)), es sensible a la forma en la que se maneje el suelo (Riches *et al.*, 2013). La materia orgánica puede ser vulnerable a la degradación microbiana por tener componentes poco recalcitrantes (de mineralización más lenta que la fracción lábil). La mayor resistencia a la mineralización viene dada por un peso molecular mayor, una

estructura irregular y/o estructuras aromáticas, por escasa estabilización de los minerales de la arcilla o por poca protección de los agregados del suelo (Krull *et al.*, 2003). Así, con el laboreo se reduce la proporción de materia orgánica lábil presente en el suelo, mientras que con técnicas de no laboreo, la materia orgánica lábil se incrementa (Six *et al.*, 2000).

En consecuencia, el mantenimiento del suelo mediante la técnica de cubiertas vegetales supone una mejora en su calidad frente a la técnica del laboreo, debido principalmente a que el laboreo destruye agregados del suelo y facilita la pérdida de su materia orgánica. Se ha visto por tanto que, la calidad del suelo depende de un conjunto de propiedades, interrelacionadas entre sí, que determinan la disponibilidad de nutrientes, agua y aire, fundamentales para la vida de la planta (Buckman y Brady, 1991). Sin embargo, la complejidad de las numerosas interacciones que se generan entre los diversos factores que intervienen en estos procesos, dificulta el estudio de los mismos y la obtención de conclusiones generales. Por tanto, es necesario estudiar individualmente cada ecosistema “clima-suelo-cubierta vegetal” para conocer cuál es la gestión del suelo más adecuada para el viñedo.

#### **I.4.1.2. Estructura del suelo e infiltración del agua**

La estructura del suelo está condicionada por el conjunto de partículas de minerales, materia orgánica y poros o huecos que forman los agregados estructurales del suelo. Como se ha comentado anteriormente, el uso de cubiertas vegetales favorece el incremento de los agregados presentes en el suelo. Además, reduce el número de pases de labor que son necesarios realizar con maquinaria pesada en la parcela respecto al laboreo, susceptible de que en esa capa superficial se forme una “costra o suela de labor” que dificulte la infiltración del agua, lo que posibilita una compactación menor del suelo. Esta menor compactación del suelo genera mayor cantidad de poros en los que pueden quedar retenidos el aire y el agua, por lo que la presencia de las cubiertas vegetales repercutirá además en la actividad de la microbiota del suelo, especialmente lombrices (Lal, 1989a,b) y nemátodos (Parker y Kluepfel, 2007; Coll *et al.*, 2009; Rahman *et al.*, 2009). Además de ese notable aumento de la porosidad del suelo, la presencia de las cubiertas vegetales aumenta la rugosidad en superficie, lo que entraña una mejora de la tasa de infiltración del agua (Le Bissonais *et al.*, 2004). Esta mejora de

las propiedades hidrodinámicas de la capa superficial del suelo (Dalland *et al.*, 1993; Celette, 2007) se ve favorecida porque, tal y como observó Budelman (1989), la presencia de una cubierta vegetal, que disminuye la evaporación del suelo y mejora sus propiedades físicas y la infiltración, aumenta la humedad de esos horizontes superficiales.

### **I.4.1.3. Erosión del suelo**

Las cubiertas vegetales, por medio de sus raíces, mantienen el suelo, disminuyendo en gran medida la posible pérdida del mismo y por tanto la erosión o formación de cárcavas o grietas (Tescic *et al.*, 2007). Dicha reducción de la erosión fue el motivo por el cual se empezaron a utilizar las cubiertas vegetales en las calles de los viñedos, sobre todo en aquellas zonas en las que la pluviometría es abundante o escasa pero torrencial, y/o en lugares con pendientes pronunciadas que favorecen la pérdida de suelo debido a la erosión hídrica. Por otra parte, ligado a la mejora de la estructura y de la compactación, y a la reducción de la erosión del suelo, las cubiertas vegetales favorecen la transitabilidad de la maquinaria tras una lluvia o un riego pronunciado mucho antes de lo que se podría hacer si el suelo estuviera labrado.

### **I.4.1.4. Fertilidad y estado hídrico del suelo**

El estado nutritivo del suelo está ligado a su estado hídrico. Las técnicas de manejo del suelo afectan de manera directa o indirecta a la disponibilidad de los nutrientes presentes en él, ya que los efectos son dinámicos, es decir, varían con el tiempo, el estado fenológico de la vid y las condiciones medioambientales. En regiones con condiciones climáticas mediterráneas, donde la reserva hídrica del suelo se ve fuertemente comprometida por condiciones climáticas estacionales (veranos secos y calurosos, otoños y primaveras templados e inviernos húmedos y suaves con heladas ocasionales), el uso de cubiertas vegetales no está muy extendido puesto que se considera que pueden competir con la vid por los recursos del suelo, especialmente en los momentos de máxima demanda. Sin embargo, la vid es una planta que, en relación a otros cultivos, tiene necesidades nutricionales bajas, incluso en condiciones de rendimientos elevados (Martínez de Toda, 1991; Mullins *et al.*, 1998; Schreiner y Scagel, 2006). Por otro lado, la asimilación mineral de las cepas depende del pH del

suelo y de su capacidad de intercambio catiónico, propiedades relacionadas también con la arcilla y con el contenido de materia orgánica presentes en el suelo.

El desarrollo y vigor de la vid están fuertemente relacionados con el nitrógeno asimilado (Delas *et al.*, 1991; Kliewer *et al.*, 1991; Choné *et al.*, 2006). Como se ha comentado anteriormente, la riqueza en nitrógeno mineral de un suelo depende de su nivel de materia orgánica y de las condiciones de humedad y temperatura del suelo, condicionadas a su vez por las características climáticas anuales. Asimismo, el tipo de técnica establecida para manejar el suelo puede tener también una incidencia importante en la disponibilidad del nitrógeno (Nerisoud y Parisod, 1983; Löhnertz, 1991). Así, Rodríguez-Lovelle *et al.* (1999) observaron que, independientemente del nivel de nitrógeno de partida, los suelos con cubierta vegetal fueron más pobres en nitrógeno mineral que aquellos con laboreo tradicional o que los sometidos a escarda química. Por lo general, la forma de nitrógeno del suelo afectada es la nítrica, cuyos niveles se reducen en presencia de una cubierta vegetal, mientras que la forma amoniacal no sufre apenas modificaciones (Rodríguez-Lovelle *et al.*, 1999). Schaller (1984) observó que cuando la intensidad de laboreo disminuye, se produce una reducción de la formación de nitratos. En cambio, una buena aireación del suelo, como la provocada en el proceso de labrado, favorece la formación de nitratos. La evolución del nivel de nitratos en suelos de viñedo pone en evidencia dos picos de mineralización. Los momentos de disminución importantes se asocian al consumo elevado por parte de la vid y/o de la cubierta y, a partir de septiembre, a las lluvias caídas y, por tanto, a la consecuente lixiviación de esta forma de nitrógeno (Rodríguez-Lovelle *et al.*, 1999). Según Nerisoud y Parisod (1983) y Schaller (1991), la pérdida por lixiviado es más débil en suelos bajo cubierta vegetal. Aún cuando los niveles de nitratos presentes en el suelo son bajos, la fluctuación de nitrógeno bajo cubierta vegetal es menor, lo que implicaría una disponibilidad del nitrógeno más regular que en un suelo desnudo (Nerisoud y Parisod, 1983). Schaller (1984) afirmó que las cubiertas vegetales ejercen un efecto tampón frente a la liberación de nitrógeno.

Por otro lado, la actividad fisiológica de las raíces resulta determinante en la capacidad de absorción de nutrientes del suelo. Por ejemplo, el potasio compite con otros cationes, especialmente con el magnesio, calcio, hierro y cinc. La relación K/Mg del suelo es importante ya que indica una carencia potásica cuando es menor a 0,1, o

una carencia magnésica cuando es superior a 1 y existe un equilibrio entre ambos elementos con valores comprendidos entre 0,2 y 0,3. Además, el contenido en potasio del suelo está relacionado con su porcentaje de arcilla, por lo que su disponibilidad aumentará en suelos con horizontes de acumulación de arcillas (Peregrina *et al.*, 2010a). También otros factores, como son las propias características de las variedades o de los portainjertos, pueden influir en la absorción y nutrición de las plantas. En este sentido, en lo que respecta al potasio, las variedades Garnacha y Cariñena son capaces de absorber gran cantidad de este elemento, mientras que Cabernet Sauvignon, Tempranillo, Merlot y Syrah lo absorben en cantidades menores. Por su parte, los portainjertos de la familia *Vitis rupestris* (110 R, 99 R, 1103 P, 140 Ru, ...) presentan una eficacia reducida en la absorción de potasio, mientras que los de la familia *Vitis berlandieri* (161-49 C, 5 BB, SO4, ...), incluso a niveles bajos de potasio en el suelo, presentan una elevada eficacia en su absorción. Esta diferencia se explica por la diversa capacidad de las raíces para absorber potasio, o la distinta capacidad de carga de potasio en el xilema y su transporte hasta los órganos verdes (Hidalgo, 2006). Aunque la cantidad de fósforo y potasio aportada por los residuos orgánicos no es muy elevada, se considera de forma algo simplificada, que estos dos elementos se encuentran en el suelo en formas directamente asimilables por el cultivo o que pasarán a estarlo en un plazo de tiempo razonablemente corto. Así, por lo general, en los suelos gestionados mediante cubierta vegetal se produce, respecto al laboreo convencional, un incremento del fósforo (Tescic *et al.*, 2007) y del potasio (Morlat y Jacquet, 2003; Thomas *et al.*, 2007; Bhogal *et al.*, 2009) disponibles en el horizonte superficial del suelo.

Respecto a los micronutrientes presentes en el suelo, la materia orgánica actúa como agente quelante, por lo que un aumento de ésta ocasionado por el uso de las cubiertas vegetales podría inmovilizar micronutrientes, que de otro modo estarían disponibles (Jackson, 2008; Brady y Weil, 2002), especialmente en los suelos de pH básico, como son la mayoría de los de la D.O.Ca. Rioja (Peregrina *et al.*, 2010a).

### I.4.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL VIÑEDO

Los efectos provocados en distintas propiedades y características del suelo por la acción de la cubierta vegetal afectan, de una u otra forma, al propio desarrollo de la vid, como se describe en los apartados siguientes.

#### **I.4.2.1. Volumen de suelo explorable por las raíces**

Como ya se ha mencionado anteriormente, la capacidad de adaptación de la vid a suelos de escasa fertilidad es mayor que en otras especies frutícolas. Este hecho se debe, probablemente, a la gran capacidad de exploración que presenta el sistema radicular de la vid en el volumen del suelo y subsuelo, su actividad durante todo el ciclo vegetativo y sus órganos perennes, los cuales actúan como importantes reservorios de nutrientes (Martínez de Toda, 1991). Según Hunter (1998), el crecimiento del sistema radicular de la vid depende de la disponibilidad de agua y del sistema de conducción el cual determina el volumen de partes aéreas de la planta en términos de superficie foliar expuesta. Sin embargo, la implantación de una cubierta vegetal en las calles del viñedo puede suponer una competencia directa por el uso del suelo explorable en las capas superficiales, repercutiendo en la absorción nutritiva e hídrica de la vid. Las cepas en las que se realiza laboreo convencional, por lo general, presentan un enraizamiento superficial, por lo que tienden a mejorar la disponibilidad hídrico-nutricional, induciendo desarrollos vegetativos mayores e incrementos de la producción (Rodríguez-Lovelle *et al.*, 1999). Por el contrario, la presencia de un cultivo vegetal en la calle del viñedo, reduce la densidad de raíces de la vid en los primeros 90 cm de suelo (Soyer, 1990), haciendo que tenga que buscar agua en horizontes más profundos. No obstante, Morlat y Jacquet (2003), observaron que la presencia de la cubierta vegetal en la calle produce un aumento del número de raíces finas de las cepas (diámetro < 1 mm) en las líneas del viñedo.

#### **I.4.2.2. Estado hídrico de la vid**

La competencia por los nutrientes del suelo suele ser más importante en viñedos establecidos en terrenos profundos y fértiles, y en climas frescos y húmedos que en aquellos viñedos con condiciones climáticas secas o con suelos poco profundos, en los que el descenso de humedad debido a la competencia con las cubiertas es el factor más determinante (Larchevêque *et al.*, 1998). Por lo general, durante la brotación y las primeras fases del crecimiento del pámpano, los requerimientos hídricos de la vid son bajos y su crecimiento se suele efectuar a partir de los carbohidratos almacenados en ciclos anteriores (Keller *et al.*, 1995). A partir de la floración de la vid, aumenta de

forma importante el consumo de agua, coincidiendo con el incremento de las temperaturas y la disminución de la humedad en el ambiente. Dry *et al.* (2001a,b) indicaron que un exceso de estrés hídrico entre el envero y la vendimia favorece la abscisión prematura de las hojas, fuentes de fotoasimilados, condicionando el agostamiento de la cepa y aumentando la susceptibilidad a los fríos invernales. Además, como las hojas viejas son las primeras en caer, pueden aparecer quemaduras en los racimos como consecuencia de la defoliación basal. Por otra parte, un exceso en la disponibilidad hídrica presenta efectos negativos para la planta ya que puede retrasar o impedir la parada de crecimiento vegetativo, dificultando así la maduración de las bayas y la acumulación de las reservas al competir con los fotoasimilados (Düring, 1994).

Como se ha visto en el apartado anterior, la presencia de cubiertas vegetales en el suelo del viñedo reduce la densidad de las raíces de la vid en la capa superficial del suelo, obligándola a buscar el agua en horizontes más profundos. Para establecer un equilibrio con la nueva competencia por el recurso hídrico del suelo, la vid reduce su superficie foliar (Morlat *et al.*, 1993a; Rodríguez-Lovelle *et al.*, 1999), afectando de esta manera a su vigor y desarrollo. La reducción de la superficie foliar de la vid implica una mejora en la exposición de los racimos durante el proceso de maduración. Este hecho influye de manera positiva en la uva, tanto a nivel sanitario, ya que al reducir la superficie foliar se favorece la aireación de los racimos, reduciéndose la diferencia de humedad entre el interior y el exterior de la masa foliar y, por tanto, las condiciones son menos propicias para el desarrollo de microorganismos patógenos (Smart, 1991; Smart y Robinson, 1991), como a nivel de maduración de la uva, ya que al reducir la masa vegetativa se disminuye el grado de sombreado de los racimos, produciéndose una maduración más homogénea de los mismos.

### **I.4.2.3. Estado nutritivo de la vid**

La nutrición mineral de la vid influye de manera determinante en la calidad de la vendimia (Fregoni, 1998; García-Escudero *et al.*, 2001). En los ecosistemas mediterráneos, junto con las restricciones hídricas (Tesci *et al.*, 2007), los dos nutrientes que más frecuentemente limitan el crecimiento de las plantas son el nitrógeno y el fósforo (Gallardo *et al.*, 2009), aunque el nitrógeno, mucho más móvil en los ecosistemas terrestres, se exporta con mayor facilidad que el fósforo (Vitousek y

Howarth, 1991). Por ello, en ecosistemas sometidos a frecuentes perturbaciones, es más probable encontrar limitación por el nitrógeno que por el fósforo (Sardans *et al.*, 2004). En el caso de la vid, se produce la mayor demanda nutritiva durante el período de mayor crecimiento vegetativo y, también, durante el período de crecimiento de las inflorescencias, coincidiendo con el inicio de la floración y el cuajado, respectivamente (Conradie, 1980; Löhnertz, 1991; Mullins *et al.*, 1998). La absorción y el almacenamiento de nutrientes en las estructuras permanentes de la vid se producen a lo largo de su período de crecimiento. No obstante, desde el punto de vista nutricional, también es importante el período de postvendimia, en el que se restituye el nivel de nutrientes de reserva (procedentes de las raíces y de la madera vieja), reducidos durante la campaña (Mullins *et al.*, 1998). La nutrición nitrogenada de la vid refleja en gran medida la disponibilidad de este elemento en el suelo. Así, modificaciones del nivel de nitrógeno en la vid que pueda provocar la competencia con las cubiertas vegetales, afectan no sólo a su nutrición y desarrollo sino también a sus reservas (Rodríguez-Lovelle *et al.*, 1999). El nitrógeno de las reservas es esencial en el inicio del nuevo ciclo de desarrollo de la vid, ya que el nuevo crecimiento depende estrechamente de la redistribución del nitrógeno previamente almacenado (Peacock *et al.*, 1989; Millard y Neilsen, 1989; Bates *et al.*, 2002). Williams (1991) estimó que el 40 % del nitrógeno requerido por la vid para un nuevo crecimiento vegetativo y reproductivo, proviene de sus reservas. En consecuencia, el efecto provocado por la cubierta vegetal sobre la nutrición nitrogenada, lo que condiciona la acumulación de nitrógeno en cada ciclo vegetativo con la consecuente incidencia sobre su posterior removilización, repercute a largo plazo en el desarrollo de la vid. Las siegas periódicas efectuadas sobre la cubierta vegetal, favorecen el relativo reciclado del nitrógeno que fijan temporalmente, aunque la nueva disponibilidad para la vid vendrá condicionada por la duración y la calidad del proceso de mineralización en el suelo (Rodríguez-Lovelle *et al.*, 1999).

En relación a otros nutrientes importantes, especialmente el fósforo, potasio, magnesio y calcio, también su disponibilidad puede verse afectada por la presencia de las cubiertas vegetales en el suelo, ya que, según Conradie (1981), menos del 10 % de los requerimientos anuales de la vid respecto a estos nutrientes provienen de sus reservas. Así, Peregrina *et al.* (2010b) encontraron que hubo correlación positiva entre el carbono orgánico y el contenido en fósforo Olsen en los suelos de un viñedo de la D.O.Ca. Rioja, por lo que la modificación de la materia orgánica por parte de la cubierta

podría provocar diferencias en la disponibilidad del fósforo. Además, se ha encontrado que existe antagonismo entre el nitrógeno y el fósforo (Spring, 2001; Spring y Delabays, 2006). Por lo general, la disponibilidad de la mayoría de los nutrientes depende de todos aquellos procesos que modifiquen el suelo, por lo que en mayor o menor medida está influenciada por la competencia ejercida por las cubiertas vegetales en el suelo. Así, por ejemplo, el azufre se ve afectado por fenómenos de óxido-reducción que ocurren en el suelo, que a su vez dependen de la temperatura, la humedad y el pH del mismo, propiedades susceptibles de ser modificadas por la presencia de las cubiertas vegetales (Hidalgo, 2006).

#### **I.4.2.4. Vigor y producción de la vid**

El agua y el nitrógeno, dependiendo de las características del suelo, son los dos factores que repercuten en mayor medida sobre el vigor de la vid y la calidad de la uva y del vino (Choné *et al.*, 2001). Un exceso de nutrición mineral o hídrico, puede provocar un aumento del vigor de la vid, lo que puede traducirse en una disminución de la calidad de la vendimia debida, principalmente, a la competencia por los asimilados existente entre el crecimiento vegetativo y la maduración del racimo, que provoca una disminución de los compuestos fenólicos y aromáticos (Delas, 2000) y de la cantidad de azúcares. Así, vigores excesivos en la vid conllevan un retraso en la maduración del racimo provocando problemas en la madurez de las bayas, en la síntesis de aromas y de otros compuestos orgánicos que definen la calidad de un vino.

La incidencia de la implantación de cubiertas vegetales en la disponibilidad del agua y del nitrógeno del suelo, puede reducir tanto el vigor como el rendimiento de la vid (Düring, 1994; Dry *et al.*, 2001a,b), aunque su repercusión dependerá de diversos factores relacionados con el suelo (cantidad de materia orgánica, textura, fertilidad, entre otros) y con el manejo de la cubierta (años transcurridos desde su implantación, siegas, especie utilizada) (Celette *et al.*, 2005; Ingels *et al.*, 2005; Wheeler *et al.*, 2005; Tesic *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2008; Ripoché *et al.*, 2011; Steenwerth *et al.*, 2013). A pesar de que la superficie foliar primaria suele verse poco afectada con la presencia de la cubierta vegetal en el viñedo, el desarrollo de los nietos se ve disminuido, de manera que la vegetación y la masa foliar de la vid es menos densa. Tal circunstancia favorece a su vez la calidad de las uvas, ya que se facilita que los racimos intercepten más

radiación, por lo que se produce un aumento en los sólidos solubles totales de los mismos (Dokoozlian y Kliewer, 1996a). Sin embargo, si se alcanzan temperaturas superiores a 37 °C en las bayas, esa acumulación de azúcares puede llegar a inhibirse (Kliewer, 1977). Además de la mayor radiación y temperatura alcanzadas por los racimos debido al menor desarrollo vegetativo de las cepas, también se favorece su aireación (Dokoozlian y Kliewer, 1996a,b), lo que genera condiciones menos favorables para el desarrollo de determinados hongos y parásitos y, por tanto, aumenta la eficacia de las aplicaciones de los tratamientos fitosanitarios, o incluso es necesario aplicar menos. Además, la competencia de la cubierta vegetal por los nutrientes y por el agua puede afectar al tamaño de los racimos y de las uvas y también a la fertilidad (número de racimos producidos por yema) de la vid, hecho que, al contrario de lo que ocurre con otros cultivos, en determinadas ocasiones es buscado por el viticultor. Además, algunas denominaciones de origen, como es el caso de la D.O.Ca. Rioja, limitan la producción de las cepas, por lo que parece lógico mantener un sistema de cultivo que facilite una producción equilibrada, dentro de los límites regulados, y que pueda evitar tener que realizar costosas operaciones en verde antes de la vendimia.

#### I.4.3. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL MOSTO Y DEL VINO

La incidencia que la gestión vitícola del suelo mediante el uso de cubiertas vegetales ejerce sobre la composición y la calidad del mosto y del vino, está ligada principalmente a la disponibilidad del agua y de los nutrientes que la vid es capaz de absorber del suelo. Por ejemplo, niveles óptimos de nitrógeno estimulan la síntesis de ácido málico, potasio y ácido tartárico.

Por las características y complejidad del ciclo del nitrógeno en el suelo, y por el papel esencial que desempeña en procesos fundamentales del metabolismo y desarrollo de la vid, afectando además a la calidad de la uva y a la tipicidad, a las características organolépticas y propiedades saludables del vino, su estudio se aborda en el Apartado I.5.

El potasio es el catión más abundante en el citoplasma de las células y presenta gran movilidad en la planta (Marschner, 1995). Desempeña funciones principales a

nivel fisiológico y biológico, como son la activación del sistema enzimático, la regulación del potencial osmótico, la síntesis de proteínas y almidón, así como el transporte y la translocación de asimilados a través de las membranas celulares (Mpelasoka *et al.*, 2003). El potasio estimula la actividad fotosintética y favorece la translocación de azúcares a la baya, lo que indirectamente beneficia la síntesis de compuestos fenólicos, relacionada con la presencia de carbohidratos en la vid durante la maduración de la uva. A medida que el crecimiento estacional avanza, el potasio se redistribuye desde las estructuras vegetativas de la cepa, principalmente las hojas, hacia los racimos (Conradie, 2004). Las bayas son órganos de acumulación muy exigentes en potasio, siendo el catión mayoritario en las uvas maduras, especialmente en el hollejo, con valores medios de 2.875 ppm (Hidalgo, 2006). Este elemento presenta gran interés para las características cualitativas del vino, ya que contribuye a incrementar el aroma, el grado alcohólico y las vitaminas C y B1 (tiamina), disminuye la acidez y mejora el sabor. También estimula la síntesis de aminoácidos, por lo que tiene gran importancia en la formación del “bouquet” del vino (Fregoni, 1980). Además, niveles adecuados de potasio ayudan a incrementar el contenido en polifenoles y el color de las bayas. Morris *et al.* (1980) establecieron que valores altos de pH en mostos, producidos por niveles de potasio excesivos, no afectan al contenido total de antocianos en el hollejo, pero reducen las coordenadas de color de los mostos. Otros autores como Spring y Delabays (2006) mostraron que aportes equilibrados de potasio producen el efecto contrario al de niveles excesivos de nitrógeno en el viñedo, tanto respecto al rendimiento de la vid, que lo reducen, como al contenido de azúcares del mosto, que aumenta. Además, un exceso de potasio en las bayas, reduce el ritmo de degradación del ácido málico durante la maduración, al impedir su transporte hacia las vacuolas del citoplasma, lugar donde se degrada este ácido (Hidalgo, 2006).

Como ya se ha comentado, la reducción del vigor y de la masa vegetal del viñedo aumentan la exposición al sol de las bayas, por lo que, durante la maduración de los racimos, se produce una mayor acumulación de azúcares, mayor síntesis de compuestos fenólicos y una disminución de los ácidos (Spayd *et al.*, 2002). Debido a esto, con el uso de las cubiertas vegetales en el viñedo, se pueden modificar parámetros enológicos del mosto, como el grado alcohólico probable, la acidez total y el ácido málico, así como parámetros de color (Aguirrezábal *et al.*, 2012).

#### I.4.4. OTROS EFECTOS DE LAS CUBIERTAS VEGETALES

##### I.4.4.1. Control biológico de plagas

La presencia de cubierta vegetal en el suelo promueve mayor diversidad en el ecosistema, no sólo por mantener la humedad en superficie durante más tiempo que el suelo desnudo, sino por los efectos beneficiosos que provoca en el suelo. Así, las cubiertas vegetales atraen a gran número de artrópodos, predadores como *Ambliseius fallacis* y parásitos como *Anagrus spp.*, pudiendo incluso fomentar interacciones, positivas o negativas, entre la fauna asociada a ellas. A nivel radicular, la cubierta vegetal proporciona un medio más estable que permite el desarrollo de nemátodos beneficiosos y depredadores que impiden el crecimiento explosivo de plagas (Mayse *et al.*, 1995). Así, en un ensayo realizado en Languedoc, sur de Francia, Coll *et al.* (2009) observaron, que la cubierta de *Lolium perenne* L. y *Festuca arundinacea* L. fue capaz de restablecer la actividad biológica del suelo, aumentando principalmente la población de hongos y nemátodos, usados como indicadores de calidad del suelo, frente a un tratamiento en el que trataban químicamente las malas hierbas de la calle del viñedo.

##### I.4.4.2. Proliferación de malas hierbas

Al implantar cubiertas vegetales en el viñedo puede reducirse la población de otras especies vegetales que, de forma indeseada pudieran surgir en la calle, bien sea por la competencia por los nutrientes y el agua, el bloqueo del paso de luz que realiza la propia cubierta o los residuos vegetales dejados por el corte o segado de la misma, o por los exudados radicales con efectos alelopáticos que produzcan (Hinojosa y Pino, 2000). Esta reducción de población de especies vegetales en el viñedo, conlleva una disminución de la necesidad de aplicar herbicidas químicos, asociados a la aparición de inversión y resistencia de flora, así como a la presencia de residuos químicos en las plantas y su eventual paso a la capa freática del suelo (Boubals, 1991), que hay que realizar sobre el suelo, con la consiguiente repercusión en el medio ambiente.

### I.4.4.3. Imagen comercial del vino

El uso de las cubiertas vegetales en viticultura también puede tener repercusión a nivel de imagen de marca (marketing). Con al auge del enoturismo, muchas bodegas aprovechan para poner cubierta vegetal en los viñedos que rodean a la bodega, o que son visitados con los grupos de turistas con el objetivo de que el consumidor se lleve una imagen más “verde” de la viticultura practicada por la bodega puesto que, además, las cubiertas embellecen el paisaje.

### I.4.4.4. Desarrollo de hongos parásitos, reservorio de plagas y susceptibilidad a heladas

La implantación de cubiertas vegetales también puede provocar algunos cambios indeseables o que pueden perjudicar al viñedo (Reynier, 2005). En función de la altura a la que se mantenga segada la cubierta y de las características de la parcela y de la propia especie utilizada, aumenta la densidad de vegetación de la parcela, incrementando la humedad en el ecosistema, lo que, en momentos determinados del ciclo vegetativo de la vid, puede ser contraproducente y provocar condiciones favorables para el desarrollo de hongos patógenos como mildiu (*Plasmopara viticola*), botrytis o podredumbre gris, u oídio, que pueden comprometer la calidad de la baya. Así, Delas *et al.* (1991) observaron que una fertilización excesiva con nitrógeno, que favorece el desarrollo vegetativo tanto de las cubiertas vegetales como de la propia vid, generaba condiciones ambientales más favorables para el desarrollo de la botrytis de bayas de cv. Merlot. Sin embargo, por lo general, las cubiertas vegetales disminuyen el contenido de agua del suelo, lo que posibilita una pared vegetativa del viñedo más abierta reduciendo la incidencia de botrytis (Morlat y Jacquet, 2003; Tesic *et al.*, 2007). Además, las cubiertas pueden actuar de reservorio de plagas que pudieran afectar, en mayor o menor medida, al desarrollo óptimo de la vid (Guerra y Stenweerth, 2012). Por ejemplo, ciertos gusanos, que prefieren alimentarse de especies de cubiertas de hoja ancha que de especies de pradera, pueden provocar una reducción del número de yemas que brotan al principio de la primavera (Olmstead, 2006).

Por otra parte, la cubierta vegetal actúa de capa aislante del suelo, siendo el calentamiento en primavera más lento, por lo que su temperatura disminuye y, junto con

el aumento de la humedad del aire en torno al suelo, su implantación acrecenta el riesgo de heladas primaverales del suelo respecto a si se mantiene labrado (Ingels *et al.*, 2005; Celette *et al.*, 2008, 2009).

## I.5. IMPLICACIÓN DEL NITRÓGENO EN LA VITIVINICULTURA

De los dieciséis nutrientes considerados *esenciales* para el óptimo desarrollo de todas las plantas, tres de ellos, carbono, hidrógeno y oxígeno, se extraen principalmente del aire, en forma de CO<sub>2</sub> o del agua del suelo, por lo que presumiblemente las necesidades de las plantas de estos elementos se ven siempre satisfechas (Navarro García y Navarro García, 2013). En función de la mayor o menor cantidad en que son requeridos por los vegetales, los otros trece elementos esenciales se subdividen en macronutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio y magnesio) y micronutrientes (hierro, boro, manganeso, molibdeno, cobre, zinc y cloro), siendo obtenidos mayoritariamente del suelo. Los elementos minerales que se encuentran en el suelo en un estado de equilibrio dinámico, son tomados por las raíces de la solución del suelo y transportados a la planta por un flujo de agua generado en la transpiración (Delas, 2000). Todos estos elementos son denominados esenciales porque su requerimiento es específico, es decir, no pueden ser reemplazados por ningún otro, juegan papeles imprescindibles y presentan influencia directa en el desarrollo, crecimiento, metabolismo y reproducción de las plantas (Benton, 1998).

El suelo es un medio heterogéneo, complejo y dinámico, que sufre continuamente acciones que generan, modifican o destruyen los nutrientes. Además, los enlaces físicos y químicos que se producen en el suelo, pueden retener en mayor o menor medida a los elementos, comprometiendo su disponibilidad para la planta. Los iones disueltos en la solución del suelo están a libre disposición de las raíces. Sin embargo, los que están unidos al complejo de cambio sólo estarán disponibles conforme vayan entrando en la solución por fenómenos de intercambio iónico. La capacidad de intercambio catiónico se incrementa con el contenido de arcilla y de materia orgánica (Peregrina *et al.*, 2010a). Así, en el complejo de cambio, la energía de enlace entre los iones es muy diversa. De este modo, en el caso de los fosfatos, la energía de unión es muy alta, por lo que se presentan en baja concentración en la solución del suelo, o

intermedia en el caso del calcio, potasio y magnesio y débil para la mayoría de los aniones, con excepción de los fosfatos.

### I.5.1. DISPONIBILIDAD DEL NITRÓGENO EN EL SUELO. EL CICLO DEL NITRÓGENO

Junto con el carbono y el oxígeno, el nitrógeno es el más complejo y crucial de los elementos esenciales para la vida (Kenney y Hatfield, 2008). Además, es un componente específico de las proteínas y está presente en la mayor parte de las combinaciones orgánicas de las plantas, A.D.N. y clorofila, siendo el nutriente más importante para el crecimiento de los cultivos (Crespy, 2007). En las plantas, en términos cuantitativos es el cuarto elemento mineral, representando entre un 1 y un 4 % de su materia seca (Hopkins, 2003). Sin embargo, la mayor fuente y reserva de nitrógeno es la forma molecular ( $N_2$ ), gaseosa, que constituye el 78 % del aire terrestre (Hirschfel, 1998). Así, a excepción de las leguminosas y de otros organismos vegetales muy concretos, capaces de fijar dicho nitrógeno molecular atmosférico por vía simbiótica microbiana y, de las pequeñas cantidades de amoníaco gaseoso que, en determinados momentos, pueden fijar de la atmósfera las partes aéreas de las plantas, la mayoría de las plantas cultivadas no pueden metabolizar directamente el  $N_2$  para transformarlo en proteínas. Por ello, es en el suelo donde, fundamentalmente, las plantas encuentran el nitrógeno que necesitan para vivir. No obstante, más del 95 % del nitrógeno incorporado se acumula en el suelo en forma orgánica, no asimilable directamente por las plantas (Haynes, 1986; Havlin *et al.*, 1999). Tras sufrir una serie de transformaciones, dichas formas orgánicas del nitrógeno se convierten en formas minerales, que constituyen el sustento de la biomasa en crecimiento, plantas y animales. El nitrato,  $NO_3^-$  y el amonio,  $NH_4^+$ , son las principales formas inorgánicas del nitrógeno y, normalmente, representan entre el 2 y el 5% del nitrógeno total del suelo (Havlin *et al.*, 1999).

El ciclo del nitrógeno en el sistema suelo-planta-atmósfera involucra una serie de interacciones y procesos entre formas orgánicas e inorgánicas que lo transforman (Figura I.10). Además, el ciclo de otros nutrientes, sobre todo el del fósforo y el del azufre, está estrechamente ligado a las transformaciones bioquímicas del nitrógeno. Las distintas prácticas de manejo del suelo son uno de los factores que pueden influir sobre

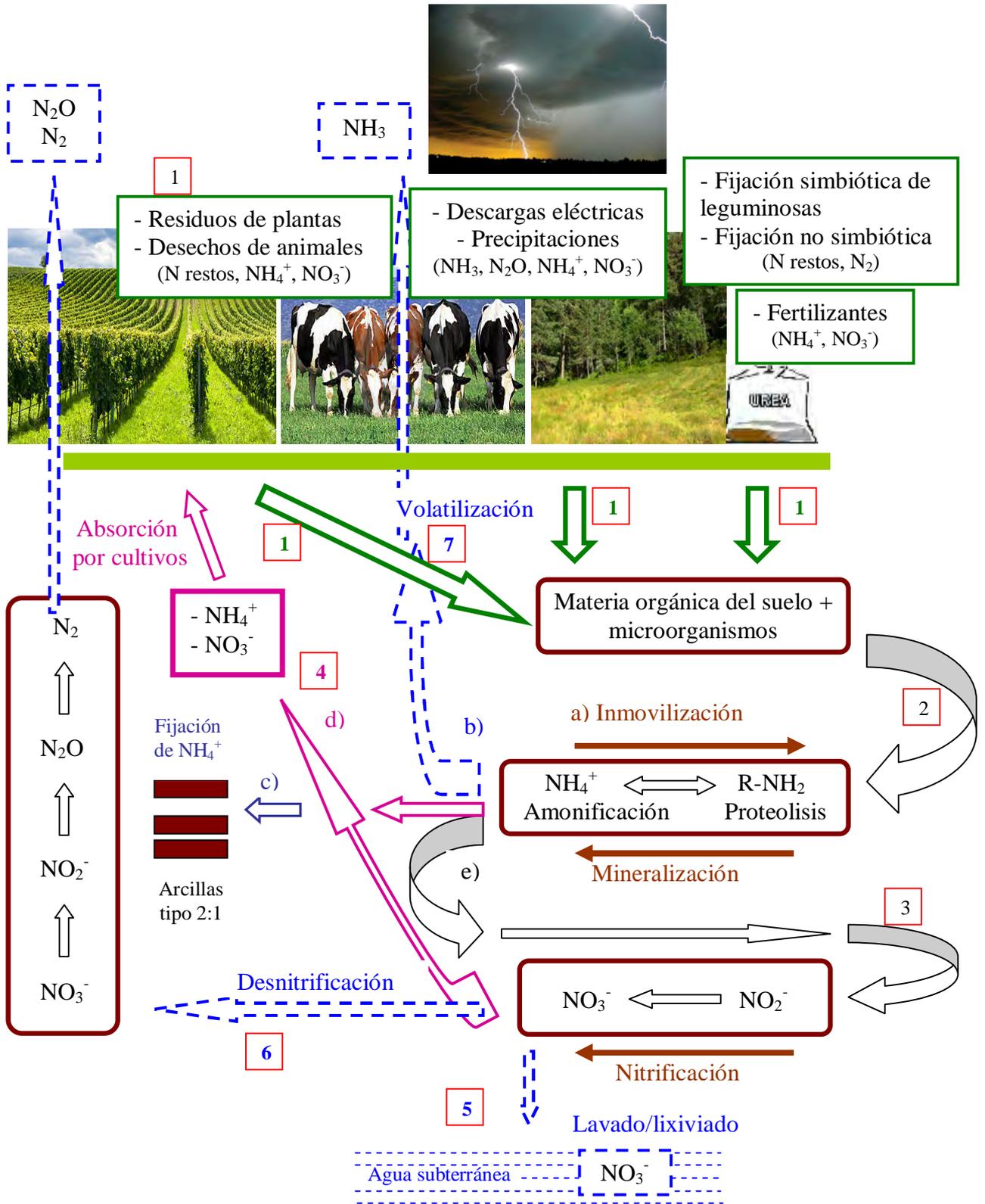
muchos de estos procesos (Maigre y Aerny, 2001; Spring, 2001), por lo que el conocimiento del ciclo del nitrógeno y de cómo influye la actividad antrópica sobre él, puede permitir optimizar la producción de los cultivos y reducir los impactos de la fertilización en el medio ambiente (Havlin et al., 1999).

A continuación se explica brevemente cada uno de los procesos implicados en el ciclo del nitrógeno (Figura I.9).

### **1) Aportes de nitrógeno al suelo**

Originalmente, el nitrógeno del suelo proviene de residuos de plantas y animales y del N<sub>2</sub> gaseoso procedente de la atmósfera a través de descargas eléctricas, quema de combustibles fósiles y procesos industriales. Además, otra parte del nitrógeno del suelo puede proceder de la fijación simbiótica entre especies de leguminosas y bacterias de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, fijadoras de N<sub>2</sub> y, en menor medida, de la fijación no simbiótica realizada por gran variedad de microorganismos como bacterias (*Clostridium*, *Azospirillum* y *Azotobacter*), cianobacterias y actinomicetos (Follet, 2008). En zonas antropizadas, el nitrógeno presente en el suelo también puede proceder de los fertilizantes y abonos orgánicos aplicados a los cultivos (Figura I.9).

Por su importancia en los ecosistemas agrícolas, en el Apartado I.5.1.1 se detalla el proceso de fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico llevado a cabo por las leguminosas en asociación con organismos fijadores.



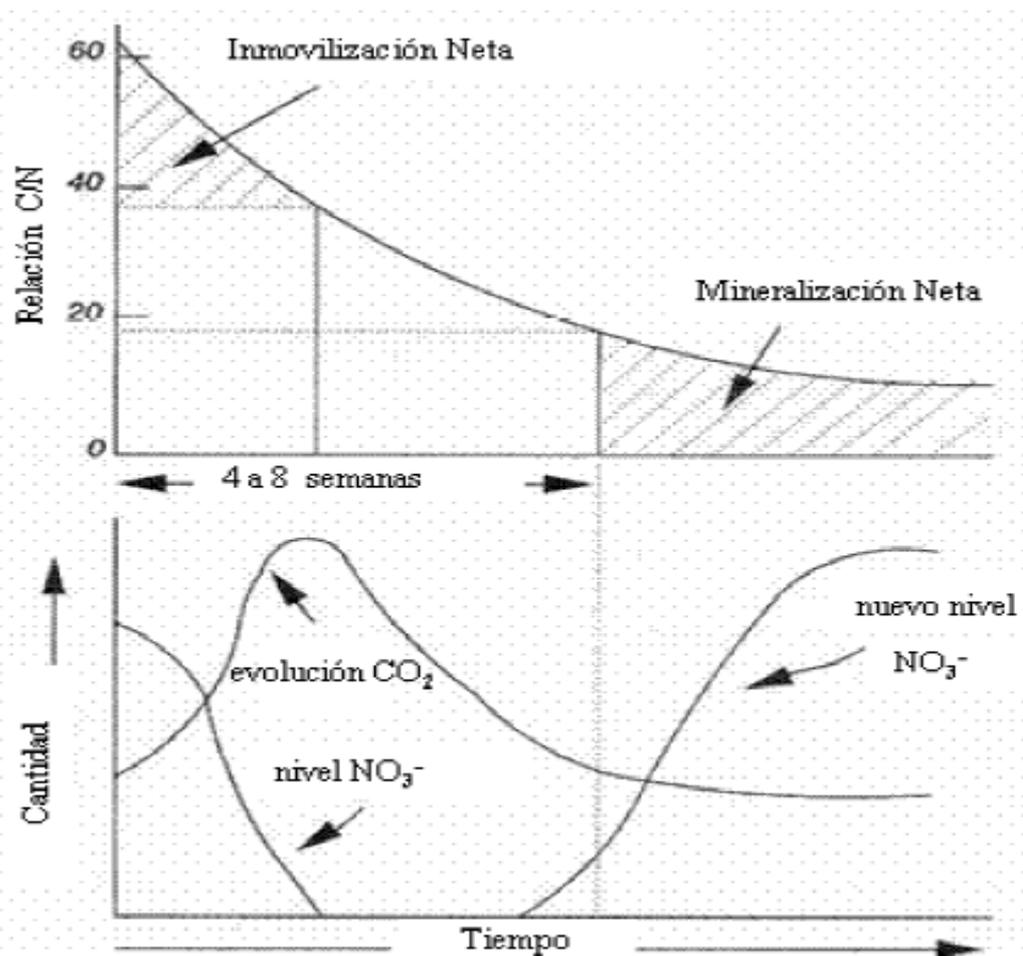
**Figura I.9.** Esquema general del ciclo del nitrógeno en el sistema suelo-planta-atmósfera. Adaptado de Havlin *et al.* (1999) y Rowell (1996). Procesos más importantes: 1) Aportes de N al suelo, 2) Mineralización/Inmovilización, 3) Nitrificación, 4) Absorción del N del suelo por los cultivos, 5) Pérdida de nitratos, 6) Desnitrificación biológica, 7) Volatilización del N.

## 2) Fijación del nitrógeno: mineralización/inmovilización

Una característica principal del ciclo del nitrógeno en el suelo es su continua transformación desde la fase orgánica (nitrógeno insoluble) a la fase inorgánica o mineral (nitrógeno soluble) a través de los procesos de *mineralización* e *inmovilización*, realizados por la biomasa microbiana (Figura I.9). Ambos procesos ocurren simultáneamente en el suelo, y es la relación C/N en los residuos orgánicos que se degradan o descomponen, la que determina si el efecto neto es un incremento o una disminución del nitrógeno mineral disponible para las plantas. Para la materia orgánica fresca, esta relación es elevada y va descendiendo durante su proceso de degradación, o humificación, hasta estabilizarse en valores próximos a 10/1, aunque los microorganismos siguen actuando hasta mineralizarla por completo (Urbano-Terrón, 2002).

Los microorganismos del suelo, sean de vida libre o asociados simbióticamente con las plantas, fijan el  $N_2$  formando nitrógeno orgánico en forma de grupos amino ( $-NH_2$ ), en las proteínas. Este nitrógeno pasa entonces a formar parte de la materia orgánica del suelo. Así, el nitrógeno orgánico de los residuos y del suelo es *mineralizado* a  $NH_4^+$  (nitrógeno inorgánico o mineral) por los microorganismos heterótrofos del suelo, los cuales utilizan sustancias orgánicas con carbono en su estructura como fuente de energía. Este paso de nitrógeno orgánico a  $NH_4^+$ , proceso lento comparado con otras transformaciones del nitrógeno producidas en el ciclo, involucra a su vez dos reacciones: una aminización (ruptura de las proteínas para transformarlas en aminas, aminoácidos y urea (Tisdale *et al.*, 1993)), y una amonificación (las aminas y los aminoácidos son descompuestos por microorganismo heterótrofos, los cuales liberan  $NH_4^+$ ) (Stevenson y Cole, 1999). A la vez discurre la mineralización, se produce la *inmovilización*, conversión del nitrógeno inorgánico a nitrógeno orgánico, a través de la incorporación del nitrógeno inorgánico a la biomasa microbiana y al humus (Stevenson y Cole, 1999) (Figura I.9). La inmovilización ocurre cuando los microorganismos no pueden satisfacer sus necesidades de nitrógeno desde los compuestos orgánicos de los cuales se están alimentando. Como resultado, los microorganismos incorporan nitrógeno mineral a su organismo, inmovilizándolo y, liberan carbono, en forma de  $CO_2$ , como consecuencia del proceso de degradación de la materia orgánica. En general, a mayor cantidad de materia orgánica en el suelo, mayor

será la actividad microbiana, con una sustancial parte del nitrógeno mineralizado originado de la descomposición de residuos frescos. De este modo, la mineralización de la materia orgánica podría suplir las necesidades de nitrógeno de la vid, incluso con el empleo de cubiertas vegetales (Thiebeau *et al.*, 2005). Normalmente el cambio en la cantidad del nitrógeno mineral acumulado en el suelo se mide dentro de un período de tiempo dado y, considerando las pérdidas por lixiviación, desnitrificación y volatilización, se calcula un efecto neto, es la denominada *mineralización neta*. Para que se produzca una mineralización neta, la relación C/N de la materia orgánica en descomposición debe ser inferior a 20/1, lo que conlleva una liberación y acumulación de nitrógeno en el suelo (Stevenson y Cole, 1999) (Figura I.10). En los suelos agrícolas predominan los procesos de mineralización, estabilizándose la relación C/N entre 10 y 13 (Havlin *et al.*, 1999). No obstante, es importante tener en cuenta la cantidad de nitrógeno que inmovilizan los microorganismos, cuya magnitud depende principalmente del tipo de especie utilizada como cubierta vegetal. Así, por ejemplo, los cereales con alta relación C/N, inmovilizan más nitrógeno que las leguminosas, con relación C/N mucho menor (Hirschfeld, 1998). A medida que un resto vegetal se va descomponiendo, se enriquece cada vez más en nitrógeno y se empobrece en carbono, por lo que la relación C/N disminuye hasta que ésta alcanza la relación C/N del tejido microbiano, la cual, por término medio está cercana a 10/1. Entonces se considera que todo el residuo vegetal ha sido descompuesto. Una parte del carbono y del nitrógeno del residuo vegetal pasa a formar parte del tejido microbiano y la otra parte es mineralizada como CO<sub>2</sub> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.



**Figura I.10.** Cambios en el nivel de  $\text{NO}_3^-$  durante la descomposición de residuos de cultivo en el suelo. Stevenson y Cole (1999).

El  $\text{NH}_4^+$  producido en la mineralización puede seguir varios caminos (Figura I.9):

- a) Ser utilizado por microorganismos heterótrofos para descomponer más residuos orgánicos carbonados y formar sus propias proteínas, proceso de inmovilización del amonio.
- b) Liberarse lentamente a la atmósfera por volatilización (proceso 7, Figura I.9).
- c) Quedar fijado por minerales arcillosos o adsorbido por el complejo de cambio del suelo.
- d) Ser absorbido directamente por las plantas superiores (proceso 4, Figura I.9).
- e) Convertirse a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y  $\text{NO}_3^-$  por nitrificación (proceso 3, Figura I.9).

### 3) Nitrificación

Una gran parte del  $\text{NH}_4^+$  es convertido a  $\text{NO}_3^-$  por microorganismos nitrificadores en un proceso llamado *nitrificación* (Stevenson y Cole, 1999). Consiste en la oxidación del  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_2^-$  y de éste a  $\text{NO}_3^-$ . Estas dos reacciones son llevadas a cabo por microorganismos autótrofos específicos, bacterias nitrificantes, del género *Nitrosomonas* (Ec.1) y *Nitrobacter* (Ec.2), respectivamente. Estos microorganismos, que obtienen su energía de este proceso oxidativo, son aerobios estrictos, por lo que las condiciones de humedad y aireación del suelo resultan fundamentales para su actividad.

*Nitrosomonas*



*Nitrobacter*



Estas reacciones son mucho más rápidas que la transformación del nitrógeno orgánico a  $\text{NH}_4^+$ , por lo que, normalmente, el  $\text{NO}_3^-$  es la forma de nitrógeno mineral con mayor presencia en el suelo. Con pH en el suelo superior a 8, como ocurre en la mayoría de los suelos de la D.O.Ca. Rioja, la transformación de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_2^-$  es la más limitante (Ec.1). Al contrario que el  $\text{NH}_4^+$ , que es retenido por el complejo de cambio del suelo, el  $\text{NO}_2^-$  y el  $\text{NO}_3^-$  son móviles en la solución del suelo (Follet *et al.*, 2010). Así, el  $\text{NO}_3^-$  obtenido en la nitrificación puede ser absorbido por las raíces de las plantas junto al agua del suelo, sufrir un proceso de desnitrificación o perderse por lixiviación con el agua de drenaje (números 4, 5 y 6 de la Figura I.9, respectivamente).

### 4) Absorción de nitrógeno por las raíces de las plantas

Tanto el  $\text{NH}_4^+$  como el  $\text{NO}_3^-$  son absorbidos por las raíces de las plantas y utilizados para la síntesis de proteínas. Normalmente, los cultivos absorben la mayor parte del nitrógeno en forma de  $\text{NO}_3^-$  (Hageman, 1984), que es la forma de nitrógeno soluble dominante en el suelo y, además, por lo general, las condiciones de los suelos permiten la acción de las bacterias nitrificantes. Así, por ejemplo, en suelos templados, húmedos y bien aireados, la forma de nitrógeno predominante es el  $\text{NO}_3^-$ , encontrándose en concentraciones muy superiores al  $\text{NH}_4^+$  (Robertson, 1997). Sin embargo, la

absorción amoniacal puede ser relevante cuando predomina en el suelo, por ejemplo en condiciones anaeróbicas, inmediatamente después de la aplicación de fertilizantes amoniacales, en suelos ácidos donde el proceso de nitrificación se ve reducido, o en épocas frías (Olson y Kurtz, 1982). En presencia de ambas formas de nitrógeno, la preferencia por una u otra varía según la especie y a lo largo del ciclo (Olson y Kurtz, 1982; Meisinger y Randall, 1991). Ambos iones se mueven hacia las raíces de las plantas por flujo masal, es decir, el generado por el flujo de agua asociado a procesos hidrológicos como la transpiración y la evaporación, y por difusión, movimiento térmico aleatorio de los iones en la solución del suelo que depende del gradiente de concentración del ión y de la temperatura. La absorción de  $\text{NO}_3^-$  es activa, es decir, supone gasto de energía e involucra a varias enzimas, como las nitrato permeasas que catalizan su paso a través de las membranas celulares (Schrader, 1984). Una vez absorbido, el  $\text{NO}_3^-$  puede ser almacenado en los tejidos radiculares, reducido y transformado en aminoácidos o depositado en el xilema para posteriormente ser transportado por los tallos.

### **5) Lavado o lixiviado del $\text{NO}_3^-$**

Como resultado del movimiento descendente del agua a través del perfil del suelo, una parte del  $\text{NO}_3^-$ , que debido a su carga negativa no es retenido por la fracción coloidal del suelo y por tanto es muy móvil, se pierde hacia las aguas de drenaje de las capas subterráneas, proceso denominado *lixiviación* (Figura I.9) (Stevenson y Cole, 1999; Follet, 2008). El nitrato es soluble en agua y no es adsorbido por las partículas del suelo a menos que éstas generen cargas positivas como, por ejemplo, los suelos ácidos de origen volcánico y los húmedos del trópico. A igualdad de otras condiciones, los suelos arenosos favorecen las pérdidas del  $\text{NO}_3^-$  por lixiviado y, por su parte, la presencia de un horizonte argílico desarrollado, reduce la velocidad de paso del agua a través del perfil y, por tanto, el lavado del  $\text{NO}_3^-$ . También influye la presencia de cubiertas o rastrojos en la superficie del suelo, puesto que aumentan la cantidad de agua que se infiltra, por lo que incrementa la probabilidad de lavado. Por otra parte, la presencia de un cultivo en crecimiento activo puede reducir las pérdidas de  $\text{NO}_3^-$ , ya que al absorberlo disminuye la concentración de soluto presente en el suelo y, además, absorbe agua, lo que provoca que haya un menor flujo de agua en movimiento por el suelo. La permeabilidad y estructura del suelo, la pendiente del terreno y el agua

presente son factores que, por afectar al proceso de escorrentía del agua presente en la capa superior del suelo, también pueden suponer la pérdida de nitrógeno de suelo (Follet, 2008; Follet *et al.*, 2010).

### 6) Desnitrificación biológica

La *desnitrificación* es un proceso de reducción biológica en la que una parte del  $\text{NO}_3^-$  presente en el suelo es convertida a óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y a  $\text{N}_2$  que escapan a la atmósfera (Ec.3), cerrando el ciclo (Figura I.9) (Firestone, 1982). El nitrato y el nitrito son reducidos a estas formas gaseosas de nitrógeno, por medio de microorganismos anaerobios facultativos que los utilizan, en lugar del  $\text{O}_2$ , como aceptores de electrones.



El aporte de energía que requiere este proceso viene de la materia orgánica de fácil descomposición presente en el suelo. Por eso, la tasa de desnitrificación tiende a ser máxima en los horizontes superficiales del suelo, donde se concentra la mayor parte de la materia orgánica. La anaerobiosis se produce, normalmente, como consecuencia del anegamiento de los suelos, siendo más frecuente en suelos poco permeables, con horizontes argílicos muy desarrollados. El  $\text{N}_2\text{O}$  es un gas de efecto invernadero que contribuye al cambio climático, con una larga vida en la atmósfera y cuya mayor fuente antropogénica es la agricultura (Follet, 2008). Relacionado con el aumento del  $\text{NO}_3^-$  acumulado en el suelo y, con los microespacios con condiciones anaerobias creados al labrar el suelo, según Calderón *et al.* (2001), el proceso de desnitrificación se favorece con el laboreo del suelo.

### 7) Volatilización

Parte del  $\text{NH}_4^+$  presente en el suelo puede ser convertido a amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) a través del proceso de *volatilización*, el cual supone la pérdida de  $\text{NH}_3$  en forma gaseosa desde las soluciones acuosas del suelo a la atmósfera (Figura I.9). El  $\text{NH}_4^+$  intercambiable del suelo se encuentra en equilibrio con el  $\text{NH}_4^+$  disuelto en la disolución del suelo. Bajo condiciones alcalinas, los iones amonio disueltos en el suelo son convertidos a moléculas de  $\text{NH}_3$  disueltas en la solución del suelo, las cuales después

pueden ser liberadas a la atmósfera (Ec.4). Este proceso es estrictamente químico, dependiente básicamente del pH de la solución del suelo y no hay intervención de microorganismos.



La proporción de nitrógeno amoniacal que se encuentra como  $\text{NH}_3$  será mayor en suelos con pH altos. La tasa de volatilización del  $\text{NH}_3$  está directamente relacionada con la concentración del  $\text{NH}_3$  que haya en la solución del suelo, determinada a su vez por el pH de la solución y por la concentración de  $\text{NH}_4^+$ . Así, las pérdidas por volatilización pueden ocurrir siempre que exista alta concentración de  $\text{NH}_3$  cerca de la superficie del suelo, generalmente, debido a la aplicación de fertilizantes amoniacales o materia orgánica que se descomponga fácilmente en la superficie de suelos neutros o alcalinos, o cuando se concentra un fertilizante alcalino amoniacal en un volumen limitado de suelo (Meisinger y Randall, 1991). Las pérdidas por volatilización de fertilizantes amoniacales pueden evitarse incorporándolos al suelo.

Como se ha podido observar, el ciclo del nitrógeno es complejo, lo que dificulta el cálculo de los requerimientos de este nutriente por parte de los cultivos. Estos requerimientos, a su vez, están altamente influenciados por la tasa de mineralización del nitrógeno en el suelo, es decir, la velocidad de transformación de la fase orgánica a la inorgánica, además de por la demanda de los cultivos, que varía según el cultivo y su estado fenológico. Los principales factores que influyen sobre la tasa de mineralización del nitrógeno son la materia orgánica, que es el sustrato para la actividad microbiana, el manejo agronómico (la aireación del suelo aumenta la mineralización, mientras que condiciones anaerobias disminuyen la actividad microbiana, causando acumulación de materia orgánica y poco nitrógeno mineral), el contenido de agua, la temperatura y el pH (condiciones ácidas reducen la tasa de descomposición de la materia orgánica y la liberación de nitrógeno mineral). La capacidad de una planta para agotar el nitrato del suelo depende de muchos factores como son la duración de la fase de crecimiento, la profundidad de la formación de raíces y la densidad de éstas, la disponibilidad de otros nutrientes, ya que deficiencias de fósforo y azufre limitan la absorción de nitrógeno, la incidencia de enfermedades, por ejemplo las producidas por hongos pueden reducir la absorción de nitrógeno y, la humedad del suelo, puesto que las condiciones

excesivamente secas o húmedas limitan la absorción de nitrógeno (Zagal *et al.*, 2003). Así, factores como la variedad (Stines *et al.*, 2000), el clima (Huang y Ough, 1989), las prácticas de manejo agronómicas (Kliewer *et al.*, 1991; Spring, 2001), o la fase de desarrollo de la planta (Meisinger y Randall, 1991), afectan en gran medida la tasa de absorción del nitrógeno del suelo por parte del cultivo.

### **I.5.1.1. Relevancia de la fijación biológica del nitrógeno: fijación simbiótica con leguminosas**

Todo el nitrógeno contenido en el suelo procede de la atmósfera, ya que no existen rocas nitrogenadas (Fuentes-Yagüe, 2002). Las leguminosas, a través de una asociación simbiótica con bacterias del género *Rhizobium*, son capaces de fijar el N<sub>2</sub> atmosférico y reducirlo, mediante la enzima nitrogenasa, a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, forma nitrogenada asimilable por las plantas. Este proceso se conoce como fijación biológica del nitrógeno realizada de manera simbiótica con leguminosas (Loomis y Connor, 2002). Para que se lleve a cabo dicho proceso de fijación de nitrógeno, las bacterias (rizobios) necesitan un ambiente anaerobio o microaerobio que por sí solas no son capaces de generar, por lo que necesitan interactuar con plantas de la familia de las leguminosas. Para ello, en las raíces de la planta huésped, se deben desarrollar nódulos simbióticos en los que las bacterias encuentran un ambiente controlado, así como los nutrientes que le aportan la energía necesaria para efectuar el proceso de fijación.

Para el desarrollo de los nódulos radicales, es necesario que se produzca un reconocimiento de ambos organismos, originado mediante la liberación de metabolitos secundarios de naturaleza flavonoide, a través de la raíz de la leguminosa, que hace que los rizobios sean atraídos químicamente y que activen una serie de genes implicados en la nodulación. Tras la adherencia de la bacteria a los pelos radicales de la leguminosa, se produce la invasión del pelo radical, la cual induce la formación, por parte de la planta, de un canal de infección. La bacteria excreta sustancias que estimulan la división de las células vegetales de las raíces adyacentes a los pelos radicales, produciéndose el nódulo. En su interior las bacterias se dividen y son rodeadas por la membrana de la planta. Cuando cesa su división, se transforman en unas formaciones ramificadas, hinchadas, denominadas bacteroides, momento a partir del cual puede comenzar la fijación del nitrógeno. El sistema vascular de la planta se extiende dentro del nódulo transportando nutrientes hacia y desde el nódulo (Fuentes-Yagüe, 2002).

El nitrógeno que aporta la fijación simbiótica depende de la composición físico-química del suelo y del suministro de fotoasimilados de la planta. Una alta disponibilidad de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo inhibe la fijación biológica de nitrógeno, debido a que a las bacterias, en general, les es menos costoso tomar el nitrógeno del suelo que tomarlo del aire. También la deficiencia hídrica en el suelo supone menor fijación simbiótica de nitrógeno. Sin embargo, la abundancia de fósforo, potasio y molibdeno en el suelo, favorece dicha fijación simbiótica (Paredes, 2013; Hirschfeld, 1998; Fuentes-Yagüe, 2002).

### I.5.2. IMPORTANCIA DEL NITRÓGENO EN EL DESARROLLO DE LA VID

Según Castelan-Estrada (2001), la biomasa de los sarmientos se correlaciona con el contenido de carbono y las reservas de nitrógeno de la planta. Ambos elementos están correlacionados con las reservas de carbohidratos y de nitrógeno presentes en los órganos perennes (tronco y raíces). Conradie (1986) y Zapata *et al.* (2004) observaron que entre la fase de brotación y la de floración, el crecimiento de los pámpanos depende principalmente de la movilización de almidón y de nitrógeno desde las reservas acumuladas durante la campaña anterior, particularmente durante el período de postvendimia. Según Williams (1991), el 40 % del nitrógeno requerido para un nuevo crecimiento vegetativo y reproductivo anual, proviene de las reservas. La fase de máxima absorción de nitrógeno del suelo por parte de la vid se produce entre la floración y el envero (Conradie, 1980; Mullins *et al.*, 1998). Según Holzapfel y Treeby (2007) y Wermelinger y Koblet (1990) es en este período en el que tanto los pámpanos como las hojas y los racimos, se convierten en fuertes sumideros de nitrógeno. Por otro lado, el número de racimos desarrollados un año, depende del número de yemas formadas durante el ciclo anterior (Ripoche *et al.*, 2011). El desarrollo de los primordios de las inflorescencias, que ocurre en las yemas latentes después de la brotación del año anterior (May, 2000; Pearce y Coombe, 2005), está regulado por el estado fisiológico en el que se encuentra la cepa durante el verano, influido por las condiciones de luz y temperatura que haya habido durante la floración (May, 2000; Williams, 2000). También está condicionado por la disponibilidad de agua, que mejora la fertilidad de las

yemas (Santamaría *et al.*, 1997), ya que la actividad fotosintética es mayor y, por tanto, se genera una mayor superficie foliar (Santesteban, 2003).

El efecto de un exceso de nitrógeno en la vid, se evidencia por un vigor excesivo y un decaimiento cualitativo en la producción, así como por la presencia elevada de ácidos en el mosto, especialmente ácido málico. La fertilización nitrogenada aumenta la vulnerabilidad de las bayas a hongos, especialmente botrytis, e implica un enriquecimiento de nitrógeno tanto en la planta como, generalmente, también en el mosto (Delas, 2000). El efecto de las cubiertas vegetales en la dinámica del nitrógeno es complejo. Como se ha visto, en el ciclo del nitrógeno (Apartado I.5.1) intervienen procesos de mineralización de la materia orgánica controlados por la fauna microbiana, que necesita condiciones de humedad, temperatura y aireación adecuadas para su actividad. Estas condiciones óptimas bajo clima mediterráneo, como el de la parcela de estudio, se dan únicamente en ciertos períodos del año. Así, Celette *et al.* (2009) observaron en viñedos no fertilizados de clima mediterráneo en el sur de Francia, la existencia de dos procesos de competencia por el nitrógeno: uno directo, debido a la toma de nitrógeno inorgánico por parte de la cubierta y, otro indirecto, por el consumo de agua de la cubierta vegetal que agota las reservas del suelo antes que en el laboreo y detiene la mineralización del nitrógeno orgánico. Esta competencia es especialmente importante en los viñedos sin riego donde se reduce la toma de nutrientes, especialmente nitrógeno, siendo más severo este efecto en las zonas de climas más secos y cálidos (Tesci *et al.*, 2007). Sin embargo, las cubiertas vegetales con especies leguminosas, pueden mejorar el desarrollo de la vid por el nitrógeno aportado con la fijación simbiótica (Fourie *et al.*, 2006). Por otra parte, según Rodríguez-Lovelle y Gaudillère (2002), aportes elevados de nitrógeno, previos al envero, pueden provocar inhibición del crecimiento de las bayas. Por el contrario, una baja disponibilidad de nitrógeno en floración, reduce el cuajado debido a la necrosis de las inflorescencias y afecta al número de racimos por cepa y de bayas por racimo, induciendo una reducción de la producción, según observaron Keller *et al.* (1998) en plantas de la variedad Cabernet Sauvignon.

Por último, un exceso de vigor en la vid reduce la acumulación de azúcares y compuestos fenólicos en las bayas, producto de la competencia por los asimilados generada entre el crecimiento vegetativo y la maduración del racimo. Así, la

maduración del racimo se retrasa, lo que supone problemas en la madurez de las bayas, en los aromas y en otros compuestos susceptibles de pasar al vino. Además, el ambiente sombrío, poco aireado y con humedad creado alrededor del racimo, debido al exceso de vigor de la cepa, favorece el desarrollo de enfermedades fúngicas como la botrytis (Smart, 1991; Smart y Robinson, 1991; Delas, 2000). Por estas razones, es importante controlar el desarrollo vegetativo de la vid, siendo el uso de cubiertas vegetales, de distinta naturaleza pero en especial las no leguminosas, una de las técnicas propuestas y utilizadas en muchas partes del mundo vitícola para conseguir obtener un desarrollo de las cepas equilibrado.

### I.5.3. EFECTO DEL NITRÓGENO EN EL MOSTO Y EN EL VINO

El nitrógeno total varía en el mosto y en el vino de una campaña a otra, siendo la variedad, la región, las condiciones climáticas y el método de elaboración algunos de los factores que influyen en su contenido. Así, Ribéreau-Gayon (1982) determinó que los vinos de Champagne contenían de dos a tres veces más nitrógeno total que los vinos blancos de Burdeos, característica determinante en el desarrollo de las fermentaciones y en las propiedades espumantes de los vinos. Además, observaron que como consecuencia de la vinificación, los vinos tintos presentaban valores de nitrógeno que casi duplicaban a los de los vinos blancos. La maceración realizada en los vinos tintos es una práctica que favorece la extracción de compuestos nitrogenados presentes en los hollejos, así como la autólisis de las células de levaduras muertas (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003). El nitrógeno total presente en el mosto o en el vino está constituido por una forma inorgánica (amoniaco) y diferentes formas orgánicas (aminoácidos, oligopéptidos, proteínas, entre otros).

#### **a) Nitrógeno inorgánico**

Durante la fase vegetativa de la vid, el nitrógeno inorgánico se encuentra en las células de la pulpa de la uva como sales amoniacales, representando un alto porcentaje del nitrógeno total presente en las bayas. Durante el envero, el nitrógeno amoniacal va disminuyendo por fenómenos de transaminación pasando a formas de nitrógeno orgánico más complejas, evolucionando en gran parte hacia aminoácidos libres y, posteriormente, a la forma combinada de péptidos, polipéptidos y proteínas. Al final de

la maduración, el nitrógeno inorgánico representa menos del 10 % del nitrógeno total presente en la uva (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003). El ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) es la forma de nitrógeno más directamente asimilable por las levaduras (Bell y Henschke, 2005), por lo que su contenido influye tanto en la velocidad de la fermentación del mosto, como en el potencial de fermentabilidad del mismo. Concentraciones bajas de amonio podrían provocar un incremento de los alcoholes superiores en los vinos, ya que las levaduras pueden verse forzadas a usar los aminoácidos del medio como fuente de nitrógeno (Usseglio-Tomasset, 1998). Por lo tanto, en determinadas circunstancias, durante el proceso de elaboración del vino puede ser necesario añadir una sal amoniacal para evitar problemas fermentativos (Barre *et al.*, 1998; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003).

### **b) Nitrógeno orgánico**

Las formas orgánicas del nitrógeno en el mosto y en el vino son diversas. Sin embargo, son los aminoácidos presentes en los mostos los compuestos nitrogenados con mayor interés para el correcto desarrollo de la fermentación, puesto que son parte fundamental de la alimentación de las levaduras que llevan a cabo dicho proceso (Bell y Henschke, 2005). Cuando la uva está madura, los aminoácidos representan entre un 30 y un 40 % del nitrógeno total de la baya (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003). Los oligopéptidos y polipéptidos, macromoléculas constituidas por un encadenamiento de aminoácidos, también tienen gran repercusión en las características de los vinos, ya que, en determinadas condiciones, algunas proteínas se vuelven inestables, siendo responsables de las indeseables quebras protéicas en los vinos blancos. Las aminas biógenas, formadas por descarboxilación de los aminoácidos, son un grupo de compuestos nitrogenados con repercusión en la calidad del vino y que pueden afectar a la salud del consumidor. De estos compuestos se hablará en el Apartado I.5.3.2.

#### **I.5.3.1. Relación del nitrógeno con la composición fenólica del vino**

Los compuestos fenólicos del vino provienen de las diferentes partes del racimo de la uva y se extraen durante la vinificación, variando en gran medida su estructura durante la crianza. En la actualidad, los procesos que sufren y las propiedades que provocan esos cambios en el vino, son tema de estudio. Por lo general, las cepas, y sobre todo las bayas, sintetizan compuestos fenólicos como defensa ante situaciones

adversas, bien sea un estrés de tipo biótico (respuesta al ataque de un hongo), o un estrés abiótico como el producido por la falta de agua (estrés hídrico), la radiación ultravioleta (UV) o las variaciones de temperatura (Deloire *et al.*, 1998, 1999). Según el tipo de compuesto, el período durante el que se produce el estrés y la intensidad del mismo, la biosíntesis de estos compuestos puede ser positiva o negativa (Ojeda, 1999). La concentración de los compuestos fenólicos en la uva está intrínsecamente correlacionada con su concentración en el vino (Jensen *et al.*, 2008) y, aunque no son los compuestos mayoritarios en las uvas, contribuyen en gran medida a configurar las propiedades organolépticas y la calidad de los vinos (Somers y Evans, 1974; Jackson *et al.*, 1978). Así, son los responsables del color (especialmente los antocianos), de las sensaciones gustativas y táctiles, como la astringencia y el amargor del vino, y contribuyen a la longevidad y estabilidad de los mismos (Boulton, 2001; Downey *et al.*, 2006; Cadahía *et al.*, 2009; Gonzalo-Diago *et al.*, 2014). Además, poseen propiedades bactericidas, antioxidantes, vitamínicas e incluso se les asocia con beneficios saludables para el consumidor, relacionados con enfermedades cardiovasculares, diabetes y otras (López-Vélez *et al.*, 2003).

Los compuestos fenólicos se pueden clasificar en dos grupos, los *compuestos no flavonoides*, como son los ácidos benzóicos y cinámicos y, los *flavonoides*, como los flavonoles, antocianos y flavanoles. De todos ellos, los antocianos y los taninos (flavanoles polimerizados, también conocidos como procianidinas) son los que mayor influencia tienen sobre el color y la calidad del vino tinto (Boulton, 2001; Spayd *et al.*, 2002). Los *antocianos* se localizan en las vacuolas de las células de los hollejos de las bayas, siendo los compuestos fenólicos más estudiados debido a su contribución al color de los vinos tintos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003). Se ha sugerido que su función es la absorción de luz UV y visible y que pueden actuar como atrayentes para la polinización y dispersión de semillas (Koes *et al.*, 1994; Smith y Markham, 1998). En los vinos tintos jóvenes, el color es debido a los antocianos libres, produciéndose entre un 30 y un 50 % de asociaciones de co-pigmentación de esos antocianos (Somers y Evans, 1977; Boulton, 2001). Durante la crianza del vino, se establecen asociaciones estables entre los antocianos y otros compuestos flavonoides, formando pigmentos poliméricos (Mazza, 1995; Boulton, 2001). Los *taninos* se localizan tanto en las semillas como en el hollejo de las bayas, estando en mayor cantidad en las semillas (Downey *et al.*, 2003). Su importancia en el vino se debe a que son compuestos capaces de formar

combinaciones estables con las proteínas, con otros polímeros vegetales como los polisacáridos y con los antocianos. Son responsables de la estructura, la astringencia, el sabor amargo del vino y contribuyen a la componente amarilla del color. Además, participan en reacciones de pardeamiento oxidativo de los vinos, y son en parte responsables de la estabilidad polifenólica de los vinos durante el envejecimiento (Plumb *et al.*, 1998; Martínez y Rubio-Bretón, 2013).

La síntesis y concentración de estos compuestos en las bayas está muy influenciada por las características del medio, principalmente por la temperatura y la luz (Spayd *et al.*, 2002). Si bien, la luz no parece ser un factor tan limitante en la síntesis de antocianos como lo es la temperatura (Mabrouk y Sinoquet, 1998). Así, Haselgrove *et al.* (2000), observaron que, a pesar de la elevada exposición solar de que disponían las bayas de cv. Shiraz de su ensayo, las temperaturas de alrededor de 35 °C, propias de climas cálidos, inhibieron la síntesis de antocianos y/o incrementaron su degradación. También el estado hídrico de la vid, que afecta al crecimiento de la baya, influye en la concentración total de compuestos fenólicos (Ojeda *et al.*, 2002). En general, el déficit hídrico moderado aumenta la concentración de estos compuestos (Esteban *et al.*, 2001), debido principalmente a un menor tamaño de la baya y a una mayor relación hollejo-pulpa (Ojeda *et al.*, 2001; Kennedy *et al.*, 2002). Además, el estado nutritivo en el que se encuentre la planta también tiene efectos sobre los compuestos fenólicos. Según Hilbert *et al.* (2003), además de los efectos indirectos que influyen sobre la concentración de compuestos fenólicos en la baya (reparto de las fuentes de carbono entre el crecimiento vegetativo y el productivo, tamaño de la baya, relación hollejo-pulpa, o el microclima del racimo), el nitrógeno tiene efectos directos sobre el contenido en compuestos fenólicos de la baya. Aumentos en la disponibilidad de nitrógeno en la vid, activan rutas catabólicas que reducen el contenido en antocianos (Hilbert *et al.*, 2003) y taninos condensados en las bayas (Bell y Henschke, 2005). También la disponibilidad de nitrógeno afecta de forma intensa al contenido de fenilalanina, aminoácido precursor de la ruta sintética de los fenoles (Hilbert *et al.*, 2003).

### **I.5.3.2. Relación del nitrógeno con los aminoácidos en mosto y las aminas biógenas en vino**

El contenido de nitrógeno total así como la concentración de aminoácidos y amonio presentes en las bayas, depende del nitrato de la solución del suelo y del material de reserva de la vid (Löhnertz *et al.*, 2000). Las fuentes nitrogenadas presentes al inicio de la fermentación, especialmente el amonio y los aminoácidos, son fundamentales para el correcto desarrollo de la fermentación, además de ser los precursores de los principales compuestos volátiles fermentativos, que influyen directamente en la composición aromática del vino (Garde-Cerdán y Ancín-Azpilicueta, 2008). Las preferencias metabólicas de las levaduras respecto a las fuentes de nitrógeno han sido descritas en detalle por autores como Bisson (1991) y Bell y Henschke (2005).

Los *aminoácidos* son compuestos nitrogenados sintetizados en las raíces y en las hojas de la vid, a partir de los ácidos  $\alpha$ -cetoglutárico y glicérico, así como también del amonio, interviniendo en su síntesis un complejo sistema enzimático (Hidalgo, 2006). Son compuestos fundamentales tanto para el metabolismo de la cepa como para el correcto desarrollo de la fermentación, y forman parte de gran cantidad de compuestos. Además, los aminoácidos son precursores de determinados aromas, por lo que contribuyen al perfil aromático de los vinos. Por ejemplo, el aminoácido arginina, que según Rodríguez-Lovelle y Gaudillère (2002) por su importancia cuantitativa es el compuesto indicador más relacionado con el estado N-nutricional de la vid, es convertido en fenilalanina, que a su vez es precursor, mediante diversas reacciones enzimáticas, de gran número de compuestos fundamentales para la planta, incluyendo ligninas (requeridas para la madera), resveratrol (actúa de defensa de la planta frente a infecciones), taninos (aportan sensaciones en boca) y antocianos (principales responsables del color rojo del vino). Si las concentraciones de arginina, y por tanto de fenilalanina son bajas, la producción de todos estos compuestos puede verse limitada (Mundy, 2009). Además, la arginina también es precursora de otros aminoácidos como la ornitina, el ácido aspártico, la prolina y el ácido glutámico. Por su parte, el ácido aspártico constituye una forma de reserva de ácido oxalacético, el cual según necesidades puede ser transformado a lo largo de la maduración en azúcares o en ácido málico (Hidalgo, 2006).

Determinados aminoácidos son precursores, mediante descarboxilación, de *aminas biógenas* que pueden dar lugar a compuestos volátiles indeseables y afectar a la calidad del vino (Uthurry *et al.*, 2007; Moreno-Arribas y Polo, 2009). Siguiendo con el ejemplo del aminoácido arginina, su descarboxilación produce agmatina, amina biógena que a su vez es precursora de la putrescina, que puede tener también como precursor directo a la ornitina y ser el origen de otras dos nuevas aminas biógenas, la espermidina y la espermina (Pérez-Hernández *et al.*, 2007). Asimismo, aminoácidos como la histidina, tirosina, lisina, fenilalanina y triptófano son precursores, respectivamente, de las aminas biógenas histamina, tiramina, cadaverina, feniletilamina y triptamina (Vincenzini *et al.*, 2009).

En los vinos el contenido de aminoácidos está influenciado por el método de vinificación, la variedad, la zona geográfica y la añada (Soufleros *et al.*, 1998; Moreno-Arribas *et al.*, 2000). Durante la fermentación alcohólica, las levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, encargadas básicamente de llevar a cabo el proceso fermentativo, únicamente pueden asimilar el amonio y los aminoácidos libres como fuente de nitrógeno. De entre los aminoácidos cuantitativamente importantes en el mosto, la prolina no es metabolizada por las levaduras, en condiciones normales (Löhnertz *et al.*, 2000). Este aminoácido es asimilado por *S. cerevisiae* en condiciones de aerobiosis (Boulton *et al.*, 1996) o en ausencia de otras buenas fuentes nitrogenadas. El concepto de nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.) se refiere a la suma del amonio y de los aminoácidos libres que pueden ser fácilmente utilizados por las levaduras, por lo que se excluye la prolina (Filipe-Ribeiro y Mendes-Faia, 2007; Lee *et al.*, 2009; Lee y Schreiner, 2010). Si las bayas presentan valores de N.F.A. bajos, pueden surgir problemas durante la fermentación alcohólica o incluso haber riesgo de parada fermentativa (Bisson, 1999; Zamora, 2009), por ello, en las bodegas es una práctica habitual la adición de sales de amonio para evitar dicho riesgo (Barre *et al.*, 1998). Para asegurar una correcta fermentación alcohólica, se estima que la concentración de N.F.A. tiene que estar comprendida entre los 70 y 240 mg N l<sup>-1</sup>, considerando el valor de 140 mg N l<sup>-1</sup> como el umbral de concentración óptimo para que las levaduras completen la fermentación sin problemas (Bell y Henschke, 2005). Sin embargo, valores excesivos de N.F.A. estimulan la producción, por parte de algunas cepas de levaduras, de ésteres acéticos, especialmente acetato de etilo, resultando vinos con acidez volátil elevada (Ugliano *et al.*, 2009).

Los dos aminoácidos más abundantes en las bayas son prolina y arginina, los cuales tienen como precursor al ácido glutámico (Moreno-Arribas *et al.*, 1998). La prolina es un aminoácido que fluctúa mucho de un año a otro en función de las condiciones del cultivo, mientras que la arginina permanece más estable (Hidalgo, 2006). La ratio prolina/arginina (Pro/Arg) es característica de cada variedad (Huang y Ough, 1991), pudiéndolas clasificar en acumuladoras de prolina o acumuladoras de arginina cuando la ratio es mayor o menor a la unidad, respectivamente (Bell y Henschke, 2005). Así, Garnacha y Pinot noir se clasifican como variedades acumuladoras de arginina (Stines *et al.*, 2000). Para las variedades acumuladoras de arginina, la ratio Pro/Arg no se ve afectada por aportes de nitrógeno en el viñedo (Bell y Henschke, 2005). Sin embargo, en variedades acumuladoras de prolina, como es el caso de Tempranillo (López *et al.*, 2011, 2012), Chardonnay y Cabernet Sauvignon, una aplicación elevada de nitrógeno puede reducir la ratio Pro/Arg a valores menores de la unidad (Gouthu *et al.*, 2012). Tras el amonio, la glutamina, la asparagina, la arginina, la alanina, el ácido aspártico, la glicina y el ácido glutámico son las fuentes nitrogenadas preferidas por las levaduras (Bell y Henschke, 2005).

Las *aminas biógenas*, compuestos endógenos de las plantas que también pueden encontrarse en frutas frescas y verduras, son bases orgánicas de bajo peso molecular. Presentan actividad biológica importante, especialmente como reguladores de diversos procesos fisiológicos en el ser humano. Derivan de la descarboxilación de algunos aminoácidos y, su presencia es consecuencia de un proceso normal de fermentación o de alteraciones microbianas (microorganismos con actividad descarboxilásica) de productos alimentarios que contienen proteínas o aminoácidos (Smit *et al.*, 2008), como pueden ser pescados (Naguib *et al.*, 1995), quesos (Aygün *et al.*, 1999), huevos, vegetales fermentados, algunos embutidos y productos cárnicos (Kirschbaum *et al.*, 2000) y bebidas como cerveza, sidra, bebida de soja y vino (Busto *et al.*, 1996; Silla Santos, 1996). En los vinos, se pueden originar en las propias bayas, por la acción de las levaduras durante la fermentación alcohólica o, formarse durante la fermentación maloláctica, el envejecimiento o almacenamiento (Lonvaud-Funel, 2001; Landete *et al.*, 2007; Soufleros *et al.*, 2007; Smit *et al.*, 2008; Moreno-Arribas y Polo, 2009). Para su síntesis es necesaria la presencia de un microorganismo con actividad descarboxilasa, de los aminoácidos precursores, siendo uno de los factores de riesgo más determinante un

pH elevado del vino (Lonvaud-Funel, 2001). También el grado de maduración de la baya y el tipo de suelo se ha visto que influyen en el nivel de aminas biógenas del vino (Glória *et al.*, 1998). Nuestro organismo tolera fácilmente concentraciones bajas de aminas biógenas, ya que generalmente éstas son eficientemente degradadas por las enzimas mono- y diaminoxidasas en el tracto intestinal (Gardini *et al.*, 2005). Sin embargo, aunque existen susceptibilidades individuales diferentes, a determinadas concentraciones algunas aminas biógenas pueden provocar problemas, de diversa gravedad, para la salud humana (ten Brink *et al.*, 1990; Moreno-Arribas y Polo, 2009). En bebidas alcohólicas, especialmente en el vino, aunque probablemente tengan menor contenido de aminas biógenas que otros productos alimentarios, su repercusión y atención es mayor debido a que el etanol puede potenciar su efecto tóxico, ya que inhibe de manera directa o indirecta las enzimas encargadas de la detoxificación de estos compuestos (Landete *et al.*, 2006). Por ello, determinados países, especialmente de la Unión Europea, han regulado su contenido en el vino, aunque no existe un criterio unánime acerca del nivel máximo permitido (Lehtonen, 1996). Por ejemplo, Suiza, único país que tiene una legislación para los niveles de histamina en el vino, ha establecido una concentración máxima de  $10 \text{ mg l}^{-1}$  (Grossman *et al.*, 2007). Por su parte, Alemania, Holanda, Finlandia, Bélgica, Francia, Canadá y Austria han recomendado cantidades de histamina en el vino inferiores a 2, 3, 5, 6, 8, y  $10 \text{ mg l}^{-1}$ , respectivamente (Lehtonen, 1996; Pérez-Hernández *et al.*, 2007). Por lo tanto, las concentraciones de aminas biógenas en los vinos, además de ser importantes por su relevancia respecto a la seguridad y salud del consumidor, también lo son porque pueden afectar a las exportaciones de los vinos (Smit *et al.*, 2008).

Los vinos tintos presentan concentraciones de aminas biógenas mayores que los vinos blancos. Estos mayores valores se atribuyen a la presencia de bacterias lácticas y a la fermentación maloláctica realizada en muchos de los vinos tintos (Landete *et al.*, 2005; Moreno-Arribas y Polo, 2009). De las aminas biógenas presentes en el vino, las más importantes son histamina, tiramina, putrescina, cadaverina y feniletilamina (Soufleros *et al.*, 1998; Lonvaud-Funel, 2001; Smit *et al.*, 2008; Beneduce *et al.*, 2010; López *et al.*, 2012). La putrescina, que produce olor desagradable de putrefacción, afectando a la calidad organoléptica del vino y, que es potencialmente peligrosa porque puede reaccionar con nitritos formando nitrosamina, compuesto carcinogénico, suele ser la amina biógena mayoritariamente detectada en los vinos (ten Brink *et al.*, 1990;

Halász *et al.*, 1994). Sin embargo, se considera que la mayoría de las intoxicaciones o problemas de salud provocados por las aminas biógenas del vino están relacionadas con la histamina (Halász *et al.*, 1994; Smit *et al.*, 2008). Algunos de los síntomas causados por la histamina son sarpullido, edema, dolores de cabeza, hipotensión, vómitos, palpitaciones, diarrea, trastornos del corazón (Moreno-Arribas *et al.*, 1998) y desórdenes neurológicos (Silla Santos, 1996). Otras aminas, como la tiramina y la feniletilamina pueden causar hipertensión y otros síntomas asociados con vasoconstricción causada por la liberación de noradrelanina (especialmente hemorragias en el cerebro y migraña) (Silla Santos, 1996; Arrieta y Prats-Moya, 2012). Una dosis de tiramina de entre 25 y 40 mg l<sup>-1</sup> es considerada tóxica en bebidas (Soufleros *et al.*, 1998), siendo los valores de entre 10 y 80 mg l<sup>-1</sup> peligrosos para la salud del consumidor (Glória *et al.*, 1998). Para los vinos, Soufleros *et al.* (1998) establecieron un límite máximo de concentración de feniletilamina de 3 mg l<sup>-1</sup>. La putrescina y la cadaverina deprecian el aroma del vino y, aunque no tienen efectos tóxicos por sí mismas, el control de su concentración es importante porque pueden incrementar los efectos de histamina, tiramina y feniletilamina, ya que interfieren en las reacciones de detoxificación (ten Brink *et al.*, 1990; Straub *et al.*, 1995). Por su parte, la etilamina no tiene repercusión a nivel sanitario, sin embargo, presenta gran influencia en el aroma del vino aunque para que sus efectos sensoriales negativos lleguen a apreciarse son necesarios niveles altos (Ough y Daud, 1981).



## *II. OBJETIVOS/OBJECTIVES*



El laboreo es una técnica tradicional de manejo del suelo, que permite controlar la vegetación que compite por los recursos y, que se encuentra ampliamente extendida en la viticultura mediterránea. Sin embargo, dicha técnica provoca algunos cambios indeseables en las propiedades físico-químicas del suelo y favorece su erosión. Para reducir su efecto negativo y favorecer la calidad del viñedo, se han estudiado técnicas alternativas de manejo del suelo como la implantación de cubiertas vegetales en las calles, aunque esta técnica resulta difícil de instaurar en climas secos. Por ello, como objetivo principal de este trabajo se planteó:

- ◆ Estudiar la influencia ejercida por diferentes cubiertas vegetales sobre la disponibilidad de agua y de nutrientes, principalmente nitrógeno, en el suelo, su repercusión en la expresión vegetativa y productiva de la vid y su efecto en la composición de la uva y del vino.

Para alcanzar dicho objetivo, se estudiaron en un viñedo de la variedad Tempranillo, aspectos relacionados con el suelo, la vid, la uva y el vino, como constituyentes fundamentales de un mismo sistema, con los siguientes objetivos parciales:

- ◆ Evaluar el efecto de dos cubiertas vegetales, trébol y cebada, sobre el contenido hídrico y los nutrientes, especialmente nitrógeno, del suelo. Comparación con el laboreo.
- ◆ Determinar la absorción de macro y micronutrientes del suelo realizada por las cubiertas vegetales implantadas en el viñedo.
- ◆ Estudiar la competencia ejercida por las cubiertas vegetales sobre los nutrientes que es capaz de absorber y translocar la vid a sus distintos órganos renovables (pámpanos, hojas y bayas).
- ◆ Evaluar el efecto provocado por las cubiertas vegetales en el comportamiento agronómico de las cepas (desarrollo vegetativo y productivo).

- ◆ Estudiar la influencia de las cubiertas vegetales sobre los parámetros físico-químicos y de color, y sobre la composición nitrogenada de la uva y del vino.
  
- ◆ Valorar el efecto de las cubiertas vegetales sobre las características sensoriales de los vinos.

Tillage is a traditional soil management technique that controls the weeds that compete with the vine for soil resources and it is a widespread practice within Mediterranean viticulture. Despite its advantages, tillage also produces undesired effects on the physico-chemical soil properties and promotes soil loss through erosion. In order to reduce the negative impact of tillage and improve vineyard quality, different soil management strategies have been studied; one of them is the use of cover crops in the inter-row space, although this technique is difficult to establish in dry climates.

- ◆ Therefore, the main objective of this study was to investigate the influence of different cover crops on water and nutrients availability, mainly nitrogen; as well as their impact on the vine vegetative growth and production and, finally, their effect on must and wine quality.

In order to achieve this goal, different aspects related to soil, vines, grapes and wine, were monitored in a vineyard cv. Tempranillo; they were studied considering them as fundamental constituents of the same system, with the following partial objectives:

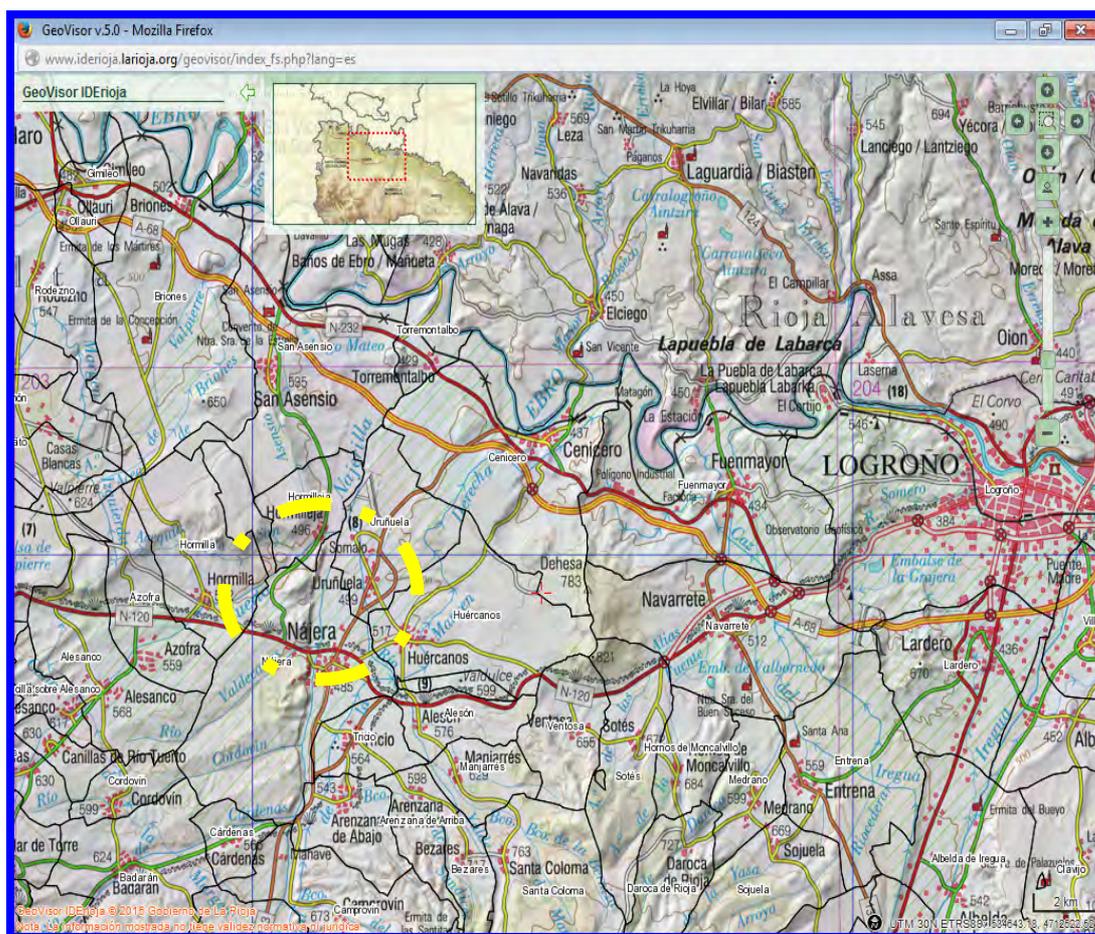
- ◆ Evaluate the effect of two cover crops: clover and barley, on soil water content and soil nutrients, especially nitrogen, with respect to tillage.
- ◆ Determine the cover crops absorption of both macro and micronutrients.
- ◆ Study the competition for nutrients that cover crops exert over the vine, analyzing how the vine absorbs and translocates them to its various renewable organs (shoots, leaves and berries).
- ◆ Evaluate the effect of the cover crops on the vine agronomic performance (vegetative and productive development).
- ◆ Study the influence of cover crops on both berry and wine physico-chemical parameters, colour and nitrogen composition.
- ◆ Assess the effect of cover crops on the wine organoleptic characteristics.



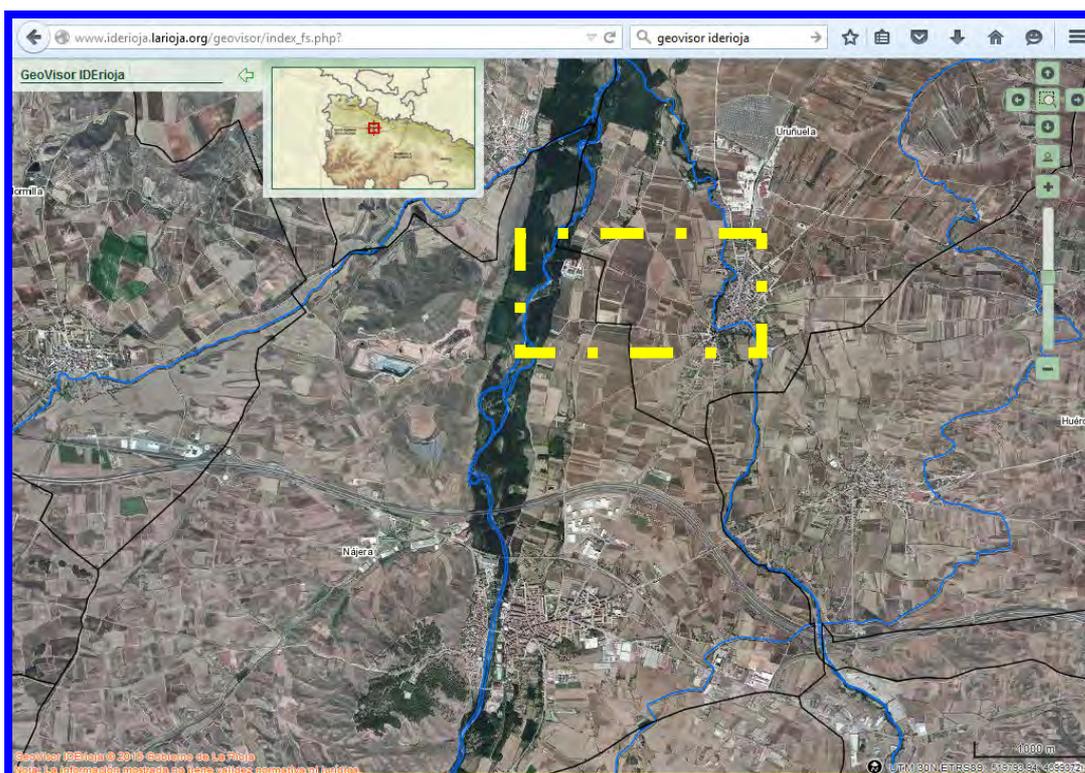
### *III. MATERIAL Y MÉTODOS*



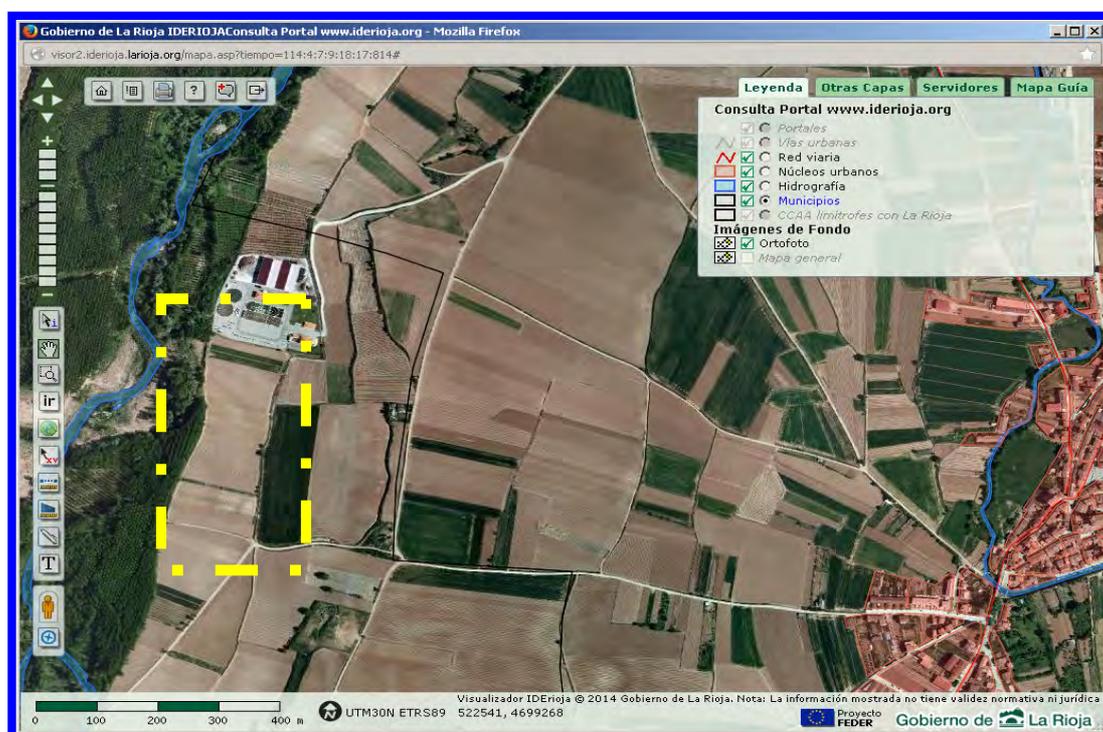
El estudio se realizó en una parcela (latitud, 42°26,34'18" N; longitud, 2°43'32,31" O), propiedad de Ricardo Leza, viticultor colaborador. Dicha parcela se sitúa en la zona norte del término municipal de Nájera, al Noroeste de la provincia de La Rioja, 25 km al Suroeste de Logroño y próxima al actual cauce del río Najerilla, unos kilómetros antes de su desembocadura en el Ebro (Figuras III.1, III.2, III.3 y III.4). Presenta una altitud aproximada de 468 m.s.n.m.



**Figura III.1.** Situación de la parcela de estudio respecto al río Najerilla, Nájera y Logroño. Cartografía ráster ©Instituto Geográfico Nacional de España. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, IDERioja 2015, consultado en agosto de 2015. El círculo amarillo representa el área donde se localiza la parcela de estudio.

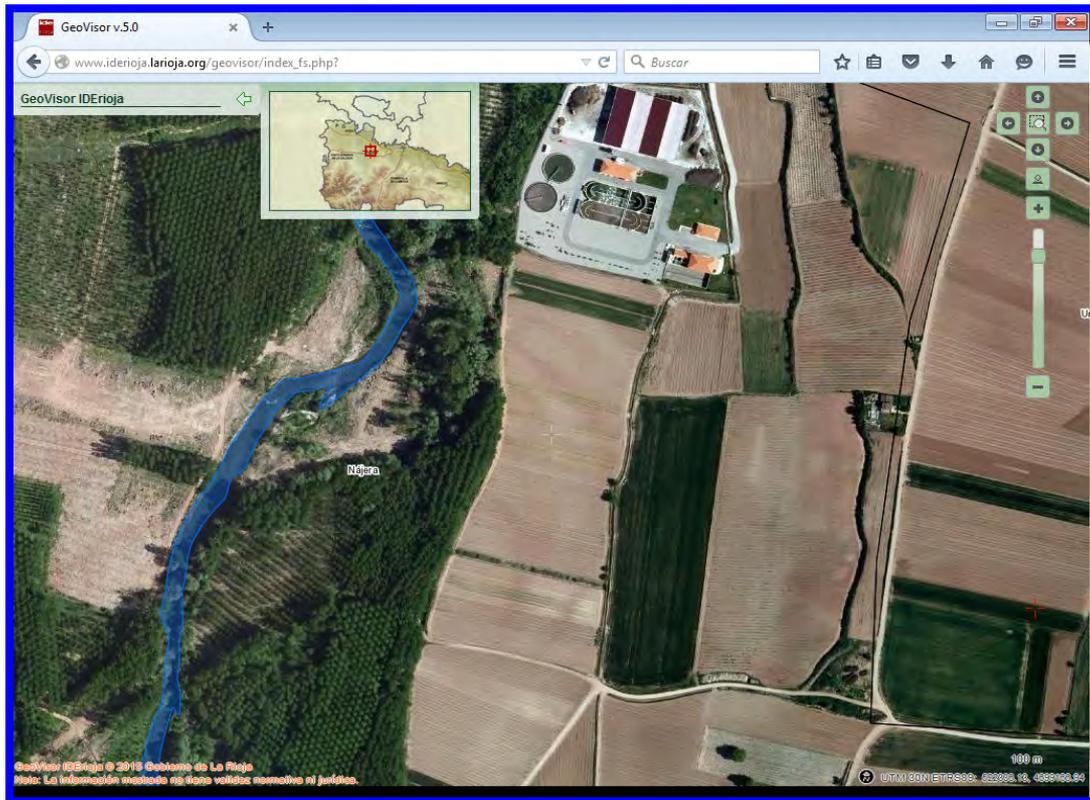


**Figura III.2.** Situación de la parcela respecto al río Najerilla y las localidades de Nájera y Uruñuela. El rectángulo amarillo representa el área donde se localiza la parcela. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, IDERioja 2015, consultado en agosto de 2015.

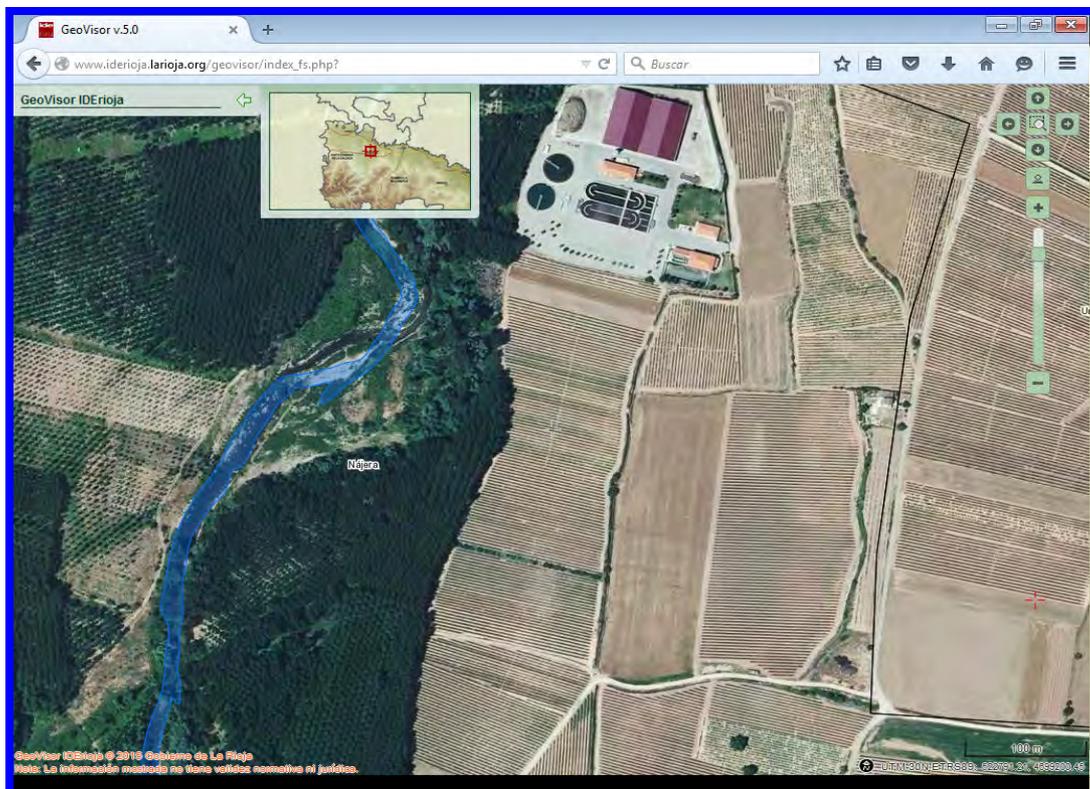


**Figura III.3.** Localización de la parcela respecto al río Najerilla y al municipio de Uruñuela. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, IDERioja 2014, consultado en marzo de 2015.

A)



B)



**Figura III.4.** Vista aérea de la parcela y situación respecto al río Najerilla. A) Ortofotografía del 2009, B) Ortofotografía del año 2012. Fuente: Visualizador de datos espaciales del Gobierno de La Rioja, Geovisor IDERioja 2015, consultado en agosto de 2015.

Para llevar a cabo el estudio, se realizó un ensayo de campo de 4 años de duración (2009-2012) en un viñedo representativo de la D.O.Ca. Rioja, con dos especies vegetales (una gramínea y otra leguminosa) a modo de cubierta vegetal, sembradas en las calles del viñedo, frente al laboreo tradicional utilizado como testigo. En el ensayo se estudió:

- La incidencia de los tratamientos sobre la disponibilidad en el suelo del agua y varios macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca).
- La asimilación de macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca) y de micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na) por parte de las cubiertas vegetales.
- Las exportaciones de estos nutrientes por la vid y el estado nutricional de la vid determinado a través del análisis foliar (limbo y pecíolo).
- La incidencia de los tratamientos en el desarrollo vegetativo y en la producción del viñedo.
- El efecto de las cubiertas vegetales en las características físico-químicas de mostos y vinos, así como en su composición nitrogenada (aminoácidos en el mosto y en el vino y aminos biógenas en el vino).

### **III.1. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA DE ESTUDIO**

#### **III.1.1. DESCRIPCIÓN CLIMÁTICA**

Para la caracterización climática del área donde se encontraba ubicada la parcela de ensayo, se emplearon los datos climatológicos recogidos por la estación termopluviométrica denominada “Cenicero-Bodega” (latitud, 42,48° N; longitud, 2,65° O y 437 m de altitud), perteneciente a la Agencia Estatal de Meteorología (A.E.M.E.T.) y situada próxima a la zona de estudio, en el término municipal de Cenicero (La Rioja). Dicha estación dispone de datos de precipitación y temperatura para el período 1951-2001, que permitieron caracterizar el clima general de la zona, como se detalla en el Apartado III. 1.1.3.

En cuanto a los datos climáticos relativos al período en el que se llevó a cabo el ensayo (2009-2012), éstos provienen de la estación meteorológica de la que dispone el Servicio de Información Agroclimática de La Rioja (S.I.A.R., [www.larioja.org/siar](http://www.larioja.org/siar)) en

el paraje “Hoyos” del término municipal de Uruñuela (La Rioja). La estación meteorológica (latitud, 42°27'42'' N; longitud, 2°42'45'' O y altitud 465 m) se encuentra ubicada a unos 2,3 km de distancia de la parcela de estudio (Figura III.5).



**Figura III.5.** Estación meteorológica “Hoyos”, situada en el término municipal de Uruñuela, La Rioja.

### **III.1.1.1. Precipitación y temperatura**

La Tabla III.1 recoge los datos medios de precipitación y temperatura del área de estudio para el período 1951-2001. La precipitación media anual fue de 436 mm, existiendo gran variabilidad interanual, registrándose en el año 1959 únicamente 267,2 mm y 633,9 mm en el año 1951, siendo éstos, respectivamente, los valores mínimo y máximo de precipitación. La primavera, con un 30,5 % (133 mm) del total de lluvia anual, fue la estación que registró mayor precipitación media mensual, seguida del otoño con un 28,5 % (122 mm), el invierno 22,3 % (99 mm) y el verano con 18,8 % (82 mm). Por lo general, los meses más calurosos en la zona son julio y agosto y los más fríos enero, febrero y diciembre (Tabla III.1). La temperatura media anual durante el período de 50 años fue 13,2 °C. La oscilación térmica es elevada, pudiendo llegar en verano a 42 °C y en invierno a -15 °C.

**Tabla III.1.** Valores de precipitación y temperatura recogidos en la estación “Cenicero-Bodega” para el período 1951-2001.

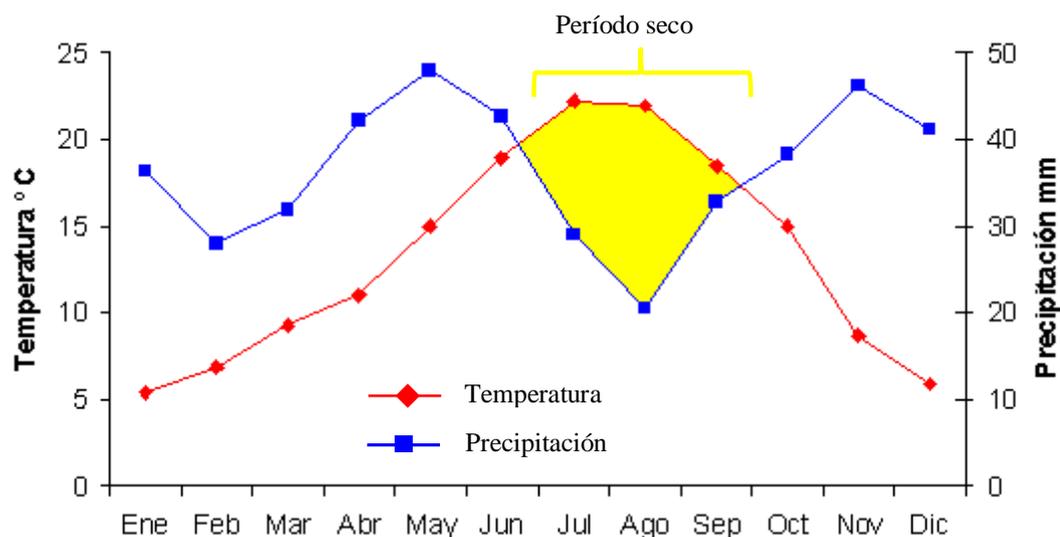
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	Anual	
<b>Precipitación (mm)</b>	36,3	27,9	31,8	42,0	47,8	42,6	29,0	20,4	32,8	38,3	46,1	41,1	<b>436,0</b>	
<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Media<sup>a</sup></b>	5,4	6,9	9,3	11,0	15,0	18,9	22,2	21,9	18,4	15,0	8,7	5,9	<b>13,2</b>
	<b>Med. máx</b>	9,1	11,4	14,7	16,4	20,7	25,2	29,5	29,2	25,2	19,6	13,1	9,5	<b>18,6</b>
	<b>Med. mín</b>	1,7	2,4	3,8	5,6	9,2	12,3	14,9	14,7	11,8	8,2	4,4	2,5	<b>7,6</b>
	<b>Máx. abs</b>	19,0	23,0	28,0	30,0	34,0	40,0	42,0	40,0	38,0	32,0	26,0	21,0	<b>31,1</b>
	<b>Mín. abs</b>	-3,8	-8,0	-6,0	-3,0	-0,1	4,0	7,0	4,0	2,0	-2,0	-6,0	-15,0	<b>-2,2</b>

<sup>a</sup> T<sup>a</sup> media: temperatura media registrada en el período de estudio (1951-2001). T<sup>a</sup> med. máx y med. mín: temperatura media de las máximas y de las mínimas registradas mensualmente, respectivamente. T<sup>a</sup> máx. abs y mín. abs: temperatura máxima y mínima absoluta registrada durante el período estudiado, respectivamente.

### III.1.1.2. Régimen de temperatura y de humedad del suelo

De acuerdo a las claves definidas en la clasificación realizada por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (U.S.D.A.) (Soil Survey Staff, 2010), el régimen de temperatura del suelo del área de estudio es *mésico*, ya que la temperatura anual del suelo estuvo comprendida entre 8 y 15 °C, y la diferencia entre la temperatura media del suelo en verano y en invierno fue mayor de 5 °C. En general, siguiendo con los criterios de clasificación del U.S.D.A., el régimen de humedad de la zona es *xérico*, típico de los climas mediterráneos, donde los inviernos son húmedos y frescos y los veranos cálidos y secos (Cartografía de suelos del T.M. de Uruñuela (Escala 1:20.000), información no publicada).

El diagrama ombrotérmico de Gaussen (Figura III.6), realizado con los datos registrados por la estación “Cenicero-Bodega” (Tabla III.1), confirmó la existencia de condiciones climáticas mediterráneas en la zona. Así, cuando la precipitación (mm) es inferior a 2 veces la temperatura media en °C (zona amarilla), el mes se considera árido; si la precipitación es superior a este valor, el mes se considera semihúmedo, y es húmedo si la precipitación supera en tres veces a la temperatura media.



**Figura III.6.** Diagrama ombrotérmico de Gausson realizado con los datos registrados en la estación “Cenicero-Bodega” en el período 1951-2001.

### III.1.1.3. Índices y clasificaciones climáticas y vitícolas

El clima de una zona comprende elementos del tiempo atmosférico medidos en esa zona durante un período de tiempo representativo, por lo general mayor de 30 años. Se caracteriza a partir de índices climáticos y de clasificaciones climáticas. Los índices climáticos combinan parámetros termométricos o pluviométricos y, eventualmente, ciertos factores que influyen en el clima, como la altitud o la latitud, con el fin de establecer distintos tipos climáticos que expresan las relaciones clima-vegetación (Alcaraz-Ariza, 2013). Por su parte, las clasificaciones climáticas establecen categorías que vienen definidas por una serie de condiciones sobre determinados parámetros climáticos que permiten definir y delimitar ecosistemas en función del tipo de vegetación (clima desértico, estepario, boscoso, ...) y franjas geográficas latitudinales (clima polar, tropical, ...). A partir de los datos registrados en el período 1951-2001, se ha calculado una serie de índices y clasificaciones climáticas, que permiten caracterizar las aptitudes vitícolas de la zona en la que se encuentra la parcela.

III.1.1.3.1. Índices climáticos de aridez

Los índices de aridez consideran como dato fundamental las precipitaciones caídas en una zona determinada a lo largo del año (como fuente de agua) y las temperaturas (como indicador de la energía disponible para evaporar).

**a) Índice de Lang**

El índice de Lang ( $P_f$ ) relaciona la precipitación media anual (P) en mm y la temperatura media anual (tm) en °C, de la zona, según la fórmula:

$$P_f = P \cdot tm^{-1}$$

Con los datos registrados en la estación “Cenicero-Bodega” durante el período de 50 años (Tabla III.1) se obtuvo un índice de Lang de  $P_f = 32,99$ , con lo que, según las zonas de aridez definidas por este índice, el área donde se encuentra la parcela de estudio corresponde a una zona *árida* (Anexo I, Tabla 1).

**b) Índice de aridez de Martonne**

El índice de Martonne ( $I_a$ ) es muy semejante al índice de aridez de Lang, ya que también relaciona la pluviometría media anual (P) en mm, con las temperaturas medias anuales (tm) en °C, pero lo hace a través de la siguiente expresión:

$$I_a = P \cdot (tm + 10)^{-1}$$

En nuestro estudio se obtuvo un valor de  $I_a = 18,78$ , correspondiente a la zona climática definida por Martonne (1926) como *semiárida de tipo Mediterráneo*, típica de países secos mediterráneos (Anexo I, Tabla 2).

III.1.1.3.2. Índices bioclimáticos del viñedo

Según estos índices, las condiciones de luz, temperatura y humedad están directamente relacionadas con la respuesta vegetativa de la viña. Así, predicen si una

variedad puede llegar a la madurez plena en una región dada, en función del contenido de azúcares de las bayas (entre 180 y 220 g l<sup>-1</sup> de media) (Deloire *et al.*, 2004). Para ello, se basan en el “período activo de vegetación”, es decir, el tiempo durante el cual la temperatura media del aire es igual o superior al “cero vegetativo”. El cero vegetativo hace referencia a la temperatura umbral por encima de la cual se activa el período vegetativo de la planta. En la vid varía dependiendo de la variedad, pero se fija en 10 °C como valor medio. Las temperaturas activas (Ta) de la vid son aquellas que se producen durante el período activo de vegetación.

Sobre esta base se determinaron, con los datos térmicos medios, el período activo de vegetación del viñedo en la zona estudiada:

- Fecha media inicial: 2 de abril.
- Fecha media final: 7 noviembre.
- Número medio de días de duración del período activo del viñedo: 219

#### a) Índice térmico eficaz de Winkler y Amerine

El índice de Winkler y Amerine (I<sub>Te</sub>) es un índice térmico que considera las temperaturas eficaces (Te) durante el período activo de vegetación de la vid, como principales responsables del desarrollo de la misma (Winkler *et al.*, 1984). Las temperaturas eficaces se obtienen al restar 10 °C (el valor considerado como cero vegetativo de la vid) a las temperaturas activas (Ta). Así, el índice viene definido por la suma de las temperaturas medias eficaces en el período comprendido entre el 1 de abril y el 30 de septiembre.

$$I_{Te} = \sum_{1-abril}^{30-sept} Te = \sum_{1-abril}^{30-sept} (Ta - 10)$$

Este índice establece cinco zonas o regiones con aptitudes vitícolas diferentes (Anexo I, Tabla 3). Así, la zona estudiada se corresponde con:

- Región vitivinícola II (I<sub>Te</sub> = 1371,8 a 1649,6 °C).

Es decir, el índice de Winkler y Amerine define el clima de la zona de estudio como un clima templado que, *favorece la producción de vinos de calidad con buen aroma, acidez y graduación media dando vinos equilibrados. Son zonas de valles. Así, algunas de las variedades tintas con aptitudes para cultivarse en este clima son Cabernet franc, Cabernet Sauvignon, Gamay, Garnacha, Malbec, Mataró, Merlot, Petite Sirah, Rubí Cabernet, Tempranillo, Sirah, entre otras.*

### **b) Caracterización heliotérmica de Branas**

El producto heliotérmico (PH) es un índice que define las posibilidades de cultivo de un medio para la planta. Para ello tiene en cuenta las relaciones existentes entre los fenómenos vegetativos de la vid y las condiciones de temperatura eficaz y de iluminación durante su desarrollo. Así, viene definido por la suma de temperaturas eficaces (Te) durante el período activo de vegetación, en °C (H), y la suma de horas de luz durante el período activo de vegetación (X), según la siguiente expresión:

$$PH = X \cdot H \cdot (10)^{-6}$$

- El valor de este índice correspondiente al área estudiada fue:  $PH = 4,73$ . Para que las bayas maduren de forma homogénea y óptima, cada variedad exige un cierto valor de este índice. Así, Branas (1974) estableció que, el límite septentrional por debajo del cual no es posible el cultivo de la vid en Europa es  $PH = 2,6$ .

### **c) Índice isotérmico de Huglin**

El índice isotérmico de Huglin (IH) es un índice de evaluación de las posibilidades heliotérmicas de un medio vitícola. Para ello, tiene en cuenta la temperatura media diaria ( $T_a$ ) y la temperatura máxima diaria ( $T_m$ ), ambas en °C, durante el período activo de la vid, desde el 1 de abril al 30 de septiembre. Además, introduce un coeficiente de longitud de días (k), que varía entre 1,02 y 1,06 entre los 40 y 50 grados de latitud. En nuestro caso el coeficiente k, tiene un valor de 1,03 (por encontrarnos en el rango de latitud de entre 42°01' y 44°00') (Tonietto y Carbonneau, 2004). Este índice viene dado por la expresión:

$$IH = \sum_{1-abril}^{30-sept} [(T_a - 10) + (T_m - 10)] \cdot k/2$$

Según el índice de Huglin (Huglin, 1978), el área donde se localiza la parcela de estudio viene definida como:

- Zona I ( $2100 < IH < 2400$ ). Zona vitícola con clima cálido-templado, donde pueden cultivarse numerosas variedades de vid como Garnacha, Monastrel y, otras, salvo excepciones como algunas variedades sin pepitas (Tonietto y Carbonneau, 2004).

### III.1.1.3.3. Clasificaciones climáticas

#### **a) Clasificación de Köppen**

La clasificación climática de la zona estudiada según Köppen, se basa en los valores medios, mensuales y anuales, de temperatura y precipitación, elegidos por tratarse de valores críticos para la vegetación. Esta clasificación establece categorías definidas por letras, que indican el comportamiento de las temperaturas y las precipitaciones que caracterizan dicho tipo de clima (Anexo I, Figura 1) (Kottek *et al.*, 2006). Para ello, Köppen utiliza la vegetación como indicador del clima.

Según los criterios de esta clasificación, la zona estudiada se clasifica como:

- Subgrupo BSk: *Estepa semiárida fría o clima mediterráneo seco. Precipitación anual entre 380 y 760 mm. Clima seco y frío. Temperatura media anual inferior a 18 °C y temperatura media mensual del mes más cálido mayor de 18 °C.*

#### **b) Clasificación de Papadakis**

Esta clasificación distingue diez grupos fundamentales de clima (Papadakis, 1966). Cada grupo se caracteriza por regímenes específicos de temperatura y humedad y se subdivide en una serie de tipos climáticos. Utiliza parámetros basados en valores extremos de las variables climatológicas que son más representativos y limitantes para

estimar respuestas y condiciones óptimas de los distintos cultivos. A partir de esos valores se delimita el tipo de invierno (según los cultivos cultivables en invierno), de verano (en función de los posibles cultivos según la duración y calidad del verano) y el régimen hídrico (según el agua disponible para las plantas y su distribución estacional). Se debe considerar como una caracterización agroecológica a nivel macroclimático. De esta forma, la zona estudiada se clasifica como:

- Régimen de humedad  
*Me: mediterráneo seco, con precipitación invernal superior a la estival y existencia de meses secos en verano.*
- Tipo de invierno  
*av: avena fresco, invierno suave como para cultivar avena de invierno pero no cítricos.*
- Tipo de verano  
*M: maíz, verano suficientemente largo y cálido como para cultivar maíz, pero marginal para arroz.*
- Clase térmica  
*avM: templado.*
- Unidad climática: *Mesomediterráneo templado.*

#### **III.1.1.4. Condiciones climáticas del período estudiado**

A continuación se presentan los datos de precipitación y evapotranspiración de referencia ( $ET_0$ ) (calculada según la ecuación de FAO Penman-Monteith (1998)) (Tabla III.2) y los de temperatura (Tabla III.3), registrados en la estación “Hoyos” durante el período de ensayo (2009-2012). La media de precipitación anual (Tabla III.2) de los cuatro años de estudio, estuvo dentro de los valores medios normales para la zona. Sin embargo, los años 2010 (383,8 mm) y 2011 (332,8 mm) presentaron valores de precipitación inferiores a la media registrada en la zona por la estación “Cenicero-Bodega” durante el período 1951-2001, tomada como referencia (436 mm; Tabla III.1). Tal circunstancia se debió principalmente a la menor precipitación registrada al principio del invierno (diciembre) y durante la primavera, así como a final de verano (meses de julio y principalmente agosto).

Por otra parte, la temperatura media anual registrada durante los cuatro años de estudio (Tabla III.3) fue menor, especialmente en el año 2010, que la media del período tomado como referencia (13,2 °C; Tabla III.1). Esto fue debido, fundamentalmente, a temperaturas inferiores registradas durante el invierno y la primavera. Además, las temperaturas máximas absolutas fueron más bajas en los meses de verano que las registradas durante el período tomado como referencia (Tabla III.1).

**Tabla III.2.** Valores de precipitación y evapotranspiración de referencia (mm) registrados en la estación agroclimática “Hoyos” durante el período de ensayo (2009-2012).

PRECIPITACIÓN Y EVAPOTRANSPIRACIÓN DE REFERENCIA (mm)													
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	Anual
<b>2009</b>													
<b>Pa<sup>a</sup></b>	53,6	11,8	35,4	30,2	25,6	38,6	5,6	6,4	33,2	27,2	65,0	77,0	<b>409,6</b>
<b>ET<sub>0</sub></b>	26,8	38,5	68,1	82,7	129,9	147,1	170,3	138,1	86,8	57,2	32,8	21,7	<b>1000,0</b>
<b>2010</b>													
<b>Pa</b>	46,0	20,8	19,0	16,8	49,8	70,0	5,4	1,0	36	30,4	46,0	42,6	<b>383,8</b>
<b>ET<sub>0</sub></b>	22,5	37,5	69,7	99,8	107,2	122,2	159	137,5	85,4	52,0	31,0	19,7	<b>943,5</b>
<b>2011</b>													
<b>Pa</b>	22,2	38,4	33,0	47,0	25,6	35,8	20,6	7,8	24,8	8,6	49,6	19,4	<b>332,8</b>
<b>ET<sub>0</sub></b>	23,3	33,5	61,2	97,3	124,1	132,7	146,1	146,8	98,2	59,4	26,0	25,4	<b>974,0</b>
<b>2012</b>													
<b>Pa</b>	16,0	35,0	11,0	60,2	46,4	22,4	20,4	12,0	44,0	78,2	78,2	15,4	<b>439,2</b>
<b>ET<sub>0</sub></b>	23,2	30,6	75,2	71,3	131,1	155,2	153,7	145,9	92,2	48,4	23,6	22,9	<b>973,3</b>

<sup>a</sup> Pa: precipitación mensual, ET<sub>0</sub>: evapotranspiración de referencia mensual acumulada.

**Tabla III.3.** Datos de temperatura (°C) registrados durante el período 2009-2012 por la estación agroclimática “Hoyos” de Uruñuela.

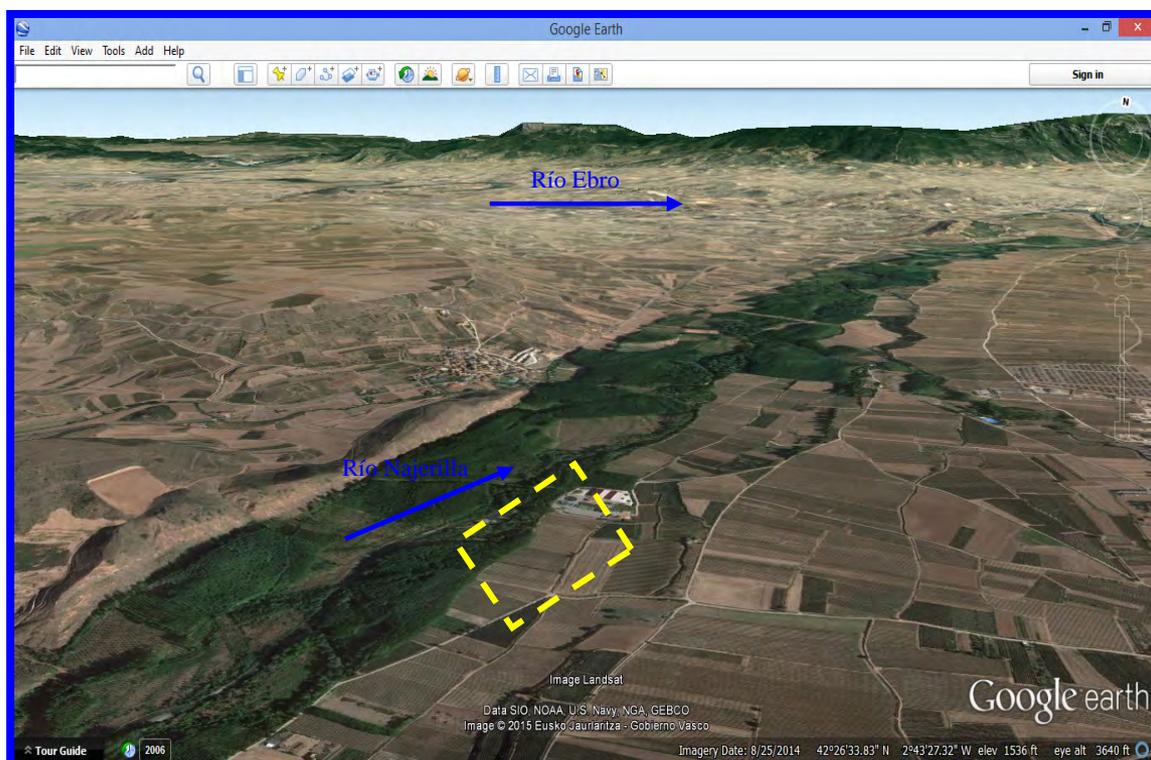
TEMPERATURA (°C)													
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	Anual
<b>2009</b>													
<b>Media<sup>a</sup></b>	4,0	5,6	8,5	10,0	15,7	19,6	21,3	21,2	17,1	13,8	9,4	4,4	<b>12,6</b>
<b>Med.máx.</b>	8,5	11,0	15,4	16,2	23,6	27,6	29,6	29,6	24,3	20,6	13,3	8,6	<b>19,0</b>
<b>Med.mín.</b>	0,2	1,6	2,5	4,7	9,1	12,5	13,8	14,5	11,2	7,9	5,3	0,4	<b>7,0</b>
<b>Máx. abs.</b>	17,1	17,7	23,5	27,2	30,0	35,7	35,8	37,0	30,9	27,5	21,5	16,0	<b>26,7</b>
<b>Mín. abs.</b>	-5,7	-2,7	-1,5	0,5	3,9	7,1	8,9	8,9	5,9	-2,6	-1,2	-11,7	<b>0,8</b>
<b>2010</b>													
<b>Media</b>	3,7	4,9	7,6	12,3	12,8	17,3	21,3	20,4	16,9	11,7	7,2	3,7	<b>11,7</b>
<b>Med.máx.</b>	6,7	8,9	12,9	19,1	19,0	24,0	29,4	28,7	24,5	17,9	11,5	8,1	<b>17,6</b>
<b>Med.mín.</b>	0,7	1,2	2,8	6,1	7,1	11,4	14,2	12,8	10,0	5,8	2,4	0,2	<b>6,2</b>
<b>Máx. abs.</b>	12,5	17,9	19,8	28,1	28,3	31,4	35,9	37	33,4	28,1	19,8	18,1	<b>25,9</b>
<b>Mín. abs.</b>	-11,9	-4	-2,8	-0,9	0,7	6,3	8,4	8,2	4	-0,4	-6,5	-5,3	<b>-0,4</b>
<b>2011</b>													
<b>Media</b>	5,0	6,0	8,2	13,3	16,0	17,7	19,2	21,3	18,2	12,5	9,6	6,1	<b>12,8</b>
<b>Med.máx.</b>	8,9	11,7	13,9	19,6	23,2	25,4	27,3	30,4	27,3	21,3	13,4	10,8	<b>19,4</b>
<b>Med.mín.</b>	1,4	1,1	4,0	7,7	9,6	11,6	12,2	13,8	10,8	5,0	5,4	1,9	<b>7,0</b>
<b>Máx. abs.</b>	16,9	17,9	22,7	28,9	31,8	36,6	35,6	36,4	34,0	28,1	18,9	18,0	<b>27,2</b>
<b>Mín. abs.</b>	-3,7	-2,9	-1,6	2,0	5,1	7,0	8,0	8,2	5,3	-1,5	-1,1	-4,4	<b>1,7</b>
<b>2012</b>													
<b>Media</b>	5,7	3,7	9,4	9,3	15,8	19,9	19,9	21,8	17,5	12,8	7,9	6,3	<b>12,5</b>
<b>Med.máx.</b>	9,6	8,6	17,3	14,5	23,9	27,9	28,9	30,5	25,1	19,2	11,8	10,7	<b>19,0</b>
<b>Med.mín.</b>	1,6	-0,3	2,2	4,7	9,2	12,1	12,5	13,9	10,9	7,5	4,0	2,1	<b>6,7</b>
<b>Máx. abs.</b>	15,8	17,9	24,6	22,2	31,8	36,5	36,5	37,0	32,7	28,1	19,5	16,0	<b>26,6</b>
<b>Mín. abs.</b>	-5,4	-3,4	-1,4	0,5	2,5	7,7	8,0	9,6	6,0	-1,3	-1,2	-2,1	<b>1,6</b>

<sup>a</sup> Media: temperatura media registrada en el período de estudio (1951-2001). Med. Máx. y med. Mín.: temperatura media de las máximas y de las mínimas registradas mensualmente, respectivamente. Máx. Abs. y mín. abs.: temperatura máxima y mínima absoluta registrada durante el período estudiado, respectivamente.

### III.1.2. CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE LA PARCELA

La parcela donde se realizó el estudio se ubica en el término municipal de Nájera (La Rioja) (hoja geológica 203 (Nájera) del Mapa Geológico de España, escala 1:50.000 del Instituto Tecnológico Geominero, 1990), en la parte occidental de la Cuenca del Ebro. Concretamente, la parcela se localiza sobre la terraza de nivel I del río Najerilla,

que discurre con dirección norte hasta desembocar unos kilómetros más adelante en el río Ebro (Figura III.7).



**Figura III.7.** Vista aérea del tramo de la terraza I del río Najerilla dirección norte sobre la que se sitúa la parcela (identificada en color amarillo). Fuente: Google Earth, consultado en septiembre de 2015.

### III.1.2.1. Caracterización edafológica general del área vitícola

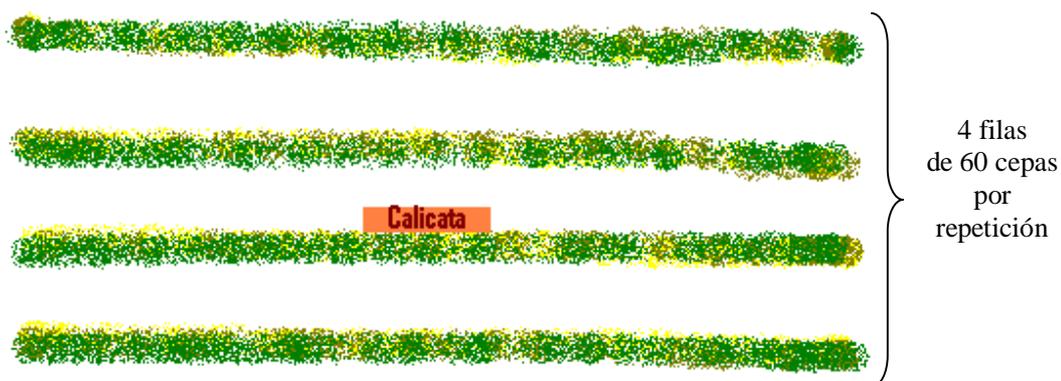
De acuerdo al estudio cartográfico de suelos realizado en el año 2006 por el Programa de Suelos del Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario (actualmente Servicio de Investigación Vitivinícola) del Gobierno de La Rioja, en el término municipal (T.M.) de Uruñuela, y en el que se clasificaron los suelos siguiendo la clave americana de clasificación, Soil Survey Staff (2010) del U.S.D.A., se determinó que el suelo predominante en el área en el que se ubica la parcela de estudio pertenece a un complejo formado por dos series: “La Vega”, definida como *Xerorthents oxiácuico, esquelético arenosa, mezclada, mésica* y “Las Rochas”, *Xerorthents oxiácuico, arenosa, mezclada mésica* (Cartografía de suelos del T.M. de Uruñuela (Escala 1:20.000), Programa de suelos del Servicio de Investigación Vitivinícola del Gobierno de La Rioja, información sin publicar).

Así, en general, los suelos de esta zona se distinguen por haberse desarrollado sobre gravas, cantos y bloques en matriz areno-limosa, estar situados en la llanura de inundación del río Najerilla y contar con pendientes de entre un 2 y un 6 %. Se caracterizan porque son suelos moderadamente profundos (50-60 cm), imperfectamente drenados, que presentan manchas de oxidación-reducción a los 25 cm de profundidad dentro del horizonte B<sub>2</sub>, y en los que aproximadamente a unos 130 cm aparece el nivel freático del río Najerilla. Son suelos muy pedregosos (> 25 % de elementos gruesos) en los que el horizonte superficial presenta textura franca arenosa, con un espesor de entre 15 y 25 cm y color pardo rojizo oscuro (5YR 3/3, Escala Munsell, Anexo II, Figura 1). El horizonte subsuperficial llega hasta los 44-60 cm, con una textura igualmente franca arenosa. El contenido de materia orgánica es medio-bajo y los valores de capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) son bajos. También la capacidad de retención de agua disponible (C.R.A.D.) es baja (80-92 mm) (Cartografía de suelos del T.M. de Uruñuela (Escala 1:20.000), Programa de Suelos del Servicio de Investigación Vitivinícola del Gobierno de La Rioja, información sin publicar).

Para corroborar estos datos generales de la zona y definir exactamente el suelo de la parcela donde se llevó a cabo el ensayo experimental, se realizó un estudio del suelo, según se explica en el Apartado III.1.2.2.

### **III.1.2.2. Caracterización del suelo de la parcela de ensayo. Estudio de su humedad**

Para describir y caracterizar el suelo de la parcela, siguiendo la clasificación taxonómica de suelos descrita por el U.S.D.A. (Soil Survey Staff, 2010), se procedió, el 7 de julio de 2009, a la apertura de una calicata (con una anchura de 30-40 cm) en la calle central de cada una de las repeticiones del ensayo (Apartado III.2), es decir, en total se abrieron nueve calicatas (Figura III.8).

**Parcela experimental (por repetición)**

**Figura III.8.** Esquema de la situación en la que se abrió cada una de las nueve calicatas en cada una de las repeticiones.

La apertura (y posterior cierre) de las calicatas se realizó empleando una mini-excavadora de 2,20 m de ancho, 3 toneladas de peso y un cazo de 30 cm, hasta una profundidad de, aproximadamente, 100 cm, en función de la profundidad que permitió el suelo según sus características limitantes (Figuras III.9 y III.10).



**Figura III.9.** Fotografía del momento de la apertura de una de las calicatas mediante la mini-excavadora.



**Figura III.10.** Fotografía de una de las nueve calicatas realizadas en la parcela.

La calicata realizada en cada repetición permitió, además de la caracterización y descripción del perfil edáfico, instalar sondas con sensores de humedad del suelo a 100, 60 y 30 cm ( $\pm 5$  cm) de profundidad. Con el objeto de mantener las características y propiedades intrínsecas del suelo lo más inalteradas posible, se fue extrayendo el suelo de la calicata cuidadosamente, separándolo por horizontes genéticos que posteriormente fueron recolocados en la misma posición en la que estaban previamente a la apertura de la calicata (Figura III.11).



**Figura III.11.** Detalle de la separación por horizontes del material obtenido al abrir una calicata.

Los sensores se instalaron a cada una de las tres profundidades (Figura III.12) y, una vez colocados, se rellenó la zanja con tierra tamizada (luz de malla de 2 mm), realizando una “cama” con esa tierra fina hasta taparlo por completo (Figura III.13).

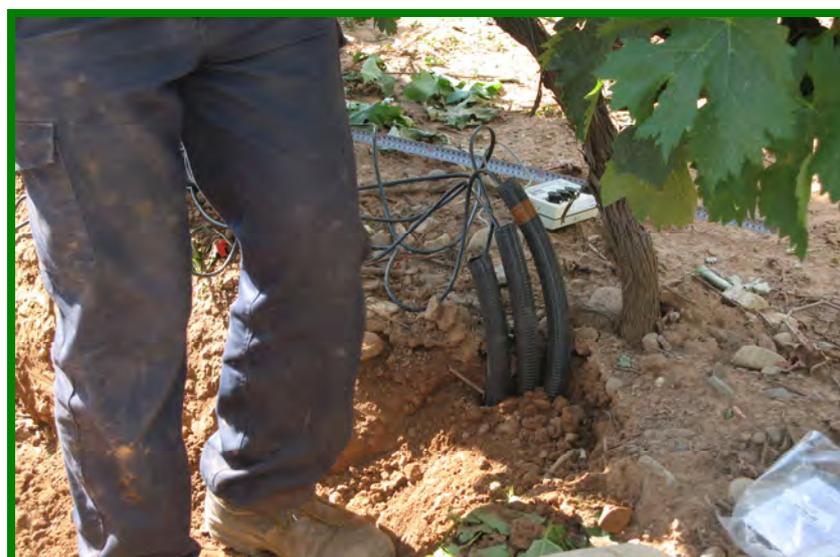


**Figura III.12.** Instalación, a 60 cm de profundidad, de uno de los sensores de humedad del suelo.



**Figura III.13.** Detalle de la realización de la “cama”, con tierra tamizada (< 2 mm de diámetro), para uno de los sensores.

La tierra de alrededor del sensor se compactó para que hubiera un buen contacto con la tierra que lo rodeaba. Posteriormente, se fue añadiendo paulatinamente tierra encima, realizando una compactación manual y tratando de rellenar el mismo volumen extraído con la misma cantidad de tierra por cada horizonte (Figura III.14).



**Figura III.14.** Compactación manual del suelo de la calicata abierta.

Los sensores utilizados para la determinación de la humedad del suelo se basaban en el sistema de Transmisometría de Dominio de Tiempo (T.D.T. – “Time Domain Transmissometry”), en el que un emisor envía un pulso de onda a lo largo de una línea de transmisión generada en el suelo, midiéndose el tiempo que ese pulso tarda en recorrer esa línea (desde el punto de emisión hasta el receptor). A través de este

tiempo, es posible obtener la constante dieléctrica del terreno, a partir de la cual se define el contenido en humedad del suelo. En el ensayo se utilizaron sensores del modelo GroGraph™ Moisture Solution (E.S.I., Environmental Sensors Inc., Sydney, BC, Canadá), que transmitían los datos en continuo, cada 30 minutos y todos los días del año, a unos registradores de datos o “dataloggers” del modelo GroPoint™ GP-DL3T (E.S.I.) que los iban almacenando hasta su posterior descarga (Figura III.15).



**Figura III.15.** Fotografía de un “datalogger” que registraba los datos de humedad del suelo recogidos por los tres sensores colocados en cada repetición (a 30, 60 y 100 cm de profundidad).

Los “datalogger” son los equipos electrónicos encargados de registrar los datos que van recogiendo cada uno de los sensores colocados a las distintas profundidades en el suelo. Estos equipos se ubicaron en superficie, anexionados a la madera vieja de una cepa, en paralelo a los brazos de la cepa en cuyo suelo se encontraban los sensores, con el fin de evitar los problemas de roturas de conexiones o de cables que pudieran ocasionar las operaciones realizadas en el viñedo a lo largo del ciclo vegetativo-productivo, sobre todo al introducir la maquinaria para pre poda o vendimia. Para verificar su estado y controlar que registraban los datos correctamente, una vez al mes, se realizó la descarga de los datos registrados en campo mediante un “shuttle” o lanzadera portátil (GroPoint™ HOB0® shuttle, E.S.I.) (Figura III.16). Este equipo, capaz de almacenar los datos recogidos por las nueve sondas colocadas en la parcela, permitió, conectándolo al ordenador mediante el programa GroGraph v. 2.3 (E.S.I.), descargar los datos que posteriormente fueron transformados al lenguaje de Excel.



Figura III.16. Detalle del momento de la descarga de los datos registrados en el suelo al “shuttle”.

### III.1.2.3. Determinaciones realizadas en las muestras de suelo procedentes de las calicatas

Las calicatas, además de la instalación de los sensores a las distintas profundidades de estudio y la descripción del suelo, permitieron la recogida de muestra para determinar otros parámetros físico-químicos del suelo. Así, se obtuvo muestra para determinar la densidad aparente por el método del anillo (Grossman y Reinsch, 2002). Para conseguir la muestra inalterada, se emplearon tres anillos de acero inoxidable (altura 51 mm, diámetro 50 mm y volumen 100 cm<sup>3</sup>) en cada uno de los horizontes descritos en la calicata (Figuras III.17, III.18 y III.19).



**Figura III.17.** Anillos y herramientas utilizados para coger muestra de suelo con la que poder determinar su densidad aparente.



**Figura III.18.** Muestreo de suelo realizado para determinar la densidad aparente, introduciendo un anillo en una de las paredes de la calicata.



**Figura III.19.** Detalle de la pared de una calicata tras la toma de muestras para la determinación de la densidad aparente del suelo.

En el laboratorio, se pesaron los anillos para la determinación de la densidad aparente y se extrajo, cuidadosamente, la muestra de suelo que contenía cada uno de ellos. Además, para determinar el porcentaje del contenido de agua de las muestras, se secaron en estufa a 105 °C unos 5 g de cada porción.

Por otra parte, para la determinación del color del suelo en campo, medido en seco, se utilizó la clave Munsell Soil Color Charts (1998). Esta clave viene definida por tres parámetros que son: matiz (color espectral dominante: rojo, amarillo, verde, azul o violeta, expresados con sus siglas en inglés), valor (claridad u oscuridad de los rangos de color: va desde 1, oscuro, hasta 8, claro) y croma (pureza o fuerza del rango de color: va desde 1, pálido, hasta 8, brillante). El color del suelo refleja su composición, así como las condiciones de oxido-reducción a las que haya estado expuesto.

Además, durante la apertura de la calicata se tomó una muestra de tierra, de aproximadamente unos 3 kg, de cada uno de los horizontes genéticos que conformaban el perfil del suelo (Figura III.20). Tras su procesado, consistente en un secado al aire, en bandejas colocadas en una sala a temperatura ambiente y un tamizado a través de un tamiz de 2 mm de luz de malla (Fritsch GMBH, Idar-Oberstein, Alemania) (Figuras III.21 y III.22), las muestras se llevaron al Laboratorio Regional, situado en la finca de La Grajera, Logroño, donde se efectuó su determinación analítica.



**Figura III.20.** Muestra de suelo procedente de uno de los horizontes de un perfil del suelo.



**Figura III.21.** Tamizadora-molino de las muestras de suelo (diámetro de partícula < 2 mm).



**Figura III.22.** Detalle del tamaño de partícula (diámetro de partícula  $< 2$  mm) de una muestra de suelo ya procesada, lista para su determinación analítica.

En el Laboratorio Regional, se analizaron los siguientes parámetros físicos y químicos de los suelos: textura (% arena, limo y arcilla), contenido en materia orgánica oxidable (%), pH en agua, conductividad eléctrica ( $\text{dS m}^{-1}$ ), N total ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), carbonatos totales (%), caliza activa (%), capacidad de intercambio catiónico ( $\text{cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$ ), bases intercambiables (calcio, magnesio, potasio y sodio) ( $\text{cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$ ), y elementos extraíbles con el extractante Mehlich III (sodio, fósforo, hierro, manganeso, potasio y sulfatos) (ppm), según metodología descrita en el Apartado III.3.1.

## III.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental para la realización de esta Tesis Doctoral comprendió un ensayo de campo, en un diseño de bloques al azar, con tres repeticiones para cada uno de los tratamientos.

### III.2.1. CARACTERÍSTICAS VITÍCOLAS DE LA PARCELA

La parcela vitícola utilizada se plantó en el año 1999 con la variedad de vid Tempranillo (*Vitis vinifera* L.), clon RJ-26, injertada sobre portainjerto Richter-110 (R-110). El marco de plantación es de 2,70 x 1,30 m, y la densidad de plantación de 2.849 cepas  $\text{ha}^{-1}$ . La parcela se encontraba dentro del marco legal que permite la D.O.Ca.

Rioja. El sistema de conducción de las cepas ha sido en doble cordón Royat, en espaldera, y las cepas se podaron dejando 6 pulgares por brazo y 2 yemas por cada pulgar. Las filas presentan orientación este-oeste con una ligera inclinación, lo que confiere a los racimos orientación solar norte-sur con cierto grado de inclinación. La parcela tiene una pendiente del 0,2% en dirección descendente hacia el cauce del río Najerilla, situado al oeste de la parcela.

### III.2.2. TRATAMIENTOS REALIZADOS

Los tratamientos experimentales realizados en las calles de la parcela durante los años 2009-2012 fueron:

- i) Laboreo (L). Consistió en el manejo del suelo realizado comúnmente en la viticultura de la zona, donde el suelo se labra mecánicamente cada 4 ó 6 semanas, desde febrero a noviembre, a una profundidad de aproximadamente 15 cm. En lo sucesivo, nos referiremos a este tratamiento como laboreo o tratamiento L.
- ii) Trébol (TR). Cubierta vegetal sembrada con trébol persa (*Trifolium resupinatum* L. cv. Láser). En lo sucesivo, nos referiremos a esta cubierta como trébol o tratamiento TR.
- iii) Cebada (CB). Cubierta vegetal sembrada con cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Naturel/Samson). En lo sucesivo, nos referiremos a esta cubierta como cebada o tratamiento CB.

Cada una de las repeticiones constó de tres calles con cuatro filas contiguas de 60 cepas por fila. Las dos filas externas de cada repetición se consideraron borde, por lo que los muestreos se realizaron únicamente en las dos filas de cepas de la calle central de cada repetición. En la parcela, los tratamientos se encontraban distribuidos según se visualiza en el esquema de la Figura III.23.



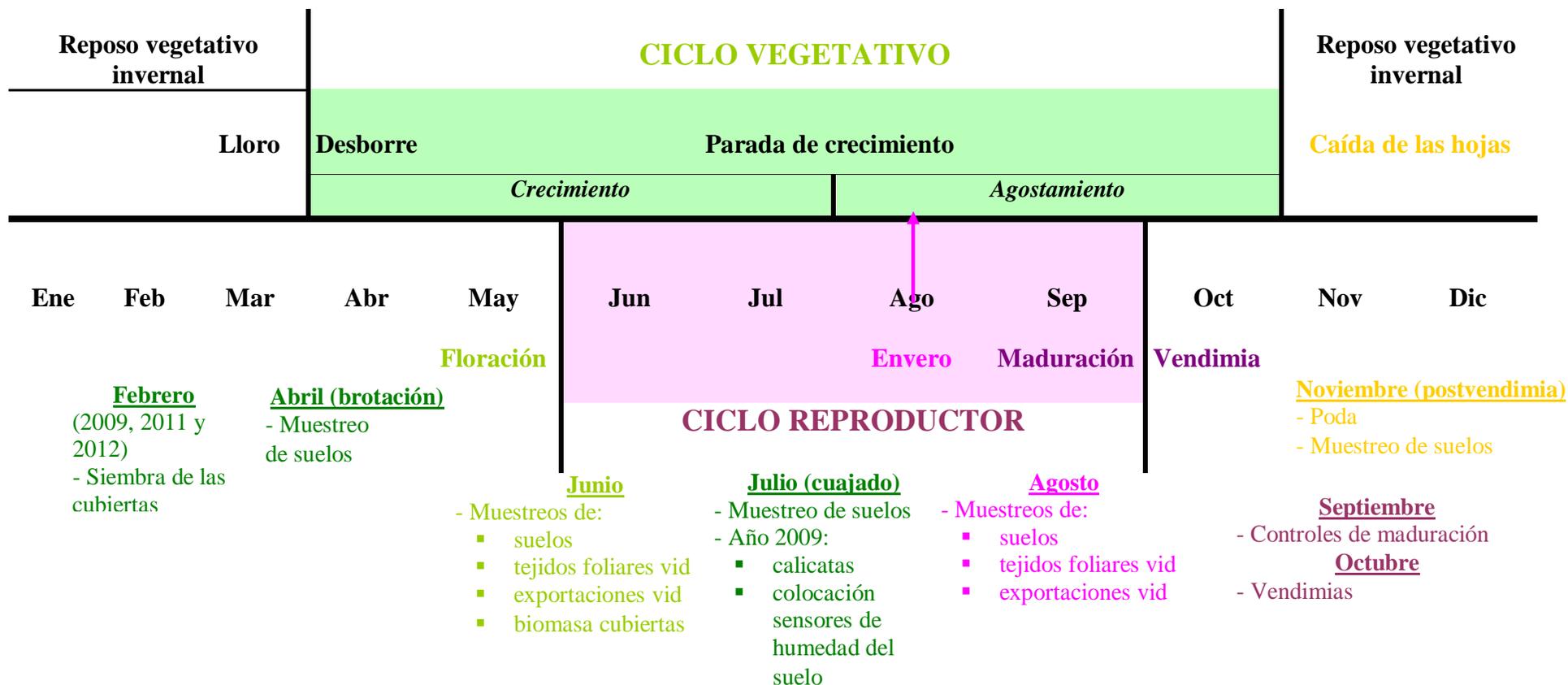
**Figura III.23.** Esquema de la distribución en la parcela de los tratamientos utilizados en el ensayo. Creación propia sobre ortofoto del Sistema de Información Geográfica de Parcelas Agrícolas (S.I.G.P.A.C.) de La Rioja, Gobierno de La Rioja. Ortofoto consultada en mayo de 2015.

### III.2.3. MUESTREOS REALIZADOS EN CAMPO A LO LARGO DEL CICLO DE LA VID

#### **III.2.3.1. Calendario general de las operaciones realizadas en campo**

A continuación, se muestra el esquema general de los muestreos realizados en campo según el ciclo vegetativo-productivo de la vid (Figura III.24). Las fechas concretas de las labores realizadas en cada una de las campañas se especifican en el apartado correspondiente a cada muestreo.

Los análisis realizados en el laboratorio como etapa de procesado de las muestras recogidas en campo, se fueron realizando según los períodos marcados por la metodología en cada caso.



**Figura III.24.** Estados del ciclo vegetativo y reproductivo de la vid en los que se han realizado muestreos en las parcelas en campo. Elaboración propia basada en el esquema del ciclo de la vid de Martínez de Toda (1991).

### III.2.3.2. Siembra de las cubiertas

La siembra de las cubiertas se realizó en febrero de 2009, mediante una sembradora semiautomática de tolva pequeña (165 litros de capacidad y 1,86 m de anchura de trabajo), adaptable para césped o cereal, modelo Agric<sup>®</sup> KSA/HER 70 (Agric-Bemvig S.A., Barcelona, España). La sembradora se montó sobre un equipo (Agric<sup>®</sup> GLF-70-BM, Agric-Bemvig) que mediante un rodillo de malla y nivelador de altura regulable, facilitó la preparación del terreno previo a la siembra. Ambos iban arrastrados por un tractor (Figura III.25). Las semillas se sembraron a chorrillo, a una profundidad de entre 0,5 y 1 cm. Tras la siembra, se realizó un pase de labor con un rulo con el objetivo de facilitar la nascencia de las semillas.



**Figura III.25.** Fotografía del momento de la siembra de las cubiertas.

Las semillas se sembraron en las tres repeticiones correspondientes a cada tratamiento de cubiertas, con una dosis de semilla de 50 kg ha<sup>-1</sup>. Para mantener una densidad adecuada de plantas de las cubiertas vegetales en las calles, en febrero de 2011, y en marzo de 2012 se volvieron a sembrar las dos cubiertas con la misma dosis y metodología que en 2009.

### **III.2.3.3. Manejo del viñedo**

Las líneas, unos 80 cm de anchura de suelo bajo las cepas de los tres tratamientos, se mantuvieron libres de vegetación desde el año 2000 (9 años antes de comenzar el ensayo). Para ello, se aplicaron, mediante mochila manual, tratamientos de herbicida de postemergencia localizado (con glifosato como principio activo).

En el caso de la cubierta de trébol, debido a su gran desarrollo durante la primavera del 2010, se realizó una siega en abril, con el objetivo de evitar posibles riesgos de heladas. La siega se realizó a una altura de 10 cm del suelo, mediante una segadora rotativa de discos arrastrada por un tractor, dejando el residuo de la cubierta tras la siega en la superficie del suelo de la parcela.

El resto de operaciones (aplicación de productos fitosanitarios, podas, eliminación de esperguras, ...) se realizaron del mismo modo en todos los tratamientos.

Los restos de los pámpanos podados en invierno se picaron mediante una picadora de sarmientos y se dejaron en las propias calles de la parcela (Figura III.26).



**Figura III.26.** Fotografía de los pámpanos dejados en la parcela tras la poda.

Durante el tiempo que duró el ensayo, no se aplicó ningún tipo de fertilizante en la parcela.

Las aplicaciones complementarias de agua mediante riego no estaban contempladas en el estudio. Sin embargo, en el verano del año 2012, el viticultor propietario de la parcela realizó un riego de apoyo puntual.

### III.2.3.4. Determinación de la disponibilidad de macronutrientes en el suelo

#### *III.2.3.4.1. Muestreo de suelos*

Con el objetivo de estudiar la disponibilidad y evolución del N mineral del suelo ( $\text{N-NO}_3^-$  y  $\text{N-NH}_4^+$ ), tras la implantación de las cubiertas vegetales se realizaron, en cada uno de los cuatro años de estudio, sucesivos muestreos del suelo en las tres repeticiones de cada tratamiento. Dichos muestreos se hicieron coincidir con los estados fenológicos más representativos del ciclo de la vid (brotación, floración, cuajado, envero y postvendimia) (Tabla III.4; Figura III.24). Además, sobre las muestras recogidas en floración, momento en el que se estima que el movimiento de elementos entre el suelo y la planta es mayor puesto que las necesidades de ésta son máximas, se determinaron los macronutrientes (N total, P, K, Ca y Mg) disponibles en el suelo.

**Tabla III.4.** Fechas de los muestreos de suelo realizados en la parcela durante las cuatro campañas estudiadas (2009-2012).

Estados fenológicos de la vid	2009	2010	2011	2012
Brotación	22 abril	30 abril	18 abril	25 abril
Floración	18 junio	22 junio	14 junio	19 junio
Cuajado	16 julio	22 julio	12 julio	17 julio
Envero	10 agosto	24 agosto	17 agosto	20 agosto
Postvendimia	28 octubre	24 noviembre	10 noviembre	13 noviembre

Los muestreos de suelo se realizaron cogiendo muestras separadas en cada sondeo a las profundidades de 0-15 y 15-45 cm. Se efectuaron sondeos en tres puntos distribuidos al azar en la calle central de cada repetición. Las muestras se recogieron empleando una barrena helicoidal tipo Edelman (Eijkelkamp<sup>®</sup>, Giesbeek, Holanda), de 40-60 mm de diámetro, acoplada a una ahoyadora automática (Stihl BT121, Waiblingen, Alemania) (Figura III.27).



**Figura III.27.** Barrena helicoidal (izquierda) acoplada a la ahoyadora empleada para el muestreo del suelo (derecha).

#### III.2.3.4.2. Procesado de las muestras de suelo

Una vez en el laboratorio, las muestras tomadas en el campo se dejaron secar al aire, a temperatura ambiente, para lo cual se colocó cada una de ellas extendida en una bandeja (Figura III.28). Una vez secas, dichas muestras se tamizaron a través de una tamizadora (Analysette 3 Pro, Fritsch), que mediante vibración automática (amplitud 3 mm) y por medio de una serie de tamices de distinta luz de malla (200 mm de diámetro x 50 mm de alto, ISO 3310-1, Fritsch), separó las fracciones de menos de 2 mm de diámetro de partícula y las de más de 2 mm (Figura III.29).



**Figura III.28.** Fotografía del secado a temperatura ambiente de las muestras de suelo recogidas en campo.

A)



B)



C)



**Figura III.29.** A) Tamizadora que permitió separar las fracciones de suelo con distintos tamaños de partícula. B) Partículas de diámetro mayor de 2 mm, C) Partículas de diámetro menor de 2 mm.

Una vez separadas las fracciones, se pesaron, lo que permitió calcular el porcentaje de elementos gruesos ( $> 2$  mm). La fracción de suelo de diámetro de partícula menor a 2 mm fue utilizada para el análisis químico de las muestras. Así, en las muestras de suelo provenientes de los muestreos de brotación, cuajado, envero y postvendimia se determinó el  $\text{N-NO}_3^-$  y el  $\text{N-NH}_4^+$  extraíbles, según la metodología descrita en el Apartado III.3.1. En las muestras del muestreo de floración, además, se realizó la determinación del N total, P Olsen, K, Mg, Ca y Na intercambiables, según la metodología descrita en el Apartado III.3.1.

### III.2.3.5. Determinación del estado nutricional de la vid

#### III.2.3.5.1. Muestreo foliar

Para determinar el estado nutricional en el que se encontraban las vides, se analizaron las concentraciones de los macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca) y de los micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na) presentes en los tejidos foliares. El contenido de estos elementos es variable a lo largo del ciclo de la planta y en función del tejido de estudio (limbo o pecíolo) (Romero *et al.*, 2010, 2013). Por ello, se tomaron muestras foliares en el momento de la floración y también en el envero de la vid, para analizar los contenidos nutricionales presentes en el limbo y en el pecíolo en ambos estados fenológicos (Tabla III.5).

**Tabla III.5.** Fecha de los muestreos foliares realizados en la parcela durante los cuatro años de ensayo (2009-2012).

Estados fenológicos de la vid	2009	2010	2011	2012
Floración	19 junio	23 junio	16 junio	20 junio
Envero	13 agosto	25 agosto	18 agosto	16 agosto

El muestro foliar se realizó tomando 20 hojas completas y sanas en cada una de las repeticiones de los tres tratamientos, procedentes de pámpanos fructíferos y de vigor medio, a razón de una hoja por planta (Figura III.30). En floración, la hoja muestreada fue la situada en posición opuesta al primer racimo y, en envero, la opuesta al segundo racimo, según metodología de Romero *et al.* (2010) para cv. Tempranillo. El muestreo se realizó cogiendo hojas de las dos orientaciones de cada fila.



**Figura III.30.** Detalle del muestreo foliar de floración, hoja opuesta al segundo racimo, envero.

#### III.2.3.5.2. Procesado del material foliar

Una vez en el laboratorio, se separaron los limbos de las hojas de los pecíolos (Figura III.31), y se lavaron ambos órganos por separado, tres veces con agua corriente y a continuación una vez con agua destilada. Para proceder al secado, se introdujo el material vegetal en una estufa (J.P. Selecta, Barcelona, España) a 60 °C hasta peso

constante (Figuras III.32). Una vez secas (Figura III.33), las muestras se molieron (molino ultracentrífugo Retsch GmbH ZM1, Haan, Alemania) y se tamizaron (tamiz anular de 0,5 mm de luz de malla, Retsch) (Figuras III.34 y III.35), dejándolas preparadas para el posterior análisis mineral.



**Figura III.31.** Separación de limbos y pecíolos de las muestras.



**Figura III.32.** Detalle del procesado del material foliar, secado en estufa.

A)



B)



**Figura III.33.** Material foliar tras su secado en estufa, A) limbos y B) pecíolos secos.



**Figura III.34.** Molino ultracentrífugo y pistola de aire comprimido para su correcta limpieza entre muestra y muestra.



**Figura III.35.** Detalle del tamiz anular de 0,5 mm de luz de malla tras procesar una muestra.

El material foliar (limbos y pecíolos) procesado (Figura III.36) fue analizado en el Laboratorio Regional de La Grajera, donde se determinaron los siguientes elementos: N, P, K, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na, según la metodología descrita en el Apartado III.3.2. La concentración de los macro y micronutrientes se expresó en g 100 g<sup>-1</sup> y mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente, referidos ambos a materia seca.



**Figura III.36.** Muestra del material foliar (limbos) procesada y preparada para su análisis mineral.

### **III.2.3.6. Determinación del desarrollo de los órganos renovables de la vid y estimación de los nutrientes asimilados**

#### *III.2.3.6.1. Muestreo de pámpanos, hojas y racimos*

La determinación de las exportaciones de elementos minerales en pámpanos, hojas y racimos y de la longitud de los pámpanos y nietos en los distintos tratamientos, conllevó varias operaciones, tanto en el campo como en el laboratorio, que se describen a continuación. Se siguió la misma metodología en los cuatro años de ensayo, tanto en la floración como en el envero de la vid (Tabla III.6).

**Tabla III.6.** Fecha de los muestreos de exportaciones realizados en la parcela.

Estados fenológicos de la vid	2009	2010	2011	2012
Floración	17 junio	22 junio	15 junio	20 junio
Envero	11 agosto	25 agosto	18 agosto	21 agosto

En el campo, se contó el número de pulgares y de pámpanos de cada una de las cinco cepas seleccionadas al azar y por repetición. A cada una de esas cepas se le cortó uno de sus pámpanos, representativo, ni el más vigoroso ni el más delgado, dejando tres yemas en la planta y, se anotó el número de racimos (o inflorescencia en el caso del muestreo de floración) que presentaba el pámpano cortado. La operación se repitió en las cinco cepas de cada repetición, es decir, en cada uno de los muestreos se procesaron en el laboratorio 15 pámpanos por tratamiento.

#### III.2.3.6.2. Procesado del material vegetal

En el laboratorio, se separaron las hojas y los racimos de cada pámpano y se midió la longitud del pámpano principal y la de los tallos secundarios (nietos) de cada uno de los pámpanos (Figura III.37). El procesado de las muestras, pámpanos, hojas y racimos, se realizó como se describe en el Apartado III.2.3.5.2.



**Figura III.37.** Medida en laboratorio de la longitud del pámpano principal y de los nietos.

Una vez procesado todo el material vegetal, se analizó en el Laboratorio Regional de La Grajera determinando los macro y micronutrientes (N, P, K, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na) según la metodología descrita en el Apartado III.3.2. La concentración de los macronutrientes y micronutrientes se expresó en  $\text{kg ha}^{-1}$  y  $\text{g ha}^{-1}$ , respectivamente, referidos ambos a materia seca.

### **III.2.3.7. Determinación de la biomasa y los nutrientes absorbidos por las cubiertas vegetales**

#### III.2.3.7.1. Muestreo de la biomasa de las cubiertas

Para determinar el desarrollo vegetativo y la cantidad de nutrientes asimilados por las cubiertas vegetales, se realizaron siegas manuales de la vegetación, a ras de suelo. Para ello, sobre la calle central de cada repetición, se lanzó al aire, al azar y en cuatro ocasiones, un cuadrado de 0,25 m<sup>2</sup> de área (en total 1 m<sup>2</sup> de superficie muestreada), recortando con tijeras toda la vegetación que estuviera incluida dentro del cuadrado (Figura III.38).



**Figura III.38.** Cuadrado de 0,25 m<sup>2</sup> de área utilizado en el muestreo de biomasa de las cubiertas.

Los muestreos se realizaron, coincidiendo con el estado fenológico de floración de la vid, los días 18, 24, 14 y 19 de junio del año 2009, 2010, 2011 y 2012, respectivamente.

#### III.2.3.7.2. Procesado del material vegetal de las cubiertas

Una vez en el laboratorio, la biomasa obtenida en cada repetición (Figura III.39) se pesó (peso fresco) y procesó siguiendo el procedimiento descrito en el Apartado III.2.3.5.2.

A)



B)



**Figura III.39.** Aspecto de la biomasa procesada A) trébol, B) cebada, antes de ser introducida en la estufa a 60 °C.

En el Laboratorio Regional de La Grajera se determinaron, sobre el material vegetal ya procesado, los macro y micronutrientes (N, P, K, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu, B, y Na) presentes en la biomasa de las cubiertas vegetales, según la metodología descrita en el Apartado III.3.2. La concentración de los macronutrientes y micronutrientes se expresó en  $\text{kg ha}^{-1}$  y  $\text{g ha}^{-1}$ , respectivamente, referidos ambos a materia seca.

### **III.2.3.8. Determinación de los parámetros de producción y de desarrollo vegetativo del viñedo**

#### *III.2.3.8.1. Producción*

En el momento óptimo de maduración de las bayas, determinado tras los sucesivos controles realizados durante la maduración, se vendimiaron, manualmente, alrededor de 15-20 cepas por repetición (Figura III.40). Las vendimias se realizaron los días 8, 19, 11 y 17 de octubre en las cuatro campañas estudiadas 2009, 2010, 2011 y 2012, respectivamente.



**Figura III.40.** Detalle de una calle de la parcela en el momento de la vendimia.

Además de la producción, durante la vendimia se determinó el número de cepas vendimiadas por repetición, el número de racimos por cepa y el peso medio del racimo, según el procedimiento descrito en el Apartado III.3.3.

#### *III.2.3.8.2. Estimación del vigor*

En noviembre, durante el período de reposo vegetativo de la planta (Figura III.24), se efectuó una pre poda manual en 10 de las cepas vendimiadas en cada repetición. En la pre poda, se dejaron 3 yemas por sarmiento con el fin de que el viticultor pudiera realizar, posteriormente, en el momento que considerara adecuado

para evitar en la medida de lo posible daños severos que pudieran causar las heladas por una poda temprana, la poda a 2 yemas según marca el Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja.

Para poder determinar la expresión vegetativa o vigor de las cepas, en el momento de la poda se hicieron diferentes medidas: número de pulgares y de sarmientos por cepa y el peso de madera de poda, que permitieron calcular el peso medio de cada sarmiento y el índice de Ravaz, como se describe en el Apartado III.3.5.

### III.2.3.9. Evaluación de la calidad del fruto

#### III.2.3.9.1. Control de maduración

En cada campaña, a partir del envero, se hicieron controles quincenales de bayas para definir la fecha óptima de vendimia. Para ello, se muestrearon 60 bayas, aleatoriamente, de 12 cepas seleccionadas entre las dos filas de la calle central de cada repetición, determinando los °Brix con un refractómetro portátil digital (Atago PAL-1, Atago Co., LTD., Tokio, Japón) (Figura III.41).



**Figura III.41.** Refractómetro digital portátil.

De acuerdo a esta metodología, la fecha óptima de vendimia se determinó según la evolución madurativa de las bayas, con la consideración de dejarlas madurar hasta que alcanzaran, en la mayoría de las repeticiones, alrededor de 12 ó 12,5° de alcohol probable (% v v<sup>-1</sup>).

### III.2.3.9.2. Vendimia

Con el objetivo de determinar los parámetros enológicos y las características organolépticas de las uvas, se realizó, en cada repetición, un muestreo de 600 bayas. Se muestrearon 20 cepas por repetición, a razón de 6 racimos por cepa, cogiendo 5 bayas por racimo (una baya de cada hombro, otras dos del centro del racimo y otra del extremo apical).

De las bayas muestreadas en cada repetición, aproximadamente 200 se separaron en el laboratorio para el análisis de antocianos. Sobre el resto de bayas, se realizaron las siguientes determinaciones físico-químicas: peso de 100 bayas (g), grado alcohólico probable (% v v<sup>-1</sup>), pH, acidez total (g l<sup>-1</sup> expresado como ácido tartárico), ácidos tartárico y málico (g l<sup>-1</sup>), potasio (mg l<sup>-1</sup>), índice de polifenoles totales (I.P.T.), intensidad de color (I.C.), tonalidad y antocianos (mg g<sup>-1</sup>). Además, parte del mosto se congeló para la posterior determinación de nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.) y aminoácidos (mg N kg<sup>-1</sup>). La metodología utilizada para cada determinación se especifica en el Apartado III.3.4.

### III.2.4. ELABORACIÓN DE LOS VINOS

Los vinos se elaboraron en la bodega experimental del Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario del Gobierno de La Rioja, siguiendo el método tradicional de elaboración de vino tinto utilizado en la D.O.Ca. Rioja (maceración en presencia de hollejos hasta que el contenido en azúcares reductores está por debajo de 2,5 g l<sup>-1</sup>). Se elaboró un vino por cada repetición.

Para cada tratamiento, se vendimiaron entre 15 y 20 cepas por repetición, llevando la uva a la bodega en cajas de unos 18-20 kg de capacidad (Figura III.42). En la bodega, las uvas se despallillaron y estrujaron separadamente, por repetición. La pasta obtenida de cada repetición se introdujo en depósitos de plástico alimentario (polietileno de alta densidad), de 100 litros de capacidad (Figura III.43). A cada depósito, se le adicionaron 50 mg l<sup>-1</sup> de anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>). Posteriormente, se inocularon levaduras secas activas *Saccharomyces cerevisiae* (Uvaferm VRB<sup>®</sup>, Lallemand S.A.S., St. Simon, Francia) a una dosis de 3 mg l<sup>-1</sup>. La fermentación alcohólica se completó en

la bodega a temperatura ambiente (19-21 °C), prolongándose entre 9-11 días durante los cuales se realizaron, diariamente, bazuqueos y controles de temperatura y de densidad. En la fase final de la misma, se analizó el contenido de azúcares reductores, según metodología descrita en el Apartado III.3.4. La fermentación alcohólica se dió por finalizada al obtenerse valores de azúcares reductores menores de 2,5 g l<sup>-1</sup> y densidad en torno a 0,999 g ml<sup>-1</sup>.



**Figura III.42.** Cajas con la uva vendimiada a la entrada en bodega.



**Figura III.43.** Depósitos en los que se realizó la fermentación alcohólica de los vinos (azules) y la fermentación maloláctica (recipientes de acero inoxidable de 25 litros que se encuentran detrás de éstos).

Una vez finalizada la fermentación alcohólica, los vinos fueron prensados y trasvasados a depósitos de acero inoxidable de 25 litros de capacidad, donde se llevó a cabo la fermentación maloláctica, a una temperatura aproximada de 20 °C (Figura III.43). Las bacterias lácticas comerciales inoculadas en cada depósito (10 mg l<sup>-1</sup>) fueron *Oenococcus oeni* (Uvaferm Alpha “U”<sup>®</sup>, Lallemand S.A.S.). El seguimiento de esta segunda fermentación se realizó midiendo el contenido en ácido málico mediante análisis enzimático (Boehringer-Mannheim/R-Biopharm, Darmstadt, Alemania). La fermentación maloláctica se dio por finalizada cuando el ácido málico residual fue menor de 0,2 g l<sup>-1</sup>, momento en el cual los vinos se trasvasaron a depósitos de vidrio de 20 litros de capacidad donde, tras sulfitarlos con 30 mg l<sup>-1</sup> de SO<sub>2</sub>, permanecieron estabilizándose por frío (8 °C) durante 30 días. Posteriormente, los vinos se desfangaron y embotellaron manualmente en botellas de vidrio de 75 cl de capacidad.

Al finalizar la fermentación maloláctica de los vinos se cogieron muestras para realizar los análisis de los siguientes parámetros físico-químicos: grado alcohólico (% v v<sup>-1</sup>), pH, acidez total (g l<sup>-1</sup> expresado como ácido tartárico), ácidos tartárico, málico y láctico (g l<sup>-1</sup>), potasio (mg l<sup>-1</sup>), acidez volátil (g l<sup>-1</sup>), SO<sub>2</sub> libre y total (mg l<sup>-1</sup>), absorbancia a 420, 520 y 620 nm, I.C., tonalidad, I.P.T. y antocianos (mg l<sup>-1</sup>). Además, se congeló muestra de cada vino para el posterior análisis de aminoácidos (mg N l<sup>-1</sup>) y aminas biógenas (mg l<sup>-1</sup>). La metodología utilizada en cada determinación se detalla en el Apartado III.3.4.

Para poder valorar cualitativamente el producto final, en cada campaña se realizó un análisis organoléptico, en el que se compararon los vinos por tratamiento (Apartado III.3.6).

### III.3. MÉTODOS ANALÍTICOS

#### III.3.1. DETERMINACIONES REALIZADAS EN EL SUELO

##### III.3.1.1. Textura

La textura es una propiedad física que se refiere a la granulometría del suelo, es decir, al tamaño de partículas inorgánicas que constituyen su fase sólida. Para cada

muestra, se determinó el contenido en arcilla (tamaño de partícula < 0,002 mm), limo (0,05-0,002 mm) y arena (2-0,05 mm), de acuerdo con la escala americana propuesta por el U.S.D.A.

La determinación de la textura, se realizó por difracción láser mediante analizador de partículas por difracción, modelo LS<sup>TM</sup> 13-320 de Beckman Coulter (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, EE.UU.). Se expresó en % de cada una de las fracciones, arena, limo y arcilla.

#### **III.3.1.2. Contenido en materia orgánica oxidable**

La materia orgánica se determinó por el método de oxidación incompleta del carbono orgánico (Walkley y Black, 1934) por una mezcla oxidante de dicromato potásico ( $K_2Cr_2O_7$ ) y ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), valorándose el exceso de dicromato por potenciometría, empleando un equipo Metrohm 798 MPT Titrino (Metrohm AG Company, Herisau, Suiza). La cantidad de agente oxidante consumido se comparó con las lecturas obtenidas en una curva de calibración preparada con patrones conocidos de disolución de glucosa.

#### **III.3.1.3. pH en agua**

El pH de un suelo expresa la acidez o alcalinidad del mismo, es decir, la concentración de iones hidrógeno que se encuentran en ese momento en la solución suelo:agua. Se midió potenciométricamente con electrodo de vidrio en una suspensión de relación 1:5 de suelo:agua destilada (peso volumen<sup>-1</sup>), empleando el equipo Metrohm 798 MPT Titrino (Metrohm AG Company).

#### **III.3.1.4. Conductividad eléctrica**

La conductividad eléctrica hace referencia a la capacidad que tiene una disolución para conducir la corriente eléctrica y es proporcional al contenido de sales disueltas. Se midió potenciométricamente con conductímetro Metrohm 712 Conductometer (Metrohm AG company), con una relación 1:5 (peso volumen<sup>-1</sup>) de

suelo:agua destilada, medida a 25 °C. La conductividad eléctrica se expresó en  $\text{dS m}^{-1}$ , referida a 25 °C.

#### **III.3.1.5. Nitrógeno total**

El N total (suma de N orgánico y N inorgánico) se determinó según el método de combustión seca e instantánea de la muestra (Matejovic, 1997) mediante analizador elemental CNS (TruSpec CN LECO inc., St. Joseph, MI, EE.UU.). En dicha combustión, el N de la muestra se transforma en  $\text{N}_2$ , que es llevado por un gas portador, helio, hasta unas celdas de infrarrojos y se mide por termoconductividad diferencial. A partir de un patrón y del peso de la muestra, se obtiene el porcentaje de N que contiene la muestra. Los resultados se expresaron en  $\text{kg N ha}^{-1}$ .

#### **III.3.1.6. Carbonatos totales**

Los carbonatos totales se determinaron utilizando un analizador de carbono inorgánico en caliente que los cuantifica por infrarrojos, mediante equipo Equilab CO-202 (Equilab S.A., San Sebastián de los Reyes, Madrid, España). La determinación de carbonatos en suelo se expresó como porcentaje de carbonato cálcico,  $\text{CaCO}_3$ .

#### **III.3.1.7. Caliza activa**

La caliza activa, fracción fina de la caliza ( $< 50 \mu\text{m}$ ) químicamente activa, puede entrar a formar parte de las distintas fracciones granulométricas del suelo e interferir en el normal desarrollo de las plantas, sobre todo si los niveles en el horizonte superficial son superiores al 35-40 %. Se determinó según el método del oxalato amónico (dosificación gasométrica de  $\text{CO}_2$  del carbonato amónico formado al reaccionar el carbonato cálcico activo con el oxalato amónico en disolución) y posterior volumetría de gases con calcímetro de Bernard. Los datos se expresaron en porcentaje de caliza activa.

### III.3.1.8. Capacidad de intercambio catiónico

La capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) muestra la capacidad que tiene un suelo de adsorber cationes de la disolución, liberando al mismo tiempo otros cationes en cantidades equivalentes a las adsorbidas, para así establecer un equilibrio entre ambas fases. La C.I.C. está relacionada con el contenido de arcillas (que tienen carga negativa) y con la materia orgánica del suelo. Para su cuantificación, se utilizó el método cobalttrihexamina (Cohex) (Orsini y Remy, 1976) y la determinación se realizó mediante espectrofotómetro de llama. La C.I.C. se expresó en  $\text{cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$ .

### III.3.1.9. Bases de cambio

El calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y el magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) intercambiables presentes en las muestras de suelo recogidas durante la apertura de las calicatas, se determinaron por el método de cobaltihexamina (Cohex) (Orsini y Remy, 1976). El sodio ( $\text{Na}^{+}$ ) y el potasio ( $\text{K}^{+}$ ) intercambiables presentes en esas mismas muestras, se analizaron empleando el reactivo Mehlich III (disolución que contiene  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,25 M,  $\text{NH}_4\text{F}$  0,015 M,  $\text{HNO}_3$  0,013 M y EDTA 0,001 M a un pH de 2,5) (Mehlich, 1984). La determinación de los cuatro elementos se llevó a cabo mediante un espectrofotómetro de plasma (I.C.P.). Los resultados se expresaron en  $\text{cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$ .

### III.3.1.10. Elementos extraíbles con el extractante Mehlich III

El sodio (Na), fósforo (P), potasio (K), hierro (Fe), manganeso (Mn) y sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) presentes en el suelo, fueron extraídos con el extractante Mehlich III, determinándose mediante espectrofotómetro de plasma (I.C.P.). Los resultados se expresaron en ppm.

### III.3.1.11. Nitratos ( $\text{N-NO}_3^-$ ) y amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ) extraíbles

Para la determinación de los nitratos y el amonio del suelo, se realizó una extracción con una disolución de KCl 2 M, en una relación 1:5 (suelo:disolución), según método de Mulvaney (1996). Los extractos de suelo se analizaron midiendo fotométricamente a las longitudes de onda de 550 nm ( $\text{N-NO}_3^-$ ) y 660 nm ( $\text{N-NH}_4^+$ )

mediante un autoanalizador elemental de flujo continuo segmentado (Seal Analytical 3HR, Seal Analytical, Hamburgo, Alemania). El valor de estos parámetros en la muestra se determinó por comparación con una recta de calibrado realizada previamente. Para convertir los valores obtenidos a  $\text{kg ha}^{-1}$  se empleó la densidad aparente, obtenida según el método del anillo (Grossman y Reinsch, 2002), y el porcentaje de elementos gruesos ( $> 2 \text{ mm}$ ) de cada espesor de suelo.

#### **III.3.1.12. Fósforo asimilable**

El contenido de fósforo asimilable se determinó mediante el método del fósforo Olsen (Olsen *et al.*, 1954), recomendado para suelos cercanos a la neutralidad ( $\text{pH} > 6,0$ ) o alcalinos. La extracción del fósforo se realizó empleando bicarbonato sódico,  $\text{NaHCO}_3$  0,5 M a  $\text{pH} 8,5$  (Kuo, 1996), en relación 1:20 (suelo:disolución). Posteriormente, el análisis del fósforo inorgánico se realizó usando el método del ácido ascórbico mediante reducción por fosfomolybdato, por colorimetría ácida (880 nm), según metodología de Murphy y Riley (1962), sobre los extractos Olsen obtenidos previamente, mediante espectrofotometría (UV-Visible espectrofotómetro Cary Varian 50 Conc., NC, EE.UU.). El valor del fósforo en la muestra se estimó por comparación con una recta de calibrado previamente realizada. El fósforo de las muestras se expresó en  $\text{mg P kg}^{-1}$  de suelo.

#### **III.3.1.13. Bases intercambiables ( $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{K}^+$ y $\text{Na}^+$ )**

La extracción de las bases de cambio ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ ) de las muestras de suelo recogidas en los muestreos realizados durante las campañas estudiadas, se llevó a cabo mediante disolución de acetato de amonio ( $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ) 1 N a  $\text{pH} 7,0$  (Peech *et al.*, 1947). Posteriormente, la determinación requirió añadir una disolución eliminadora de interferencias ( $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{CsCl}$ ) para asegurar la correcta medida de los cationes presentes en el extracto del suelo mediante espectrofotometría de absorción atómica (SpectrAA-140, Varian Pty Ltd., Belrose, Australia). La determinación del  $\text{K}^+$  (absorbe a longitud de onda,  $\lambda = 766,5 \text{ nm}$ ) y del  $\text{Na}^+$  ( $\lambda = 589,0 \text{ nm}$ ) se realizó empleando un mechero con llama de acetileno/aire. En el caso del  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\lambda = 422,7 \text{ nm}$ ) y del  $\text{Mg}^{2+}$  ( $\lambda = 285,2 \text{ nm}$ ), la determinación se fundamenta en espectrofotometría de absorción mediante lámpara de cátodo, utilizando el mismo equipo (SpectrAA-140). La

concentración de los cationes de las muestras se determinó por comparación con una recta de calibrado realizada previamente. Los resultados se expresaron en  $\text{cmol } (+) \text{ kg}^{-1}$  de suelo.

### III.3.2. DETERMINACIONES REALIZADAS EN EL MATERIAL VEGETAL

#### **III.3.2.1. Nitrógeno**

Para la determinación del N del material vegetal, se utilizó un analizador elemental CNS (TruSpec) siguiendo el procedimiento descrito en el Apartado III.3.1.5.

#### **III.3.2.2. Fósforo, potasio, magnesio, calcio, hierro, manganeso, zinc, cobre, boro y sodio**

Estos nutrientes se determinaron por el método de inducción de plasma acoplada en espectroscopía de emisión atómica mediante el equipo ICP-3300 DV Perkin Elmer (Perkin Elmer Inc., Waltham, MA, EE.UU.). En esta técnica, un sistema de nebulización forma un aerosol que transporta la muestra, mediante un gas noble, argón, a la antorcha del plasma, acoplado inductivamente por radio frecuencia. Debido a las altas temperaturas generadas en el plasma, los analitos son atomizados e ionizados generándose los espectros de emisión atómica de líneas características que serán detectadas y cuantificadas. Los resultados se expresaron en peso seco de cada elemento.

### III.3.3. ESTIMACIÓN DE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE LA VID

#### **III.3.3.1. Número de racimos por cepa**

En el momento de la vendimia se anotó el número de racimos vendimiados en cada una de las cepas.

### **III.3.3.2. Producción unitaria**

Para conocer la producción de cada cepa, a la entrada a la bodega, se pesaron las cajas con la uva de las cepas vendimiadas por cada repetición. La producción unitaria se expresó en  $\text{kg cepa}^{-1}$ .

### **III.3.3.3. Peso medio del racimo**

Conociendo la producción total de uva vendimiada en las 15-20 cepas de cada repetición y el número de racimos producidos por cada cepa, se calculó el peso medio de cada racimo, mediante la relación de ambos valores. El resultado se expresó en gramos.

## **III.3.4. DETERMINACIONES FÍSICO-QUÍMICAS DE MOSTOS Y VINOS**

Los análisis de los mostos y de los vinos se realizaron según los métodos oficiales de la Comisión Económica Europea de 17 de septiembre de 1990: “Métodos de Análisis Comunitarios en el Sector del Vino” (Reglamento CEE, N° 2676/90, Unión Europea, 1990). En el texto de esta memoria se indica la referencia empleada para aquellos que no están especificados en dicho Reglamento.

### *a) PARÁMETROS GENERALES*

#### **III.3.4.1. Peso de 100 bayas**

El peso de 100 bayas se determinó tomando, aleatoriamente, 100 bayas de la muestra obtenida de cada repetición, y pesándolas posteriormente. Se expresó en gramos.

#### **III.3.4.2. Concentración de azúcares**

La concentración de azúcares se expresa como grado alcohólico probable en mostos, puesto que durante la fermentación alcohólica llevada a cabo por las levaduras, éstas transforman los azúcares del mosto en etanol y  $\text{CO}_2$ . Por tanto, el análisis de la

concentración de azúcares determina el alcohol probable de las uvas con el que poder conocer su momento óptimo de madurez. El grado alcohólico probable se determinó por refractometría empleando un refractómetro Atago DBX-55A (Atago).

#### **III.3.4.3. Azúcares reductores**

Los azúcares reductores corresponden al conjunto de los azúcares, con función cetónica o aldehídica, con acción reductora y que permanecen en el vino una vez finalizada la fermentación. Contenidos inferiores a  $2,5 \text{ g l}^{-1}$  de azúcares reductores, determinan la finalización del proceso de fermentación alcohólica. Se determinaron mediante test enzimático Reflectoquant<sup>®</sup> (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, EE.UU.). Este método consiste en la transformación de la glucosa y fructosa en glucosa-6-fosfato que es oxidada por la coenzima  $\text{NAD}^+$  a gluconato-6-fosfato, bajo la acción catalítica de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa. La NADH formada reduce una sal de tetrazolio a un formazano azul que se determina por refractometría.

#### **III.3.4.4. Grado alcohólico**

El grado alcohólico es el número de litros de etanol contenidos en 100 litros de vino, medidos ambos volúmenes a una temperatura de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . La determinación se realizó mediante destilación del vino alcalinizado con una solución de hidróxido cálcico (Destilador-Extractor D.E.2000, Tecnología Difusión Ibérica, S.L., Barcelona, España). Posteriormente se midió el destilado por aerometría. El resultado se expresó en porcentaje en volumen ( $\% \text{ v v}^{-1}$ ).

#### **III.3.4.5. pH**

El pH se determinó mediante el cálculo de la diferencia de potencial medida entre dos electrodos (de referencia y de medida) sumergidos en el mosto o en el vino y conectados a un pHmetro (micropH 2001 CRISON, Crison Instruments S.A., Barcelona, España).

#### **III.3.4.6. Acidez total**

La acidez total es la suma de los ácidos del mosto o del vino cuando se lleva a pH 7 añadiendo una disolución alcalina valorada. Se determinó mediante valoración potenciométrica, empleando el pHmetro micropH 2001 (Crison), de 20 ml de mosto o vino con hidróxido sódico 0,1 N, hasta llegar a pH 7. Los resultados se expresaron en g l<sup>-1</sup> de ácido tartárico.

#### **III.3.4.7. Acidez volátil**

La acidez volátil se determinó mediante valoración de los ácidos volátiles separados del vino por arrastre con vapor de agua y rectificación de los vapores (Destilador-Extractor D.E.2000, Tecnología Difusión Ibérica S.L.). Se realizó con NaOH 0,1 N en presencia de fenoftaleína como indicador. El resultado se expresó en g l<sup>-1</sup> de ácido acético.

#### **III.3.4.8. Ácido málico**

El ácido málico se determinó mediante un método de análisis enzimático, (Boehringer-Mannheim). Consiste en una serie de reacciones sucesivas en las que se libera o se oxida una cantidad de NADH proporcional a la concentración del compuesto estudiado, que se determina en base a su absorbancia a 340 nm medida en un espectrofotómetro UV-Visible Lambda 10 (Perkin Elmer Inc.). Se expresó en g l<sup>-1</sup>.

#### **III.3.4.9. Ácido tartárico**

El ácido tartárico se determinó, tanto en mostos como en vinos, según el método colorimétrico de Rebelein (Lipka y Tanner, 1974). Este método se basa en la formación de un complejo estable entre el ácido tartárico (ácido fijo del vino más abundante) y el vanadato amónico de color amarillo-naranja, cuantificado a 530 nm por espectrofotometría UV-Visible Lambda 10 (Perkin Elmer Inc.). Su resultado se expresó en g l<sup>-1</sup> y su concentración se calcula a partir de una recta de calibrado.

#### **III.3.4.10. Ácido láctico**

El ácido láctico se determinó mediante método enzimático (Boehringer-Mannheim) que, mediante reacciones sucesivas en las que se libera u oxida una cantidad proporcional de NADH a la concentración del ácido láctico, permitió determinar la absorbancia a 340 nm medida en espectrofotómetro UV-Visible Lambda 10 (Perkin Elmer Inc.). El resultado se expresó en  $\text{g l}^{-1}$ .

#### **III.3.4.11. Potasio**

El potasio se determinó directamente en el mosto o vino diluido (1:250) mediante espectrofotometría de emisión atómica a 766,7 nm de longitud de onda (SpectrAA-140), empleando un mechero con llama de acetileno/aire. La concentración de potasio se calculó a partir de una recta de calibrado. Su concentración se expresó en  $\text{mg l}^{-1}$ .

#### *b) PARÁMETROS DE COLOR*

#### **III.3.4.12. Antocianos**

Para la determinación de los antocianos totales se utilizó el método de Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965), en el que se realizó una extracción con HCl al 1 % durante 30 minutos, y un calentamiento posterior hasta 60 °C. La decoloración del extracto se llevó a cabo con metabisulfito sódico. Posteriormente, se efectuó una valoración a 520 nm en cubetas de vidrio de 1 cm de paso óptico (espectrofotómetro UV-Visible Lambda 10, Perkin Elmer Inc.). La concentración de antocianos se expresa en  $\text{mg g}^{-1}$  de uva para la determinación en mostos y en  $\text{mg l}^{-1}$  para los vinos y se obtiene interpolando, en una curva patrón realizada por Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965), la diferencia de absorbancias a 520 nm del mosto o vino diluido y acidificado, con el mismo mosto o vino decolorado con bisulfito sódico.

#### **III.3.4.13. Índice de polifenoles totales (I.P.T.)**

El I.P.T. se determinó midiendo la absorbancia a 280 nm, según el método de Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), en cubeta de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico con una dilución 1:100 (espectrofotómetro UV-Visible Lambda 10, Perkin Elmer Inc.).

#### **III.3.4.14. Intensidad de color (I.C.)**

En los mostos y vinos tintos, la I.C. viene dada por la suma de las absorbancias a 420 nm (color amarillo), 520 nm (color rojo) y 620 nm (color azul-morado), determinadas en cubetas de vidrio de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro UV-Visible Lambda 10 (Perkin Elmer Inc.).

#### **III.3.4.15. Tonalidad**

La tonalidad es la relación obtenida entre la absorbancia a 420 nm y a 520 nm, determinadas mediante espectrofotómetro UV-Visible Lambda 10 (Perkin Elmer Inc.). Es un parámetro adimensional que valora el matiz del mosto o vino indicando la evolución de su color.

### *c) COMPOSICIÓN NITROGENADA*

#### **III.3.4.16. Aminoácidos en mostos y vinos**

Los aminoácidos libres de los mostos y de los vinos se determinaron mediante cromatografía líquida (H.P.L.C.) en fase reversa, siguiendo el método descrito por Garde-Cerdán *et al.* (2014a). El equipo de cromatografía líquida (H.P.L.C.-Agilent 1100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE.UU.) disponía un detector de fluorescencia (F.L.D.) y un detector de fotodiodos (D.A.D.). Para la determinación, se tomaron 5 ml de cada muestra centrifugándolas a 3220 g durante 10 minutos. Posteriormente, se les añadió 100 µl de norvalina (estándar interno para cuantificar todos los aminoácidos primarios) y 100 µl de sarcosina (estándar interno para cuantificar los aminoácidos secundarios). La mezcla se filtró (0,45 µm OlimPeak, Teknokroma, Barcelona, España) y se sometió a una derivatización precolumna con *o*-

ftaldehído (OPA, Agilent Technologies) para los aminoácidos primarios y con 9-fluorenilmetilclorofornato (FMOC, Agilent Technologies) para los aminoácidos secundarios. El volumen inyectado de muestra fue de 10  $\mu$ l. Para la separación cromatográfica, se empleó una columna Hypersil ODS de 250 x 4,0 mm, y 5  $\mu$ m de tamaño de partícula y precolumna Lichropsher 100 RP-18 (5  $\mu$ m), de 4 x 4 mm (Agilent Technologies), que se mantuvo una temperatura constante de 40 °C.

Como fases móviles se utilizaron:

- Eluyente A: 75 mM de acetato de sodio, 0,018 % trietilamina (pH 6,9) y 0,3% tetrahidrofurano.
- Eluyente B: agua, metanol y acetonitrilo (10:45:45, v/v/v).

Todos los eluyentes fueron filtrados mediante filtros Millipore (Millipore Corporation) de 0,45  $\mu$ m. El gradiente cromatográfico empleado se muestra en la Tabla III.7.

**Tabla III.7.** Gradiente utilizado para la separación cromatográfica de los aminoácidos.

Tiempo (min)	Eluyente B (%)	Flujo (ml min <sup>-1</sup> )
<b>0-15</b>	0-47,5	1,63
<b>15-15,01</b>	47,5	1,63-0,80
<b>15,01-25</b>	47,5- 60	0.80
<b>25-25,01</b>	60	0,80-1,63
<b>25,01-26,01</b>	60-100	1,63
<b>26,01-26,51</b>	100	1,63-2,50
<b>26,51-34,01</b>	100	2,50
<b>34,01-36,01</b>	100-0	1,63

La detección de los aminoácidos se realizó por fluorescencia, mediante el detector F.L.D. a  $\lambda$  excitación = 340 nm,  $\lambda$  emisión = 450 nm para los aminoácidos primarios, y  $\lambda$  de excitación = 266 nm,  $\lambda$  emisión = 305 nm para los aminoácidos secundarios, y con el detector de D.A.D. con una  $\lambda$  = 338 nm para los aminoácidos primarios y  $\lambda$  = 262 nm para los secundarios. La identificación de los compuestos se realizó comparando el tiempo de retención con el de los estándares puros. Los

compuestos de referencia puros y los estándares internos utilizados fueron de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Co., Madrid, España). El agua empleada en todo el proceso se purificó con un equipo Milli-Q (Millipore Corporation).

En los mostos se determinaron 20 aminoácidos (Asp: ácido aspártico, Glu: ácido glutámico, Asn: asparagina, Ser: serina, His: histidina, Gly: glicina, Thr: treonina, Cit: citrulina, Arg: arginina, Ala: alanina, Tyr: tirosina, Val: valina, Met: metionina, Trp: triptófano, Phe: fenilalanina, Ile: isoleucina, Orn: ornitina, Leu: leucina, Lys: lisina y Pro: prolina). También en los vinos se determinaron dichos aminoácidos, con la excepción de la Pro.

Las concentraciones de aminoácidos se expresaron en mg N kg<sup>-1</sup> de uvas enteras para los mostos y en mg N l<sup>-1</sup> para los vinos.

### **III.3.4.17. Nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.) y amonio en el mosto**

El nitrógeno metabolizado por las levaduras (N.F.A.), es una fracción nitrogenada constituida por el amonio y la suma de los aminoácidos libres, exceptuando la prolina. Este parámetro se determinó enzimáticamente mediante un método basado en la combinación de la función amínica de los aminoácidos con aldehído fórmico y posterior dosificación del carboxilo libre por acidimetría (Aerny, 1996). La concentración de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) se determinó restando a la concentración de N.F.A. el contenido de los aminoácidos primarios cuantificados mediante H.P.L.C. Los valores de N.F.A. y NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se expresaron como mg N kg<sup>-1</sup> de uva.

### **III.3.4.18. Aminas biógenas en el vino**

Para la determinación de las aminas biógenas en el vino, se utilizó el método descrito por Garde-Cerdán *et al.* (2014b). Las aminas biógenas reaccionan con el OPA, de manera que su determinación se llevó a cabo empleando el detector FLD a  $\lambda$  excitación = 340 nm,  $\lambda$  emisión = 450 nm y con el detector de DAD con una  $\lambda$  = 338 nm, en las mismas condiciones cromatográficas empleadas para la cuantificación de los aminoácidos descritas en el Apartado III.3.4.16. Las aminas biógenas estudiadas en los vinos fueron histamina, metilamina, etilamina, tiramina, feniletilamina, putrescina,

isoamilamina y cadaverina. Las concentraciones de las aminos biógenas en los vinos se expresaron en  $\text{mg l}^{-1}$ .

### III.3.5. PARÁMETROS QUE DETERMINAN EL DESARROLLO VEGETATIVO Y EL VIGOR

#### III.3.5.1. Número de pulgares y sarmientos

Previamente a la realización de la poda de las cepas, se contó el número de pulgares y de sarmientos de cada cepa.

#### III.3.5.2. Peso de madera de poda (P.M.P.)

Una vez podadas 10 cepas por repetición, se recogió todo el material vegetal podado, se ató en forma de gavilla, pesándose en la propia parcela, empleando una báscula portátil (OCS-2, Token) (Figura III.44). Esta operación permitió calcular el peso de la madera exportada en la poda (P.M.P.), dividiendo el peso total de la madera obtenida de las cepas podadas por repetición, entre el número de cepas. Se expresó en  $\text{kg de madera cepa}^{-1}$ .



**Figura III.44.** Pesado en campo del material de poda.

### **III.3.5.3. Peso medio del sarmiento**

La relación entre el P.M.P. y el número de sarmientos de cada cepa, permitió determinar el peso medio del sarmiento, expresado en gramos.

### **III.3.5.4. Índice de Ravaz**

El índice de Ravaz permite evaluar el equilibrio existente entre la producción y el desarrollo vegetativo de cada viñedo. Para ello es preciso relacionar la producción (kg uva cepa<sup>-1</sup>) y el P.M.P. (kg madera cepa<sup>-1</sup>) obtenidos en cada repetición.

### **III.3.6. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LOS VINOS**

Cada año, tras comprobar mediante una cata previa que los vinos elaborados no presentaban defectos y, en su caso, desechar la muestra que se encontrara defectuosa, los vinos procedentes de cada una de las tres repeticiones por tratamiento se mezclaron en una única muestra, obteniéndose por tanto, tres vinos por añada, uno por tratamiento. Esos tres vinos se sometieron a un análisis organoléptico realizado por un panel de entre 7 y 10 catadores, constituido por personal experto perteneciente a la Sección de Viticultura y Enología del Servicio de Investigación Vitivinícola del Gobierno de La Rioja y habituado a catar vinos de la D.O.Ca. Rioja, con los matices de la variedad Tempranillo elaborado según el método seguido en el ensayo.

Así, las muestras, tras haber transcurrido alrededor de entre 4 y 6 meses desde su elaboración, fueron evaluadas en orden aleatorio y de forma comparativa mediante una cata a ciegas, utilizando una modificación de la ficha oficial de cata propuesta por el Instituto Nacional de Denominaciones de Origen (I.N.D.O.) (Figura III.45). En esta ficha se puntúan las fases visual, olfativa y gustativa del vino, así como su armonía o equilibrio y el nivel de preferencia de los vinos por parte de los catadores, con puntuaciones decrecientes al aumentar la preferencia.

MUESTRA 1		EXCELENTE	MUY BIEN	BIEN	CORRECTO	REGULAR	DEFECTUOSO	PUNTUACIÓN	OBSERVACIONES
FASE VISUAL		0	1	3	4	6	9		
FASE OLFATIVA	Intensidad	0	2	6	8	12	18		
	Calidad	0	2	6	8	12	18		
FASE GUSTATIVA	Intensidad	0	2	6	8	12	18		
	Calidad	0	3	9	12	18	27		
ARMONÍA		0	3	9	12	18	27		

Figura III.45. Ficha de cata utilizada para el análisis organoléptico de cada uno de los vinos.

Las copas utilizadas fueron catavinos con las características indicadas en la Norma UNE 87-022-92 (Copa para la degustación de vino) (AENOR, 1997). Las catas se realizaron en la sala dispuesta al efecto en el Servicio de Investigación Vitivinícola del Gobierno de La Rioja, que cumple con las condiciones de temperatura, iluminación, estado higrométrico, aislamiento acústico y ausencia de olores extraños exigidas por la Norma UNE 87-004-79 (Guía para la instalación de una sala de cata) (AENOR, 1997).

#### III.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico de los datos se realizó utilizando el programa estadístico Statgraphic Plus versión 4.0 para Windows (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, EE.UU.).

Los efectos de los tratamientos en las variables medidas en cada campaña fueron valorados usando un modelo lineal univariante (ANOVA), comparando tratamientos mediante el test de la mínima diferencia significativa (LSD). Además, se determinaron coeficientes de correlación de Pearson, que permitieron evaluar las relaciones existentes entre algunos parámetros estudiados de las parcelas experimentales (tres tratamientos x tres repeticiones x cuatro años).

El grado de significación se expresa como: (\*):  $p \leq 0,05$ ; (\*\*):  $p \leq 0,01$ . Con letras distintas se indican los valores que, según el test utilizado, son diferentes

significativamente entre tratamientos y, en el caso de no haber diferencias significativas no se pusieron letras.





#### IV.1. CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE LA PARCELA

La parcela objeto de estudio (coordenadas U.T.M., X: 522.580; Y: 4.699.016) se encuentra situada en una terraza de nivel I del río Najerilla, en la parte occidental de la cuenca del río Ebro a su paso por La Rioja. La pendiente de la parcela es apenas perceptible, un 0,2 % con orientación oeste cayendo hacia la llanura de inundación del Najerilla y, no muestra signos visibles de erosión. Presenta capa freática accesible, a una profundidad media de 200 cm, con escorrentía lenta y moderadamente bien drenada y permeable. Tanto la litología del material originario como la del subyacente, son cantos y gravas en matriz arenosa del período Cuaternario. La profundidad efectiva media de la parcela es de 68 cm y el espesor de la sección control de aproximadamente 75 cm.

##### IV.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PERFIL DEL SUELO Y CLASIFICACIÓN

A partir del estudio de las calicatas (Figura IV.1) realizadas el 7 de julio de 2009 en la calle central de cada uno de los tratamientos, se describieron tres horizontes (Ap, Bw y C) en el perfil del suelo. De acuerdo a los datos analíticos obtenidos en el laboratorio (Apartado IV.1.2), y según las bases clasificatorias del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (U.S.D.A.) (Soil Survey Staff, 2010), el horizonte Ap se corresponde con un horizonte de diagnóstico *Ócrico* y el horizonte Bw con un horizonte de diagnóstico *Cámbico*. Siguiendo las bases de la clasificación taxonómica propuesta por el U.S.D.A., el suelo de la parcela se clasificó como perteneciente al grupo *Xerorthent oxiácuico*, con clase textural *esquelético franca*, clase mineralógica *mezclada*, clase reactiva *no ácida* y con régimen de temperatura *mésico*.



**Figura IV.1.** Perfil edáfico representativo de la parcela de estudio con los horizontes descritos (Ap, Bw y C) y sus espesores.

#### IV.1.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL PERFIL DEL SUELO

La descripción y análisis de las 9 calicatas mostró que el suelo era homogéneo en toda la parcela en el que se describieron tres horizontes (Ap, Bw y C). En la Tabla IV.1, se muestran las características físicas y químicas del perfil edáfico de la repetición CB 1, representativo del suelo de la parcela.

La génesis del suelo es la típica de la zona, con el horizonte A muy antropizado por el uso continuado como tierra de cultivo. Todos los horizontes son básicos, pH de 8,5, clasificados como “ligeramente alcalinos” (pH: 8,4-9) por Porta y López-Acevedo (2005) y presentaron conductividades eléctricas (C.E.<sub>1,5</sub>) bajas (< 0,35 dS m<sup>-1</sup>) propias

de suelos considerados no salinos (Fuentes Yagüe, 1999). Se apreció bajo contenido en materia orgánica (< 1 %), incluso en el horizonte superficial (Ap), por lo que, según la bibliografía es un suelo “muy pobre” en materia orgánica (Anexo II, Tabla 1). Este bajo contenido en materia orgánica, junto con la alta proporción de limo que presentó respecto a las otras fracciones texturales en los dos horizontes más superficiales, hace que sea un suelo altamente susceptible a la erosión (Peregrina *et al.*, 2010b).

La capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) indica la cantidad de cationes que puede adsorber el complejo de cambio, el cual está esencialmente constituido por arcillas y materia orgánica humificada, presentó según la referencia de Gagnard *et al.* (1988) (Anexo II, Tabla 2), valores “normales” para los horizontes Ap y Bw y “muy débil” para el horizonte profundo (Tabla IV.1). Valores de C.I.C. menores de 6 cmol<sup>(+)</sup> kg<sup>-1</sup>, indican suelos poco fértiles. Por su parte, una C.I.C. elevada favorecería la fertilidad del suelo, aunque requeriría que el contenido de cationes asimilables presentes en el suelo fuera alto ya que, si es demasiado bajo, los cationes quedarían retenidos mayoritariamente en el complejo de cambio y, por tanto, su disponibilidad para el cultivo no sería inmediata.

En los tres horizontes estudiados, los carbonatos (Tabla IV.1) se encontraron en valores descritos en la bibliografía como “muy bajos” (< 5 %, Anexo II, Tabla 3). La caliza activa también fue “baja” (< 6 %, Anexo II, Tabla 3) en todos los horizontes.

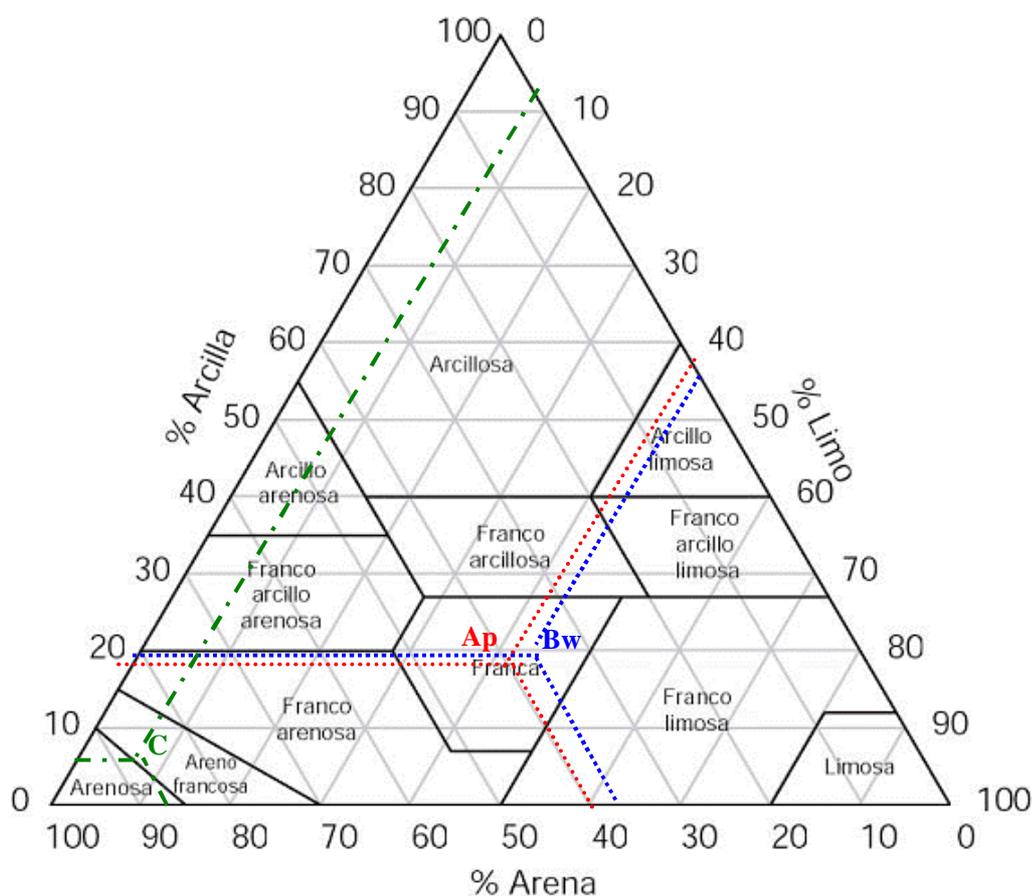
El color Munsell (determinado en seco en el horizonte superficial) indicó que el suelo presentaba un matiz con color dominante amarillo-rojizo con la máxima tonalidad (10, en una escala comprendida entre 0 y 10), claridad o brillo (valor) y pureza o saturación de color (croma) medias (brillo 5 sobre 8 y pureza 4 sobre 8) (Anexo II, Figura 2; Munsell Soil Color Charts, 1998). Así, la descripción del color del suelo para el horizonte superficial, parámetro relacionado con la proporción de compuestos orgánicos y minerales que presenta el suelo, fue 10YR 5/4 (pardo amarillento).

Tabla IV.1. Características edáficas de la parcela estudiada.

CARACTERÍSTICAS EDÁFICAS DE LA PARCELA EXPERIMENTAL			
Horizonte genético	<i>Ap</i>	<i>Bw</i>	<i>C</i>
Profundidad (cm)	0-15	15-53	53-100
pH (H <sub>2</sub> O, 1:5)	8,5	8,5	8,5
C.E. <sup>a</sup> 1:5 (dS m <sup>-1</sup> )	0,11	0,11	0,09
C.I.C. <sup>b</sup> (cmol <sub>(+)</sub> kg <sup>-1</sup> )	11,1	10,1	3,1
Materia orgánica (%)	0,94	0,98	0,22
Carbonatos (%)	4,2	2,0	0,5
Caliza activa (%)	1,6	0,7	0,4
Color Munsell (seco)	10YR 5/4 Pardo amarillento	-	-
Textura U.S.D.A. <sup>c</sup> , distribución del tamaño de partícula (%)			
Arena (2000–50 µm)	38,3	35,8	86,3
Limo (50–2 µm)	43,2	44,6	8,3
Arcilla (<2 µm)	18,5	19,6	5,4
Porcentaje de elementos gruesos en volumen (%)			
Elementos gruesos (gravas y cantos)	< 15	15-40	60-80
Elementos intercambiables determinados en la tierra fina (diámetro < 2 mm)			
Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>(+)</sub> kg <sup>-1</sup> )	11,7	11,9	5,3
Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>(+)</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,8	0,9	0,4
K <sup>+</sup> (cmol <sub>(+)</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,4	0,4	0,1
Na <sup>+</sup> (cmol <sub>(+)</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,1	0,1	0,1
Elementos Mehlich III en la tierra fina (diámetro < 2 mm)			
Na (ppm)	15,0	16,0	15,0
P (ppm)	62,7	78,7	19,5
K (ppm)	146,0	147,0	42,0
Fe (ppm)	116,7	116,6	106,6
Mn (ppm)	205,4	232,8	67,3
Sulfatos (ppm)	39,0	40,0	21,0

<sup>a</sup> C.E.: conductividad eléctrica, <sup>b</sup> C.I.C.: capacidad de intercambio catiónico, <sup>c</sup> U.S.D.A.: Departamento de Agricultura de los EE.UU.

El porcentaje de arena, arcilla y limo existente en la composición de cada horizonte (Tabla IV.1) permitió, mediante el triángulo textural de tamaño de partículas según la escala U.S.D.A. (Figura IV.2), determinar el tipo granulométrico o clase de textura del suelo. Así, los horizontes Ap y Bw presentaron clase textural “franca” y el horizonte C “arenosa-franca”. De acuerdo a ello, los suelos de la parte superficial del perfil (ligeros), presentarán capacidad de retención de agua media-alta (no retienen tanta agua como lo hacen los suelos arcillosos, por lo que la cantidad de agua disponible para las plantas será buena), son aireados y permeables, pero fácilmente apelmazables cuando se destruye su estructura, lo que dificulta la circulación del aire y del agua. Por su parte, los horizontes arenosos, como el horizonte C, suelen presentar fertilidad natural, capacidad de retención de agua y microporosidad bajas, aunque son más sencillos de trabajar y no presentan problemas de aireación (Navarro García y Navarro García, 2013).



**Figura IV.2.** Diagrama triangular para la determinación de la clase textural de los horizontes Ap, Bw y C del suelo según escala de texturas del U.S.D.A.

Los valores de  $\text{Ca}^{2+}$  intercambiable alcanzaron nivel “normal” ( $10\text{-}14 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$ ) en los dos horizontes superficiales, y “bajo” ( $3,5\text{-}10 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$ ) para el horizonte C (Tabla IV.1; Anexo II, Tabla 4), lo cual podría implicar suelos con valores potencialmente altos de  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , ya que los niveles de Mn Mehlich III lo eran ( $> 200 \text{ ppm}$ ) para los dos horizontes superficiales, y “normales” ( $20\text{-}200 \text{ ppm}$ ) en profundidad (Tabla IV.1). Un exceso de  $\text{Ca}^{2+}$  podría inducir carencias de P y Mg. El  $\text{Mg}^{2+}$  intercambiable presentó valores “bajos” ( $0,6\text{-}1,50 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$ ) en los horizontes Ap y Bw y “muy bajos” ( $< 0,5 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$ ) en el C (Tabla IV.1; Anexo II, Tabla 3), como se apreció al calcular la relación entre  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ . Esta relación  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , cuyo valor óptimo se suele referenciar como 5, en nuestro estudio presentó valores de 15,2, 13,8 y 14,7 para cada horizonte del perfil (Ap, Bw y C), respectivamente, indicando que la adsorción del  $\text{Mg}^{2+}$  estaba influenciada por el exceso de  $\text{Ca}^{2+}$  (al ser valores superiores a 10) y, por tanto, indicó la posible existencia de una carencia inducida de  $\text{Mg}^{2+}$  en el suelo. También la relación  $\text{K}^{+}/\text{Mg}^{2+}$ , cuyo rango óptimo se considera entre 0,2 y 0,3, apuntaba riesgo de carencia inducida de  $\text{Mg}^{2+}$  en el horizonte superficial (esta relación en el horizonte Ap fue de 0,52, cuando el límite para determinar la existencia del déficit está descrito como 0,5), estando algo más compensado en el horizonte Bw ( $\text{K}^{+}/\text{Mg}^{2+} = 0,46$ ) y en el C ( $\text{K}^{+}/\text{Mg}^{2+} = 0,28$ ). Si esta ratio fuera menor de 0,1 podría dar lugar a una carencia inducida de  $\text{K}^{+}$  (Fuentes-Yagüe, 1999). Por su parte, los valores de  $\text{K}^{+}$  intercambiable, fueron “normales” en los dos horizontes superficiales del suelo y “muy bajos” en el profundo (Tabla IV.1; Anexo II, Tabla 4). Así, basándose en la importancia de la proporción de los cationes en el complejo de cambio, la comunidad científica ha establecido un consenso sobre las proporciones deseables de  $\text{K}^{+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  presentes en el complejo de cambio (Anexo II, Tabla 5), encontrando sentido a la idoneidad del porcentaje global de  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ . El valor obtenido de la suma de estos dos cationes, muestra la saturación del complejo de cambio, la cual permite al suelo alcanzar una buena estructura y, al mismo tiempo, generar un pH que favorezca la solubilidad de la mayor parte de los nutrientes (Fuentes-Yagüe, 1999). Las proporciones encontradas en nuestro suelo mostraron valores “correctos” de % de  $\text{K}^{+}$  sobre la C.I.C. en todos los horizontes, y de  $\text{Mg}^{2+}$  sobre la C.I.C. en el horizonte subsuperficial, así como “bajos” en el superficial y “altos” en el profundo (Tabla IV.2; Anexo II, Tabla 5). Sin embargo, el método utilizado para la determinación del  $\text{Ca}^{2+}$  sobrestima su proporción sobre la C.I.C., dando valores mayores a 100 por lo que estos resultados no se han discutido.

**Tabla IV.2.** Proporciones de  $K^+$  y  $Mg^{2+}$  en función de la C.I.C. obtenidos en el perfil del suelo.

Horizontes genéticos	$K^+/C.I.C.$	$Mg^{2+}/C.I.C.$
	(%)	
Ap	3,60	6,94
Bw	3,96	8,51
C	3,22	11,61

En cuanto al  $Na^+$  intercambiable, los valores pueden considerarse “muy bajos” (Anexo II, Tabla 4), a pesar de que el Na Mehlich presentó valores “normales” (0-15 ppm). Un exceso de  $Na^+$  en el suelo podría suponer deficiencias de  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ .

Tanto los valores de P como los de Fe Mehlich eran “altos” ( $> 60$  y  $> 100$  ppm, respectivamente), exceptuando el horizonte C que presentó nivel de P considerado como “bajo” (0-30 ppm). Por su parte, en los dos horizontes superficiales, el K Mehlich se encontró dentro del rango definido como “normal” (100-200 ppm) y “bajo” (0-100 ppm) en el horizonte profundo (González-Martínez, 1990). Los niveles de sulfatos de la parcela (Tabla IV.1) se encontraban muy por debajo de las 1.500 ppm, que generalmente marcan el límite para que exista yeso precipitado en el suelo.

## IV.2. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD DEL SUELO

Las Figuras IV.3, IV.4 y IV.5 muestran la evolución del contenido de humedad del suelo a tres profundidades distintas (30, 60 y 100 cm, respectivamente), registrada por los sensores tipo T.D.T. (Transmisimetría de Dominio de Tiempo) instalados en cada una de las repeticiones de los tres tratamientos estudiados. Durante el tiempo que duró el ensayo, los sensores fueron registrando continuamente datos, con una cadencia de 30 minutos entre una medición y la siguiente. Sin embargo, para facilitar la visibilidad de la evolución de la humedad en el suelo a lo largo de todo el período de tiempo de estudio, en los gráficos se muestran las medias de todas las mediciones registradas a lo largo del día, es decir, se han representado, por cada profundidad, las medias diarias de humedad registradas en el suelo de cada tratamiento desde el 24 de julio de 2009 hasta el 15 de abril de 2013.

En general, se apreció mayor humedad en el suelo en la capa superficial (30 cm) (Figura IV.3) que a mayor profundidad (60 y 100 cm; Figuras IV.4 y IV.5, respectivamente), siendo además la capa superficial la más afectada por las fluctuaciones provocadas por las lluvias, y por el riego realizado por el viticultor en el verano del año 2012. Así, una vez estabilizados los sensores en el suelo, permitieron observar que los valores de humedad registrados en superficie en cada campaña variaron en un rango de entre el 15,5 % (meses de agosto a octubre) y el 27 % de volumen de agua presente en el suelo (meses de enero a marzo), con valores intermedios entre abril y julio (Figura IV.3). El valor de humedad máximo registrado entre enero y marzo representaría el porcentaje de humedad del suelo a capacidad de campo.

En cuanto al efecto provocado por los tratamientos en la humedad del suelo, sólo se encontraron diferencias significativas en momentos determinados del ciclo de la vid, principalmente en aquellas fases en las que las necesidades hídricas por parte de las cubiertas y de las cepas eran mayores que la disponibilidad de agua que era capaz de proporcionar el suelo. En las condiciones de clima mediterráneo como la nuestra, estas situaciones se dan principalmente durante el verano. Sin embargo, por facilitar la comprensión y claridad de las gráficas, los períodos concretos en los que se encontraron diferencias significativas de humedad del suelo entre tratamientos, se mencionarán específicamente sólo en el texto de la memoria. Por otra parte, al igual que lo observado por otros autores en estudios con cubiertas vegetales, durante el período de reposo vegetativo de la vid, las condiciones de humedad del suelo tendieron a igualarse.

### IV.2.1. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD EN LA CAPA SUPERFICIAL DEL SUELO

A lo largo de los cuatro años de estudio y a nivel de la capa de suelo más superficial, muestreada con los sensores colocados a 30 cm de profundidad, hubo períodos en los que los tratamientos de cubiertas provocaron diferencias significativas de humedad en el suelo respecto del laboreo (Figura IV.3). En relación al efecto provocado por la cubierta de cebada frente al tratamiento L, en el año 2009 se observó una reducción significativa con el tratamiento CB de entre un 2,14 % y un 5,34 % de humedad en el período comprendido entre el 19/9/2009 y el 2/10/2009. También se

encontró mayor humedad en el tratamiento L respecto al de cebada en el período comprendido entre el 20/10/2009 y el 7/11/2009 (rango de diferencia de entre un 2,34 % y un 7,26 % de humedad). Asimismo, en el año 2010, el tratamiento CB presentó significativamente menor humedad que el tratamiento L entre el 28/4/2010 y el 21/6/2010. Además, se encontraron diferencias entre ambos tratamientos en el período comprendido entre el 20/7/2010 y el 3/9/2010 (con un rango de entre un 1,09 y un 1,57 % de humedad mayor en el tratamiento L). Durante las campañas 2011 y 2012, las diferencias de humedad provocadas como consecuencia de la implantación del tratamiento CB respecto del L no fueron significativas, salvo excepciones puntuales como el 11/10/2012, en el que el suelo con la cubierta mostró un 3,58 % menos de humedad que el del suelo tratamiento L (Figura IV.3).

En relación al efecto del tratamiento TR, éste disminuyó la humedad del suelo respecto al tratamiento L de forma significativa en el período comprendido entre el 19/9/2009 y el 28/9/2009 (con un rango de diferencia de humedad de entre un 2,14 % y un 5,34 %), y entre el 22/10/2009 y el 1/11/2009 (rango de diferencia de humedad de entre un 3,70 % y un 6,20 %) (Figura IV.3). También en el año 2010, el tratamiento TR disminuyó significativamente la humedad respecto al tratamiento L en dos períodos distintos: desde el 18/3/2010 al 10/7/2010 (rango de diferencia de humedad de entre un 0,96 y un 9,06 %) y desde el 20/7/2010 al 3/9/2010 (rango entre 0,92 % y 2,08 % humedad). Las diferencias apreciadas entre ambos tratamientos, TR *versus* L, no fueron significativas a lo largo de toda la campaña 2011. La menor competencia por el agua de la cubierta de trébol apreciada en esta campaña respecto a los otras campañas, podría ser debida a que en 2011 dicha leguminosa se resembró de forma tardía (10/3/2011), por lo que su desarrollo vegetativo máximo, y por tanto su capacidad de consumo de agua, fue menor que en las dos campañas anteriores (Figura IV.3). En el año 2012, el tratamiento TR redujo significativamente la humedad del suelo respecto del tratamiento L desde el 4/6/2012 al 17/6/2012, con un rango de diferencia de humedad entre ambos tratamientos de entre un 3 % y un 3,70 %.

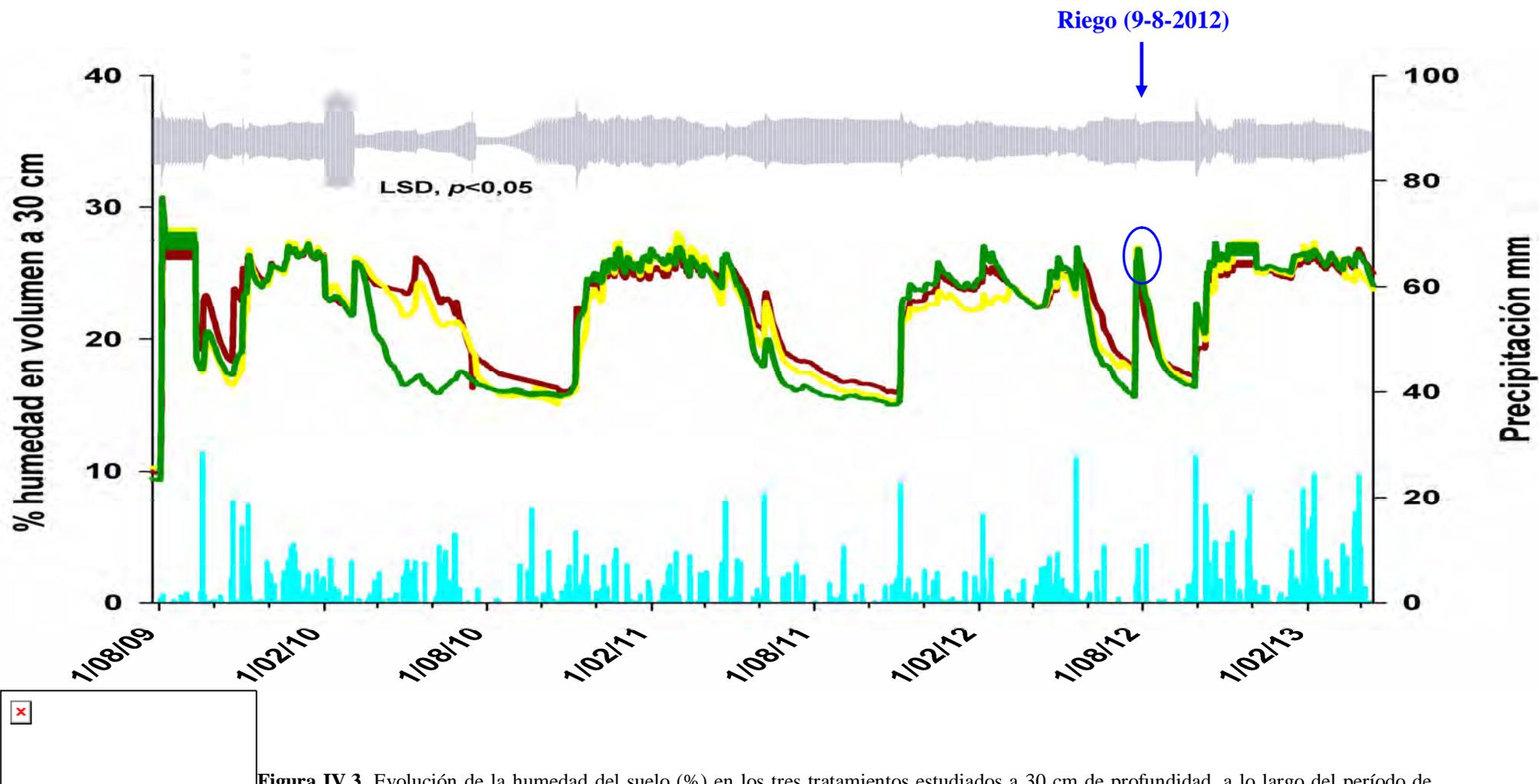


Figura IV.3. Evolución de la humedad del suelo (%) en los tres tratamientos estudiados a 30 cm de profundidad, a lo largo del período de ensayo. Las barras grises verticales indican la menor diferencia significativa entre los tres tratamientos ( $p \leq 0,05$  con el test LSD).

En relación al efecto provocado, en los suelos de ambas cubiertas de estudio, en la campaña 2009 no se apreciaron diferencias significativas de humedad (Figura IV.3). En el año 2010, durante los períodos comprendidos entre el 18/3/2010 y el 10/7/2010 y desde el 20/7/2010 al 22/7/2010, el tratamiento TR redujo significativamente la humedad respecto del tratamiento CB (entre un 1,09 % y un 7,20 % en el primer período, y entre un 0,71 % y un 0,78 % de diferencia de humedad en el segundo período). Durante la campaña 2011, únicamente tres días de abril (del 21 al 23) presentaron una reducción significativa de la humedad bajo el tratamiento TR respecto del tratamiento CB. En el año 2012, la diferencia de humedad del suelo entre las dos cubiertas fue significativa entre el 5/2/2012 y el 20/2/2012, siendo en este período (en el que ambas cubiertas estaban brotando) entre un 2,41 % y un 3,36 % mayor la humedad en el suelo del tratamiento TR que en el del tratamiento CB.

Por otra parte, además de los períodos de tiempo en los que los tratamientos provocaron cambios en la humedad del suelo, en la Figura IV.3 se observa cómo la recarga de agua por efecto de las lluvias se produjo de forma acompasada en los tres tratamientos del ensayo. Se observa que tras las recargas de agua de lluvia (o de riego en el caso de agosto del 2012), éstas permitieron que la superficie del suelo alcanzase la capacidad de campo (inicio de noviembre 2009, final de noviembre años 2010 y 2011 y principio de octubre en el 2012). Los suelos de los tres tratamientos reaccionaron con la misma tasa de incremento de humedad, alcanzando la humedad a capacidad de campo prácticamente en las mismas fechas.

Asimismo, los resultados mostraron que el proceso de secado del suelo se produjo con mayor velocidad bajo los tratamientos de cubiertas vegetales que con el tratamiento L. Este efecto sería atribuible al consumo de agua por parte de las cubiertas vegetales, que incrementaron la evapotranspiración respecto al laboreo. Si bien es cierto que, tal y como observaron Celette *et al.* (2008), en períodos de bajo consumo de agua por parte de las cubiertas vegetales, su transpiración se ve compensada por una mejor infiltración del agua en el suelo. Monteiro y Lopes (2007), Celette *et al.* (2008), Sweet y Schreiner (2010) y Ruiz-Colmenero *et al.* (2011) también observaron en sus ensayos con cubiertas vegetales mayor humedad con el laboreo, ya que no sólo no hay efecto de la transpiración por parte de las cubiertas vegetales, sino porque además, con el laboreo, en primera instancia, se aumenta la porosidad del suelo.

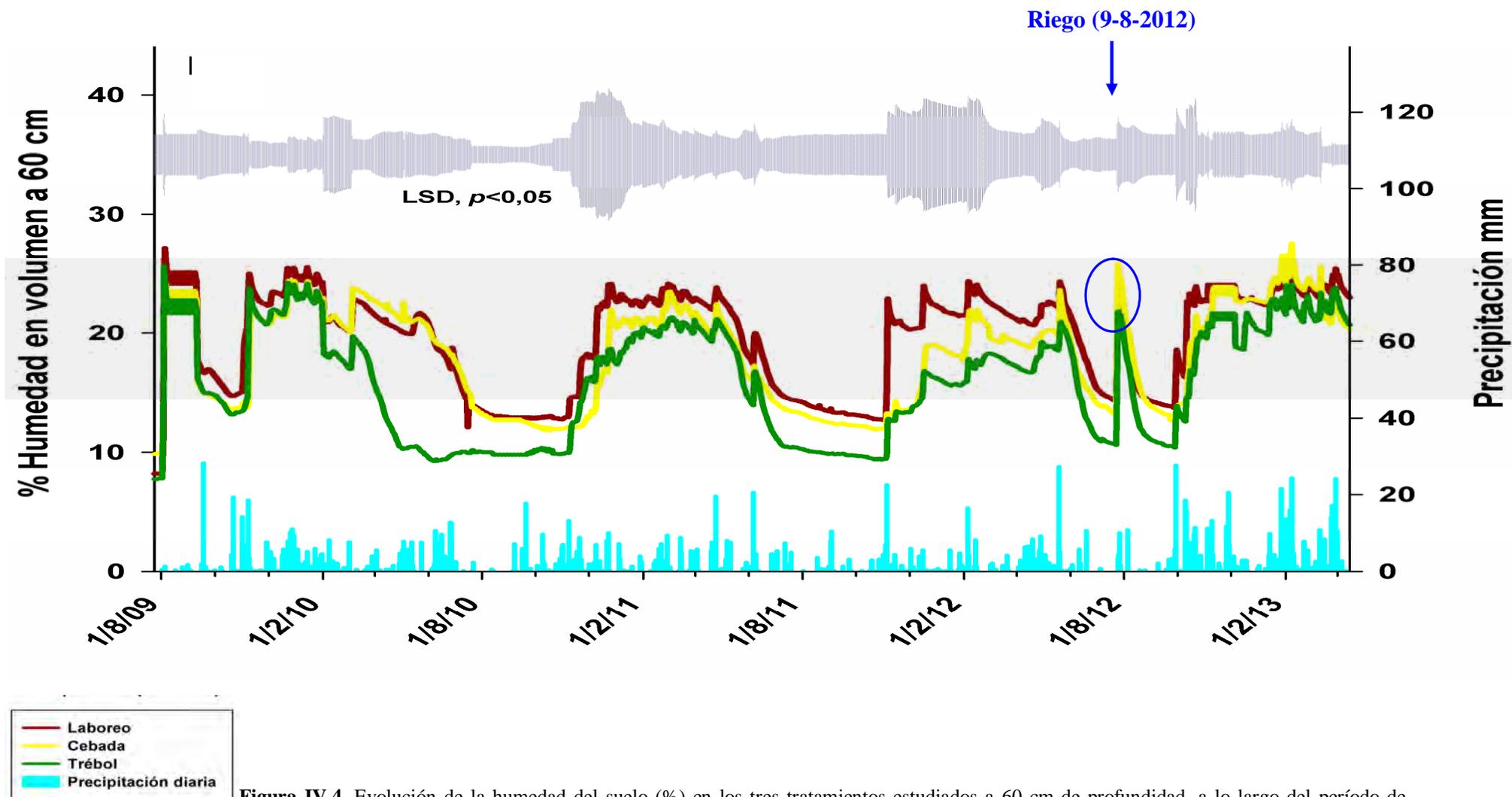
La mayor competencia hídrica ejercida por las cubiertas vegetales se observó en la época en la que se estaba secando el suelo, correspondiente a los meses de junio y julio (floración y desarrollo vegetativo de la vid), siendo mayor el efecto observado con la cubierta de trébol sobre el suelo que con la cebada. Hacia el final del verano, la humedad se fue igualando entre los tratamientos (Figura IV.3). Resultados similares encontraron Celette *et al.* (2005) en una parcela con cv. Sauvignon blanc en el sureste de Francia, donde alcanzaron en junio el punto de marchitez permanente en el suelo, a partir del cual no encontraron diferencias significativas entre la humedad del suelo en el tratamiento de gramíneas y en el del control químico de las hierbas en su ensayo. Por su parte, nuestros resultados coincidieron con los observados por Ruiz-Colmenero *et al.* (2011) durante la fase de crecimiento y de maduración, en la profundidad mayor de su ensayo (10-35 cm) en el que estudiaron tres tratamientos con cubiertas vegetales distintas; una gramínea (*Brachypodium distachyon* L.), una cebada (*Hordeum vulgare* L.) y centeno (*Secale cereale* L.) frente al laboreo. Sin embargo, con el tratamiento de cubierta espontánea, la menor humedad respecto al laboreo la observaron incluso en la capa superficial (0-10 y 10-35 cm) a lo largo de todo el ciclo de la vid, tanto durante el período vegetativo como durante el de reposo.

### IV.2.2. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD EN LA CAPA INTERMEDIA DEL SUELO

En relación al efecto de la cubierta de cebada respecto a la humedad del suelo del tratamiento L a 60 cm de profundidad (Figura IV.4), en la campaña 2009 únicamente se observaron diferencias significativas en períodos en los que la cubierta vegetal ya estaba agostada (entre el 3/11/2009 y el 10/11/2009, el 4/12/2009 y el 7/12/2009 y el 20/12/2009 y el 22/12/2009), con rangos de diferencia de humedad de entre el 2,04 % y el 9,35 %, mayor en el suelo del laboreo que en el de la cubierta. Este hecho pudo ser debido a una mayor retención de humedad como consecuencia de la presencia de materia orgánica en la parte superficial del suelo, pudiendo quedar retenida el agua respecto a un suelo desnudo. En la campaña 2010, las diferencias significativas observadas a 60 cm de profundidad entre estos tratamientos, se dieron en días puntuales, como el 4/5/2010 y el 16/7/2010. En el año 2011, hubo dos períodos en los que la humedad del suelo con el tratamiento CB fue menor que con el L: cuatro días en junio

(del 13 al 16) y del 4 al 14 de noviembre, período en el que la cebada ya no competía en el suelo. Al igual que en la campaña 2011, en 2012 las diferencias significativas entre ambos tratamientos se dieron al final del ciclo de la cubierta (del 2/6/2012 al 13/6/2012), con un rango de entre un 2,29 % y un 2,91 % más de humedad registrado en el suelo del laboreo que en el de la cebada.

Respecto a las diferencias significativas de humedad obtenidas a 60 cm de profundidad entre el tratamiento L y el tratamiento TR, en el año 2009 coincidieron con el período del 3/11/2009 al 10/11/2009 comentado para el caso del laboreo y la cebada, e incluso el rango de mayor humedad presente en el suelo del tratamiento L frente al del TR, varió entre valores muy similares (4,69 % y 5,89%) a los observados entre los tratamientos L y CB (Figura IV.4). En el año 2010, las diferencias de humedad mostradas en el suelo a 60 cm con el tratamiento TR frente al L, fueron significativas durante buena parte del ciclo (del 7/3/2010 al 9/11/2010), probablemente inducidas por el gran desarrollo experimentado por el trébol en esa campaña, como se observó en la cantidad de biomasa obtenida en los muestreos realizados en campo (Tabla IV.7). Las diferencias de humedad fueron incluso mayores del 11 % a final de mayo-principio de junio, momento de máxima demanda hídrica por parte de la leguminosa. En la campaña 2011, a pesar de la resiembra tardía del trébol, al igual que en el año anterior, se observaron diferencias significativas en mayo (del 15 al 20), así como a partir de junio (del 11/6/2011 al 30/9/2011), con valores de entre un 3,30 % y un 4,24 % de humedad más en el suelo del tratamiento L que en el del TR. Como ocurrió con la cebada, en el período del 4 al 14 de noviembre se detectaron valores de humedad mayores con el laboreo que con el trébol. Asimismo, entre el 20/11/2011 y el 2/12/2011 las diferencias de humedad entre ambos tratamientos fueron significativas. En 2012, fueron varios los períodos en los que la diferencia de humedad en el suelo entre el tratamiento TR y el L fue significativa. Así, se encontraron diferencias entre el 11/3/2012 y el 20/4/2012 y entre el 30/5/2012 y el 27/7/2012, períodos en los que la competencia ejercida por el crecimiento de la cubierta redujo entre un 2,49 % y un 4,26 % la humedad en el suelo en este tratamiento respecto al L.



**Figura IV.4.** Evolución de la humedad del suelo (%) en los tres tratamientos estudiados a 60 cm de profundidad, a lo largo del período de ensayo. Las barras grises verticales indican la menor diferencia significativa entre los tres tratamientos ( $p \leq 0,05$  con el test LSD).

Además, en la campaña 2012, se observaron diferencias de humedad en momentos puntuales, fuera del ciclo natural de influencia directa de la cubierta vegetal (18 y 19 de septiembre; 12 y 13 y 25 y 26 de octubre; del 3 al 9 de noviembre y del 6 al 15 de diciembre), con reducciones de humedad en el tratamiento TR respecto al laboreo en torno al 3,38-4,40 %.

En lo relativo a las diferencias significativas encontradas con el tratamiento CB frente al tratamiento TR, en relación a la humedad registrada en el suelo a 60 cm de profundidad, en 2009 la mayoría estuvieron ligadas a períodos en los que el trébol presentó mayor desarrollo vegetativo (Tabla IV.7). Así, en el año 2009, en el que las cubiertas rebrotaron en postvendimia, la diferencia de humedad registrada en el suelo, entre el 8 y 10 de noviembre, fue entre un 2,2 % y un 6,3 % menor con el trébol que con la cebada. Éste fue un período en el que ambos tratamientos presentaron diferencias con el laboreo. En la campaña 2010, la diferencia de humedad entre los dos tratamientos de cubiertas, coincidió con el período de diferencia de humedad registrado entre el laboreo y el trébol, del 7/3/2010 al 5/10/2010, que, por otro lado, también coincidió con el período de diferencias significativas registrado a 30 cm de profundidad entre ambas cubiertas y entre el laboreo y el trébol. Esta circunstancia se debió, como se comentará más adelante en esta memoria (Tabla IV.7), a que en el año 2010 el trébol presentó gran desarrollo a lo largo de todo el ciclo, ejerciendo por tanto, mayor competencia por el agua del suelo. En el año 2011, las diferencias significativas entre ambas cubiertas se dieron del 27/6/2011 al 12/7/2011, período en el que la cebada ya estaba comenzando a agostarse y, sin embargo, el trébol, al haber sido sembrado en primavera, aún estaba en pleno período de crecimiento, de ahí que su consumo de agua fuera mayor (se encontraba entre un 2,66 % y un 3,25 % más seco el suelo bajo el tratamiento TR que bajo el tratamiento CB). Respecto a lo ocurrido en la campaña 2012, las diferencias significativas se dieron entre mediados de junio y julio (del 19/6/2012 al 17/7/2012), período en el que la cebada ya se había agostado y el trébol también había presentado diferencias en la humedad del suelo respecto al laboreo.

Durante el período de estudio, la mayor competencia hídrica realizada por las cubiertas vegetales frente al laboreo se apreció a la profundidad de 60 cm. A dicha profundidad, la tendencia general observada fue que la cubierta de trébol presentara suelos ligeramente más secos, seguidos por los suelos con la cubierta de cebada que, por

otro lado, en determinados momentos, generalmente coincidentes con períodos en los que la cubierta estaba agostada, no se diferenció de la humedad registrada en el suelo del laboreo. La cubierta de trébol se mantuvo vegetativamente activa durante períodos de tiempo ligeramente más largos que la de cebada que, por lo general, se agostó más temprano (mayo-junio), lo que podría explicar la mayor competencia hídrica observada, especialmente en las gráficas de 30 y 60 cm, con el tratamiento de trébol respecto a los otros tratamientos. También pudo influir en esa mayor capacidad de absorción de agua del suelo la distinta configuración y distribución radicular en el suelo de las cubiertas. Así, Celette *et al.* (2008) observaron que las raíces de las gramíneas de su estudio alcanzaban el máximo de densidad a 15 cm de profundidad y, a partir de esa profundidad, iban progresivamente disminuyendo hasta los 95 cm en los que prácticamente ya no encontraron ninguna raíz. Coincidiendo con ellos, Ruiz-Colmenero *et al.* (2011) observaron que las raíces de distintas especies de cubiertas en las calles de sus viñedos al sureste de Madrid crecían hasta una profundidad de entre 12 y 20 cm. En nuestro ensayo, aunque no se hizo un estudio específico de la profundidad ni del volumen explorado por las raíces de las cubiertas en el suelo, por los resultados de humedad obtenidos con los sensores se podría considerar que la mayoría de las raíces alcanzaron una profundidad suficiente como para que a los 60 cm se observaran las mayores diferencias significativas de secado del suelo de las cubiertas vegetales con respecto al tratamiento testigo. Incluso en momentos muy puntuales, en períodos de reposo vegetativo de la vid y estando ya agostadas las cubiertas vegetales, se observaron algunas diferencias de humedad entre tratamientos, aunque prácticamente insignificantes, a 100 cm de profundidad (Apartado IV.2.3).

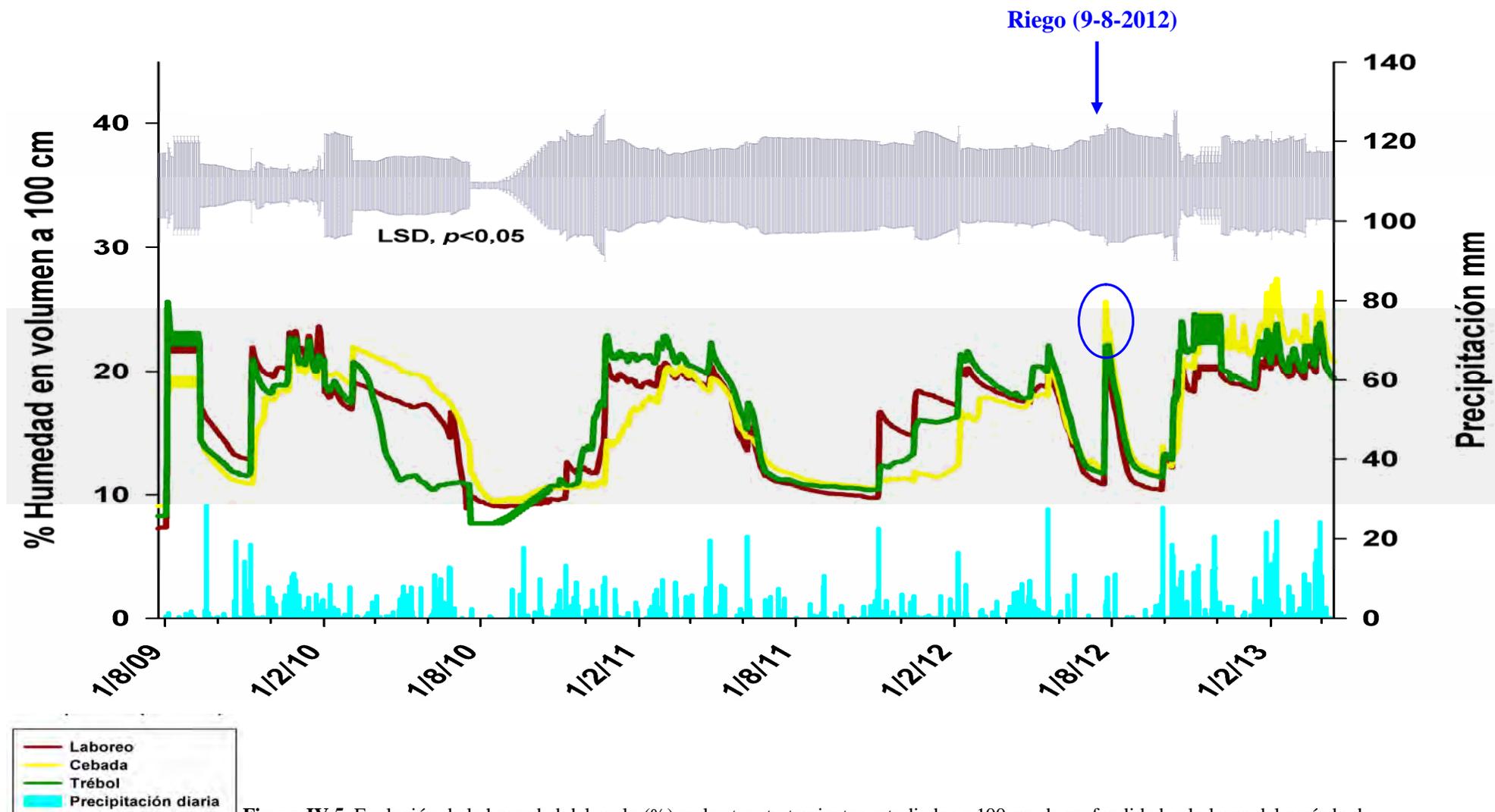
### IV.2.3. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD EN LA CAPA DE MAYOR PROFUNDIDAD DEL SUELO

A la profundidad de 100 cm fueron pocos los períodos en los que se apreciaron diferencias significativas entre la humedad del suelo de los tratamientos (Figura IV.5). Así, en el año 2009, la cebada presentó diferencias de humedad, respecto al laboreo, únicamente entre el 9 y el 24 de noviembre y el día 23/12/2009. En el año 2010, las diferencias se dieron después de producirse el agostamiento de la cubierta (entre el 20/7/2010 y el 10/8/2010) con diferencias en un rango de entre un 4,85 % y un 11,0 % de humedad a lo largo de este período. También el 24 y 25 de diciembre se registraron

diferencias significativas entre estos dos tratamientos. Sin embargo, ni en la campaña 2011 ni en la 2012 la humedad registrada a 100 cm de profundidad mostró diferencias significativas entre los tratamientos L y CB.

En lo referente al efecto observado con el tratamiento TR frente al L, únicamente se apreciaron diferencias significativas de humedad a 100 cm de profundidad en el año 2010; en el período comprendido entre el 20/7/2010 y el 5/9/2010, siendo entre un 0,92 % y un 2,24 % mayor la humedad en el laboreo (Figura IV.5). Al igual que en la campaña 2009, en la 2011 no se apreciaron diferencias significativas en la humedad entre los suelos de los tratamientos TR y L a esta profundidad. Por su parte, en el año 2012, las diferencias entre ambos tratamientos fueron significativas únicamente en días concretos, durante el otoño, período en el que las necesidades hídricas de la vid son bajas.

La diferencia de humedad observada en el suelo entre los tratamientos de ambas cubiertas a esta profundidad, coincidió en el 2009 con el período en el que se observaron también entre la cebada y el laboreo (del 9/11/2009 al 18/11/2009), siendo entre un 3,69 % y un 10 % menor la humedad registrada con el tratamiento CB que con el TR. Sin embargo, en el año 2010, los períodos en los que las diferencias fueron significativas coincidieron con lo observado entre los tratamientos TR y L (del 20/7/2010 al 5/9/2010), puesto que, probablemente, influyó el mayor desarrollo vegetativo que presentó el trébol durante ese año (Tabla IV.15). Asimismo, entre el 24 y el 31 de diciembre se apreciaron diferencias de humedad a 100 cm de profundidad entre ambas cubiertas vegetales, así como se observó también entre el tratamiento CB y el L. En el año 2011 no se apreció ninguna diferencia significativa entre la humedad registrada a 100 cm en los suelos con ambas cubiertas vegetales. Al igual que lo observado en el caso de los tratamientos L y TR, en el año 2012, las diferencias significativas de humedad entre los suelos de las dos cubiertas vegetales, se dieron únicamente en días muy puntuales del ciclo.



**Figura IV.5.** Evolución de la humedad del suelo (%) en los tres tratamientos estudiados a 100 cm de profundidad, a lo largo del período de ensayo. Las barras grises verticales indican la menor diferencia significativa entre los tres tratamientos ( $p \leq 0,05$  con el test LSD).

En el estudio realizado por Tesic *et al.* (2007) en dos parcelas distintas en Australia, también observaron que las diferencias mostradas entre tratamientos en la capa de suelo más profunda (100 cm) eran menores, pero con mayor variabilidad, que las diferencias observadas en las capas más superficiales. En nuestro estudio, los sensores colocados a 100 cm de profundidad permitieron apreciar que, a esa profundidad, las fluctuaciones de humedad del suelo siguieron la misma tendencia que lo observado en la capa superficial, aunque en rangos menores, es decir, que un porcentaje del agua de lluvia era capaz de infiltrarse hasta esa profundidad donde se encontraba disponible para las raíces de la vid. El uso de las cubiertas vegetales favoreció esas mayores infiltraciones, además de reducir la escorrentía, como observaron en sus estudios Moret *et al.* (2006), Celette *et al.* (2008) y Ruiz-Colmenero *et al.* (2011), siendo destacable este efecto, frente al laboreo, especialmente durante la fase del período de reposo vegetativo de la vid.

En la Tabla IV.3 se muestran los volúmenes de agua que, de manera teórica, sería preciso aportar al suelo a lo largo de cada campaña, mediante riegos suplementarios, con el objetivo de compensar las diferencias de humedad surgidas como consecuencia de la competencia hídrica realizada en el suelo por las dos cubiertas vegetales estudiadas respecto al tratamiento L.

**Tabla IV.3.** Estimación de las diferencias promedio del contenido de agua ( $l\ m^{-2}$ ) del suelo obtenidas entre los tratamientos en cada una de las profundidades (30, 60, 100 cm) y en el conjunto del perfil del suelo estudiado (0-100 cm), en cada una de las campañas del ensayo (2009-2012). Se representa la diferencia entre los tratamientos laboreo y cebada, entre el laboreo y el trébol y entre las dos cubiertas.

Profundidad	LABOREO-CEBADA			LABOREO-TRÉBOL			CEBADA-TRÉBOL		
	P.V. <sup>a</sup>	P.R. <sup>b</sup>	Total	P.V.	P.R.	Total	P.V.	P.R.	Total
	<b>2009</b>								
30 cm	8,46	13,09	21,55	7,48	11,94	19,42	-	-	-
60 cm	-	27,51	27,51	-	13,94	13,94	-	-11,19	-11,19
100 cm	-	7,90	7,90	-	-	-	-	-4,99	-4,99
<b>Total</b>	<b>8,46</b>	<b>48,49</b>	<b>56,96</b>	<b>7,48</b>	<b>25,88</b>	<b>33,36</b>	<b>0,00</b>	<b>-16,18</b>	<b>-16,18</b>
	<b>2010</b>								
30 cm	11,65	-	11,65	18,95	-	18,95	14,15	-	14,15
60 cm	-14,35	-	-14,35	-	14,26	14,26	30,96	-	30,96
100 cm	-0,93	5,74	4,81	3,12	-	3,12	3,06	-6,64	-3,58
<b>Total</b>	<b>-3,62</b>	<b>5,74</b>	<b>2,12</b>	<b>22,07</b>	<b>14,26</b>	<b>36,32</b>	<b>48,17</b>	<b>-6,64</b>	<b>41,53</b>
	<b>2011</b>								
30 cm	-	-	-	3,23	-	3,23	-5,07	-5,96	-11,02
60 cm	6,42	21,12	27,55	24,60	77,72	102,32	7,64	-	7,64
100 cm	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Total</b>	<b>6,42</b>	<b>21,12</b>	<b>27,55</b>	<b>27,83</b>	<b>77,72</b>	<b>105,55</b>	<b>2,57</b>	<b>-5,96</b>	<b>-3,38</b>
	<b>2012</b>								
30 cm	9,13	-	9,13	8,77	-	8,77	-9,10	-8,24	-17,35
60 cm	6,85	-	6,85	84,28	26,30	110,58	7,04	10,14	17,18
100 cm	-	-	-	-31,51	-27,13	-58,64	-4,21	-2,90	-7,11
<b>Total</b>	<b>15,98</b>	<b>0,00</b>	<b>15,98</b>	<b>61,54</b>	<b>-0,83</b>	<b>60,71</b>	<b>-6,28</b>	<b>-1,00</b>	<b>-7,28</b>

<sup>a</sup> P.V.: Período vegetativo de la vid (abril-octubre), <sup>b</sup> P.R.: período de reposo de la vid (noviembre-marzo).

La competencia hídrica ejercida por la cebada sobre el perfil completo del suelo, fue mayor durante el primer año de implantación de las cubiertas ( $56,96\ l\ m^{-2}$  de agua) (Tabla IV.3). A lo largo de las cuatro campañas que duró el ensayo, el volumen de agua que habría que haber aportado mediante riego para salvar la competencia ejercida por la cebada, respecto al agua disponible en el suelo con el tratamiento L, hubiera tenido que ser mayor durante el período considerado de reposo de la vid (excepto en el año 2012), que durante el período vegetativo de la vid. Principalmente, la competencia hídrica realizada por la cebada se apreció en los 30-60 cm del suelo. Por otra parte, la competencia hídrica realizada en el suelo con el tratamiento TR frente al L, aumentó conforme el ensayo se fue asentando. En el año 2011, el más seco de los del ensayo ( $332,8\ mm$ , Tabla III.5) y en el que la siembra del trébol se hizo de manera más tardía, fue donde más se apreció la competencia hídrica de la leguminosa en el suelo ( $105,55\ l$

m<sup>-2</sup>), siendo mayor durante el período no vegetativo de la vid. Por lo general, con esta cubierta la mayor competencia por el agua disponible en el suelo se apreció a los 60 cm de profundidad (Tabla IV.3). Por otra parte, la diferencia de humedad observada en el suelo entre ambas cubiertas varió entre campañas, ligada a las condiciones climáticas de cada año que condicionaron el momento de brotación de cada cubierta y, principalmente, al diverso crecimiento vegetativo y a la duración del ciclo seguido por cada una de ellas durante las campañas estudiadas. Por lo general, la cebada presentó mayor disponibilidad de agua en el suelo durante el período vegetativo de la vid que el trébol.

Monteiro y Lopes (2007) estimaron un consumo adicional de agua en primavera por parte de las cubiertas permanentes de su ensayo respecto al laboreo, cercano a los 0,5 mm día<sup>-1</sup>, a pesar de que no encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el agua total consumida a lo largo de la campaña. También Prichard *et al.* (1989) encontraron, en su ensayo realizado en California, un equilibrio del agua utilizada entre el tratamiento de bromo (*Bromus sp.*), usado en el verano una vez segado como “acolchado o mulch”, y el laboreo. Sin embargo, Griebel (1996) estimó, en el período entre brotación y floración, un 35 % de incremento de la evapotranspiración de la vid con el tratamiento de cubierta mixta de su ensayo frente al del laboreo.

Las diferencias observadas entre tratamientos como consecuencia de la competencia hídrica de las cubiertas en el suelo, podrían afectar al estado hídrico y al crecimiento de la vid, como observaron Morlat *et al.* (1993b), Maigre y Aerny (2001), Monteiro y Lopes (2007) y Sweet y Schreiner (2010) en sus ensayos. Esta reducción de crecimiento de la vid podría ser beneficiosa, especialmente en situaciones de alto vigor, puesto que induce un equilibrio entre crecimiento vegetativo y productivo que podría mejorar la composición y sanidad de la baya, como se discutirá en el Apartado IV.8. Sin embargo, en nuestro estudio, el volumen de agua absorbido por las cubiertas vegetales frente al disponible en el suelo con el tratamiento L durante el período en el que la vid presentaba necesidades hídricas máximas podría ser compensado, en momentos determinados, mediante riegos localizados.

### **IV.3. EFECTO DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL NITRÓGENO TOTAL, EN EL N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> INTERCAMBIABLE Y EN EL N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> EXTRAÍBLE DEL SUELO**

#### **IV.3.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL NITRÓGENO TOTAL DEL SUELO**

En la Tabla IV.4, se muestran los valores medios del nitrógeno (N) total (N orgánico + N inorgánico) presentes en el suelo de cada tratamiento, en las dos profundidades muestreadas (0-15; 15-45 cm) para los cuatro años de estudio (2009-2012). En las tres primeras campañas de ensayo, 2009, 2010 y 2011, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos respecto del N total en el suelo a ninguna de las dos profundidades muestreadas (0-15 y 15-45 cm). Sin embargo, en el año 2012, en los 15 cm superficiales se observó mayor contenido de N total con el tratamiento TR que con el tratamiento L (Tabla IV.4). Este incremento en el contenido de N total en la zona superficial del suelo al cuarto año de ensayo, vendría provocado por los aportes de la biomasa aérea de las cubiertas vegetales (que contienen N en formas orgánicas) sobre la superficie del suelo, ya que estos restos vegetales sólo se mezclaron con el suelo cuando se procedió a la siembra de las cubiertas, la cual se hizo labrando los 10 cm superficiales del suelo.

**Tabla IV.4.** Nitrógeno total ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) presente, en floración, en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio (0-15 y 15-45 cm).

NITRÓGENO TOTAL			
(kg ha <sup>-1</sup> )			
Profundidad	L	CB	TR
<b>2009</b>			
0-15 cm	1,02	0,95	1,00
15-45 cm	0,98	0,92	0,92
<b>2010</b>			
0-15 cm	0,91	0,93	1,02
15-45 cm	0,92	0,87	0,85
<b>2011</b>			
0-15 cm	0,99	0,98	1,06
15-45 cm	0,86	0,83	0,85
<b>2012</b>			
0-15 cm	1,12 <b>b</b>	1,18 <b>ab</b>	1,36 <b>a</b>
15-45 cm	0,94	0,95	1,10

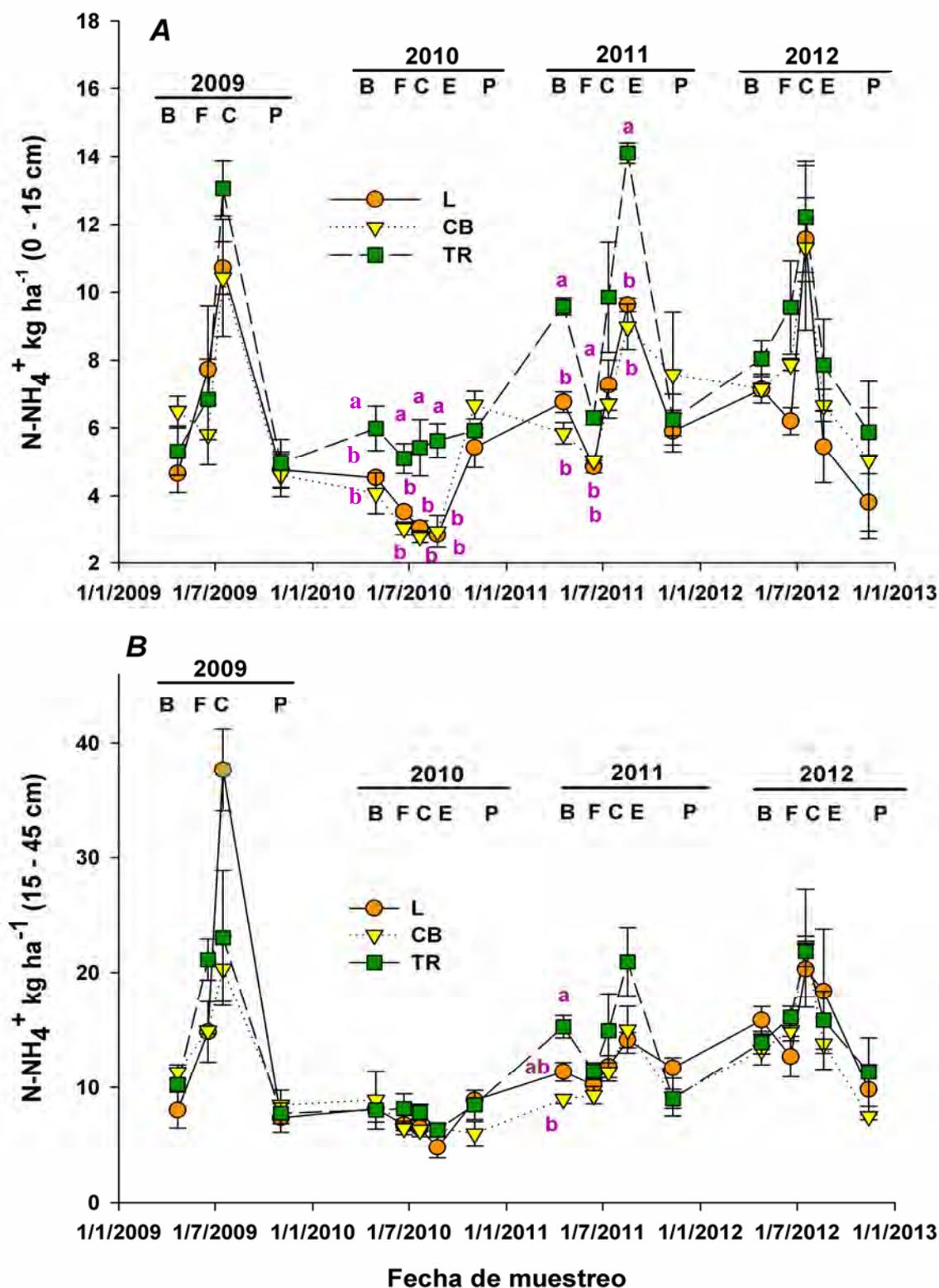
En la misma fila, dentro de cada campaña, letras diferentes expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias entre tratamientos.

Así, el hecho de que el contenido de N total aumentara en la superficie del suelo, fue debido a que los restos de la biomasa aérea de las cubiertas vegetales después de su agostamiento (generalmente al final de junio la cebada y al final de julio el trébol) no fueron retirados del viñedo, sino que se dejaron sobre la superficie de la calle de cada repetición. Fourie *et al.* (2007a) encontraron mayor N inorgánico en el suelo en tres de los cinco tratamientos de cubiertas vegetales leguminosas que estudiaron, respecto del tratamiento de laboreo. También Lejon *et al.* (2007), en un ensayo de diez años de duración, observaron incrementos de N orgánico y de la biomasa microbiana en suelos sembrados con trébol comparados con suelos testigo sin sembrar. Sin embargo, el hecho de que el N total hubiera incrementado significativamente sólo con el tratamiento TR, se debió al mayor aporte de N por unidad de superficie que presentaba esta cubierta frente a la de cebada (Apartado IV.5.1, Tabla IV.7), provocado por la capacidad de las leguminosas de fijar el N atmosférico, mediante asociación simbiótica.

Así, el nulo efecto observado sobre el N total del suelo en la profundidad de 15-45 cm podría deberse a que a esta profundidad no llegaba el aporte de restos vegetales de la biomasa aérea, siendo únicamente las raíces de las cubiertas vegetales las que aportaron materia orgánica al suelo. Otros autores como Fourie *et al.* (2007b,c) en un ensayo de diez años de duración con leguminosas en Sudáfrica, Ovalle *et al.* (2007) con tratamientos de especies precoces y tardías de trébol y mezclas con gramíneas como el raigrás (*Lolium rigidum* Gaud.) en Chile, Steenwerth y Belina (2008) con centeno (*Secale cereale* L.) y tríos 102 (Triticale x Trio-secale) en California y Ripoche *et al.* (2011) en un viñedo francés con cubierta vegetal permanente de *Festuca arundinacea* Schreb. (de la familia de las gramíneas), también encontraron incrementos en el contenido de N total en la zona superficial del suelo bajo cubiertas vegetales.

#### IV.3.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> INTERCAMBIABLE DEL SUELO

En la Figura IV.6, se muestran los valores del N en forma de amonio (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) intercambiable presente en el suelo, a 0-15 y 15-45 cm de profundidad, en los distintos tratamientos estudiados en momentos determinados del ciclo de la vida (brotación, floración, cuajado, envero y postvendimia), durante los cuatro años de ensayo (2009-2012). Los datos de amonio del muestreo de envero del año 2009, no se incluyen en la figura debido a que fueron valores excesivamente altos, ya que durante el procesado las muestras de suelo tuvieron mucha humedad, y en el período de secado se produjo una mineralización muy alta que incrementó el contenido de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en todos los tratamientos.



**Figura IV.6.** Evolución del N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (kg ha<sup>-1</sup>) obtenido en los muestreos de brotación (B), floración (F), cuajado (C), enero (E) y postvendimia (P) realizados en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio A: 0-15 cm; B: 15-45 cm. Letras distintas en el mismo muestreo indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias entre tratamientos. Barras verticales representan la desviación estándar.

A pesar de que las cubiertas alcanzan su pico máximo de demanda de N en primavera (brotación), por lo general, tanto en invierno como en primavera el contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  fue mayor con los tratamientos con cubiertas vegetales que con el laboreo (Figura IV.6). Resultados similares encontraron Steenwerth y Belina (2008) en un viñedo californiano de la variedad Chardonnay con cubiertas de triticale y centeno respecto al laboreo. Los altos niveles de  $\text{N-NH}_4^+$  alcanzados para todos los tratamientos en los muestreos de suelo realizados en cuajado y envero (excepto en el año 2010), se debieron a la elevada tasa de mineralización del N orgánico durante el final de la primavera y principio del verano. Este hecho se debió a que, por lo general, en nuestras condiciones en esa época, la temperatura es suficientemente elevada y la humedad del suelo óptima.

A la profundidad de 0-15 cm en brotación, floración y envero de 2010 y 2011, además de en cuajado de 2010 (Figura IV.6A), se observó un mayor contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  con el tratamiento TR que con los de CB y L. Únicamente el muestreo de brotación de 2011, a la profundidad de 15-45 cm mostró diferencias significativas (Figura IV.6B), observándose mayor contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  en el suelo con el tratamiento TR que con el de CB. Los mayores contenidos de  $\text{N-NH}_4^+$  en suelo bajo el tratamiento TR pudieron deberse al hecho de que esta cubierta aportó al suelo más N orgánico por unidad de superficie que la cubierta de cebada y, por tanto, al haber más N orgánico se produciría una mayor mineralización del mismo a  $\text{N-NH}_4^+$ . Asimismo, este  $\text{N-NH}_4^+$  pudo ser transformado fácilmente a  $\text{N-NO}_3^-$ , lo que explicaría los mayores contenidos de  $\text{N-NO}_3^-$  alcanzados bajo el tratamiento TR, como se verá en el apartado siguiente (Apartado IV.3.3). Tal y como reflejó el muestreo de postvendimia, a lo largo del otoño el contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  en el suelo disminuyó, posiblemente debido a las lluvias registradas, situación similar a la observada por Steenwerth y Belina (2008) que comprobaron que al aumentar el contenido de agua en el suelo, y por tanto disminuir la presencia de oxígeno, se intensificaban las condiciones favorables para el proceso de desnitrificación en los suelos.

#### IV.3.3. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> EXTRAÍBLE DEL SUELO

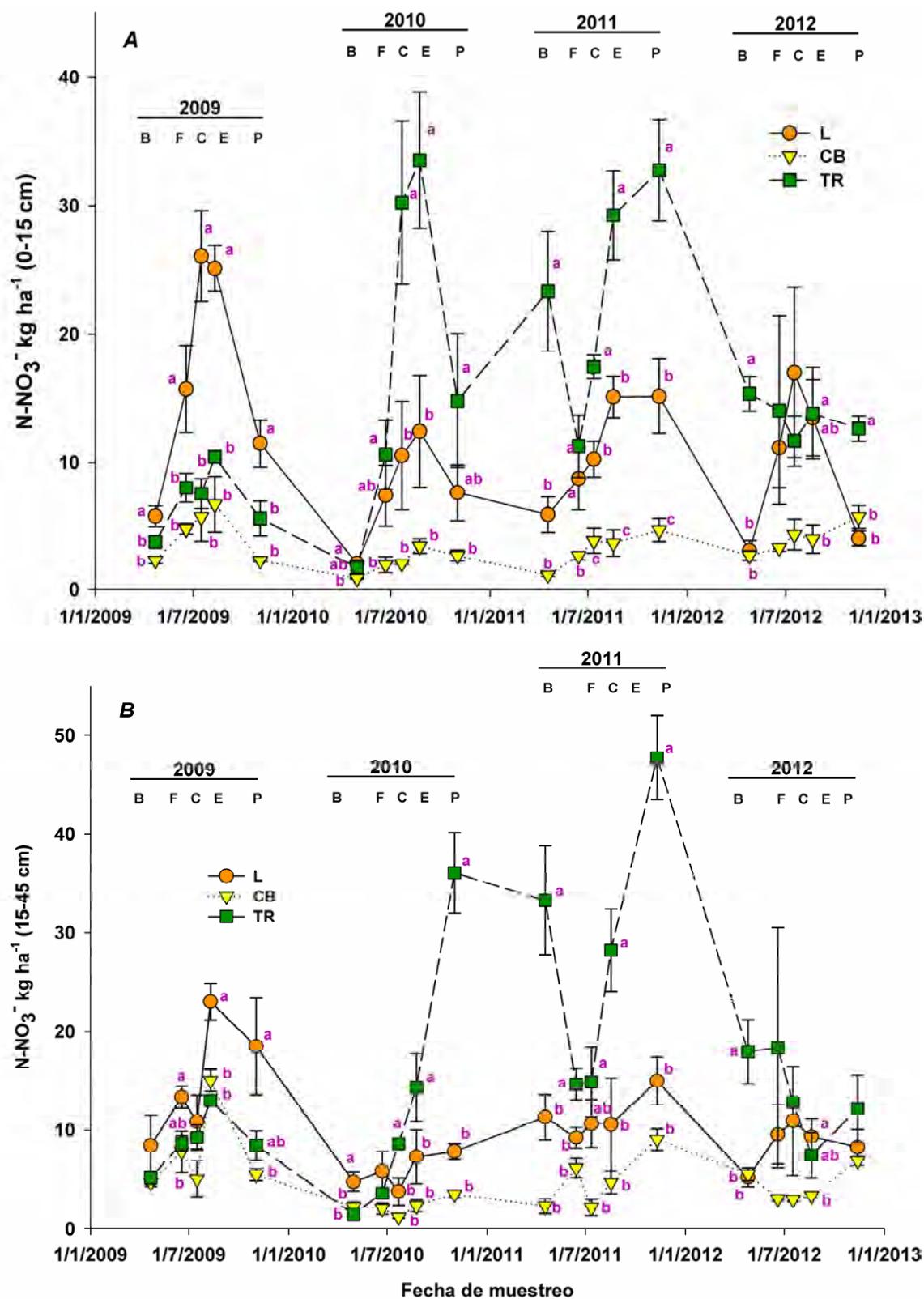
La Figura IV.7 muestra la evolución del N en forma de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) del suelo, determinado en cada uno de los tratamientos estudiados a la profundidad de 0-15 cm y a la profundidad de 15-45 cm, a lo largo de los cuatro años de estudio. La evolución se siguió mediante muestreos de suelo realizados en los estados fenológicos más representativos de la vid (brotación, floración, cuajado, envero y postvendimia). En floración, el contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disponible en los suelos del tratamiento testigo fue del mismo orden de magnitud que los valores encontrados por Smith *et al.* (2008), y por Steenwerth y Belina (2008) en viñedos californianos, con suelos de similares características y con laboreo como sistema de mantenimiento del suelo.

La disponibilidad de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el suelo varió en todos los tratamientos a lo largo del ciclo de la vid, aunque de forma menos acusada bajo la cubierta de cebada. Se apreció un incremento de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el suelo desde brotación hasta envero (excepto para el trébol en el año 2012) y un descenso al llegar a postvendimia, prolongado hasta la brotación del ciclo siguiente (Figura IV.7). Esta dinámica percibida a lo largo del año, se observó de forma más acusada en el horizonte superficial del suelo (0-15 cm), ya que es en superficie donde principalmente se producen los procesos de mineralización de la materia orgánica del suelo (Figura IV.7A). Las condiciones climáticas mediterráneas se caracterizan por presentar ciclos cortos y frecuentes de secado y de recarga del suelo que favorecen la mineralización del N orgánico del suelo. Así, durante la primavera y principio del verano, cuando se alcanzan temperaturas y humedad adecuadas en el suelo, se produjo la mineralización del N orgánico, lo que unido al agostamiento de las cubiertas en junio-julio, permitió que existiera un máximo de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el suelo durante el envero (Figura IV.7). Posteriormente, las lluvias otoñales causaron el lixiviado del N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, razón por la que en postvendimia se redujo en gran medida el contenido de este ión en el suelo. Durante los meses de invierno, continuó produciéndose el lixiviado del N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, por lo que a principios de la primavera (brotación), se observó en el suelo la menor disponibilidad de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. En concordancia con esta dinámica y en el año 2011, cuyo verano fue el más seco de los cuatro estudiados (Material y Métodos, Tabla III.2), el proceso de lixiviado de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> fue

menor, reflejándose en la mayor cantidad de  $\text{N-NO}_3^-$  presente en el suelo en postvendimia.

Como se observa en la Figura IV.7, la influencia sobre la disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  varió según el tipo de cubierta. Así, el contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo del tratamiento CB, desde el primer muestreo de suelo realizado en la brotación del viñedo (abril de 2009), hasta el último, en postvendimia de 2012 (noviembre), fue menor en relación al del tratamiento testigo, tanto a 0-15 cm de profundidad (Figura IV.7A) como a 15-45 cm (Figura IV.7B). A 0-15 cm de profundidad existieron algunas excepciones en las que no se observaron diferencias de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo entre los tratamientos CB y L; en floración, cuajado, envero y postvendimia de 2010, brotación de 2011 y 2012 y floración, cuajado y postvendimia de 2012. Por el contrario, a mayor profundidad (15-45 cm), las diferencias significativas entre ambos tratamientos fueron menores, apreciándose únicamente en floración, envero y postvendimia de la campaña 2009, en brotación de 2010 y en el envero del último año muestreado. Varios autores encontraron resultados similares en cuanto a la disminución del  $\text{N-NO}_3^-$  disponible en viñedos bajo cubiertas no leguminosas: Smith *et al.* (2008) y Steenwerth y Belina (2008) en viñedos californianos, Celette *et al.* (2009) y Ripoche *et al.* (2011) en viñedos mediterráneos franceses y Peregrina *et al.* (2012) en la misma zona vitícola de la D.O.Ca. Rioja que la del presente estudio.

La reducción del  $\text{N-NO}_3^-$  disponible en el suelo bajo la influencia de la cubierta de cebada pudo deberse a varios factores. Celette *et al.* (2009) propusieron que la menor humedad del suelo bajo las cubiertas vegetales podría provocar una reducción de la mineralización del N orgánico del suelo, disminuyendo así el contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  disponible. Por su parte, Steenwerth y Belina (2008) indicaron que el aumento de la actividad biológica del suelo incrementa el  $\text{N-NO}_3^-$  consumido por parte de los microorganismos presentes en él, disminuyendo el contenido disponible para las plantas. En nuestro caso, el N asimilado por la parte aérea de la cubierta vegetal de cebada en la floración del viñedo fue del mismo orden de magnitud que la reducción de  $\text{N-NO}_3^-$  observada en el suelo bajo dicha cubierta (Figura IV.7; Tabla IV.8). Esta circunstancia, indicaría que la propia asimilación de  $\text{N-NO}_3^-$  por parte de la cubierta vegetal es un factor importante en la reducción del contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  en la superficie del suelo.



**Figura IV.7.** Evolución del  $N-NO_3^-$  ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) disponible obtenido en los muestreos de brotación (B), floración (F), cuajado (C), envero (E) y postvendimia (P) realizados en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio A: 0-15 cm; B: 15-45 cm. Letras distintas en el mismo muestreo indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias entre tratamientos. Barras verticales representan la desviación estándar.

Respecto al tratamiento con cubierta de trébol, el contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  fue menor a lo largo de todo el 2009, en la capa superficial del suelo (0-15 cm), que en el tratamiento testigo (Figura IV.7A). En esa campaña, a 15-45 cm de profundidad (Figura IV.7B), la diferencia del  $\text{N-NO}_3^-$  disponible en los suelos entre ambos tratamientos, fue significativa únicamente en enero. Sin embargo, a partir de la floración del segundo año (2010) en superficie (0-15 cm) y, del cuajado de ese mismo año en la capa subsuperficial (15-45 cm), se observó un cambio de tendencia entre el  $\text{N-NO}_3^-$  disponible en el suelo con el tratamiento TR respecto al del L, mayor bajo la cubierta, excepto en el año 2012 en cuajado (0-15 cm) y en enero (0-15 y 15-45 cm).

Además, en el período donde se observó mayor nivel de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo bajo la cubierta de trébol (hasta la floración de 2012 en ambas profundidades), dichos valores fueron los mayores de los tres tratamientos, siendo las diferencias entre tratamientos menores en la capa subsuperficial que en superficie (Figura IV.7A, B). Así, el incremento del  $\text{N-NO}_3^-$  disponible en el suelo del tratamiento TR podría ser debido a la capacidad de las especies leguminosas de fijar simbióticamente  $\text{N}_2$  atmosférico (Ovalle *et al.*, 2007, 2010). Este N asimilado por la cubierta es incorporado al suelo con los residuos de la biomasa aérea de la cubierta que son incorporados a la superficie del suelo tras el agostamiento de la cubierta para ser posteriormente mineralizado el N orgánico.

La cantidad de N orgánico suministrado por la cubierta vegetal leguminosa depende del momento fenológico en el que es incorporada la cubierta al suelo (Kuo *et al.*, 1996). En nuestras condiciones, el trébol incrementó el N disponible en el suelo a partir del segundo año de tener implantada la cubierta, lo cual podría explicarse por el hecho de que la primera siega del trébol se realizó en abril de 2010 y, de que a pesar de que la semilla sembrada en 2009 estaba inoculada, requiere un tiempo hasta que se logra optimizar el establecimiento en el suelo de la asociación nodular simbiótica *Rhizobium*-leguminosa, que permite la fijación biológica del N atmosférico. De forma paralela a nuestros resultados, Fourie *et al.* (2007a,b,c) observaron en la capa superficial (0-15 cm) de varios viñedos sudafricanos, un mayor contenido de N inorgánico en los suelos mantenidos con diferentes especies leguminosas que en los suelos labrados.

#### IV.4. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL FÓSFORO DISPONIBLE Y EN EL CALCIO, MAGNESIO, POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLES DEL SUELO

En la Tabla IV.5 se presenta la disponibilidad de P Olsen. Asimismo, en la Tabla IV.6 se recoge el contenido en cationes intercambiables ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ ) presentes en el suelo, determinados en la floración y en cada uno de los cuatro años estudiados (2009-2012).

##### IV.4.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN EL FÓSFORO DISPONIBLE EN EL SUELO EN LA FLORACIÓN DE LA VID

Los niveles de P Olsen determinados en el suelo bajo para cada tratamiento experimental (Tabla IV.5), se situaron dentro del rango “alto” o incluso “muy alto” descrito por Sawyer *et al.* (2003) en sus recomendaciones para cultivos herbáceos más exigentes en P que la vid (Anexo II, Tabla 6). Por lo tanto, la disponibilidad de este nutriente en el suelo no debiera de ser un factor limitante para la vid en ninguno de los tratamientos estudiados durante el ensayo.

En relación al contenido de P disponible en el suelo durante la floración, no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos, en ninguna de las profundidades y años estudiados (Tabla IV.5). Esa escasa influencia ejercida por las cubiertas vegetales sobre el P disponible en el suelo, también fue observada por Fourie *et al.* (2006, 2007a,b,c) en viñedos sudafricanos, por Tesic *et al.* (2007) en un viñedo australiano con clima semihúmedo, por Pou *et al.* (2011) en un viñedo ecológico situado en Mallorca y por Ruiz-Colmenero *et al.* (2011) en tres parcelas con alta susceptibilidad a sufrir erosión hídrica localizadas en el sureste de Madrid.

**Tabla IV.5.** Fósforo Olsen disponible ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en el suelo de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en floración, en cada uno de los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades de estudio (0-15 y 15-45 cm).

Profundidad	FÓSFORO ( $\text{mg kg}^{-1}$ )		
	L	CB	TR
	<b>2009</b>		
0-15 cm	19,33	18,10	18,43
15-45 cm	21,03	15,68	18,71
	<b>2010</b>		
0-15 cm	22,43	20,55	22,04
15-45 cm	19,81	18,76	20,05
	<b>2011</b>		
0-15 cm	18,27	17,84	18,34
15-45 cm	17,44	16,17	16,85
	<b>2012</b>		
0-15 cm	22,49	22,26	23,92
15-45 cm	22,80	22,7	22,70

La ausencia de letras indica que no hubo diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD).

#### IV.4.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN LOS CATIONES INTERCAMBIABLES DEL SUELO

En relación al contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  intercambiable del suelo, no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos en ninguno de los años estudiados (Tabla IV.6). Este resultado podría deberse a la presencia de carbonato cálcico en el suelo que, a pesar de no encontrarse en niveles elevados (Tabla IV.1), permitiría mediante su disolución reemplazar en el complejo de cambio del suelo el  $\text{Ca}^{2+}$  asimilado por las cubiertas vegetales. Tampoco Tesic *et al.* (2007) encontraron diferencias significativas respecto a la disponibilidad de  $\text{Ca}^{2+}$  del suelo, a pesar de que observaron cierta tendencia a que el contenido de este elemento en el suelo, disminuyera en presencia de las cubiertas vegetales.

Respecto al efecto de las cubiertas vegetales sobre el  $\text{Mg}^{2+}$  intercambiable del suelo, se observaron pocas diferencias entre los tratamientos estudiados (Tabla IV.6).

Únicamente en el año 2012, después de cuatro campañas con los tratamientos de cubiertas vegetales, el tratamiento TR mostró un mayor contenido de  $Mg^{2+}$  en la superficie del suelo (0-15 cm) respecto a los otros dos tratamientos. El incremento de este nutriente bajo el tratamiento con la cubierta de trébol en la capa superficial del suelo, podría deberse al aporte de los residuos de la biomasa aérea del trébol que se acumularon tras el segado de las cubiertas vegetales en la superficie de las calles, y que redistribuyeron el  $Mg^{2+}$  que se encontraba a mayor profundidad en el suelo al ser absorbido por las raíces del trébol. Por lo tanto, la competencia por este nutriente con las cubiertas vegetales no debiera implicar cambios sustanciales en el desarrollo vegetativo del viñedo. Muy pocos autores han estudiado el efecto de las cubiertas vegetales sobre el  $Mg^{2+}$  intercambiable del suelo, ni en general sobre las bases de cambio presentes en él. Tesic *et al.* (2007) no encontraron diferencias en el  $Mg^{2+}$  intercambiable entre tratamientos, ni en un viñedo con cubierta vegetal espontánea bajo clima semiárido australiano, ni en otro con clima semihúmedo.

Las cubiertas vegetales estudiadas provocaron cambios en la disponibilidad del  $K^+$  intercambiable del suelo únicamente a nivel superficial (0-15 cm) (Tabla IV.6). Aunque en el primer año las dos cubiertas vegetales presentaron valores muy similares y significativamente menores respecto al testigo, a partir del año 2010 se apreció una tendencia en este nutriente a verse incrementado para cada campaña con la cubierta de trébol, incremento que se hizo significativo respecto a los otros dos tratamientos al cuarto año de ensayo. Por su parte, y con el tratamiento CB, los valores de  $K^+$  intercambiable fueron similares a los encontrados en el testigo.

Al igual que ocurrió con el P, los niveles de  $K^+$  se encontraban entre el “óptimo” y “muy alto” de acuerdo a las recomendaciones realizadas por Sawyer *et al.* (2003) (Anexo II, Tabla IV.6). Como sucedía para el  $Mg^{2+}$  intercambiable, el incremento del  $K^+$  bajo el tratamiento TR en la capa superficial del suelo (0-15 cm), podría deberse a los residuos de biomasa aérea de la cubierta vegetal incorporados al suelo, ya que la biomasa aérea del trébol tuvo más  $K^+$  por unidad de superficie que la de la cebada, tal y como se observó en la asimilación de nutrientes del suelo por parte de las cubiertas vegetales (Apartado IV.5.2, Tabla IV.7). Este incremento de  $K^+$  intercambiable en la superficie del suelo bajo cubiertas vegetales, también fue detectado con cubiertas de

especies leguminosas por Fourie *et al.* (2007a,b,c) y Ovalle *et al.* (2007) en viñedos sudafricanos y chilenos, respectivamente.

**Tabla IV.6.** Calcio, magnesio, potasio y sodio intercambiables ( $\text{cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$ ) presentes en el suelo de cada uno de los tratamientos (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en floración en los cuatro años de ensayo (2009-2012), por profundidades (0-15 y 15-45 cm).

Tratamientos	CALCIO		MAGNESIO		POTASIO		SODIO	
	0-15 cm	15-45 cm	0-15 cm	15-45 cm	0-15 cm	15-45 cm	0-15 cm	15-45 cm
<b>2009</b>								
L	29,61	18,51	1,02	0,93	0,50 <b>a</b>	0,42	1,02	0,93
CB	17,60	14,38	0,86	0,88	0,41 <b>b</b>	0,42	0,86	0,88
TR	21,84	19,36	0,96	0,98	0,39 <b>b</b>	0,37	0,96	0,98
<b>2010</b>								
L	21,07	17,94	0,80	0,76	0,46	0,38	0,80	0,76
CB	15,94	19,73	0,80	0,79	0,40	0,31	0,80	0,79
TR	15,88	16,96	0,74	0,91	0,51	0,44	0,74	0,91
<b>2011</b>								
L	26,30	22,48	0,98	0,92	0,61	0,51	0,98	0,92
CB	28,09	29,14	1,08	1,10	0,55	0,46	1,08	1,10
TR	24,32	21,56	1,03	1,06	0,64	0,50	1,03	1,06
<b>2012</b>								
L	18,66	23,16	1,05 <b>b</b>	1,06	0,66 <b>b</b>	0,56	1,05 <b>b</b>	1,06
CB	20,76	19,47	1,16 <b>b</b>	1,07	0,61 <b>b</b>	0,63	1,16 <b>b</b>	1,07
TR	19,21	19,83	1,38 <b>a</b>	1,21	0,83 <b>a</b>	0,67	1,38 <b>a</b>	1,21

En cada columna y para cada campaña (2009-2012), letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras en las columnas, indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Finalmente y en lo que respecta al efecto de las cubiertas sobre el  $\text{Na}^+$  intercambiable presente en el suelo de cada uno de los tratamientos, únicamente se encontraron diferencias significativas en el año 2012 en superficie (0-15 cm), presentando el suelo bajo el tratamiento de la leguminosa un mayor contenido de  $\text{Na}^+$  intercambiable que con la cebada o con el laboreo. Este mayor valor de  $\text{Na}^+$  intercambiable en el suelo se podría explicar por el Na de la biomasa aérea del trébol que fue incorporado a la capa superficial del suelo. Por su parte, Tesic *et al.* (2007) no

encontraron diferencias significativas de Na<sup>+</sup>, medido a 40-50 cm de profundidad, entre tratamientos con cubiertas vegetales espontáneas y permanentes, y el tratamiento de laboreo en dos parcelas australianas de la variedad Chardonnay.

#### IV.5. BIOMASA AÉREA DE LAS CUBIERTAS Y SU CONTENIDO EN MACRO Y MICRONUTRIENTES

##### IV.5.1. BIOMASA AÉREA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES

En el primer año de implantación de las cubiertas, la gramínea en floración produjo el triple de biomasa aérea que la leguminosa (Tabla IV.7). En las demás campañas de estudio, no hubo diferencias significativas entre la biomasa aérea desarrollada por ambos tipos de cubiertas vegetales. Tampoco Ingels *et al.* (2005) encontraron diferencias significativas entre un tratamiento con mezcla de cereales y uno con tréboles diversos en un viñedo californiano de cv. Merlot. Sin embargo, Sweet y Schreiner (2010), en viñedos de cv. Pinot noir en Oregón, observaron una mayor biomasa en una cubierta de trébol mixto, y en una mezcla con especies anuales de invierno, que en el tratamiento de cubiertas de pradera mixta o que en el de gramíneas. Por su parte, Lopes *et al.* (2011) determinaron en un viñedo portugués, una producción de biomasa menor con especies diversas de gramíneas tipo césped que en cubiertas vegetales espontáneas ricas en especies de hoja ancha.

**Tabla IV.7.** Biomasa obtenida, en peso seco (kg ha<sup>-1</sup>), en cada cubierta vegetal utilizada en los tratamientos (CB: cebada, TR: trébol) durante la floración de los cuatro años de ensayo (2009-2012).

Tratamientos	BIOMASA (kg materia seca ha <sup>-1</sup> )			
	2009	2010	2011	2012
CB	804,0 <b>a</b>	648,67	1419,33	1180,40
TR	260,0 <b>b</b>	650,67	1473,33	979,80

Para cada campaña (2009-2012), letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

#### IV.5.2. MACRONUTRIENTES TOMADOS POR LAS CUBIERTAS VEGETALES

En la Tabla IV.8 se muestra el N, P, K, Mg y Ca contenido en la biomasa aérea de las cubiertas vegetales del ensayo, en la floración de la vid de los cuatro años estudiados (2009-2012). Paralelamente a lo observado en el caso del N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> del suelo (Apartado IV.3.3), en el que el N del tratamiento TR fue mayor respecto al disponible en el suelo bajo el tratamiento CB, a partir del segundo año de ensayo, las diferencias de N absorbido por ambas cubiertas vegetales también se observaron a partir de la segunda campaña. Así, en los años 2010, 2011 y 2012, el N de la biomasa aérea fue superior en el trébol respecto al de la cebada, llegando a triplicar, cuatriplicar y doblar, respectivamente, los valores de N encontrados en la biomasa del trébol respecto a los de la cebada. Las diferencias observadas son atribuibles a la familia a la que pertenecen las cubiertas vegetales, ya que el trébol, por su condición de leguminosa, puede fijar simbióticamente N atmosférico y, por tanto, presentar mayor nivel de N en su biomasa que la cebada, no leguminosa. Del mismo modo, Ingels *et al.* (2005) observaron un mayor contenido de N en el tratamiento con mezcla de diversos tréboles que en el tratamiento en el que mezclaron al 50% cebada (*H. vulgare* L.) y avena (*Avena sativa* L.), y valores intermedios entre ambos con un tratamiento mezcla de habas (*Vicia faba* L.), guisante forrajero (*Pisum sativum* L.), veza común (*Vicia sativa* L.) y cebada. También Steenwerth *et al.* (2013) determinaron mayor contenido de N en la biomasa aérea de las leguminosas que en el tratamiento con avena, o que en el de cubierta vegetal espontánea estudiados en un viñedo californiano.

**Tabla IV.8.** Nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y calcio ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) presentes en la biomasa de cada cubierta vegetal (CB: cebada, TR: trébol) durante la floración de la vid en los cuatro años de ensayo (2009-2012).

Tratamientos	NITRÓGENO	FÓSFORO	POTASIO	MAGNESIO	CALCIO
	$(\text{kg ha}^{-1})$				
	<b>2009</b>				
CB	9,10	2,76 <b>a</b>	10,25	1,52 <b>a</b>	4,54
TR	9,81	1,02 <b>b</b>	6,96	0,76 <b>b</b>	6,18
	<b>2010</b>				
CB	6,67 <b>b</b>	2,03	6,88 <b>b</b>	0,83 <b>b</b>	2,59 <b>b</b>
TR	23,64 <b>a</b>	2,19	15,40 <b>a</b>	1,62 <b>a</b>	13,84 <b>a</b>
	<b>2011</b>				
CB	16,30 <b>b</b>	4,68	11,19 <b>b</b>	2,03 <b>b</b>	4,99 <b>b</b>
TR	67,12 <b>a</b>	4,60	38,87 <b>a</b>	3,76 <b>a</b>	28,94 <b>a</b>
	<b>2012</b>				
CB	15,60 <b>b</b>	4,52	19,75 <b>b</b>	1,66 <b>b</b>	5,52 <b>b</b>
TR	32,41 <b>a</b>	3,24	35,83 <b>a</b>	3,89 <b>a</b>	21,43 <b>a</b>

En cada columna y para cada campaña, letras diferentes entre tratamientos (CB: cebada; TR: trébol) expresan diferencias significativas a  $p < 0,05$  usando el test LSD. La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Por tanto, la mayor cantidad de N existente en la biomasa del trébol sería debida a la capacidad de fijación de N atmosférico por parte de esta leguminosa. De ahí que la mayor concentración de N presente en la biomasa del trébol, no sea indicadora de la competencia por el N que pudo ejercer la cubierta vegetal sobre la viña, sino del potencial de aporte de N al suelo y, consecuentemente, a la viña. Estos resultados son coincidentes con los encontrados por Ovalle *et al.* (2010) quienes mostraron en un viñedo de cv. Cabernet Sauvignon en Chile cómo la cubierta vegetal de leguminosa fijaba N atmosférico, así como cuánto de este N contribuye a la nutrición de las cepas (estimaron que entre el 13 % y el 20 % del N total presente en hojas y pámpanos: entre el 7 % y el 12 % del de las bayas y el 39 % al 56 % del N presente en las raíces de las cepas provenía del N atmosférico fijado por las leguminosas). Por el contrario, puede considerarse que todo el N presente en la biomasa aérea de la cebada fue obtenido del suelo, por lo que esta cantidad de N asimilado no estaba a disposición de la vid. Apoyando este razonamiento se observó, como se ha comentado en el Apartado IV.3.3, que la reducción de la disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  bajo la cubierta de cebada (Figura

IV.7), fue del mismo orden de magnitud que el N asimilado por la propia cebada. Resultados similares fueron encontrados por Steenwerth y Belina (2008) en California, y por Celette *et al.* (2009) en un viñedo francés con condiciones climáticas mediterráneas.

El contenido de P determinado en la biomasa aérea de las cubiertas vegetales, varió en las cuatro campañas estudiadas, encontrándose entre 1,02 y 4,68 kg ha<sup>-1</sup> (Tabla IV.8). En el año 2009, el valor de este macronutriente fue mayor en la biomasa de la cebada que en la del trébol. A partir del segundo año de ensayo, el contenido de P fue similar entre las dos especies de cubiertas vegetales ensayadas, al igual que sucedió en el estudio realizado por Ingels *et al.* (2005) en un viñedo californiano de cv. Merlot. Tal circunstancia está en concordancia con el hecho de que el P disponible en el suelo tampoco mostrara diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla IV.8).

Respecto al K determinado en la biomasa aérea de las cubiertas, en el primer año de ensayo no se apreciaron diferencias significativas entre las dos especies (Tabla IV.8). Sin embargo, en el resto de campañas estudiadas, el K tomado por el trébol fue mayor que el absorbido por la cebada. El hecho de que la cubierta de trébol asimilara más K que la de cebada puede justificarse, según Marschner (1995), en la mayor cantidad de K que las especies leguminosas requieren para su metabolismo. Ingels *et al.* (2005) también comprobaron en su estudio una mayor asimilación de K con la cubierta de trébol respecto a los tratamientos con cubiertas no leguminosas. Sin embargo, esta mayor asimilación de K por parte del trébol no provocó reducciones en la disponibilidad de este nutriente en el suelo respecto al tratamiento CB, sino que como se ha comentado en el Apartado IV.4.2, la redistribución del K realizada desde los horizontes subsuperficiales, donde es mayoritariamente absorbido, a la superficie del suelo a través de los restos de biomasa dejados tras segar la cubierta, hicieron que la diferencia de K<sup>+</sup> intercambiable en el suelo aumentara en los dos tratamientos con cubiertas vegetales conforme pasaron los años del ensayo (Tabla IV.6).

En el caso del Mg asimilado por las cubiertas vegetales, en el año 2009 fue la cebada la que mayor contenido de este nutriente presentó en su biomasa (Tabla IV.8). No obstante, y tal como ocurrió con el K, en las tres campañas siguientes el trébol fue el que asimiló más Mg, lo cual pudo responder al hecho, comentado previamente, de que

las leguminosas requieren mayor cantidad de ciertos nutrientes, entre ellos el Mg, para su desarrollo (Marschner, 1995). Sin embargo, esta mayor asimilación de Mg por parte del trébol no provocó reducciones en la disponibilidad de este nutriente en el suelo del tratamiento TR respecto al de CB, sino que, debido a la redistribución de nutrientes desde horizontes subsuperficiales provocada por la incorporación de biomasa de trébol cuando ésta se agosta, el contenido de  $Mg^{2+}$  disponible en el suelo en 2012 con este tratamiento TR fue significativamente mayor que con el tratamiento CB (Tabla IV.6).

Finalmente, en relación a los valores de Ca absorbido por las cubiertas vegetales, fue a partir de la segunda campaña cuando se apreció la diferencia de absorción de dicho nutriente entre ambas, siendo mayor en el caso del trébol que en la cebada (Tabla IV.8). En un planteamiento como lo expuesto anteriormente, esta circunstancia podría ser debido a la mayor cantidad de ciertos nutrientes requeridos por parte de las leguminosas para su desarrollo (Marschner, 1995), a pesar de que en este caso la diferencia de  $Ca^{2+}$  disponible en el suelo no fuera significativa entre tratamientos en ninguna de las campañas analizadas (Tabla IV.6).

#### IV.5.3. MICRONUTRIENTES TOMADOS POR LAS CUBIERTAS VEGETALES

Con el objetivo de observar el grado de competencia ejercido por las cubiertas vegetales en relación a los micronutrientes del suelo, durante la época de floración de la vid se analizó el hierro, manganeso, zinc, cobre, boro y sodio en la biomasa aérea de la cebada y en la del trébol, en los cuatro años de estudio (2009-2012) (Tabla IV.9).

Respecto al Fe asimilado por las cubiertas, únicamente en 2011 los valores del Fe absorbido por la cebada fueron significativamente mayores que los del trébol, siendo similar el contenido de Fe encontrado en la biomasa aérea de ambas cubiertas en las demás campañas analizadas (Tabla IV.9). Por su parte, el contenido de Mn presente en la biomasa aérea de las cubiertas no mostró diferencias significativas en ninguna campaña. La disponibilidad de ambos nutrientes en el suelo está muy influenciada por factores como un pH elevado (Lindsay, 1991), el bajo contenido en materia orgánica y la presencia de carbonatos (Khan y Ryan, 1978). Así, a pesar de que las plantas superiores han desarrollado distintos mecanismos que, en situaciones de déficit, les

permiten aumentar la disponibilidad de Fe en la disolución del suelo (Marschner *et al.*, 1986, Brown y Jolley, 1988; Hopkins *et al.*, 1992) y, de que únicamente absorben el Mn como ión  $Mn^{2+}$  (Khan y Ryan, 1978), el grado de sensibilidad y la capacidad de adaptación que presenta su sistema radicular a la concentración de nutrientes disponible en el suelo, será determinante para su absorción.

**Tabla IV.9.** Hierro, manganeso, cobre, zinc, boro y sodio ( $g\ ha^{-1}$ ) presentes en la biomasa de las cubiertas vegetales (CB: cebada y TR: trébol), en los cuatro años de ensayo (2009-2012) durante la floración de la vid.

Tratamientos	HIERRO	MANGANESO	ZINC	COBRE	BORO	SODIO
	(g ha <sup>-1</sup> )					
<b>2009</b>						
CB	141,05	53,50	35,20 <b>a</b>	9,26	6,09	383,02
TR	103,67	25,76	14,60 <b>b</b>	6,70	9,93	134,37
<b>2010</b>						
CB	203,29	49,49	34,59 <b>a</b>	8,21	3,02 <b>b</b>	119,38 <b>b</b>
TR	138,37	53,14	23,00 <b>b</b>	11,49	23,64 <b>a</b>	506,02 <b>a</b>
<b>2011</b>						
CB	512,04 <b>a</b>	73,72	64,21	21,26	18,06 <b>b</b>	138,04 <b>b</b>
TR	319,23 <b>b</b>	90,85	44,26	25,67	47,90 <b>a</b>	2541,54 <b>a</b>
<b>2012</b>						
CB	237,75	67,22	51,09	9,68 <b>b</b>	8,83 <b>b</b>	404,26
TR	278,15	101,24	34,04	16,05 <b>a</b>	33,20 <b>a</b>	888,26

En cada columna y para cada campaña (2009-2012), letras diferentes entre tratamientos (CB: cebada; TR: trébol) expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Los valores de Zn analizados en la parte aérea de la cebada, mostraron concentraciones de este nutriente significativamente mayores en 2009 y 2010 respecto a los valores presentes en los tejidos aéreos del trébol. Sin embargo, ni en la campaña 2011 ni en la 2012 la diferencia de Zn en la biomasa de las cubiertas fue significativa. Al igual que ocurre con los micronutrientes anteriormente estudiados, la disponibilidad de Zn en el suelo está fuertemente condicionada por el pH: un  $pH < 6$  aumenta su disponibilidad, por lo que los suelos calizos presentan mayor problema de deficiencia de Zn. Además, las bajas temperaturas y la presencia de otros elementos como el Ca, Mg, Fe, Mn, Cu (antagonismo), destacando el antagonismo más documentado que se

produce en situaciones de exceso de P, también reducen la absorción de Zn por parte de las plantas.

En relación al Cu analizado en la biomasa de las cubiertas, tan sólo en el año 2012 la diferencia de este nutriente entre ambas cubiertas fue significativa, siendo mayor el contenido de Cu presente en la biomasa del trébol que en la de la cebada (Tabla IV.9). La disponibilidad del Cu está fuertemente condicionada por la materia orgánica presente en el suelo, que lo retiene disminuyendo su disponibilidad para la planta. Además, los valores de  $\text{pH} > 7$  acrecientan la fuerza con la que ese Cu es retenido por la materia orgánica y por las arcillas. En la bibliografía están recogidas interacciones del Cu con otros elementos como con el N que agravan sus deficiencias. Asimismo, la presencia de P, Zn, Fe y Al en niveles altos puede restringir la absorción de Cu por parte de las raíces. Sin embargo, las diferencias de absorción encontradas entre las cubiertas vegetales de nuestro ensayo, posiblemente fueran debidas a la distinta tolerancia que presentan ambas especies a los bajos niveles de Cu del suelo, lo que hace que, bajo condiciones similares, el trébol absorba más Cu del suelo que la cebada. Así, por ejemplo, se ha comprobado que entre los cereales de grano pequeño, el centeno es muy tolerante a los bajos niveles de Cu en el suelo y puede extraer, en las mismas condiciones, el doble de Cu del suelo que el trigo. El orden de sensibilidad al Cu para los cereales de grano pequeño es: trigo > cebada > avena > centeno.

En referencia al B asimilado por las cubiertas durante el ensayo, fue a partir del segundo año cuando se presentaron diferencias significativas en la absorción de este nutriente, siendo mayor en el trébol que en la cebada. Los suelos difieren considerablemente en su capacidad para fijar B. El contenido de B en la disolución será menor a mayor capacidad del suelo para adsorberlo. De ahí que el contenido de B en la disolución del suelo dependa de las características de adsorción/desorción que posea ese suelo concreto (Gupta *et al.*, 1985), determinando el suministro de este nutriente para las raíces de las plantas (Hatcher y Bower, 1958). Por otro lado, la retención y disponibilidad del B en el suelo depende de diversas propiedades de éste, entre ellas el pH, textura, materia orgánica y óxidos de Fe y Al (Evans y Sparks, 1983; Zorita Viota, 1988; Moyano *et al.*, 1989), del contenido en carbonatos (Kaplan *et al.*, 1990) y de Ca intercambiable (Pinyerd *et al.*, 1984). Además, está influenciado por la humedad (Ribeiro y Braga, 1974), temperatura, textura (Bingham *et al.*, 1971) y prácticas

agrícolas como el encalado (Evans y Sparks, 1983). Así, puesto que el B es un nutriente absorbido, principalmente, a través del flujo de agua inducido en la planta por la transpiración, en los suelos alcalinos o de pH neutro las deficiencias de este nutriente se agravan principalmente durante períodos de sequía. Sin embargo, en las condiciones del ensayo, incluso introduciendo las cubiertas vegetales en el suelo, no se dieron períodos largos de sequía. Posiblemente, como se ha comentado para los otros micronutrientes, las distintas necesidades y respuestas que cada una de las cubiertas vegetales mostró respecto al B presente en el suelo, fueron las que hicieron que hubiera diferencias en la concentración de este nutriente en la biomasa de las cubiertas. Así, por ejemplo, es conocido que debido a las diferencias presentes en la estructura y composición de la pared celular, en la que el B juega un papel esencial, las gramíneas tienden a requerir menos B que las dicotiledóneas.

Por su parte, únicamente en las campañas 2010 y 2011 se apreció mayor presencia de Na en la biomasa aérea del trébol que en la de la cebada. Este hecho pudo estar relacionado con la distinta necesidad de Na que presentan cada una de las especies de cubiertas para su desarrollo (Marschner, 1995).

La mayoría de referencias bibliográficas consideradas se centran únicamente en el N, P y K presentes en la biomasa de las cubiertas, por lo que no se han podido comparar los resultados de los demás nutrientes asimilados por las cubiertas con lo obtenido en otros ensayos.

#### **IV.6. EFECTO DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL ESTADO NUTRICIONAL DE LA VID**

Con el objetivo de comparar el estado nutricional en el que se encontraba la vid en cada una de las campañas del ensayo, en función de los efectos provocados por los tres tratamientos estudiados, se utilizó el método de análisis mineral de tejidos foliares (limbo y pecíolo). Para ello, se analizó la concentración en peso seco de macronutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y calcio) y de micronutrientes (hierro, manganeso, zinc, cobre, boro y sodio) presentes en ambos tejidos foliares en dos estados fenológicos de la vid (floración y envero). Los resultados se presentan y discuten en los dos apartados siguientes.

#### IV.6.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN LOS TEJIDOS FOLIARES DE LA VID: MACRONUTRIENTES

Para un mismo viñedo, la caracterización del estado nutricional en el que se encuentran las cepas depende tanto del tejido analizado (limbo o pecíolo) como del estado fenológico (floración o envero) en el que se encuentran las cepas en el momento del muestreo así como de la posición en la que se encuentre la hoja muestreada en el pámpano, presentando cada nutriente diferente respuesta a cada una de las combinaciones tejido-estado fenológico (Romero *et al.*, 2000, 2013; García-Escudero *et al.*, 2001, 2002). Por ello, es necesario comparar las concentraciones en peso seco de los nutrientes presentes en cada tejido con valores de referencia específicos obtenidos en condiciones similares. En nuestro caso, los resultados obtenidos en las vides se compararon con los niveles de referencia descritos por García-Escudero *et al.* (2013) tras analizar, a lo largo de once años, material foliar procedente de 166 viñedos de la D.O.Ca. Rioja, de la variedad Tempranillo injertada sobre Richter-110, muestreadas en floración y en envero (Anexo II, Tabla 1). Para poder comparar los datos, se muestreó siguiendo el mismo método que en dicha referencia.

A continuación, se describe el estado nutricional de la vid (macronutrientes) valorado en el tejido foliar, separando limbo y pecíolo, en floración (Tabla IV.10) y en envero (Tabla IV.11), para cada uno de los años estudiados (2009-2012). Los datos se expresan en porcentaje del nutriente sobre materia seca.

##### IV.6.1.1. Nitrógeno

La concentración de N observada tanto en limbos como en pecíolos en envero (Tabla IV.11) fue menor que la observada en floración (Tabla IV.10). Esto podría ser debido a un efecto de dilución y principalmente a la translocación producida desde las hojas maduras hasta los meristemos, hojas jóvenes y bayas (Barker y Pilbeam, 2007) o elementos de madera (Vivin *et al.*, 2003). Similares resultados se observaron en variedades como Thompson Seedless (Christensen, 1969), Chardonnay (Parejo *et al.*, 1992), Pinot noir (Schreiner, 2005) y Tempranillo (Romero *et al.*, 2013), donde la concentración de N en los tejidos foliares fue disminuyendo conforme se iba completando el ciclo vegetativo de la vid.

**Tabla IV.10.** Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, peso seco, g 100 g<sup>-1</sup>) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), determinados durante la floración del viñedo para cada uno de los años del ensayo (2009-2012) en los tres tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol).

Tratamientos	NITRÓGENO		FÓSFORO		POTASIO		MAGNESIO		CALCIO	
	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
<b>2009</b>										
L	3,56	0,78	0,37	0,35	0,88	1,17	0,27	0,49	2,42	1,72
CB	3,46	0,72	0,29	0,27	0,86	0,92	0,26	0,48	2,23	1,62
TR	3,60	0,79	0,41	0,37	0,83	1,04	0,27	0,48	2,36	1,64
<b>2010</b>										
L	3,31	0,97	0,59	0,41	0,98	1,06	0,24	0,33	2,25	1,46
CB	2,97	0,83	0,48	0,39	0,95	1,09	0,24	0,30	2,22	1,40
TR	3,20	0,76	0,42	0,34	1,10	1,01	0,24	0,33	2,29	1,45
<b>2011</b>										
L	3,42 <b>a</b>	0,95 <b>a</b>	0,62 <b>a</b>	0,37 <b>a</b>	1,08	1,33	0,24	0,33	2,49	1,58
CB	2,94 <b>b</b>	0,69 <b>b</b>	0,37 <b>b</b>	0,31 <b>b</b>	1,02	1,34	0,23	0,32	2,49	1,50
TR	3,38 <b>a</b>	0,96 <b>a</b>	0,53 <b>a</b>	0,35 <b>a</b>	0,85	0,95	0,25	0,39	2,45	1,72
<b>2012</b>										
L	3,45 <b>b</b>	0,84 <b>b</b>	0,58	0,48	1,03	1,92	0,30	0,45	2,75	1,98
CB	3,39 <b>b</b>	0,70 <b>c</b>	0,55	0,48	1,13	2,07	0,29	0,43	2,77	2,07
TR	3,62 <b>a</b>	0,98 <b>a</b>	0,65	0,48	1,01	1,51	0,30	0,43	2,67	1,75

Para cada nutriente y en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

**Tabla IV.11.** Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, peso seco, g 100 g<sup>-1</sup>) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), determinados durante el envero del viñedo para cada uno de los años del ensayo (2009-2012) en los tres tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol).

Tratamientos	NITRÓGENO		FÓSFORO		POTASIO		MAGNESIO		CALCIO	
	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
<b>2009</b>										
L	2,39	0,49	0,28	0,35	0,85	1,09	0,30	0,65	3,24	2,01
CB	2,18	0,41	0,23	0,26	0,79	0,75	0,28	0,58	2,92	1,71
TR	2,27	0,46	0,28	0,32	0,96	0,82	0,29	0,61	3,17	1,79
<b>2010</b>										
L	1,86	0,50	0,33	0,36	0,69 <b>b</b>	0,78	0,25	0,39	2,81	1,46 <b>b</b>
CB	1,83	0,43	0,31	0,33	0,90 <b>a</b>	0,84	0,24	0,39	3,10	1,55 <b>ab</b>
TR	2,05	0,44	0,24	0,23	0,87 <b>a</b>	0,65	0,26	0,51	2,91	1,63 <b>a</b>
<b>2011</b>										
L	2,10	0,45	0,36 <b>a</b>	0,32 <b>a</b>	0,84 <b>b</b>	1,30	0,25	0,47	3,54	1,81
CB	1,99	0,40	0,33 <b>a</b>	0,28 <b>a</b>	1,16 <b>a</b>	1,33	0,25	0,43	3,89	1,69
TR	2,12	0,44	0,22 <b>b</b>	0,21 <b>b</b>	0,77 <b>b</b>	0,98	0,25	0,49	3,24	1,88
<b>2012</b>										
L	2,45 <b>b</b>	0,49 <b>ab</b>	0,35	0,39	1,03	1,68	0,29	0,45	3,66	2,31
CB	2,35 <b>b</b>	0,46 <b>b</b>	0,36	0,38	1,03	1,60	0,30	0,49	3,57	2,29
TR	2,65 <b>a</b>	0,52 <b>a</b>	0,30	0,43	1,09	1,76	0,29	0,51	3,32	2,21

Para cada nutriente y en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

De manera general, las concentraciones de N observadas en pecíolo, tanto en floración como en envero, presentaron valores similares a los de los rangos establecidos por García-Escudero *et al.* (2013), como referencia para cv. Tempranillo (Anexo III, Tabla 1). Sin embargo, las concentraciones de N en el limbo presentaron, según el año y el tratamiento, alta variabilidad respecto a los rangos de referencia. Así, en la floración de 2009, en los limbos de los tres tratamientos estudiados, y en el año 2012 en el tratamiento TR tanto en floración como en envero, los valores de N fueron mayores que el límite definido como “alto” por la referencia. Por el contrario, la concentración de N en limbos del tratamiento CB en floración 2010 y 2011, y de los tres tratamientos en el 2010 y CB 2011 en envero, fueron menores que las definidas como “bajas” para cv. Tempranillo en nuestras condiciones (Anexo III, Tabla 1).

En relación a la concentración de N presente en los tejidos foliares de las vides se observó, en la floración del 2011 y 2012 (excepto en limbo 2012), tanto en limbo como en pecíolo, una disminución con el tratamiento CB respecto a los tratamientos L y TR (Tabla IV.10). En el envero, la diferencia entre tratamientos no se hizo significativa hasta el cuarto año de ensayo, cuando la cebada presentó menor concentración de N, tanto en limbo como en pecíolo, respecto al tratamiento TR (Tabla IV.11). Esta disminución de N podría ser debida a la menor disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  presente en el suelo bajo el tratamiento CB (Figura IV.7), atribuible al N asimilado por la biomasa de la cebada (Tabla IV.7). Por el contrario, con el tratamiento TR se observó en el año 2012, un aumento de la concentración de N tanto en limbo como en pecíolo en ambos estados fenológicos, apreciándose diferencia entre el tratamiento L (mayor) y el tratamiento CB (menor que el L) en pecíolo en floración. Este incremento de N en los tejidos foliares de la vid con el tratamiento TR durante el último año de ensayo, pudo deberse al incremento del N disponible en el suelo bajo este tratamiento, debido a la fijación atmosférica de N realizada por las leguminosas una vez asentadas en las calles (como se ha comentado en el Apartado IV.3.3), y que se reflejó en el N presente en la biomasa del trébol (Apartado IV.5.2), lo que también observaron Hilbert *et al.* (2003) en su experimento con cv. Merlot.

En cuanto al efecto provocado por las cubiertas vegetales sobre el estado Nutricional de la vid, en otros estudios se encontraron resultados similares al nuestro. Así, Ingels *et al.* (2005) mostraron en un viñedo californiano, que los contenidos de N

en el limbo y en el pecíolo de cepas con un tratamiento de césped autóctono y en otro con trébol, fueron menores que los encontrados en cepas con un tratamiento de una mezcla de especies usadas como abono verde en las calles. También Tesic *et al.* (2007) observaron en un viñedo australiano, que el contenido de N en los tejidos foliares disminuía después de varias campañas con las cubiertas vegetales. Además, estos autores observaron en un viñedo con clima húmedo, correlaciones positivas entre el N del pecíolo muestreado en floración y el peso del racimo ( $r = 0,80$ ) y, entre el pH del suelo y la concentración de N en el pecíolo en envero ( $r = 0,77$ ). Sweet y Schreiner (2010) determinaron en un viñedo de cv. Pinot noir situado en Oregón, que los tratamientos con cubiertas vegetales afectaron al contenido de N presente en los tejidos foliares en floración. En un viñedo de cv. Merlot situado en el área vitícola californiana de Lodi, Steenwerth *et al.* (2013) comprobaron como en el pecíolo de hojas procedentes de vides con tratamiento de laboreo, presentaban valores de  $\text{N-NO}_3^-$  superiores a los del tratamiento con cubierta vegetal de avena, e incluso a los del tratamiento que combinaba especies leguminosas con la avena. Además, en los ensayos realizados por Bates *et al.* (2002) con la variedad Concord en regiones consideradas de ciclo corto para las cepas, determinaron que más del 80 % del N absorbido por la vid durante la campaña tenía lugar entre floración y envero. En el caso estudiado por Hanson y Howell (1995) en Michigan, esa mayor absorción de N la observaron en las dos semanas previas a floración y maduración. En nuestras condiciones, es en el momento en torno a la floración, cuando la competencia por los nutrientes del suelo con las cubiertas vegetales es más elevada, aunque también es mayor la disponibilidad del N, especialmente el  $\text{N-NO}_3^-$ , en el suelo (Holzapfel y Treeby, 2007), como se observó en el Apartado IV.3.3.

Por otra parte, Löhnertz (1991) y Wermelinger (1991) determinaron que la movilización del N en los tejidos antes del momento de la floración, era independiente de los niveles de N presentes en el suelo. Así, por su condición de especie perenne, las cepas mantienen una cantidad significativa de nutrientes a modo de reserva en sus estructuras de madera vieja (Keller, 2010), por lo que los efectos competitivos que pueden provocar las cubiertas sobre ellas no se observan de manera inmediata. Numerosos estudios (Conradie, 1980, 1986; Löhnertz, 1991; Williams, 1991) demostraron que entre el 20 % y el 40 % del N utilizado por las vides, durante su período de crecimiento, lo obtienen de las reservas.

Sweet y Schreiner (2010) afirmaron que el estado N-nutricional en el que se encuentra la vid, es mejor indicador de la competencia que están realizando las cubiertas por los nutrientes del suelo, especialmente las gramíneas, que los cambios que se producen en el estado hídrico de la cepa, o en su crecimiento. En nuestro estudio, la reducción de N foliar observada con el tratamiento CB podría atribuirse a la menor disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  presente en el suelo bajo esta cubierta vegetal, que aparece sólo al tercer año de haberse implantado las cubiertas vegetales (Apartado IV.3.3). Estos resultados podrían explicarse por el hecho de que durante los primeros años de ensayo, las cepas emplearon el N que tenían como reserva en sus tejidos (tronco y raíces), manteniendo por tanto su estado N-nutricional. Sin embargo, en la tercera campaña, en la que ya se apreció la disminución en la disponibilidad de N presente en el suelo (Figura IV.7), esas reservas de N de la vid no fueron capaces de compensar el déficit de N causado por la competencia con la cebada. Por ello, se pudieron apreciar diferencias en el estado N-nutricional en el tratamiento con cebada respecto al del trébol y, en el caso del pecíolo en floración, también respecto al laboreo.

#### IV.6.1.2. Fósforo

Al igual que lo comentado en el caso del N, el efecto de dilución y principalmente la translocación producida desde las hojas maduras a los meristemos, las hojas jóvenes y bayas (Barker y Pilbeam, 2007) o a la madera (Vivin *et al.*, 2003) a lo largo del ciclo de la vid, hace que la concentración de P observada en ambos tejidos foliares muestreados en enero (Tabla IV.11) fuera menor que la de floración (Tabla IV.10), como observaron otros autores en distintas variedades: Thompson Seedless (Christensen, 1969), Chardonnay (Parejo *et al.*, 1992) y Pinot noir (Schreiner, 2005).

Exceptuando los tres tratamientos en 2009 y 2011, y para la cubierta de trébol en 2010 en pecíolo en floración, la concentración de P fue superior a la definida como “alta” por García-Escudero *et al.* (2013) para cv. Tempranillo en las condiciones de la D.O.Ca. Rioja (Anexo III, Tabla 1).

Respecto a la incidencia de los tratamientos en el contenido de P en limbo y pecíolo en floración, únicamente se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el año 2011, campaña en la que el contenido de P del tratamiento CB

disminuyó respecto al de los tratamientos L y TR (Tabla IV.10). Esta circunstancia podría asociarse a la mayor cantidad de P asimilado por la cebada en 2009, a pesar de que en los años siguientes las diferencias no fueran significativas entre ambas cubiertas vegetales (Apartado IV.5.2). En el suelo tampoco se apreciaran diferencias (Apartado IV.4.1). Sin embargo, en el envero del año 2011, se observó menor concentración de P en los tejidos foliares del tratamiento TR respecto a la de los tratamientos L y CB. En el resto de momentos considerados, no se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla IV.11).

Al igual que en nuestro ensayo, Smith *et al.* (2008) en un viñedo californiano, observaron una disminución de P en el limbo de cepas con tratamiento de cubiertas vegetales respecto a los niveles obtenidos con el tratamiento de laboreo. Por el contrario, Tesic *et al.* (2007) detectaron en el primer año de estudio, valores de P en pecíolo en floración menores en el tratamiento de laboreo que en los de cubiertas. Sin embargo, con el mismo protocolo experimental pero en otra parcela con un clima bastante más húmedo que la anterior, no encontraron en ninguna campaña diferencias significativas. Sweet y Schreiner (2010) obtuvieron en las hojas del tratamiento con cubierta mixta de especies leguminosas y gramíneas perennes, concentraciones de P mayores que en las hojas provenientes de diversos tratamientos con cubiertas vegetales y con utilización de laboreo.

Por tanto, no hay una clara uniformidad de resultados respecto a la competencia por el P que puedan ejercer las cubiertas vegetales sobre el viñedo. Bell (1994), Maigre (2002) y Reynard *et al.* (2011) describieron la existencia de un antagonismo entre los niveles de N y P en hojas. Sin embargo, nuestros datos no reflejaron este efecto, quizá debido a los altos niveles de P que presentaban las cepas en nuestro estudio.

#### **IV.6.1.3. Potasio**

A diferencia de lo observado para el N y el P, en el caso del K no se apreció una disminución de la concentración en envero respecto a floración, como también observaron Romero *et al.* (2013) en cv. Tempranillo, a pesar de que el K es un nutriente altamente móvil en la planta y del que las bayas son un importante sumidero de K (Hidalgo, 2006). De hecho, Mpelasoka *et al.* (2003) observaron que en vendimia, los

racimos tienen más del 60 % del contenido total de K de la vid, por lo que se produce una fuerte translocación de este nutriente desde las hojas hasta las bayas maduras, contribuyendo a definir la concentración de azúcares y de componentes de color de las bayas, así como de la acidez del mosto.

En general, los niveles de K en las cepas estudiadas se encontraron dentro de los rangos marcados por García-Escudero *et al.* (2013) para cv. Tempranillo. Sin embargo, la tendencia tanto en limbo como en pecíolo se inclinó hacia niveles más bajos que el rango “óptimo”, llegando en pecíolo a ser menor que el “bajo” en 2009 en el tratamiento CB (floración y envero), y en el tratamiento TR en envero 2010 y floración 2011. Sin embargo, la concentración de K en el tratamiento CB para 2011 en envero y en limbo, fue mayor que el nivel definido como “alto” por García-Escudero *et al.* (2013) (Anexo III, Tabla 1).

En cuanto al efecto provocado por los tratamientos en el contenido de K foliar durante la floración, en ninguno de los años estudiados se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el nivel de K, ni en limbo ni en pecíolo (Tabla IV.10). No obstante, en envero se apreciaron diferencias en 2010 y 2011 únicamente en limbo. En el año 2010, las dos cubiertas presentaron mayor concentración de K que el laboreo, mientras que en el 2011, la concentración de K en el tratamiento CB fue mayor que la presentada por los otros dos tratamientos (Tabla IV.11). La disminución de la concentración de K observada en el año 2011 respecto al 2010 en el caso del tratamiento TR, podría explicarse por la competencia ejercida por la cubierta de trébol que, como ya se ha comentado en el Apartado IV.5.2, asimila mayor cantidad de K por unidad de superficie que la cubierta de cebada, a pesar de que en el suelo la concentración de  $K^+$  intercambiable bajo este tipo de cubierta aumentó con el tiempo de estudio (Tabla IV.6).

Tampoco Sweet y Schreiner (2010), en el muestreo de limbos realizado en envero, encontraron diferencias significativas en la concentración de K entre el laboreo y las diversas cubiertas vegetales estudiadas. Sin embargo, en floración observaron competencia de las cubiertas vegetales por este nutriente frente al tratamiento de laboreo convencional. Así, las concentraciones de K en limbos del tratamiento con laboreo, fueron mayores que las de los tratamientos de cubierta vegetal espontánea, de especies

anuales de invierno y de especies de pradera autóctonas y, de un tratamiento que combinaba especies leguminosas y gramíneas perennes. En cuanto al K muestreado en el pecíolo, Tesic *et al.* (2007) determinaron durante floración, en un viñedo con condiciones semiáridas, una reducción de este elemento en el mantenimiento del suelo con cubiertas vegetales espontáneas frente al del laboreo. Sin embargo, con los mismos tratamientos y en un viñedo con condiciones climáticas semihúmedas, no observaron diferencias.

#### IV.6.1.4. Magnesio

Prácticamente en todos los muestreos realizados se identificaron valores de Mg menores que los niveles definidos como “bajos” por García-Escudero *et al.* (2013), para la variedad Tempranillo en Rioja (Anexo III, Tabla 1). Posiblemente, por estos bajos niveles de Mg presentes en las hojas, no se observó el incremento de concentración que apreciaron Romero *et al.* (2013) en cv. Tempranillo a lo largo del ciclo de la vid y que cabría esperar de un nutriente considerado móvil en la planta (Barker y Pilbeam, 2007).

No se ha establecido efecto alguno de los tratamientos con cubiertas vegetales sobre el Mg foliar, en ninguno de los años y momentos fenológicos estudiados (Tablas IV.10 y IV.11), a pesar de la mayor presencia de Mg observada en la biomasa del trébol conforme avanzó el ensayo (Tabla IV.13), y de que, por otro lado, esta cubierta causara la redistribución del Mg de los horizontes más superficiales del suelo hacia la superficie (Apartado IV.4.2). Este hecho coincidió con lo observado por Sweet y Schreiner (2010), que tampoco encontraron diferencias entre las diversas especies de cubiertas vegetales, típicas de la zona de Oregón, que implantaron en una parcela de cv. Pinot noir con el laboreo que utilizaron como testigo. Sin embargo, Sicher *et al.* (1995) se percataron de una disminución de Mg en el pecíolo en floración, en cepas de cv. Merlot bajo tratamiento con cubierta vegetal, frente a los niveles encontrados en las del laboreo, al igual que ocurrió en el ensayo de Tesic *et al.* (2007) con un muestreo realizado en floración, con cubiertas vegetales espontáneas respecto al laboreo, tanto en una parcela de cv. Pinot noir en condiciones climáticas áridas, como en otra con mayor nivel de humedad. Por otro lado, Tesic *et al.* (2007) encontraron correlaciones positivas entre el pH del suelo y la concentración de Mg en el pecíolo en enero ( $r = 0,72$ ).

#### IV.6.1.5. Calcio

La concentración de Ca observada para ambos tejidos foliares en envero (Tabla IV.11), mostró al contrario que lo observado en general para los otros macronutrientes, un aumento frente a la concentración de este nutriente determinada en floración (Tabla IV.10), ratificando la poca movilidad que presenta el Ca en la planta.

A pesar del pH elevado ( $\text{pH} > 8$ ) y de la presencia de carbonato cálcico en el suelo de la parcela de ensayo, únicamente en floración de 2012 ambos tejidos en los tres tratamientos mostraron valores más elevados que los considerados como “altos” por García-Escudero *et al.* (2013) para cv. Tempranillo en Rioja, lo cual podría relacionarse con la consideración del Ca como nutriente poco móvil en la planta (Barker y Pilbeam, 2007). Sin embargo, en la floración de 2011 las concentraciones de Ca, tanto en limbo como en pecíolo, se situaron dentro del rango definido como “óptimo”, al igual que el pecíolo en envero en 2009 para los tres tratamientos. Por el contrario, con el laboreo en envero 2010 en limbo, y en los tres tratamientos en pecíolo, las concentraciones de Ca fueron menores que el nivel definido como “bajo” para cv. Tempranillo (Anexo III, Tabla 1).

Respecto al efecto causado por las cubiertas vegetales sobre la presencia de Ca en los tejidos foliares de la vid, únicamente en el pecíolo muestreado durante envero en el año 2010 se observaron diferencias significativas entre tratamientos, siendo mayor la concentración de Ca en el tratamiento TR que en el L (Tablas IV.10 y IV.11). Resultados similares fueron observados por Sicher *et al.* (1995) y Tesic *et al.* (2007), los cuales no establecieron diferencias entre tratamientos con cubiertas vegetales y el laboreo, en las concentraciones de Ca en el pecíolo en floración. De la misma manera, Sweet y Schreiner (2010) tampoco encontraron diferencias significativas respecto al laboreo, ni en floración ni en envero, en la concentración de Ca presente en los limbos de ninguno de los seis tratamientos con cubiertas vegetales de su ensayo.

Las concentraciones de P, K, Mg y Ca en los tejidos foliares no se vieron afectadas de forma sensible por los tratamientos de cubiertas vegetales, al igual que ocurrió con su disponibilidad en el suelo (Apartados IV.4.1 y IV.4.2). Este resultado podría indicar que las cantidades asimiladas de esos nutrientes por las cubiertas

vegetales estudiadas, no fueron lo suficientemente importantes como para ejercer un efecto competitivo que pudiera modificar el estado nutricional de estos nutrientes en la vid. Además, como se ha observado con la bibliografía, la competencia ejercida por las cubiertas por los macronutrientes presentes en el suelo viene condicionada por múltiples factores como son las condiciones climáticas, el vigor de la vid, el portainjerto, la disponibilidad de nutrientes y agua en el suelo, las especies de cubiertas y el momento en que están activas vegetativamente, entre otros, que justifican que el efecto competitivo de las cubiertas vegetales se manifieste con mayor o menor impacto sobre el estado nutricional de la vid.

#### IV.6.2. INCIDENCIA EN LOS TEJIDOS FOLIARES DE LA VID: MICRONUTRIENTES

Al igual que lo visto en el apartado anterior para el caso de los macronutrientes, las concentraciones en las que se encuentran los micronutrientes en los tejidos foliares de las cepas, presentan respuestas diversas a cada una de las combinaciones de tejido analizado (limbo o pecíolo) y estado fenológico en el que son muestreados (floración o envero) (Robinson, 2005; Peuke, 2009). Además, la concentración de cada nutriente varía con la edad y posición en la que se encuentre la hoja en el pámpano (Romero *et al.*, 2010), por lo que resulta fundamental comparar los valores obtenidos en el ensayo con concentraciones de referencia muestreadas en condiciones específicas similares a las del estudio. En este apartado, los resultados se comparan con las referencias obtenidas por García-Escudero *et al.* (2013) para cv. Tempranillo injertado sobre Richter-110 en la D.O.Ca. Rioja, y siguiendo el mismo método de muestreo tanto en floración (hojas opuestas al primer racimo) como en envero (hojas opuestas al segundo racimo). Los valores utilizados como referencia en las condiciones anteriormente expuestas se muestran en el Anexo III, Tabla 2.

A continuación, se presenta el contenido en micronutrientes determinado en el tejido foliar, separando limbo y pecíolo, en floración (Tabla IV.12) y en envero (Tabla IV.13), para cada uno de los años y tratamientos experimentales estudiados. Los datos se expresan en  $\text{mg kg}^{-1}$  del nutriente sobre materia seca.

**Tabla IV.12.** Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na, peso seco, mg kg<sup>-1</sup>) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), en floración, en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	HIERRO		MANGANESO		ZINC		COBRE		BORO		SODIO	
	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
<b>2009</b>												
L	104,16	27,94	107,95	31,75	22,61	25,25	13,15	7,37	78,62	41,19	34,57	71,62
CB	89,28	19,23	101,90	35,39	21,40	20,19	16,58	6,98	76,43	39,14	44,16	66,10
TR	137,03	23,88	104,36	33,68	23,28	27,40	15,71	7,92	79,36	41,75	40,45	56,34
<b>2010</b>												
L	64,98	8,72	212,83	36,66	37,85	30,67	15,45	9,33 <b>b</b>	73,96	50,28 <b>a</b>	29,79	31,78 <b>b</b>
CB	71,12	15,69	248,79	44,43	41,85	33,93	18,54	10,67 <b>a</b>	66,76	41,17 <b>b</b>	63,47	50,02 <b>a</b>
TR	67,05	10,83	256,31	53,46	38,84	29,79	14,15	8,04 <b>c</b>	61,79	39,35 <b>b</b>	72,43	56,20 <b>a</b>
<b>2011</b>												
L	91,22	30,94	99,23	28,61	22,82	24,54	15,62	9,40	60,21	41,47	87,11	59,12 <b>b</b>
CB	76,72	33,62	118,83	36,01	21,97	20,90	14,45	8,21	56,50	41,06	61,28	46,27 <b>c</b>
TR	92,94	32,78	123,17	44,98	22,88	23,44	13,53	9,80	62,48	41,48	57,89	75,42 <b>a</b>
<b>2012</b>												
L	118,51	15,30	206,80	60,32	34,59	32,89	15,75	7,98	66,17	41,99 <b>a</b>	58,18 <b>a</b>	70,24
CB	153,75	17,10	271,59	78,33	37,11	32,62	18,22	8,83	63,14	37,61 <b>b</b>	36,16 <b>ab</b>	63,93
TR	116,79	17,88	247,84	69,69	36,18	30,83	16,16	8,65	66,12	38,62 <b>b</b>	26,05 <b>b</b>	47,49

Para cada nutriente y en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). Si no se muestran letras, es que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

**Tabla IV.13.** Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na, peso seco, mg kg<sup>-1</sup>) presentes en el tejido foliar de la vid (limbo y pecíolo), en enero, en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	HIERRO		MANGANESO		ZINC		COBRE		BORO		SODIO	
	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
(mg kg <sup>-1</sup> )												
<b>2009</b>												
L	119,49	21,65	116,27	36,84	20,40	33,00	554,50	44,62	44,64	32,90 <b>a</b>	-	105,81 <b>a</b>
CB	110,22	14,40	140,51	53,97	20,14	25,07	422,82	30,59	42,95	29,26 <b>b</b>	-	38,04 <b>b</b>
TR	115,72	17,58	135,60	45,41	22,41	31,53	395,54	35,15	48,33	30,17 <b>b</b>	-	33,50 <b>b</b>
<b>2010</b>												
L	81,24	24,95	248,34	33,43	45,00	38,14	10,88	3,96	58,93	39,43 <b>b</b>	75,06	93,22
CB	100,05	27,29	267,70	37,20	45,84	36,00	13,37	3,68	58,63	32,81 <b>c</b>	67,63	99,15
TR	90,62	26,91	274,92	46,70	36,61	27,41	10,86	3,68	57,88	49,13 <b>a</b>	87,16	116,38
<b>2011</b>												
L	102,68	26,33	101,05	16,53	19,22	26,29	553,59	66,13	38,83 <b>ab</b>	29,18	65,63	107,74
CB	111,39	23,25	152,64	30,80	21,10	32,18	614,07	53,58	44,76 <b>a</b>	28,08	71,93	107,61
TR	107,35	24,92	131,17	37,04	19,85	32,68	564,87	58,74	32,22 <b>b</b>	27,21	66,56	103,76
<b>2012</b>												
L	95,62	22,48	221,18	46,89	30,74	37,45	8,89	6,63	54,45	35,66	39,07	57,99
CB	96,74	21,11	235,74	61,34	31,60	40,75	8,71	6,06	49,48	35,75	37,99	62,78
TR	96,29	22,45	244,39	59,43	30,06	43,70	9,64	3,89	50,81	38,06	36,52	90,98

Para cada nutriente y en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). Si no se muestran letras, es que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

#### IV.6.2.1. Hierro

La concentración de Fe medida en los tejidos foliares en los cuatro años de estudio, mostró variabilidad a lo largo del ciclo, al igual que ocurrió en el estudio con cv. Tempranillo que realizaron Romero *et al.* (2013) en Rioja. Sin embargo, Schreiner (2005) encontró que la concentración de Fe determinada en tejidos foliares, era mayor en enero que en floración en diversos viñedos de la variedad Pinot noir.

En floración, únicamente la concentración de Fe determinada en los limbos del tratamiento L en 2009, en L y TR en 2012, además de la del tratamiento TR durante 2009 en pecíolo (Tabla IV.12), se encontraron dentro del rango definido como “óptimo” por García-Escudero *et al.* (2013). Las concentraciones de Fe estimadas en enero en los pecíolos muestreados en todos los tratamientos en los años 2010 y 2011 (Tabla IV.13) también se encontraban en el rango “óptimo” definido para cv. Tempranillo (Anexo III, Tabla 2). En la floración del 2010, en el limbo y pecíolo de los tres tratamientos, en el tratamiento CB en 2011 en limbo y en pecíolo en 2012, las concentraciones de Fe fueron menores que las de la referencia definida como “baja”. Sin embargo, los tratamientos de las cubiertas presentaron en pecíolo en 2011, valores de concentración de Fe mayores que los definidos como “altos” por García-Escudero *et al.* (2013). En enero, el pecíolo de los tratamientos con las dos cubiertas en 2009, el limbo de los tratamientos L y TR en 2010 y el limbo de los tres tratamientos en 2012, presentaron concentraciones de Fe menores que el nivel “bajo” de la referencia. Así, a pesar de encontrar en momentos concretos valores “bajos” de Fe en las plantas, y de que la vid es un cultivo con una determinada sensibilidad a la falta de este nutriente, no se observaron síntomas de clorosis asociados a Fe en las plantas del estudio.

Respecto a la incidencia de los tratamientos en el contenido Fe-nutricional, en ninguno de los cuatro años de ensayo los tejidos foliares estudiados mostraron diferencias significativas entre tratamientos, ni en floración ni en enero (Tablas IV.12 y IV.13, respectivamente), a pesar de que como se ha visto en el Apartado IV.5.3, en el año 2011 la cebada absorbió mayor cantidad de Fe del suelo que el trébol. Este resultado coincidió con los de Tesic *et al.* (2007) y Sweet y Schreiner (2010), que tampoco encontraron diferencias significativas respecto al laboreo en el nivel de Fe

presente en floración en el pecíolo, y en limbos en floración y envero, en ninguna de las parcelas con cubiertas vegetales que estudiaron.

#### IV.6.2.2. Manganeso

En relación a la evolución del Mn en la planta, se apreció en el caso de los limbos, un aumento de su concentración desde floración (Tabla IV.12) hasta envero (Tabla IV.13). Ahora bien, en los pecíolos la variabilidad fue mayor, como también observaron Romero *et al.* (2013) en su estudio de cv. Tempranillo en Rioja.

En general, la concentración de Mn se situó por encima de los niveles definidos como “altos” por García-Escudero *et al.* (2013). Es el caso de la concentración en floración de limbo y de pecíolo en 2010 y 2012 para los tres tratamientos y, en limbo en 2011 para los dos tratamientos con cubiertas vegetales (Tabla IV.12), así como en envero para el limbo en 2010 y en 2012 en los tres tratamientos (Tabla IV.13). Por su parte, el nivel de Mn en envero del año 2011 en el tratamiento L, fue menor que el “bajo” dado por la referencia (Anexo III, Tabla 2).

Considerando el efecto provocado por los tratamientos con cubiertas sobre el contenido foliar de Mn, no se observaron diferencias significativas (Tablas IV.12 y IV.13). Este resultado es similar al encontrado por Sweet y Schreiner (2010) en los ensayos realizados en Oregón con cv. Pinot noir, donde tampoco detectaron diferencias significativas en los limbos entre el laboreo y los distintos tratamientos con cubiertas vegetales (cubierta vegetal espontánea, cubierta de especies anuales de invierno, cubierta de especies autóctonas de pradera y cubierta de gramíneas autóctonas, cubierta de tréboles mixtos y un tratamiento donde combinaban leguminosas y gramíneas perennes). Asimismo, los resultados de Tesic *et al.* (2007) coincidieron con los nuestros, puesto que estos autores tampoco encontraron diferencias significativas en la concentración de Mn en los pecíolos de las cepas de cv. Chardonnay al comparar el tratamiento de cubierta vegetal espontánea y el de laboreo, estudiados en dos parcelas australianas con condiciones climáticas distintas.

#### IV.6.2.3. Zinc

La evolución observada en la concentración del Zn a lo largo del ciclo de la vid, mostró diferencias según el tejido analizado. En limbo tendió a disminuir en el envero (Tabla IV.13) frente a la floración (Tabla IV.12) y, en pecíolo por el contrario, a aumentar. Christensen (1984) observó ligeros incrementos en la concentración de Zn desde floración hasta envero.

Al igual que para el Mn, las concentraciones de Zn presentes en los tejidos foliares estudiados fueron, en la mayoría de los casos, mayores que el valor de la referencia definido como “alto” (Anexo III, Tabla 2; Tablas IV.12 y IV.13).

Considerando la posible incidencia de las cubiertas vegetales sobre el Zn presente en los tejidos foliares, cabe decir que no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tablas IV.12 y IV.13). Similar respuesta obtuvieron Tesic *et al.* (2007) para el pecíolo en floración en cubiertas vegetales respecto al laboreo. Sin embargo, para Sweet y Schreiner (2010) fue en el único micronutriente para el que observaron en limbo, y en ambos estados fenológicos muestreados (floración y envero), diferencias entre tratamientos al tercer año de ensayo. Así, en floración los tratamientos de laboreo y de cubierta con césped autóctono de su ensayo en un viñedo de cv. Pinot noir, presentaron valores de Zn mayores que los mostrados por los tréboles. Asimismo, en envero el laboreo también presentó valores de este nutriente mayores que los estimados para el tratamiento mixto de tréboles y gramíneas, o que el de vegetación espontánea.

#### IV.6.2.4. Cobre

Por lo general, la concentración de Cu en los tejidos foliares mantuvo niveles descendientes desde floración hasta envero. Ahora bien, la aplicación de productos fitosanitarios a base de Cu (como se aprecia en los datos de envero de 2009 y de 2011 de la Tabla IV.13) supuso un incremento tanto en la concentración como en la variabilidad del Cu presente en las muestras, alterando su concentración con fines de diagnóstico nutricional, al igual que les sucedió a Romero *et al.* (2013) en su estudio con cv. Tempranillo en Rioja.

En floración, las concentraciones obtenidas en los cuatro años de estudio para los tres tratamientos en el limbo (excepto en el tratamiento CB en 2010 y 2012), y en el pecíolo en 2010, 2011 y en 2012 en los tratamientos CB y TR, se encontraron dentro del rango definido por García-Escudero *et al.* (2013) como “óptimo” (Anexo III, Tabla 2). Sin embargo, en el caso del envero los valores del 2009 y 2011 fueron claramente influenciados por la aplicación en las cepas de algún tratamiento fitosanitario a base de Cu y, de ahí que las concentraciones estimadas para realizar el diagnóstico Cu-nutricional fueran mucho mayores, especialmente en limbo, que el nivel definido como “alto” en la referencia. Por su parte, los datos de concentración de Cu en pecíolo en 2010 y 2012 fueron mucho menores que los definidos como “bajo” por la referencia (Anexo III, Tabla 2; Tablas IV.12 y IV.13).

El efecto de las cubiertas vegetales sobre la concentración de Cu en los tejidos foliares mostró diferencias significativas entre tratamientos únicamente en la concentración de Cu en pecíolo medida en floración de 2010. Así, la concentración de Cu fue mayor en el tratamiento CB respecto al L, y en éste mayor que en el tratamiento TR (Tabla IV.12). Esta circunstancia pudo estar relacionada con el hecho de que en el año 2010 se detectara una menor concentración de Cu en la biomasa de la cebada y, por tanto, la competencia por este nutriente fuera menor que en el tratamiento con trébol (Tabla IV.8). Del mismo modo, en una parcela de clima semiárido australiano, Tesic *et al.* (2007) observaron niveles de Cu en pecíolo mayores en el tratamiento de cubierta vegetal espontánea que en el laboreo. Por otra parte, la falta de diferencias significativas constatadas entre tratamientos en relación a la concentración de Cu presente en los limbos, coincidió con lo obtenido en Oregón por Sweet y Schreiner (2010) en su estudio con seis cubiertas vegetales de distintas especies autóctonas y el laboreo.

#### **IV.6.2.5. Boro**

La concentración de B a lo largo del ciclo vegetativo de la vid siguió la tendencia observada para la mayoría de los nutrientes anteriormente analizados, con niveles decrecientes de Cu en tejidos los foliares desde floración (Tabla IV.12) hasta envero (Tabla IV.13). Esta situación coincide con la evolución aportada por Romero *et al.* (2013) para cv. Tempranillo en Rioja, con un incremento de concentración foliar de

Cu hasta cuajado, especialmente en limbos, momento a partir del cual comienza su declive hasta envero.

Así como el limbo en floración presentó en todos los tratamientos, excepto en la campaña 2009 y con el tratamiento L en 2010, concentraciones de B definidas como “óptimas” para cv. Tempranillo por la referencia (García-Escudero *et al.*, 2013), en el envero de 2010 y 2012, las concentraciones de B se encontraron por encima del valor “alto”. En el caso del pecíolo y durante la floración, muchas de las concentraciones de B analizadas se encontraron dentro del rango “óptimo”. Sin embargo, en envero hubo concentraciones en los tratamientos CB y TR 2009 y en los tres tratamientos en 2011, por debajo del límite definido como “bajo” (Anexo III, Tabla 2; Tablas IV.12 y 13).

La influencia de las cubiertas vegetales sobre el nivel nutricional de B se mostró de manera desigual según el tejido foliar analizado. En limbos únicamente se apreciaron diferencias significativas en el envero de la campaña 2011, momento en el que el tratamiento CB alcanzó mayor concentración de B que el tratamiento TR (Tabla IV.13). En el pecíolo se observaron diferencias en floración de las campañas 2010 y 2012 (Tabla IV.12), siendo mayor la concentración presentada en el tratamiento L que en los de las cubiertas vegetales, al igual que ocurrió en el envero de 2009. Por su parte, en envero de 2010 hubo diferencias significativas entre los tres tratamientos, con concentraciones superiores de B en el tratamiento TR y menores en el tratamiento CB, presentando el laboreo valores intermedios entre ambas cubiertas. En el muestreo de floración realizado por Smith *et al.* (2008) en un viñedo californiano de cv. Chardonnay con riego, encontraron niveles de B en el limbo de cepas con distintos tratamientos de cubiertas vegetales (de centeno (*S. cereale* L.), de maduración temprana y cubierta de maduración tardía, con triticale) menores que en aquellas cepas en las que se utilizaba el laboreo. Por su parte, Sweet y Schreiner (2010) obtuvieron en cepas de cv. Pinot noir en Oregón, diferencias significativas únicamente en limbo en envero, siendo mayor la concentración de B encontrada con el laboreo que la que presentaba la cubierta vegetal espontánea o la cubierta con especies autóctonas de pradera. Sin embargo, en los pecíolos estudiados por Tesic *et al.* (2007) en floración, no hubo diferencias significativas entre el tratamiento con cubierta vegetal espontánea y el laboreo.

#### IV.6.2.6. Sodio

Respecto a las concentraciones de Na en hojas, se observó cierta variabilidad entre los dos momentos fenológicos considerados, durante los cuatro años de estudio, sin seguir un patrón claro de aumento o disminución entre ambos momentos del ciclo (Tablas IV.12 y IV.13).

Apenas se ha estudiado el efecto que provocan las cubiertas vegetales sobre los niveles Na-nutricionales que presenta la planta. García-Escudero *et al.* (2013) no han tenido en cuenta este nutriente, por lo que no disponemos de niveles de referencia para cv. Tempranillo en nuestras condiciones con los que poder comparar los datos obtenidos.

En floración, las diferencias de Na fueron significativas en la campaña 2012 entre los tratamientos L y TR, con menor concentración en los limbos de la cubierta vegetal (Tabla IV.12). Las concentraciones de Na en limbo durante el envero del 2009 no se pudieron analizar correctamente debido a un error en el laboratorio de análisis. En el resto de campañas estudiadas, y considerando el envero, no se establecieron en limbo diferencias significativas entre tratamientos (Tabla IV.13). En cuanto a los valores de Na en los pecíolos en floración, las diferencias entre tratamientos resultaron significativas en los años 2010, 2011 y 2012, aunque con un grado de significación distinto en cada caso. En 2010, el laboreo presentó menor concentración de Na que las cubiertas vegetales, mientras que en 2011 la concentración de Na en el tratamiento TR fue mayor que en el L, y éste a su vez mayor que en el tratamiento CB. En el año 2012, los pecíolos del tratamiento L presentaron una concentración de Na significativamente mayor que la cubierta de trébol. La mayor absorción de Na observada por parte del trébol en los años 2010 y 2011 (Tabla IV.12), los más secos del ensayo, circunstancia que no se tradujo en una menor absorción de este nutriente por parte de la vid, hace pensar que las diferencias observadas en la biomasa de las cubiertas podrían ser debidas a la diferente necesidad y asimilación de Na que presenta cada especie. También Tesic *et al.* (2007) encontraron en una parcela australiana niveles de Na menores en el pecíolo muestreado en floración en las cepas de cv. Chardonnay con laboreo que en las del tratamiento con cubierta vegetal espontánea, aunque únicamente fueron significativos en el segundo año de ensayo.

No son muchos los estudios que analizan el efecto de las cubiertas vegetales sobre el estado nutricional de las plantas y, los que lo hacen, por lo general, se centran en los macronutrientes analizados en un único momento fenológico, y en un único tejido foliar. La diversidad de resultados encontrados en nuestro ensayo al estudiar la concentración de micronutrientes en dos momentos fenológicos distintos y en dos tejidos foliares, muestra la complejidad que supone la obtención de conclusiones de los efectos provocados por las cubiertas vegetales en el viñedo. Sin embargo, a pesar de esta diversidad, las diferencias significativas de los micronutrientes asimilados por las plantas en los tratamientos estudiados fueron escasas, lo cual podría indicar que la competencia ejercida por parte de las cubiertas vegetales sobre los nutrientes presentes en el suelo, no fue lo suficientemente determinante como para ejercer un efecto que pudiera modificar el estado nutricional de estos nutrientes en la vid.

#### **IV.7. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LA CEPA Y EN LAS EXPORTACIONES DE NUTRIENTES**

##### **IV.7.1. INCIDENCIA EN LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO: LONGITUD DE PÁMPANOS Y NIETOS, Y PESO SECO DE PÁMPANOS, HOJAS Y RACIMOS**

###### **IV.7.1.1. Desarrollo de pámpanos y nietos**

En este apartado se discute el efecto de las cubiertas vegetales en la longitud media de los pámpanos y de los nietos (brotes secundarios), medida tanto en floración como en envero, durante las cuatro campañas vitícolas consideradas (Tabla IV.14). El efecto provocado por las cubiertas vegetales sobre el desarrollo vegetativo de las cepas, determinado mediante el crecimiento longitudinal de los pámpanos principales y nietos, se apreció únicamente en la campaña 2011 en los nietos durante floración (Tabla IV.14). En este momento, las cepas con los tratamientos L y TR presentaron mayor longitud media de nietos respecto al tratamiento CB. Este comportamiento podría estar relacionado con la menor disponibilidad de N que presentaba el suelo bajo la cubierta de

cebada por efecto de su competencia, que pudo afectar al desarrollo vegetativo de las cepas.

**Tabla IV.14.** Longitud media (cm) de pámpanos y nietos medida en floración y envero en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).

LONGITUD MEDIA (cm)				
Tratamientos	FLORACIÓN		ENVERO	
	Pámpanos	Nietos	Pámpanos	Nietos
<b>2009</b>				
L	124,30	178,87	136,67	176,47
CB	122,53	72,93	136,60	145,93
TR	129,13	116,33	119,93	221,40
<b>2010</b>				
L	150,20	120,67	181,10	219,77
CB	158,43	179,37	158,27	231,87
TR	148,20	128,13	147,00	180,20
<b>2011</b>				
L	142,90	173,70 <b>a</b>	148,05	175,87
CB	128,00	109,53 <b>b</b>	143,53	160,90
TR	143,17	169,27 <b>a</b>	139,00	173,73
<b>2012</b>				
L	155,87	189,95	153,87	292,51
CB	151,27	134,23	158,80	171,64
TR	157,47	158,53	155,87	294,52

Para cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

En el muestreo de envero, no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos. Tal circunstancia pudo ser debida a que en este momento del ciclo de la vid, las cubiertas ya estaban agostadas o a punto de hacerlo, por lo que sus necesidades nutricionales eran mínimas, permitiendo a las vides asimilar el agua y los nutrientes disponibles en el suelo. Para entonces, las cepas probablemente estaban próximas a la parada de crecimiento vegetativo y pendientes de las necesidades de demanda del desarrollo y maduración de las bayas (Figura III.24). Sommer y Clingeleffer (1995) argumentaron que la disponibilidad de agua previa al momento del envero afecta al crecimiento de los pámpanos y a la superficie foliar de las cepas, apreciándose más

estos efectos en climas muy áridos. Sin embargo, si la diferencia en la disponibilidad de agua se da una vez que el crecimiento se ha completado, las diferencias en la longitud de los pámpanos podrían ser despreciables. Por otro lado, Tan y Crabtree (1990) y Tesic *et al.* (2007) evidenciaron reducciones en la longitud de los pámpanos de cepas con tratamientos de cubiertas vegetales (utilizando césped y cubierta vegetal espontánea, respectivamente), comparándolas con el laboreo. De acuerdo a la hipótesis de la disponibilidad N-nutricional del suelo, Tesic *et al.* (2007) observaron la existencia de una correlación entre la longitud del pámpano y el contenido de N en el pecíolo en floración, en dos parcelas de cv. Chardonnay en Australia. Para los dos años muestreados obtuvieron una  $R^2$  de 0,67 y de 0,74, respectivamente, en la parcela de clima húmedo, y una  $R^2$  de 0,44 y de 0,64 en la parcela de secano.

#### IV.7.1.2. Peso seco de pámpanos, hojas y racimos

Como medida complementaria al crecimiento longitudinal de los pámpanos, se determinó el efecto provocado por los tratamientos sobre el peso seco de los órganos aéreos de crecimiento anual de las cepas. En la Tabla IV.15, se presentan los resultados del peso seco de pámpanos, hojas y racimos determinados en floración y envero, en cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante los cuatro años de ensayo. En floración, las diferencias fueron significativas para el peso seco de los pámpanos en 2010, con valores menores en el tratamiento TR respecto al tratamiento CB, e intermedios en el L (Tabla IV.15). Esta reducción de peso encontrada en los pámpanos del tratamiento TR puede estar relacionada con la competencia ejercida por la cubierta vegetal durante las fases previas a la floración, que dificultaría el engrose de los pámpanos de las cepas, si bien la longitud de los mismos no se vio afectada, como ya se ha comentado en el apartado anterior (Tabla IV.14). Por otro lado, en cuanto al peso de la biomasa foliar, las diferencias únicamente fueron significativas en floración del año 2011, con menor peso en las cepas de los tratamientos de cubiertas vegetales respecto a las del tratamiento L. En los racimos no se observaron diferencias de peso entre tratamientos, ya que en floración apenas estaban desarrollados. Coincidiendo con los datos de crecimiento en longitud (Tabla IV.14), durante el envero tampoco se observaron diferencias significativas entre tratamientos en los pesos de pámpanos, hojas o racimos (Tabla IV.15).

**Tabla IV.15.** Peso seco de pámpanos, hojas y racimos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) determinados en floración y envero en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) para cada uno de los años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	PESO SECO					
	FLORACIÓN			ENVERO		
	Pámpanos	Hojas ( $\text{kg ha}^{-1}$ )	Racimos	Pámpanos	Hojas ( $\text{kg ha}^{-1}$ )	Racimos
	<b>2009</b>					
L	759,75	744,03	41,24	1397,65	1293,11	1995,34
CB	676,56	689,63	39,81	1597,69	1551,05	2323,23
TR	711,78	639,67	42,26	1480,48	1429,77	1763,44
	<b>2010</b>					
L	766,78 <b>ab</b>	691,68	30,20	2031,76	1538,77	3499,53
CB	901,61 <b>a</b>	790,51	27,60	1800,78	1319,53	2476,20
TR	631,77 <b>b</b>	676,70	35,95	1666,95	1341,23	2635,78
	<b>2011</b>					
L	1092,46	1003,01 <b>a</b>	53,17	1508,04	1399,04	2341,32
CB	852,15	802,67 <b>b</b>	43,27	1839,42	1458,42	2512,02
TR	913,83	849,42 <b>b</b>	45,61	1722,15	1304,53	2817,73
	<b>2012</b>					
L	798,23	767,99	36,84	1834,31	1566,03	2873,89
CB	828,33	720,09	41,18	1542,58	1342,03	2547,32
TR	701,56	671,56	31,77	1918,30	1793,69	1901,98

Para cada órgano, en cada momento fenológico y campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Zabadal y Dittmer (2001) encontraron que hubo incrementos de peso de pámpanos y crecimiento de raíces cuanto mayor era el área de suelo libre de cubierta vegetal alrededor de las cepas. Es decir, comparando plantas con grandes áreas libres de vegetación a su alrededor (152 cm de diámetro), con cepas cuyos suelos estaban totalmente cubiertos de vegetación, éstas presentaron reducción en el peso seco de pámpanos de hasta cinco veces las del laboreo. Hatch *et al.* (2011) llegaron a resultados similares en un estudio con cepas jóvenes en las que las cubiertas crecían únicamente en las filas del viñedo. Tan y Crabtree (1990) observaron que tanto una cubierta perenne de centeno (*S. cereale* L.) que fue segada como otra que no lo fue, redujeron el contenido total de nutrientes foliares en la vid debido a que las viñas de esos tratamientos tuvieron menor biomasa total que las del laboreo.

Estos resultados estarían relacionados con la disponibilidad de agua y nutrientes presentes en el suelo, que resultan fundamentales para el correcto desarrollo y crecimiento de las raíces y de la parte aérea de la vid. Así, en función del grado de homogeneidad de la cubierta en la calle, del área de suelo que ocupe y de su capacidad de exploración y necesidad de absorción de agua y nutrientes del suelo, variará la competencia ejercida y, por tanto, el crecimiento de la cepa.

#### IV.7.2. INCIDENCIA EN LAS EXPORTACIONES: MACRONUTRIENTES

En este apartado se discute el efecto de las cubiertas vegetales en el contenido de macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca) presentes en las exportaciones de la vid, separándolos por órganos renovables (pámpanos, hojas y racimos), en floración (Tabla IV.16) y en envero (Tabla IV.17), para cada uno de los años estudiados (2009-2012). Los datos se expresan en  $\text{kg ha}^{-1}$  del elemento sobre materia seca.

La presencia de cubiertas vegetales en el suelo no afectó de forma significativa al N presente en los órganos aéreos de las plantas en los años estudiados, ni en floración ni en envero (Tablas IV.16 y IV.17). Sin embargo, se observó una tendencia a un contenido de N menor por parte de las cepas del tratamiento CB (excepto en el año 2010 en pámpanos y hojas). Esta disminución del N podría atribuirse al efecto de competencia ejercido por la cebada, relacionado con el N presente en su biomasa aérea (Tabla IV.7). Por el contrario, en el caso del trébol, los primeros años se apreció una ligera competencia por el N pero en el último año de ensayo, si bien no de manera significativa, se apreció un ligero aumento del N, debido probablemente al nivel más elevado de N presente en el suelo con esta cubierta vegetal (Figuras IV.6 y IV.7). Por lo general, a pesar de que las cepas asimilaron cantidades de N diferentes entre tratamientos, en la determinación de las exportaciones se constató que existía una gran variabilidad entre cepas, que hace que las diferencias entre tratamientos no lleguen a ser significativas.

No se han encontrado trabajos en la bibliografía que hayan estudiado las exportaciones de la viña con tratamientos de laboreo y cubiertas vegetales, por lo que no se han podido comparar nuestros resultados con los de otros autores. Por otro lado,

según Castelan-Estrada (2001), la biomasa de los sarmientos se correlaciona con el contenido de C y las reservas de N, que a su vez se correlacionan con las reservas de carbohidratos y de N de los órganos perennes (tronco y raíces). Además, Conrادية (1986) y Zapata *et al.* (2004) observaron que, entre la fase de brotación y la de floración, el crecimiento de los pámpanos depende principalmente de la movilización de las reservas de almidón y de N acumuladas durante la campaña anterior, particularmente en el período de postvendimia. La fase de máxima absorción de N del suelo por parte de la vid se produce entre floración y envero, por lo que según Wermelinger y Koblet (1990) y Holzapfel y Treeby (2007), es en este período en el que tanto los pámpanos como las hojas y los racimos se convierten en fuertes sumideros de N. Por tanto, las diferencias que pudieran darse entre tratamientos en la biomasa en peso seco de pámpanos y absorción de N en un año, estarían relacionadas con las diferencias encontradas en la postvendimia del año anterior en la biomasa de los sarmientos, como indicaron Ripoche *et al.* (2011).

En el caso del efecto provocado por las cubiertas sobre el P presente en los órganos aéreos, en floración se observaron, tanto en el pámpano como en las hojas, diferencias significativas en el año 2010, siendo el tratamiento CB el que marcó la diferencia respecto al tratamiento TR (con valor intermedio del tratamiento L en el caso de los pámpanos), al contrario de lo que cabría esperar tras lo observado en los análisis foliares durante esos primeros años de ensayo (Tabla IV.10). Por su parte, y en las hojas de 2011 en floración, se observó esa reducción de P con el tratamiento CB respecto al de trébol y al tratamiento L, que fue el que presentó mayor nivel de P (Tabla IV.16). Los racimos no mostraron diferencias de P entre tratamientos durante el muestreo realizado en floración. Por su parte, en el envero de la campaña 2011, el tratamiento TR alcanzó menor concentración de P en las hojas que los otros dos tratamientos. No obstante, las diferencias no fueron significativas en ninguna otra campaña ni órgano estudiado (Tabla IV.17).

**Tabla IV.16.** Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, kg ha<sup>-1</sup>) analizados en los pámpanos, hojas y racimos muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante la floración de cada uno de los años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	PÁMPANOS					HOJAS					RACIMOS				
	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Magnesio	Calcio	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Magnesio	Calcio	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Magnesio	Calcio
	<b>2009</b>														
L	8,43	1,85	12,05	0,91	3,27	25,56	3,27	9,64	1,95	14,74	1,07	0,19	0,89	0,08	0,31
CB	6,46	1,47	8,98	0,75	2,58	22,72	2,75	8,78	1,79	13,06	0,94	0,17	0,76	0,08	0,28
TR	6,50	1,25	9,31	0,76	2,63	22,50	2,01	7,79	1,59	10,61	0,97	0,15	0,80	0,08	0,26
	<b>2010</b>														
L	9,19	2,10 <b>b</b>	12,70 <b>b</b>	0,87 <b>b</b>	3,77 <b>ab</b>	24,14	2,77 <b>ab</b>	10,19	1,90	10,49	0,90	0,16	0,83	0,06	0,30
CB	10,60	2,64 <b>a</b>	16,99 <b>a</b>	1,14 <b>a</b>	4,64 <b>a</b>	26,30	3,61 <b>a</b>	12,82	1,66	13,45	0,77	0,14	0,77	0,06	0,26
TR	7,67	1,42 <b>c</b>	9,98 <b>b</b>	0,72 <b>b</b>	2,83 <b>b</b>	23,80	2,43 <b>b</b>	8,98	1,37	10,91	1,02	0,16	0,93	0,06	0,30
	<b>2011</b>														
L	11,98	2,87	18,32	1,08	4,43	33,98	5,21 <b>a</b>	14,04	2,17	18,47 <b>a</b>	1,40	0,27	1,45	0,11	0,47
CB	8,62	2,13	14,94	0,98	4,26	23,86	2,90 <b>c</b>	12,22	1,66	13,02 <b>b</b>	1,00	0,20	1,16	0,09	0,42
TR	11,28	2,56	15,64	1,05	4,03	30,91	3,69 <b>b</b>	11,97	1,84	13,88 <b>b</b>	1,27	0,23	1,06	0,09	0,38
	<b>2012</b>														
L	9,90	2,26	14,65	0,92	3,69	27,30	3,88	10,26	1,89	14,96	1,08	0,19	1,00	0,07	0,29
CB	8,94	2,22	14,25	0,88	3,44	24,73	3,33	9,59	1,65	13,32	1,12	0,20	1,03	0,07	0,32
TR	10,36	2,05	12,95	0,91	3,45	26,20	3,14	8,92	1,53	11,34	0,99	0,15	0,78	0,05	0,22

Para cada nutriente, en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

**Tabla IV.17.** Macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca, kg ha<sup>-1</sup>) analizados en los pámpanos, hojas y racimos muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) en el envero de cada uno de los años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	PÁMPANOS					HOJAS					RACIMOS				
	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Magnesio	Calcio	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Magnesio	Calcio	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Magnesio	Calcio
	(kg ha <sup>-1</sup> )														
	<b>2009</b>														
L	7,91	2,46	13,69	1,82	6,00	32,88	2,95	13,51	4,31	27,55	25,22	4,91	36,45	2,45	8,18
CB	9,11	2,93	14,69	1,81	6,68	42,38	4,11	18,25	4,35	31,47	32,10	5,92	42,05	2,82	9,72
TR	7,74	2,16	13,81	1,65	5,82	37,01	2,75	13,45	4,95	28,98	21,54	3,70	27,47	2,30	7,52
	<b>2010</b>														
L	9,76	2,49	17,43	2,14	10,88	33,93	4,01	13,66	4,43	41,00	23,16	5,36	50,62	2,21	5,57
CB	8,40	1,88	13,24	1,92	8,97	30,03	3,05	13,11	4,35	31,01	14,52	3,36	30,80	1,55	4,03
TR	8,23	1,55	9,97	1,77	7,81	32,69	2,31	11,23	4,04	32,44	17,95	3,73	35,32	1,78	4,49
	<b>2011</b>														
L	7,37	2,01	14,33	1,58	8,57	31,57	3,69 <b>a</b>	17,02 <b>a</b>	3,80	32,84	16,17	3,63	32,66	1,53	4,50
CB	8,32	1,93	12,84	2,08	9,59	32,65	3,77 <b>a</b>	17,65 <b>a</b>	3,97	33,70	14,70	3,25	29,32	1,49	4,24
TR	8,77	1,92	14,35	2,30	10,28	31,38	2,36 <b>b</b>	11,82 <b>b</b>	3,71	30,46	20,17	3,95	37,18	1,71	4,39
	<b>2012</b>														
L	9,38	2,80	20,23	1,92	11,46	40,56	4,91	22,72	4,23	44,65	22,68	5,12	48,02	2,02	5,58
CB	8,10	2,27	17,78	2,07	11,55	36,91	4,10	18,41	4,34	35,03	17,16	4,47	39,73	1,83	5,09
TR	12,25	2,69	23,90	2,96	17,20	47,39	6,26	25,45	4,99	51,15	17,23	3,35	31,43	1,53	4,19

Para cada nutriente, en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Respecto al efecto ejercido por las cubiertas vegetales en el K presente en los órganos aéreos en floración, únicamente en el año 2010 se observó una mayor concentración de K en los pámpanos del tratamiento CB respecto a los de las cepas de los tratamientos L y TR. En el resto de órganos y años, no se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla IV.16). Durante el envero, las diferencias se observaron únicamente en la campaña 2011 en las hojas, con valores mayores de K en las de los tratamientos de laboreo y con cubierta de cebada respecto a las del tratamiento TR, como se observó también en los análisis nutricionales realizados en envero ese año, donde las cepas del tratamiento CB presentaron más K en limbo que con los otros dos tratamientos (Apartado IV.6.1.3, Tabla IV.11). Por su parte, ni en los pámpanos ni en los racimos las diferencias de K entre tratamientos fueron significativas (Tabla IV.17).

La influencia de los tratamientos sobre el Mg presente en pámpanos, hojas y racimos, se observó únicamente en los pámpanos, en la floración de 2010, presentando el tratamiento CB valores mayores respecto a los otros dos tratamientos (Tabla IV.16). En el muestreo realizado en envero, no se observó ninguna diferencia de Mg en los órganos aéreos de las cepas de los tratamientos estudiados (Tabla IV.17).

En relación al efecto que las cubiertas vegetales ejercieron sobre el Ca presente en los órganos estudiados, se observaron diferencias significativas en floración, en el caso de los pámpanos en el año 2010, presentando el tratamiento CB un mayor contenido de Ca que con el tratamiento TR. Asimismo, se encontraron diferencias en la floración del año 2011 para las hojas, en las que el contenido de Ca en el caso del tratamiento L, destacó por encima del de las cepas que se encontraban bajo la influencia de las cubiertas vegetales. Por su parte, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos en el Ca presente en los racimos en floración (Tabla IV.16), así como tampoco los hubo en ninguno de los órganos estudiados en envero (Tabla IV.17).

#### IV.7.3. INCIDENCIA EN LAS EXPORTACIONES: MICRONUTRIENTES

Con objeto de completar la visión del estado nutricional de la planta, se analizaron también los micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na) presentes en pámpanos, hojas y racimos en floración (Tabla IV.18) y en envero (Tabla IV.19), para cada uno de los años estudiados (2009-2012). Los datos se expresan en g ha<sup>-1</sup> del

nutriente sobre materia seca. De igual modo que ocurría con los macronutrientes, no se han encontrado referencias bibliográficas sobre el efecto de las cubiertas vegetales, por lo que no se pueden comparar los datos obtenidos en el ensayo con los de otros estudios de similares características.

Cuando se considera el posible efecto de las cubiertas vegetales sobre el Fe presente en las exportaciones de los órganos aéreos de las cepas, en floración sólo se observaron diferencias significativas en las hojas del tratamiento CB respecto a las del tratamiento L en el año 2011 (Tabla IV.18). En enero, esta misma situación se observó para el año 2010 en los racimos, con menor concentración de Fe con la cubierta de cebada que con el tratamiento L (Tabla IV.19). Sin embargo, como se ha comentado anteriormente (Apartado IV.6.2.1), no se observaron síntomas de clorosis férrica en ninguna de las cepas del ensayo.

En el caso de la influencia de los diferentes tratamientos sobre el Mn, a pesar de que como ya se ha comentado en el Apartado IV.6.2.2, los niveles presentes en los tejidos foliares eran “altos” respecto a los propuestos por la referencia de García-Escudero *et al.* (2013) y, aunque no de forma significativa ambos tratamientos de cubiertas presentaron valores de Mn más bajos que los del tratamiento L, tampoco se observaron diferencias significativas en ningún órgano ni momento del ciclo considerado para la estimación de exportaciones (Tablas IV.18 y IV.19).

Respecto al Zn, las diferencias tan sólo se observaron entre las cubiertas vegetales en floración y en los pámpanos muestreados en el año 2010, siendo mayores los valores del tratamiento CB respecto a los del tratamiento TR (Tabla IV.18). En enero, las diferencias de Zn entre tratamientos no fueron significativas en ninguno de los órganos aéreos de las cepas (Tabla IV.19).

**Tabla IV.18.** Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na, g ha<sup>-1</sup>) analizados en los pámpanos, hojas y racimos muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante la floración de cada uno de los años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	PÁMPANOS						HOJAS (g ha <sup>-1</sup> )						RACIMOS					
	Hierro	Mn <sup>a</sup>	Zinc	Cobre	Boro	Sodio	Hierro	Mn	Zinc	Cobre	Boro	Sodio	Hierro	Mn	Zinc	Cobre	Boro	Sodio
	<b>2009</b>																	
L	25,82	10,66	14,87	7,93	16,96	21,20	62,85	56,56	17,98	14,15	52,26	51,23	2,32	1,47	1,29	0,64	1,85	1,47
CB	22,27	7,70	11,04	7,61	12,21	16,84	52,66	49,46	13,97	12,25	46,49	50,76	2,41	1,03	1,11	0,64	1,86	1,48
TR	19,56	7,96	8,76	6,40	11,97	19,24	54,15	39,23	11,28	9,73	37,41	36,24	2,34	1,01	0,97	0,57	1,89	1,41
	<b>2010</b>																	
L	24,52	17,55	18,66 <b>ab</b>	9,21 <b>b</b>	20,28 <b>b</b>	45,06	45,85	76,31	19,93	10,80	38,18	49,20	1,42	2,43	1,47	0,58	1,46	2,61
CB	26,36	22,35	25,97 <b>a</b>	11,48 <b>a</b>	25,98 <b>a</b>	50,47	52,92	110,26	23,72	14,13	45,35	100,70	1,40	2,60	1,49	0,50	1,28	1,98
TR	20,24	18,64	14,43 <b>b</b>	6,77 <b>b</b>	14,29 <b>c</b>	34,20	44,25	126,98	21,91	10,14	31,61	78,00	1,70	3,76	1,68	0,57	1,45	2,66
	<b>2011</b>																	
L	49,69	14,44	19,49	11,97	23,88	59,77	82,92 <b>a</b>	73,25	19,49	14,99 <b>a</b>	64,40 <b>a</b>	108,07	3,13	1,83	2,01	0,96	2,64	3,05
CB	25,57	16,00	17,46	8,33	18,51	30,97	64,13 <b>b</b>	63,32	17,75	10,67 <b>b</b>	42,81 <b>b</b>	74,55	2,47	2,00	1,66	0,68	1,87	1,76
TR	28,02	15,78	19,61	10,56	20,09	35,15	71,12 <b>ab</b>	64,85	16,40	11,36 <b>b</b>	52,43 <b>ab</b>	79,03	2,92	2,04	1,61	0,77	1,99	2,43
	<b>2012</b>																	
L	23,12	20,92	17,50	9,10	21,54	21,34	69,59	98,08	23,56	12,58	43,61	77,45	2,16	2,31	1,31	0,65	1,83	2,44
CB	29,97	19,76	17,54	9,51	17,88	32,37	78,84	104,13	24,35	12,49	38,86	53,09	2,65	3,64	1,79	0,82	1,80	1,55
TR	22,94	21,17	16,13	7,89	18,01	29,02	61,50	96,64	20,26	12,54	33,66	57,12	1,91	2,39	1,11	0,60	1,43	1,26

<sup>a</sup> Mn: Manganeseo.

Para cada nutriente, en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

**Tabla IV.19.** Micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Na) analizados en los pámpanos, hojas y racimos ( $\text{g ha}^{-1}$ ) muestreados en cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante el invierno de cada uno de los años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	PÁMPANOS						HOJAS						RACIMOS				
	Hierro	Mn <sup>a</sup>	Zinc	Cobre	Boro	Sodio	Hierro	Mn	Zinc	Cobre	Boro	Sodio	Hierro	Mn	Zinc	Cobre	Boro
	<b>2009</b>																
L	21,19	19,09	35,71	15,26	20,25	37,70	81,71	77,21	23,57	14,96	68,93	99,45	42,79	13,67	12,65	17,25	78,4
CB	43,30	29,61	40,97	24,89	29,62	38,12	105,50	95,11	28,29	23,55	94,83	116,16	59,51	15,49	13,02	19,98	89,9
TR	67,98	24,24	22,67	18,74	20,23	26,93	85,38	94,87	22,61	19,30	64,86	97,05	42,45	15,31	10,72	14,59	62,4
	<b>2010</b>																
L	37,24	29,47	35,05	14,95	23,92	68,55	743,41	164,81	39,11	17,23	59,22	165,71	73,35 <sup>a</sup>	21,03	20,14	20,67	106,4
CB	27,65	28,52	23,32	12,88	19,74	57,86	89,27	130,43	28,11	15,98	54,01	147,51	44,38 <sup>b</sup>	13,33	13,25	13,28	78,10
TR	22,06	25,36	20,05	10,22	15,24	35,19	97,17	147,15	26,15	12,88	41,84	127,16	55,55 <sup>ab</sup>	18,86	12,19	15,05	76,8
	<b>2011</b>																
L	25,68	20,12	28,25	29,67	15,39	57,90	107,60	96,47	36,89	273,22	56,23	110,64	39,85	11,55	11,31	40,54	76,6
CB	45,77	25,18	27,95	35,79	13,73	61,96	113,33	99,76	36,59	290,59	58,78	116,69	33,10	12,90	11,16	31,72	61,7
TR	33,77	33,85	27,51	40,41	17,89	57,92	98,44	116,49	29,58	245,71	43,69	104,90	63,20	16,46	13,76	39,04	91,0
	<b>2012</b>																
L	23,41	30,98	36,74	11,81	24,69	65,92	122,61	178,00	36,97	13,97	81,17	92,64	67,38	20,04	16,82	18,52	125,3
CB	30,59	38,12	30,92	12,26	26,33	62,10	110,91	170,03	34,48	13,36	73,55	128,13	47,70	18,55	14,88	15,59	94,9
TR	37,31	56,11	39,75	17,86	41,70	80,88	145,02	227,46	46,40	15,02	93,00	113,89	50,88	16,61	12,90	13,73	84,1

<sup>a</sup> Mn: Manganeso.

Para cada nutriente, en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Como se ha comentado en el Apartado IV.6.2.4 los niveles de Cu obtenidos de los análisis no se pueden considerar representativos del efecto que pueda ejercer la cubierta vegetal sobre la vid, ya que la concentración de este nutriente en la planta está muy influenciada por los tratamientos fitosanitarios aplicados al viñedo en determinados momentos del ciclo, especialmente en los propicios para lucha contra el mildiu. En el referido apartado, se destacó que los tratamientos fitosanitarios aplicados en el viñedo afectaron a los muestreos de los años 2009 y 2011 en enero y, sin embargo, en los otros dos años de estudio, incluso los valores analizados en los tejidos de las hojas fueron menores que los que marcaron como referencia García-Escudero *et al.* (2013) para cv. Tempranillo (Anexo III, Tabla 2). No obstante, en el caso del efecto de las cubiertas vegetales sobre los niveles de Cu en las exportaciones, únicamente se observaron diferencias entre tratamientos en floración. En el año 2010, los pámpanos del tratamiento CB presentaron mayor contenido de este nutriente que los de los tratamientos TR y L, mientras que en el año 2011 fueron las hojas del tratamiento L las que presentaron mayor contenido de Cu que las de las cubiertas vegetales (Tabla IV.18). Por el contrario, y a pesar de las aplicaciones de productos fitosanitarios realizadas en 2009 y en 2011, en el enero no se apreciaron diferencias significativas de Cu en ninguno de los órganos muestreados (Tabla IV.19).

La consecuencia de la implantación de las cubiertas vegetales con respecto al nivel de B presente en las exportaciones de la vid, se apreció de manera significativa únicamente en floración. En 2010, los pámpanos del tratamiento CB tuvieron el mayor nivel de B, seguido de los del tratamiento L, presentando el tratamiento TR el nivel más bajo. En 2011, las diferencias significativas observadas mostraron valor de B en las hojas del tratamiento CB menor que las del testigo (Tabla IV.18). En el enero, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguno de los órganos estudiados (Tabla IV.19). Por otro lado, el B es un nutriente necesario para la síntesis de auxinas, por lo que un déficit en las cepas podría provocar crecimiento pobre de pámpanos, así como cuajados deficientes (Gärtel, 1996), síntomas que no se observaron en las plantas de nuestro estudio.

Finalmente para el Na, no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos en ninguno de los órganos analizados, ni en floración (Tabla IV.18) ni en enero (Tabla IV.19).

Probablemente, el escaso número de muestras recogidas por repetición en campo pudo ser un motivo por el cual esta determinación de las exportaciones de la vid mostró tal variabilidad de datos dificultando su discusión, teniendo en cuenta además que los pámpanos son órganos de conducción, y las hojas y racimos sumideros de nutrientes. Sin embargo, las diferencias observadas entre tratamientos confirman la influencia que, en mayor o menor medida, ejercieron las cubiertas vegetales en las cepas como consecuencia de la competencia por los recursos del suelo.

## **IV.8. INFLUENCIA DE LAS CUBIERTAS VEGETALES SOBRE EL RENDIMIENTO Y VIGOR DE LAS CEPAS**

### **IV.8.1. INCIDENCIA EN LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS**

En la Tabla IV.20, se muestran los resultados productivos (número de racimos por cepa, peso medio de los racimos y producción) estimados para cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo, CB: cebada, y TR: trébol) durante los cuatro años de ensayo (2009-2012).

Los parámetros de producción estudiados no se vieron afectados por la implantación de las cubiertas vegetales en el viñedo. En el último año de ensayo, se observó cierta tendencia a disminuir el número y peso de los racimos por cepa, así como su producción, con el tratamiento CB respecto al tratamiento L. Por el contrario, con la cubierta de trébol se apreció una tendencia al aumento de esos parámetros respecto al testigo (L). Sin embargo, ni la reducción del N disponible en el suelo en el tratamiento CB, ni su incremento bajo las condiciones de la cubierta de trébol fueron suficientes para que las diferencias observadas entre tratamientos resultaran significativas (Tabla IV.20). El hecho de que inicialmente no se observara el efecto de las cubiertas vegetales en estos parámetros, pudo estar relacionado con que el número de racimos desarrollados un año depende del número de yemas formadas durante el ciclo anterior (Ripoche *et al.* 2011), condicionando la producción al año siguiente, por lo que la influencia que en este sentido pudiera provocar la presencia de las cubiertas vegetales en el viñedo, se apreciará en las cepas a medio plazo. Una reducción en la producción, dentro de unos límites de equilibrio para la cepa, provocada por las cubiertas no leguminosas podría ser interesante, ya que generalmente suele ir ligada a una mejora en la calidad de la uva.

**Tabla IV.20.** Parámetros productivos (número de racimos vendimiados por cepa, peso medio del racimo y producción de uva por cepa) obtenidos para las cepas de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) en los cuatro años estudiados (2009-2012).

Tratamientos	PARÁMETROS PRODUCTIVOS		
	Número de racimos vendimiados (racimos cepa <sup>-1</sup> )	Peso medio por racimo (kg racimo <sup>-1</sup> )	Producción (kg uva cepa <sup>-1</sup> )
	<b>2009</b>		
L	13	0,35	4,88
CB	15	0,36	5,52
TR	14	0,37	5,49
	<b>2010</b>		
L	16	0,36	5,91
CB	16	0,35	5,73
TR	16	0,37	6,22
	<b>2011</b>		
L	15	0,33	5,12
CB	16	0,30	5,07
TR	14	0,30	4,20
	<b>2012</b>		
L	15	0,33	5,20
CB	13	0,31	4,20
TR	15	0,37	5,73

La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD).

Coincidiendo con nuestros resultados, Ripoché *et al.* (2011) observaron en un viñedo cercano a Montpellier, que la influencia en los parámetros productivos de las cepas con la presencia de una cubierta permanente de festuca (*F. arundinacea* Schreb.) fue baja respecto al tratamiento de laboreo. Wheeler *et al.* (2005) en Nueva Zelanda y Monteiro y Lopes (2007) y Lopes *et al.* (2008) en Portugal, no apreciaron reducción de la producción en viñedos de cv. Cabernet Sauvignon con cubiertas vegetales de achicoria (*Cichorium intybus* L.), cubierta permanente mixta con 60 % de gramíneas tipo césped y 40 % de especies leguminosas y cubierta espontánea, respectivamente. Asimismo, Steenwerth *et al.* (2013) en California, tampoco observaron una reducción del rendimiento con la utilización de una cubierta vegetal espontánea, una cubierta

vegetal con avena (*A. sativa* L.) y un tratamiento de laboreo usado en su ensayo como testigo, a pesar de que sí comprobaron que hubo un menor peso del racimo con las cubiertas vegetales al tercer año de ensayo. Sin embargo, Tesic *et al.* (2007) observaron, a partir del tercer año de ensayo, en dos parcelas australianas de cv. Chardonnay, reducciones del rendimiento con el uso de la cubierta vegetal espontánea respecto al laboreo. Esta reducción resultó más acusada en la parcela con condiciones climáticas semiáridas que en la de clima húmedo, hecho que justificaron por una inadecuada iniciación floral del racimo, resultado del estrés hídrico sufrido en las condiciones de secano en floración y cuajado. También Tan y Crabtree (1990), Wolpert *et al.* (1993), Ripoché *et al.* (2011), Lopes *et al.* (2011) y Ruiz-Colmenero *et al.* (2011) encontraron una disminución de la producción en viñedos con cubiertas vegetales no leguminosas utilizadas en sus ensayos frente al laboreo. Por su parte, Hatch *et al.* (2011) y Zabadal y Dittmer (2001) detectaron esa reducción en viñedos en los que tanto la calle como la fila tenían implantada cubierta vegetal. Algunos de estos investigadores atribuyen esta reducción de la producción a la competencia ejercida por las cubiertas tanto por el agua disponible en el suelo como por los nutrientes y que, por tanto, limitan la disponibilidad de estos recursos para las vides. Sin embargo, Ingels *et al.* (2005) propusieron que esa competencia con las vides puede ser reducida mediante riegos o implantando como cubiertas vegetales especies leguminosas. Por su parte, Baeza *et al.* (2007) afirmaron que el régimen hídrico disponible durante el ciclo productivo de la cepa no afecta a la fertilidad de las yemas, pero sí al tamaño de la baya y al número de racimos. Así, tanto las vides con riego de su ensayo como las no regadas presentaron un número de bayas por racimo y de racimos por pámpano similares.

Este amplio rango de situaciones encontrado en la bibliografía, confirma la necesidad de realizar ensayos con cubiertas vegetales para cada área vitícola, con las condiciones climáticas propias de cada zona a las que, además, se adapte la especie elegida como cubierta. Ya que, como se ha ido mostrando a lo largo de esta memoria, son muchos los factores (competencia por la disponibilidad de agua, de nutrientes del suelo, clima, sensibilidad de variedades vitícolas, adaptación de especies de cubiertas vegetales, momento y forma de ser sembradas en la parcela, ...) que intervienen y condicionan que el uso de las cubiertas vegetales como sistema de manejo del viñedo pueda provocar un determinado efecto u otro en las cepas.

## IV.8.2. INCIDENCIA EN LOS PARÁMETROS VEGETATIVOS

La Tabla IV.21 recoge los datos relativos a los parámetros vegetativos (número de pulgares y de sarmientos por cepa, peso de madera de poda, peso medio del pámpano e índice de Ravaz) de las cepas de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, y TR: trébol), obtenidos durante los cuatro años de ensayo (2009-2012).

### IV.8.2.1. Número de pulgares y de sarmientos por cepa

Como se ha comentado en el Capítulo III. Material y Métodos, estos parámetros se definen en el momento de la poda de la campaña anterior y están limitados por el Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja. Por tanto, como la parcela cumple con la normativa del Consejo Regulador, la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos no resulta *a priori* casual.

### IV.8.2.2. Peso medio del pámpano y peso de madera de poda

A partir del tercer año de ensayo, tanto el peso medio del pámpano como el peso de madera de poda (P.M.P.) presentaron valores menores con el tratamiento CB que con los otros dos tratamientos (Tabla IV.21). También Ripoche *et al.* (2011) observaron un efecto retardado, en este caso hasta el segundo año de tener implantada la cubierta, en la reducción del vigor en un viñedo cercano a Montpellier con una cubierta permanente de una gramínea respecto al laboreo. La diferencia en la reducción del vigor entre el mencionado estudio de Ripoche *et al.* (2011) respecto al nuestro, donde el efecto provocado por las cubiertas sobre el vigor se observó al tercer año, podría ser debido al mayor vigor que presentó nuestro viñedo (1,58 kg de madera podada planta<sup>-1</sup> para nuestro testigo, frente a los 0,36 kg de masa podada planta<sup>-1</sup> del estudio de Ripoche *et al.* (2011)). Por otro lado, esta reducción de vigor observada al tercer año de tener implantada la cubierta de cebada en el viñedo, podría estar relacionada con el efecto observado, a medio plazo, para los parámetros productivos (Apartado IV.8.1).

**Tabla IV.21.** Parámetros de crecimiento vegetativo (número de pulgares y sarmientos por cepa, peso medio del pámpano, peso de madera de poda, e índice de Ravaz) de las cepas de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) durante los cuatro años estudiados (2009-2012).

CRECIMIENTO VEGETATIVO					
Tratamientos	Número de pulgares cepa <sup>-1</sup>	Número de sarmientos cepa <sup>-1</sup>	Peso medio del pámpano (g)	P.M.P. <sup>a</sup> (kg madera cepa <sup>-1</sup> )	Índice de Ravaz
<b>2009</b>					
L	6	10	117,00	1,20	4,16 <b>b</b>
CB	6	11	84,76	0,93	5,95 <b>a</b>
TR	6	11	122,67	1,36	4,09 <b>b</b>
<b>2010</b>					
L	6	12	132,07	1,54	3,86
CB	6	11	113,36	1,27	4,64
TR	6	12	106,48	1,26	4,99
<b>2011</b>					
L	6	11	139,86 <b>a</b>	1,58 <b>a</b>	3,24 <b>b</b>
CB	6	11	88,07 <b>b</b>	1,02 <b>b</b>	5,11 <b>a</b>
TR	6	11	119,31 <b>a</b>	1,29 <b>a</b>	3,26 <b>b</b>
<b>2012</b>					
L	5	10	128,51 <b>a</b>	1,32 <b>a</b>	3,89 <b>b</b>
CB	6	10	98,14 <b>b</b>	1,00 <b>b</b>	5,04 <b>a</b>
TR	6	10	133,90 <b>a</b>	1,35 <b>a</b>	3,14 <b>b</b>

<sup>a</sup> P.M.P.: peso de madera de poda.

Para cada parámetro en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

La reducción del peso de madera de poda observada en el tratamiento CB podría ser beneficiosa para el viñedo, así como para la composición de la baya, especialmente en viñedos de gran vigor, como el estudiado. En este sentido, las reducciones de vigor provocan un mejor equilibrio entre el crecimiento productivo y el vegetativo, y permiten obtener una pared vegetal en la espaldera más porosa, por lo que los racimos se benefician de un mejor microclima, favoreciendo la entrada de aire y de la radiación solar, por lo que la incidencia de determinadas plagas y/o enfermedades en las bayas podría verse reducida (Dokoozlian y Kliewer, 1996a). Por otra parte, Santamaría *et al.* (1997) relacionaron el peso de madera de poda directamente con la disponibilidad de agua del suelo, por lo que las cepas con mayor disponibilidad de agua presentarán

mayor peso de madera de poda. Winkler *et al.* (1984) y Matthews *et al.* (1987) precisaron que, la disminución del peso de la madera de poda se dará únicamente en aquellos tratamientos que presenten menor disponibilidad de agua durante la fase de mayor crecimiento de la vid.

Coincidiendo con nuestros resultados para el tratamiento CB, en distintas áreas vitícolas se han encontrado reducciones de vigor en viñedos con cubiertas vegetales respecto al laboreo. Este fue el caso de los trabajos de Dorigoni *et al.* (1991) con cv. Merlot en la región italiana del Trentino, Celette *et al.* (2005) con la utilización de una gramínea (*F. arundinacea* Schreb.) y el mencionado estudio de Ripoche *et al.* (2011) en viñedos franceses, Wheeler *et al.* (2005) en Nueva Zelanda con un tratamiento de achicoria (*C. intybus* L.), Tesic *et al.* (2007) en dos parcelas australianas de cv. Chardonnay con cubierta vegetal espontánea e Ingels *et al.* (2005) con reducciones de hasta un 40 % del peso del pámpano en un viñedo californiano de cv. Merlot con regadío y cubierta vegetal de césped autóctono, comparándolo con el peso de madera obtenido en el laboreo. El estudio de Steenwerth *et al.* (2013) realizado en California, mostró en las cepas de los tratamientos con cubiertas vegetales de avena (*A. sativa* L.) y diversas leguminosas un 15 % menos de peso de pámpano frente a las del tratamiento testigo. De la misma manera, en Portugal, Lopes *et al.* (2008, 2011) obtuvieron reducción del peso de madera de poda en las cepas de la variedad Cabernet Sauvignon con el tratamiento de cubierta vegetal espontánea respecto al laboreo. Asimismo, Lombard *et al.* (1988) describieron el uso de cubiertas vegetales tipo césped como herramienta para reducir el vigor de las cepas. Sin embargo, al igual que ocurrió en nuestro ensayo con el tratamiento TR respecto al laboreo, la reducción del vigor en las cepas con tratamiento de cubiertas vegetales frente a las del laboreo tampoco fue observada por otros autores. Tal fue el caso de los estudios realizados en California por Ingles *et al.* (2005), con una cubierta de diversos tréboles mezclados y de Smith *et al.* (2008), a pesar de que estos últimos autores encontraron que hubo reducción del peso de los pámpanos con la cubierta de triticale respecto al laboreo, lo que relacionaron con la competencia por el agua ejercida por la cubierta vegetal. Tampoco Sweet y Schreiner (2010), en un estudio con seis cubiertas vegetales de especies diversas desarrollado en Oregón, ni Bahar y Yasasin (2010) en una parcela de cv. Cabernet Sauvignon con cubierta vegetal espontánea en Turquía, observaron diferencias significativas en el crecimiento vegetativo de las cepas entre los tratamientos de cubiertas y el testigo.

#### IV.8.2.3. Índice de Ravaz

El índice de Ravaz (I.R.), que relaciona la producción obtenida por cepa y el peso de madera de poda, varió entre un rango de 3,14 y 5,95 (Tabla IV.21). En los años 2009, 2011 y 2012, el I.R. fue mayor en el caso del tratamiento CB que en los tratamientos L y TR. El mayor índice de Ravaz con el tratamiento CB se produjo como consecuencia de la reducción del crecimiento y del rendimiento que, aunque en el caso de este último parámetro no resultó significativo, pudo apreciarse a lo largo de los cuatro años de ensayo. Debido a los cambios observados, principalmente a partir de la tercera campaña, en las cepas del tratamiento CB, el índice de Ravaz se encontró dentro del rango “óptimo” (entre 4 y 7) propuesto por García-Escudero *et al.* (2006) para cepas de cv. Tempranillo en las condiciones climáticas de la D.O.Ca. Rioja. Sin embargo, con los tratamientos L y TR este índice presentó valores menores a 4, lo cual indica exceso de vigor en las cepas respecto a su rendimiento. Un exceso de vigor en la vid puede reducir la acumulación de azúcares y compuestos fenólicos en las bayas, producto de la competencia por asimilados entre el crecimiento vegetativo y la maduración del racimo. En este contexto, la maduración del racimo se retarda, lo que conlleva problemas en la madurez de las bayas, en los aromas y en otros compuestos susceptibles de pasar al vino. Además, el ambiente sombrío que puede provocar el exceso de vigor en la zona del racimo, hace que se creen unas condiciones más propicias para el desarrollo de enfermedades debido a las condiciones de humedad más elevadas y a una menor aireación de los racimos (Dokoozlian y Kliewer, 1996a). Por estas razones es importante controlar el desarrollo vegetativo de la vid, siendo el uso de cubiertas vegetales, de distinta índole pero en especial las no leguminosas, una de las técnicas propuestas y utilizadas en muchas partes del mundo vitivinícola para lograr un desarrollo equilibrado de las cepas.

Por otro lado, son escasas las referencias bibliográficas que incluyen la determinación del I.R. en los estudios con cubiertas vegetales, por lo que no se pueden comparar los resultados obtenidos con otros tratamientos de cubiertas vegetales en condiciones distintas a las nuestras.

## **IV.9. EFECTO DE LAS CUBIERTAS VEGETALES EN LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL MOSTO Y DEL VINO**

### **IV.9.1. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS MOSTOS**

En este apartado, se discuten los resultados analíticos de los parámetros físico-químicos generales (Tabla IV.22) y de color (Tabla IV.23) determinados en los mostos procedentes de las uvas de los distintos tratamientos (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol), estudiados durante las cuatro campañas, 2009-2012. Además, en la Tabla IV.24 se muestran las concentraciones de 20 aminoácidos analizados en esos mismos mostos, y en las Figuras IV.8 y IV.9 se representan los perfiles aminoacídicos de los mostos.

#### **IV.9.1.1. Parámetros físico-químicos generales**

Respecto a los parámetros generales (peso de 100 bayas, grado alcohólico probable, pH, acidez total, ácido tartárico, ácido málico y potasio), las cubiertas vegetales sólo mostraron diferencias significativas en el año 2010 en el peso de 100 bayas, campaña en la que las uvas procedentes de las cepas con el tratamiento CB presentaron un mayor peso de la baya que las de los otros dos tratamientos (Tabla IV.22).

**Tabla IV.22.** Parámetros físico-químicos en los mostos obtenidos de las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).

Tratamientos	MOSTOS						
	Peso de 100 bayas (g)	Grado alcohólico probable (% v v <sup>-1</sup> )	pH	Acidez total <sup>a</sup> (g l <sup>-1</sup> )	Ácido tartárico (g l <sup>-1</sup> )	Ácido málico (g l <sup>-1</sup> )	Potasio (mg l <sup>-1</sup> )
	<b>2009</b>						
L	289,93	11,7	3,41	5,84	5,55	2,97	1757
CB	288,67	11,6	3,39	5,44	5,37	2,57	1667
TR	269,63	12,1	3,39	5,67	5,45	2,69	1655
	<b>2010</b>						
L	250,33 <b>b</b>	12,3	3,48	5,95	5,04	3,03	1634
CB	278,73 <b>a</b>	12,4	3,45	5,69	4,79	2,85	1564
TR	245,80 <b>b</b>	12,0	3,41	5,81	4,91	2,82	1464
	<b>2011</b>						
L	292,20	12,0	3,34	5,41	5,07	2,41	1921
CB	289,07	12,0	3,27	5,07	5,15	1,91	1718
TR	269,13	12,0	3,30	5,27	5,20	2,15	1736
	<b>2012</b>						
L	297,27	11,6	3,44	5,73	4,94	2,69	1752
CB	293,68	12,0	3,43	5,60	4,91	2,64	1683
TR	280,35	11,4	3,40	6,12	5,09	3,12	1652

<sup>a</sup> Acidez total expresada como g l<sup>-1</sup> de ácido tartárico.

Para cada parámetro en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

La ausencia de diferencias observada entre tratamientos en estos parámetros podría estar ligada al bajo efecto que provocaron las cubiertas sobre el vigor de la vid (Apartado IV.8.2.2). Sin embargo, a largo plazo, el efecto ocasionado por las cubiertas vegetales sobre el vigor podría acentuarse y, por tanto, afectar a la exposición de los racimos a la luz solar influyendo en parámetros como el grado alcohólico, la acidez total y el ácido málico en los mostos. Aguirrezábal *et al.* (2012) mostraron, en un estudio con cubiertas vegetales en Navarra, que una mayor exposición de los racimos al sol, además de ser beneficiosa para reducir la afección que pudieran provocar hongos como la botrytis o el mildiu en las bayas, debido a la mejor aireación de los racimos, favorecería un grado alcohólico probable mayor y acidez total y ácido málico menores en los

mostos (tendencia observada a partir del tercer año en los mostos del tratamiento CB) y una mejora de los parámetros de color. De esta manera, a pesar de la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos, se observaron ciertas tendencias que coincidieron con los resultados planteados por otros autores. Así, el grado alcohólico probable más alto, aunque no de manera significativa, se observó con el tratamiento CB en los años 2010 y 2012, lo que coincidió con los resultados obtenidos en cubiertas vegetales por Morlat y Bodin (2006), Celette (2007) y Ripoche *et al.* (2011). Estos autores evidenciaron que rendimientos productivos mayores van unidos a contenidos de azúcares en la baya menores, ya que la producción muestra dependencia de las condiciones de la campaña anterior así como de las de la campaña en curso (Ripoche *et al.*, 2011). Apoyando estos resultados, Tesic *et al.* (2007) encontraron en una parcela australiana de cv. Chardonnay con cubierta vegetal espontánea, correlaciones negativas ( $r = - 0,69$ ) entre los sólidos solubles totales y el rendimiento. De este modo, estos autores relacionaron el incremento de sólidos solubles observado con el tratamiento de cubiertas vegetales, con los cambios producidos en el rendimiento y en el tamaño de las bayas por el efecto de la reducción de la humedad del suelo ejercido por las cubiertas. Esta disminución de humedad del suelo, como consecuencia de la competencia de las cubiertas, favorece paredes vegetativas más porosas, es decir, con menor vegetación, reduciendo por tanto los rendimientos y beneficiando la maduración del fruto. En este aspecto, el manejo del suelo mediante cubiertas vegetales podría asemejarse al efecto provocado mediante regímenes de déficit hídrico moderado. Esta técnica es utilizada en muchas zonas vitivinícolas del mundo con el objetivo de controlar el crecimiento vegetativo y modificar la distribución de asimilados entre órganos vegetativos y reproductivos, favoreciendo el desarrollo de la baya (Koundouras *et al.*, 1999). De esta manera, se consigue reducir la cantidad total de azúcares y el tamaño de la baya, obteniendo mayor concentración de azúcares por baya (Salón *et al.*, 2005), dando así vinos con grado alcohólico mayor, puesto que los sólidos solubles se concentran más en bayas pequeñas y, con mayor acidez y pH menor (Carvajal, 2003).

La ausencia de diferencias significativas mostrada entre los tratamientos con respecto a la acidez total y al pH de los mostos (Tabla IV.22), también la observaron Ingels *et al.* (2005) y Sweet y Schreiner (2010) en sus ensayos de cv. Merlot en California y Pinot noir en Oregón, respectivamente, con tratamientos de cubiertas vegetales de diversas especies. Sin embargo, con las cubiertas vegetales permanentes de

los ensayos de Carsouille (1995) en Burdeos y de Lopes *et al.* (2008) en Portugal, así como con la de achicoria del ensayo de Wheeler *et al.* (2005) sobre un viñedo de cv. Cabernet Sauvignon en Nueva Zelanda se observó una disminución del pH y la acidez total. Por su parte, Smith *et al.* (2008) encontraron, únicamente, descenso de la acidez total en los mostos de cv. Chardonnay del tratamiento de triticale respecto al laboreo, sin que el pH se viera afectado. Sin embargo, Mayse *et al.* (1995), que compararon en su estudio el efecto de los tratamientos con una cubierta vegetal constituida por leguminosas y otra de gramíneas con el laboreo, encontraron acidez total mayor con las leguminosas respecto a los otros dos tratamientos, coincidiendo con la tendencia reflejada en nuestro ensayo respecto a valores de pH más altos en el laboreo que con las cubiertas (Tabla IV.22). Lopes *et al.* (2008) explicaron la reducción de la acidez total en los mostos cuyos viñedos tuvieron cubiertas vegetales, por el impacto indirecto provocado por las cubiertas vegetales sobre el estrés hídrico durante el crecimiento vegetativo de la vid, el cual podría implicar una mejora en el microclima de los racimos que favoreciese una mayor combustión del ácido málico en las bayas (Champagnol, 1994). Sin embargo, en nuestras condiciones, el menor crecimiento vegetativo observado con el tratamiento CB en la tercera y cuarta campaña (Tabla IV.21), podría ser insuficiente para conseguir la mejora del microclima del racimo que llegase a provocar, en un corto plazo de tiempo, una disminución significativa de la acidez total de los mostos.

Aunque bajo ambos tipos de cubiertas vegetales el potasio analizado en los mostos presentó valores menores respecto al tratamiento L, ese descenso tampoco fue significativo (Tabla IV.22). Este hecho estaría relacionado con el alto nivel de  $K^+$  intercambiable presente en el suelo (Apartado IV.4.2) que permitió que la disponibilidad de este nutriente no se viera reducida por el efecto de las cubiertas vegetales. Así, se podría explicar la baja influencia provocada por la competencia de las cubiertas sobre el estado nutricional de las cepas (Apartado IV.6.1.3) y que posteriormente se reflejó en los mostos.

#### **IV.9.1.2. Parámetros de color**

Los parámetros de color (índice de polifenoles totales (I.P.T.), intensidad de color (I.C.), tonalidad y antocianos) mostraron algunas diferencias significativas entre

los tratamientos (Tabla IV.23). Esta observación podría estar relacionado con el hecho de que, por lo general, la síntesis de compuestos fenólicos está sometida a una mayor variación que la que experimentan otros compuestos de la uva, ya que tanto las condiciones edafoclimáticas como las de cultivo de cada año influyen, y son decisivas en su formación. Por otro lado, los valores de la intensidad de color y de la tonalidad dependen del contenido de compuestos fenólicos de la uva que pasan al mosto, principalmente antocianos y taninos (Mateus *et al.*, 2002).

En relación al efecto provocado por los tratamientos de cubiertas vegetales sobre el índice de polifenoles totales en uvas e intensidad de color del mosto, únicamente en la campaña 2012 se apreciaron diferencias significativas, siendo mayores los valores con el tratamiento CB que con los otros dos tratamientos (Tabla IV.23). Estos resultados obtenidos en los mostos del tratamiento CB coincidieron con la reducción del estado nutricional de N en la vid provocado por dicha cubierta (Apartado IV.6.1.1) y, con las relaciones entre N y contenido de polifenoles encontrados en mosto por otros autores. Así, Keller (2010) observó que la deficiencia de N estimula la síntesis de los metabolitos secundarios tales como los polifenoles. Delgado *et al.* (2004) encontraron que el aporte de fertilizantes nitrogenados en el viñedo disminuía la acumulación de compuestos fenólicos en el hollejo de uvas de la variedad Tempranillo. Además, en viñedos con distintos tipos de suelos de la región francesa de Burdeos, Choné *et al.* (2001) y Tregoat *et al.* (2002) también observaron que un bajo estado N-nutricional del viñedo inducía un alto contenido de polifenoles en las uvas de las variedades Cabernet Sauvignon y Merlot, respectivamente. Asimismo, Pérez-Álvarez *et al.* (2013a,b) encontraron correlaciones positivas entre el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disponible en el suelo y el N presente en los tejidos foliares en floración y negativas entre el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disponible en el suelo y el contenido de I.P.T. de las bayas de un viñedo de cv. Tempranillo con laboreo tradicional. Por su parte, la tonalidad en el mosto del año 2012 fue menor con los tratamientos de cubiertas que con el tratamiento testigo (Tabla IV.23).

**Tabla IV.23.** Parámetros de color de los mostos y de los extractos de uva procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).

Tratamientos	MOSTOS		EXTRACTO DE UVA	
	I.C. <sup>a</sup>	Tonalidad	I.P.T. <sup>b</sup>	Antocianos (mg g uva <sup>-1</sup> )
<b>2009</b>				
L	2,79	0,46	14,19	0,88 <b>b</b>
CB	2,80	0,46	15,26	1,07 <b>a</b>
TR	2,98	0,45	14,38	1,01 <b>a</b>
<b>2010</b>				
L	2,99	0,47	12,83	1,23 <b>b</b>
CB	3,28	0,48	14,80	1,20 <b>b</b>
TR	2,83	0,43	12,97	1,46 <b>a</b>
<b>2011</b>				
L	2,97	0,56	13,84	0,97 <b>c</b>
CB	3,20	0,59	15,41	1,01 <b>b</b>
TR	3,33	0,57	13,65	1,17 <b>a</b>
<b>2012</b>				
L	2,36 <b>b</b>	0,52 <b>a</b>	12,66 <b>b</b>	1,00
CB	2,66 <b>a</b>	0,46 <b>b</b>	15,17 <b>a</b>	1,13
TR	2,34 <b>b</b>	0,45 <b>b</b>	11,82 <b>b</b>	1,05

<sup>a</sup> I.C.: intensidad de color, <sup>b</sup> I.P.T.: índice de polifenoles totales absorbancia a 280 nm,

Para cada parámetro en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

La concentración de antocianos en la uva, en general, fue mayor en los tratamientos con cubiertas vegetales que en el laboreo, con la excepción del tratamiento CB en 2010. En 2012 no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla IV.23). También Hilbert *et al.* (1999), en su estudio realizado sobre un viñedo de cv. Merlot durante dos años con una gramínea (*Festuca arundinacea* Schreb.) como cubierta vegetal y un tratamiento testigo en el que controlaban químicamente las hierbas de la calle, evidenciaron una mayor acumulación de antocianos en las uvas del tratamiento con cubierta, relacionándolo con la reducción del vigor que provocaron sobre el viñedo. Por su parte, Matthews *et al.* (1990) y Nadal y Arola (1995) mostraron

que aplicando déficit hídricos de un 70 % de las necesidades de riego que presentaba la vid entre envero y vendimia, se incrementaba la producción de antocianos, implicando mejora del color en variedades tintas.

Por otro lado, Monteiro y Lopes (2007) explicaron el incremento de compuestos fenólicos en viñedos bajo cubiertas vegetales respecto a viñedos con tratamientos testigo, como un efecto indirecto consecuencia del estrés hídrico causado por las cubiertas durante el crecimiento vegetativo de la vid. Como el crecimiento vegetativo se ve reducido, la competencia entre el crecimiento vegetativo y el reproductivo es menor, y por tanto la menor densidad de cubierta foliar de la vid puede incrementar la exposición del racimo a la luz. De esta manera, modificando la relación superficie foliar/racimos, se consigue favorecer la maduración de las bayas, e incrementar la acumulación de compuestos fenólicos en la uva y, por tanto, mejorar el color y la concentración de antocianos en variedades tintas (Dokoozlian y Kliewer, 1996a; Keller y Hrazdina, 1998; Rodríguez-Lovelle *et al.*, 2000; Spayd *et al.*, 2002). Sin embargo, en nuestras condiciones experimentales, debido a las propias necesidades hídricas del trébol y al hecho de que esta especie se agostó en las cuatro campañas aproximadamente un mes más tarde que la cebada, la competencia por el agua del suelo fue mayor bajo la cubierta de trébol que bajo la de cebada (Apartado IV.2). Por tanto, si la competencia hídrica provocada por las cubiertas vegetales fuera la principal causa del incremento del contenido en polifenoles encontrado con el tratamiento CB en el cuarto año de ensayo, este efecto se tendría que haber encontrado, de la misma manera o incluso con mayor intensidad con el tratamiento TR y, no obstante, este efecto no se observó. Así, el incremento de I.P.T. coincidió con la reducción del estado nutricional de N en la vid con el tratamiento CB, respecto a los otros dos tratamientos, debido a la baja disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  bajo la cubierta de cebada (Apartado IV.3.3). Por lo tanto, en nuestras condiciones, se podría decir que, probablemente, el incremento de polifenoles observado en el mosto del tratamiento CB se debió principalmente a la baja disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo provocado por la competencia de la cebada que redujo el estado N-nutricional de la vid tras tres años bajo la influencia de esta cubierta.

#### IV.9.1.3. Nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.), amonio y aminoácidos libres

Los niveles de N fácilmente asimilable (N.F.A.) que presentan los mostos, suma del amonio y de los aminoácidos libres excepto la prolina, resultan fundamentales para su posterior fermentación alcohólica. Los valores de N.F.A. mostraron, de forma significativa a partir del tercer año de ensayo, el efecto provocado por los tratamientos utilizados para la gestión del suelo. Así, en la campaña 2011, las bayas del tratamiento CB presentaron valores de N.F.A. significativamente menores que las de los otros tratamientos, mientras que en el año 2012 se observó mayor concentración con el tratamiento TR respecto a los tratamientos L y CB (Tabla IV.24). Coincidiendo con estos resultados, van Huyssteen y Weber (1980b) encontraron en cepas de cv. Chenin blanc con cubierta vegetal perenne de especies no leguminosas, mostos con menor contenido en N que los procedentes de cepas gestionadas con laboreo, experimentando en los tres años de estudio paradas en la fermentación en los vinos del tratamiento con cubierta vegetal. En nuestro caso, únicamente en el año 2011 el valor de N.F.A. en los mostos procedentes del tratamiento CB ( $67,20 \text{ mg N l}^{-1}$ ) estuvo por debajo del rango propuesto por Bell y Henschke (2005) para asegurar la fermentación alcohólica ( $70\text{-}267 \text{ mg l}^{-1}$  de N.F.A.), aunque no se observaron paradas en la fermentación. Estos autores consideraron el valor de  $140 \text{ mg N l}^{-1}$  de N.F.A. como el umbral de concentración óptimo para que las levaduras completen la fermentación alcohólica sin problemas, valor que en nuestras uvas no se llegó a alcanzar, excepto en el año 2012 con el tratamiento TR. Así, en nuestras condiciones se podría considerar que debido a la fijación del N atmosférico que realiza la leguminosa, que facilita una mayor disponibilidad de N en el suelo y, por tanto, una mayor asimilación de N por parte de la cepa, como se ha comentado en esta memoria (Apartados IV.6.1.1 y IV.7.2), tras llevar cuatro años implantada la cubierta de trébol en el viñedo, podría ser una buena opción para mejorar las condiciones mínimas de viabilidad para las levaduras durante la fermentación alcohólica del mosto. Por su parte, la competencia que ejerce la cebada por el N disponible del suelo, podría afectar a medio plazo la composición nitrogenada de las uvas.

En relación a la influencia de los tratamientos sobre el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) presente en la uva, únicamente se observó menor concentración con el tratamiento CB respecto

al tratamiento TR en el año 2011, siendo, en las demás campañas de estudio, los niveles muy similares entre los tres tratamientos (Tabla IV.24). Hay que tener en cuenta que el  $\text{NH}_4^+$  es la principal fuente de N usada por las levaduras (Bell y Henschke, 2005) y que, concentraciones bajas podrían provocar un incremento de los alcoholes superiores en los vinos al verse forzadas las levaduras a usar los aminoácidos del medio como fuente de N (Usseglio-Tomasset, 1998). Los descensos observados en la tercera campaña para el  $\text{NH}_4^+$ , y a partir de esa campaña en el N.F.A. de los mostos procedentes de las cepas con el tratamiento CB en las calles, podrían estar relacionados con la competencia ejercida por esta cubierta vegetal por el N disponible del suelo, contrariamente al bajo efecto observado con el tratamiento TR debido a la fijación del N atmosférico que realiza la leguminosa.

Respecto al efecto provocado por la presencia de las cubiertas vegetales sobre los aminoácidos libres del mosto, en la primera vendimia tras la siembra de las cubiertas vegetales en el viñedo, las bayas de ambos tratamientos, especialmente del tratamiento CB, mostraron un contenido de aminoácidos libres menor respecto al laboreo. Sin embargo, las diferencias no fueron significativas (Tabla IV.24), excepto para el ácido aspártico (Asp) y la glicina (Gly). La concentración de Gly fue significativamente superior en las uvas del tratamiento L respecto a las del tratamiento CB y, por su parte, la concentración de Asp fue mayor en las cepas con el tratamiento CB que en las del tratamiento TR. En el año 2010, hubo efecto de los tratamientos en el contenido de aminoácidos en las uvas. Así, la concentración de Asp, histidina (His), citrulina (Cit), tirosina (Tyr), valina (Val), metionina (Met), triptófano (Trp), fenilalanina (Phe), leucina (Leu), aminoácidos totales y aminoácidos totales con prolina fue significativamente menor en las bayas de los tratamientos con las dos cubiertas que en las del laboreo. Además, las bayas del tratamiento CB presentaron menor concentración de asparagina (Asn) que las del tratamiento L, pero significativamente similar a la del trébol.

**Tabla IV.24.** Compuestos nitrogenados (N.F.A., amonio y aminoácidos expresados en mg N kg<sup>-1</sup> uva) determinados en las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).

(mg N kg uva <sup>-1</sup> )	2009			2010			2011			2012		
	L	CB	TR	L	CB	TR	L	CB	TR	L	CB	TR
N.F.A. <sup>a</sup>	84,34	71,71	82,04	95,00	78,49	74,09	69,73 <b>a</b>	47,77 <b>b</b>	77,07 <b>a</b>	88,39 <b>b</b>	80,94 <b>b</b>	105,67 <b>a</b>
Amonio	26,75	21,37	26,00	28,48	25,48	22,37	16,13 <b>ab</b>	7,50 <b>b</b>	20,79 <b>a</b>	33,50	33,01	30,22
Ácido Aspártico	0,70 <b>ab</b>	0,78 <b>a</b>	0,63 <b>b</b>	2,04 <b>a</b>	1,65 <b>b</b>	1,70 <b>b</b>	1,28 <b>a</b>	1,11 <b>b</b>	1,32 <b>a</b>	0,93	0,86	0,97
Ácido Glutámico	4,15	3,36	4,05	3,61 <b>a</b>	3,00 <b>c</b>	3,22 <b>b</b>	2,72 <b>a</b>	2,21 <b>b</b>	2,56 <b>ab</b>	3,84 <b>b</b>	4,57 <b>a</b>	4,66 <b>a</b>
Asparagina	1,16	0,87	1,06	1,11 <b>a</b>	0,69 <b>b</b>	0,84 <b>ab</b>	0,43 <b>ab</b>	0,31 <b>b</b>	0,44 <b>a</b>	0,53 <b>b</b>	0,42 <b>b</b>	0,82 <b>a</b>
Serina	3,67	3,38	3,54	4,37 <b>a</b>	3,98 <b>ab</b>	3,69 <b>b</b>	2,29 <b>a</b>	1,82 <b>b</b>	2,36 <b>a</b>	0,46 <b>b</b>	0,46 <b>b</b>	0,59 <b>a</b>
Histidina	5,00	3,45	4,99	6,24 <b>a</b>	1,95 <b>b</b>	3,59 <b>b</b>	4,12 <b>ab</b>	2,24 <b>b</b>	4,29 <b>a</b>	2,14 <b>b</b>	1,77 <b>b</b>	3,27 <b>a</b>
Glicina	0,88 <b>a</b>	0,60 <b>b</b>	0,70 <b>ab</b>	0,68 <b>a</b>	0,52 <b>ab</b>	0,51 <b>b</b>	0,33 <b>a</b>	0,22 <b>b</b>	0,31 <b>ab</b>	0,20 <b>ab</b>	0,18 <b>b</b>	0,22 <b>a</b>
Treonina	2,86	2,79	2,8	3,49 <b>a</b>	3,06 <b>ab</b>	2,89 <b>b</b>	1,96 <b>a</b>	1,43 <b>b</b>	2,04 <b>a</b>	2,02 <b>b</b>	1,80 <b>b</b>	2,42 <b>a</b>
Citrulina	1,06	0,87	0,96	1,63 <b>a</b>	0,84 <b>b</b>	0,93 <b>b</b>	0,92 <b>ab</b>	0,61 <b>b</b>	0,98 <b>a</b>	1,64 <b>ab</b>	1,30 <b>b</b>	2,06 <b>a</b>
Arginina	26,41	22,78	25,26	25,97	21,92	20,92	26,65 <b>ab</b>	19,9 <b>b</b>	28,28 <b>a</b>	26,18 <b>b</b>	19,52 <b>b</b>	39,93 <b>a</b>
Alanina	5,11	4,67	4,89	5,26	4,99	4,67	6,64	5,60	6,91	7,85 <b>b</b>	7,56 <b>b</b>	9,81 <b>a</b>
Tirosina	0,41	0,39	0,41	0,49 <b>a</b>	0,33 <b>b</b>	0,32 <b>b</b>	0,42 <b>a</b>	0,28 <b>b</b>	0,46 <b>a</b>	0,51 <b>b</b>	0,49 <b>b</b>	0,75 <b>a</b>
Valina	1,65	1,87	1,72	3,26 <b>a</b>	2,38 <b>b</b>	2,21 <b>b</b>	1,03 <b>ab</b>	0,87 <b>b</b>	1,16 <b>a</b>	1,13	1,25	1,30
Metionina	0,33	0,30	0,34	0,60 <b>a</b>	0,42 <b>b</b>	0,36 <b>b</b>	0,30 <b>a</b>	0,18 <b>b</b>	0,31 <b>a</b>	0,54 <b>ab</b>	0,53 <b>b</b>	0,66 <b>a</b>
Triptófano	2,21	2,19	2,21	4,18 <b>a</b>	3,57 <b>b</b>	3,52 <b>b</b>	2,49 <b>a</b>	1,92 <b>b</b>	2,65 <b>a</b>	4,87	5,00	5,51
Fenilalanina	0,43	0,44	0,44	0,92 <b>a</b>	0,67 <b>b</b>	0,60 <b>b</b>	0,33 <b>ab</b>	0,28 <b>b</b>	0,37 <b>a</b>	0,38 <b>b</b>	0,37 <b>b</b>	0,49 <b>a</b>
Isoleucina	0,42	0,44	0,41	0,92 <b>a</b>	0,77 <b>ab</b>	0,66 <b>b</b>	0,41	0,38	0,49	0,47	0,53	0,52
Ornitina	0,19	0,15	0,18	0,17	0,10	0,09	0,18 <b>ab</b>	0,14 <b>b</b>	0,23 <b>a</b>	n.d. <sup>d</sup>	n.d.	n.d.
Leucina	0,71	0,66	0,69	1,41 <b>a</b>	0,99 <b>b</b>	0,87 <b>b</b>	0,83	0,61	0,87	1,09 <b>b</b>	1,10 <b>b</b>	1,32 <b>a</b>
Lisina	0,25	0,26	0,24	0,16	0,15	0,12	0,26 <b>a</b>	0,18 <b>b</b>	0,27 <b>a</b>	0,11 <b>b</b>	0,20 <b>a</b>	0,15 <b>ab</b>
AaT <sup>b</sup>	57,59	50,26	55,54	66,51 <b>a</b>	51,98 <b>b</b>	51,72 <b>b</b>	53,6	40,27	56,28	54,89 <b>b</b>	47,93 <b>b</b>	75,45 <b>a</b>
Prolina	32,09	28,76	30,78	40,47 <b>a</b>	24,86 <b>c</b>	31,43 <b>b</b>	23,36 <b>a</b>	18,14 <b>b</b>	23,01 <b>a</b>	27,95	26,99	28,27
AaTPro <sup>c</sup>	89,68	79,02	86,33	106,99 <b>a</b>	76,84 <b>b</b>	83,16 <b>b</b>	76,95 <b>a</b>	58,41 <b>b</b>	79,29 <b>a</b>	82,84 <b>b</b>	74,92 <b>b</b>	103,72 <b>a</b>

<sup>a</sup> N.F.A.: Nitrógeno fácilmente asimilable, <sup>b</sup> AaT: aminoácidos totales sin prolina, <sup>c</sup> AaTPro: aminoácidos totales con prolina, <sup>d</sup> n.d.: no detectado. Para cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas (p ≤ 0,05 usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Por otro lado, en esa segunda campaña de ensayo, las bayas del tratamiento TR presentaron menos serina (Ser), Gly, treonina (Thr) e isoleucina (Ile) que las del tratamiento L. Por su parte, la concentración de ácido glutámico (Glu) y de prolina (Pro) en las bayas del tratamiento CB fue aún menor que la del trébol y que la del laboreo, cuyas bayas presentaron mayor concentración de estos aminoácidos (Tabla IV.24). En la tercera campaña de ensayo (2011), las cepas del tratamiento CB presentaron menor concentración de Asp, Ser, Thr, Tyr, Met, Trp, lisina (Lys), Pro y aminoácidos totales con Pro en sus bayas que las de los otros dos tratamientos. Además, con la cubierta de cebada también disminuyó la concentración de Asn, His, Cit, arginina (Arg), Val, Phe y ornitina (Orn) respecto al tratamiento TR, aunque sin diferencias significativas sobre el tratamiento L. La concentración de Glu y Gly disminuyó también en las uvas con el tratamiento CB respecto a las del testigo. En el año 2012, fueron las bayas del tratamiento TR las que presentaron concentraciones de Asn, Ser, His, Thr, Arg, alanina (Ala), Tyr, Phe, Leu, aminoácidos totales y aminoácidos totales con Pro significativamente mayores respecto a los otros dos tratamientos. En el caso de Gly, Cit y Met, fue el tratamiento CB el que presentó menor contenido respecto al tratamiento TR. La concentración de Glu de las dos cubiertas vegetales fue mayor que la de las bayas del laboreo, así como también la concentración de Lys de las bayas del tratamiento CB fue mayor que la del testigo (Tabla IV.24).

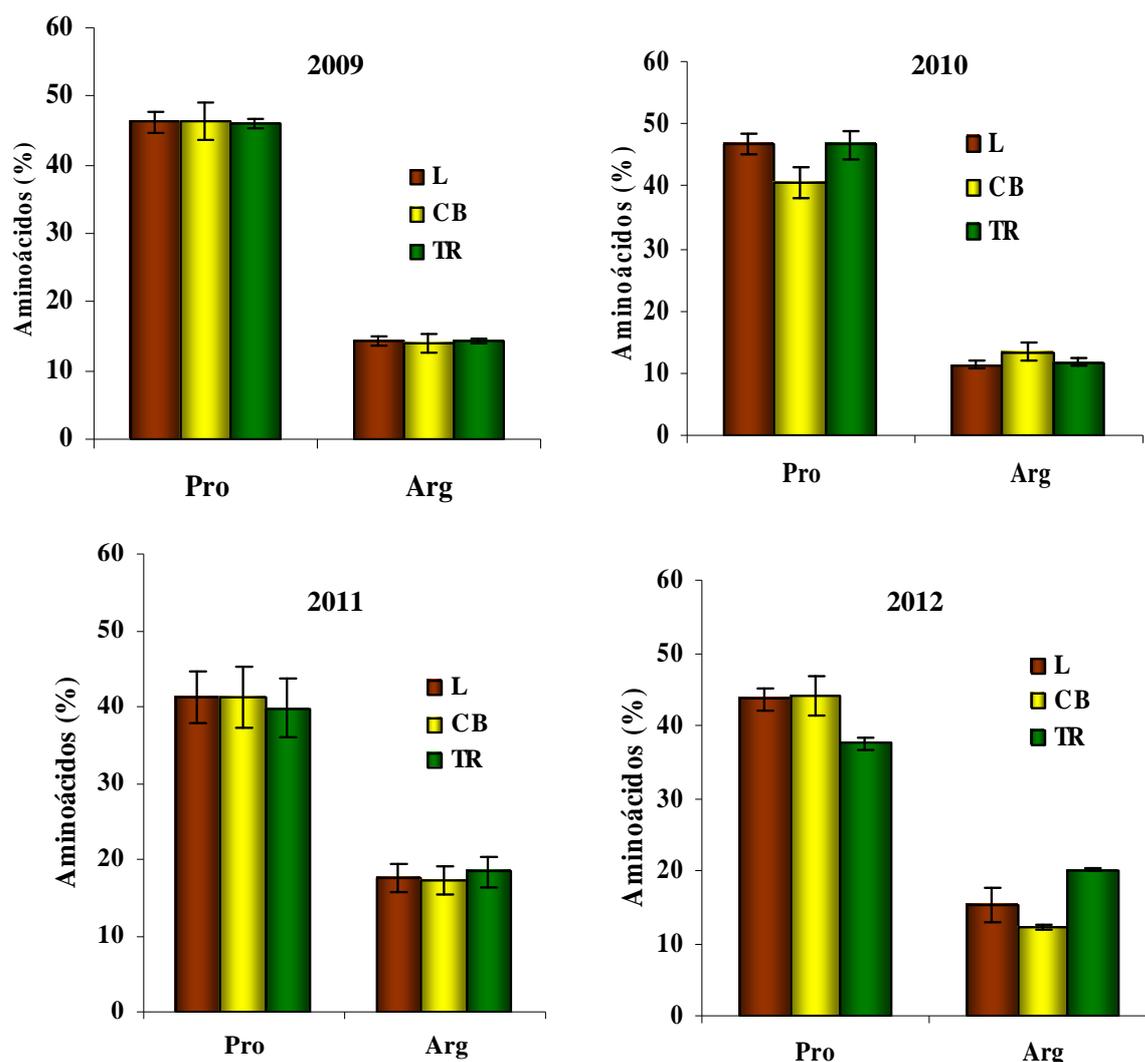
Para la ratio prolina/arginina, que numerosos estudios han mostrado que es un parámetro dependiente de la variedad (Huang y Ough, 1991; Bell y Henschke, 2005), las diferencias entre tratamientos se observaron en los años 2010 y 2012. En la campaña de 2010, las bayas del tratamiento CB (1,15) presentaron menor ratio respecto a los tratamientos L y TR (1,57 y 1,51 respectivamente), condicionada por la disminución de Pro observada con dicho tratamiento. Sin embargo, en el cuarto año, la relación Pro/Arg en las bayas del tratamiento CB (1,05) fue mayor que la del laboreo (0,81), y ambas a su vez mayores que la del tratamiento TR (0,54 mg N kg<sup>-1</sup> uva), debido al descenso de la Arg con el tratamiento CB y al aumento con el trébol (Tabla IV.24, Figura IV.8). Esa disminución de la ratio con la cubierta de trébol frente a la ratio con el laboreo en el año 2012, fue del mismo orden que la obtenida por Gouthu *et al.* (2012) en su ensayo de cv. Pinot noir en Oregón, con una gramínea perenne (*Festuca rubra* L.) utilizada como cubierta (0,65) frente a la del laboreo (1,31). Esta ratio da una idea del valor nutricional que aportan las bayas de una determinada variedad a las levaduras. Así, cuando es

superior a la unidad, Bell y Henschke (2005) propusieron clasificar la variedad en el grupo de las *acumuladoras de prolina*, como por ejemplo Chardonnay y Cabernet Sauvignon y, si es inferior a uno, la variedad la definieron como *acumuladora de arginina* como son Garnacha y Pinot noir. Según la ratio media obtenida para los tres tratamientos en los cuatro años de ensayo (1,08), se podría clasificar a la variedad Tempranillo en el grupo de las acumuladoras de prolina como también la caracterizaron López *et al.* (2011, 2012).

Por lo general, estudios realizados en distintas variedades por otros autores, como Maigre *et al.* (1995) en cv. Chasselas, van Huyssteen y Weber (1980b) en cv. Chenin blanc, Lovelle *et al.* (2000), Fourie *et al.* (2007b,c) en cv. Chardonnay y Sauvignon Blanc, Skinkis (2009) en cv. Pinot noir, Löhnertz *et al.* (2000) en cv. Riesling, Sweet y Schreiner (2010), Vance (2012) y Gouthu *et al.* (2012) en cv. Pinot noir, mostraron disminución de la concentración de aminoácidos totales al implantar cubiertas vegetales en el viñedo (generalmente gramíneas, especies de pradera o espontáneas) frente al laboreo o suelo no cultivado. Le Goff-Guillou *et al.* (2000) también observaron la disminución de concentración de aminoácidos con las cubiertas, a pesar de que la Pro aumentaba. Sin embargo, coincidiendo con los resultados obtenidos al cuarto año de ensayo con el tratamiento TR, en los estudios realizados por Fourie *et al.* (2007b,c) en Sudáfrica en viñedos de las variedades Chardonnay y Sauvignon blanc con cubiertas de diversas especies leguminosas, la concentración de N en mostos aumentó respecto al testigo. Sweet y Schreiner (2010) observaron únicamente en una de las dos parcelas estudiadas de su ensayo, un valor mayor de N.F.A. en el tratamiento planteado con una mezcla de tréboles como cubierta vegetal en un viñedo de cv. Pinot noir en Oregón que en una cubierta mezcla de una gramínea perenne y un trébol o que en una cubierta compuesta por distintas especies de pradera autóctonas. Por otro lado, Lee y Steenwerth (2011) en su estudio sobre cv. Cabernet Sauvignon en California, mostraron que el portainjerto modificaba más la composición nitrogenada de las bayas que las cubiertas de cebada y de vegetación espontánea, entre las que no obtuvieron diferencias.

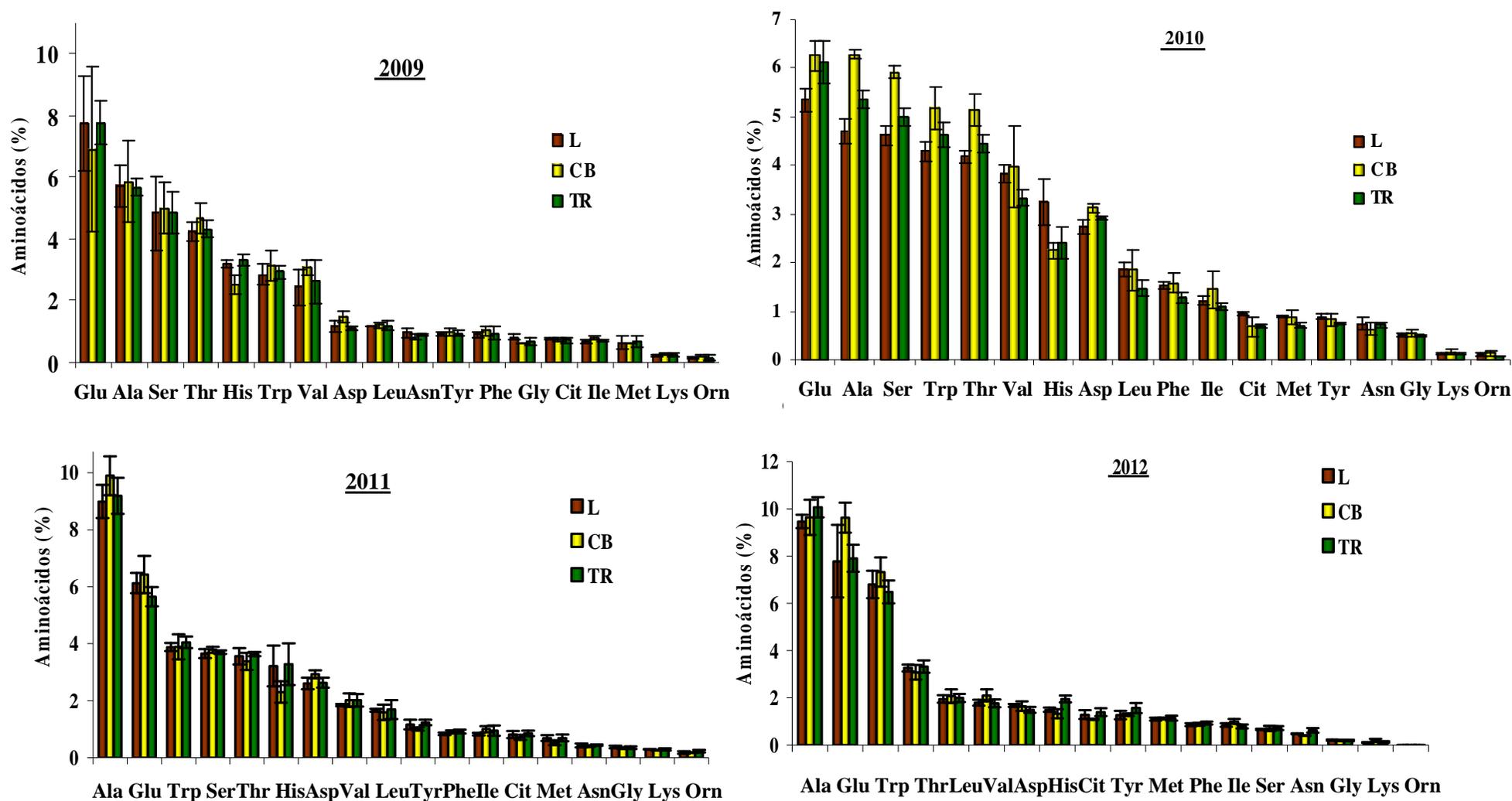
Por otro lado, Huang y Ough (1991) demostraron que una misma variedad en distintos años tiene un perfil de aminoácidos muy similar, aunque puede haber diferencia en las concentraciones de aminoácidos de un año a otro, como argumentaron

Spayd y Andersen-Bagge (1996). El perfil aminoacídico que presentaron las uvas de los tratamientos estudiados mostró que los aminoácidos mayoritarios en las cuatro campañas fueron Pro y Arg, representando entre el 38 % y el 47 % en el caso de Pro y entre el 12 % y el 20 % en el caso de Arg del total de los aminoácidos (Figura IV.8). Dichos porcentajes se encontraban dentro del rango que Bell y Henschke (2005) definieron como habitual para el conjunto de ambos aminoácidos. No obstante, a pesar de que en 2009 y 2011, los porcentajes de estos dos aminoácidos fueron similares entre tratamientos (Figura IV.8), en las otras dos campañas la variabilidad fue mayor, por lo que se podría pensar que el manejo del suelo con las cubiertas vegetales pudo modificar el perfil aminoacídico de las bayas. Así, en la campaña 2010 se apreció un descenso de Pro con respecto al total de los aminoácidos analizados en las bayas del tratamiento CB frente a lo observado con los otros dos tratamientos. Por su parte, en el 2012, frente a lo observado con la cebada y el laboreo, con el tratamiento TR aumentó la Arg respecto al total de aminoácidos estudiados. Por su importancia cuantitativa, Rodríguez-Lovelle y Gaudillère (2002) advirtieron que este aminoácido era el compuesto indicador más relacionado con el estado N-nutricional de la vid, lo cual demostraron también en sus estudios Kliewer (1971) y Kliewer y Cook (1971, 1974).



**Figura IV.8.** Perfil de aminoácidos mayoritarios (%) obtenido en las uvas bajo la influencia de cada tratamiento estudiado (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en cada año de ensayo (2009-2012). Las barras verticales muestran la desviación estándar de las muestras.

En cuanto al perfil de los demás aminoácidos se observó que, en las cuatro campañas, Glu y Ala fueron los dos aminoácidos predominantes, aunque en distinto orden en los años 2009 y 2010, respecto al 2011 y 2012 (Figura IV.9). Stines *et al.* (2000) y Lee y Steenwerth (2011) observaron valores muy similares de Glu y Ala en las bayas de sus ensayos con cubiertas vegetales en viñedos de cv. Cabernet Sauvignon, siempre con Pro y Arg como aminoácidos mayoritarios. Por su parte, en el año 2012, la proporción en bayas de Ser disminuyó en todos los tratamientos. Lys y Orn se mantuvieron durante los cuatro años como los aminoácidos con menor presencia en las bayas de todos los tratamientos.



**Figura IV.9.** Perfil de aminoácidos (%) obtenido en las uvas bajo la influencia de cada tratamiento estudiado (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en cada año de ensayo (2009-2012). Los aminoácidos se muestran, en cada campaña, de mayor a menor porcentaje tomando como referencia el laboreo.

#### IV.9.1.4. Relaciones entre los compuestos nitrogenados en planta y uva

Vinculando los cambios observados en el estado N-nutricional del suelo y de la planta, provocados al utilizar diferentes cubiertas vegetales como técnica de manejo del suelo, se estudió la existencia de correlaciones entre el N foliar y la concentración de aminoácidos en las bayas. Los datos se presentan en la Tabla IV.25.

Tanto el contenido en N.F.A. como la concentración de amonio presentes en las bayas, mostraron relación positiva con el N determinado en los tejidos foliares, limbo y pecíolo, en floración y en envero, excepto en el caso del amonio que no mostró correlación con el N del pecíolo muestreado en floración. Se encontraron correlaciones positivas entre el N presente en el limbo en floración y Glu, Asn, Cit, Arg, Ala, Tyr, Lys, aminoácidos totales y aminoácidos totales con Pro, mientras que fueron negativas para Asp e Ile. La relación de la concentración de Asp, Cit, Arg, Ala, Tyr, Met, Leu, aminoácidos totales y total de aminoácidos con Pro con el N peciolar muestreado en floración también fue positiva, no encontrándose ninguna correlación negativa. En el caso del N foliar analizado en envero, las correlaciones entre el N en limbo y distintos aminoácidos como Asp, Ser, Val, Phe, Ile y Orn fueron negativas, siendo positivas entre el N en limbo y Glu, Cit, Arg, Ala, Tyr, Met, Trp, Phe y el total de aminoácidos. Respecto al N analizado en el pecíolo durante envero, se encontraron correlaciones con Glu, Asn, Cit, Arg, Ala, Tyr, Met, Trp, Leu, aminoácidos totales y aminoácidos totales con Pro, todas ellas positivas. Por tanto, el análisis de ambos tejidos foliares podría realizarse independientemente en función del aminoácido específico que interesara estudiar en las bayas, ya que su contenido de N no correlacionó con el mismo grupo de aminoácidos. Sin embargo, Romero *et al.* (2013) determinaron que tanto en floración como en envero, el limbo era el tejido más idóneo para el diagnóstico nutricional relativo al N en viñas de la variedad Tempranillo en la D.O.Ca. Rioja. Del mismo modo, Schreiner *et al.* (2013), que también observaron alta correlación entre el N.F.A. del mosto y la concentración de N determinada en limbo tanto en floración como en envero, en un viñedo de cv. Pinot noir situado en Oregón en el que aplicaron distintas concentraciones de tratamientos nutricionales y, a pesar de que las correlaciones que encontraron entre el N.F.A. y el N-peciolar también fueron altas, recomendaron utilizar los valores de N determinados en limbo para establecer el estado N-nutricional de la vid.

**Tabla IV.25.** Coeficientes de correlación de Pearson observados entre el % de N de los tejidos foliares (limbo y pecíolo) muestreados en floración y envero, y la concentración de aminoácidos (mg N kg<sup>-1</sup> uva) determinados en las uvas procedentes de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas de ensayo (2009-2012).

	FLORACIÓN		ENVERO	
	N Limbo	N Pecíolo	N Limbo	N Pecíolo
N.F.A. <sup>a</sup>	0,467**	0,247	0,403*	0,593**
Amonio	0,585**	0,548**	0,469**	0,780**
Ácido Aspártico	- 0,472**	0,348*	- 0,666**	0,016
Ácido Glutámico	0,506**	- 0,047	0,591**	0,408*
Asparagina	0,428**	0,144	0,085	0,355*
Serina	- 0,170	0,015	- 0,596**	- 0,196
Histidina	0,303	0,263	- 0,173	0,18
Glicina	0,201	- 0,016	- 0,216	0,022
Treonina	0,148	0,224	- 0,191	0,277
Citrulina	0,444**	0,454**	0,538**	0,709**
Arginina	0,505**	0,596**	0,533**	0,541**
Alanina	0,345*	0,396*	0,639**	0,491**
Tirosina	0,557**	0,450**	0,622**	0,603**
Valina	- 0,161	0,091	- 0,476**	0,115
Metionina	0,271	0,363*	0,371*	0,617**
Triptófano	0,160	0,263	0,374*	0,555**
Fenilalanina	- 0,132	0,284	- 0,401*	0,262
Isoleucina	- 0,362*	0,163	- 0,495**	0,141
Ornitina	0,129	0,197	- 0,375*	- 0,176
Leucina	0,074	0,404*	0,100	0,537**
Lisina	0,369*	0,121	0,075	- 0,057
AaT <sup>b</sup>	0,323	0,168	- 0,014	0,360*
Prolina	0,476**	0,596**	0,357*	0,623**
AaTPro <sup>c</sup>	0,472**	0,492**	0,246	0,591**

<sup>a</sup> N.F.A.: Nitrógeno fácilmente asimilable, <sup>b</sup>AaT: aminoácidos totales sin prolina, <sup>c</sup>AaTPro: aminoácidos totales con prolina. \* Indica correlación significativa a  $p \leq 0,05$ ; \*\* Indica correlación significativa a  $p \leq 0,01$ .

Coincidiendo con nuestros resultados, autores como Gaudillère *et al.* (2003) encontraron también correlaciones entre el contenido de N en limbo y el N en mosto, en viñedos bajo climas mediterráneos y atlánticos en Francia. Asimismo, Neilsen *et al.* (2010) describieron correlaciones entre el N en el pecíolo en envero y el N.F.A. presente bajo diferentes dosis, momentos y formas de fertilización nitrogenada ensayadas en un viñedo de cv. Merlot. Por otro lado, Curtis (2013) no encontró diferencias en el nivel de N.F.A. que presentaban plantas jóvenes de cv. Chardonnay situadas en Oregón, en un tratamiento de cubierta anual mixta de centeno y trébol

(*Trifolium incarnatum* L.) respecto al del tratamiento con laboreo, a pesar de que sí observó relaciones positivas entre el N.F.A. y el N del pecíolo en floración ( $R^2 = 0,582$ ;  $p < 0,0001$ ), el N determinado en envero en el limbo ( $R^2 = 0,5913$ ;  $p < 0,0001$ ) y el N presente en el pecíolo en envero ( $R^2 = 0,5251$ ;  $p < 0,0001$ ).

Rodríguez-Lovelle y Gaudillère (2002) encontraron diferencias significativas en los niveles de Arg, Glu, Ala e His en uvas de la variedad Cabernet Sauvignon debido a la fertilización nitrogenada aportada a las cepas. También Bell y Henschke (2005) observaron la relación existente entre la concentración de aminoácidos totales de las bayas y los niveles nitrogenados que presentan las plantas. Linsenmeier *et al.* (2008) encontraron relaciones positivas entre el N aportado en un viñedo de cv. Riesling y la concentración de aminoácidos como Ala, His, Gly y Glu. Por su parte, Lee y Schreiner (2010) observaron que sólo Glu, Gln, Trp e Hyp se vieron afectados por aportes de N en una parcela de cv. Pinot noir. También Schreiner *et al.* (2014) advirtieron que los aportes de N realizados a la vid, junto con el efecto añada, alteraban la concentración de la mayoría de los aminoácidos en las bayas. Así, en su estudio con cv. Pinot noir, estos autores observaron que las concentraciones de Cit y Arg fueron las que más disminuyeron en respuesta a un bajo aporte de N, influyendo en el nivel de N.F.A. También Pérez-Álvarez *et al.* (2014a,b) observaron, en tres parcelas de cv. Tempranillo con distintos tipos de suelo, correlaciones altas entre el  $N-NO_3^-$  disponible en el suelo (a 45 cm de profundidad) en el momento de floración y la concentración total de aminoácidos en el mosto ( $R^2 = 0,95$ ), el total de aminoácidos asimilables ( $R^2 = 0,95$ ) y el N.F.A. ( $R^2 = 0,99$ ).

La variabilidad observada en la concentración y perfil de los aminoácidos de las bayas podría estar relacionada con la presencia de las cubiertas vegetales implantadas en el viñedo, ya que los principales factores que Bell y Henschke (2005) observaron que les afectaban (variedad, portainjerto, condiciones climáticas y nivel de madurez de las bayas), fueron iguales entre tratamientos. Además, no hubo fertilización nitrogenada de ningún tipo desde nueve años antes de empezar el ensayo. Así, el descenso de N disponible en el suelo y la consecuente bajada de N en el estado nutricional de las plantas, como consecuencia del consumo de N realizado por parte de la gramínea tras cuatro campañas, podría ser la causa del descenso de la concentración de algunos aminoácidos en las bayas del tratamiento CB, fundamentalmente con respecto a las del

tratamiento TR, pero también, en muchos casos aunque no de forma significativa, respecto al laboreo.

Por su parte, contrariamente a lo sucedido con el tratamiento CB, con el trébol se observó en las bayas un aumento de la concentración de algunos aminoácidos, relacionado con el mayor nivel de N en el suelo que propició la implantación de la leguminosa y su posterior repercusión a nivel N-nutricional en la vid.

#### **IV.9.2. INCIDENCIA DE LAS CUBIERTAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS**

Al igual que lo presentado en el apartado anterior para los mostos, la discusión de los efectos de los tratamientos sobre los vinos se ha dividido en tres apartados. En las Tablas IV.26 y IV.27 se presentan, respectivamente, los parámetros generales y de color de los vinos procedentes de las uvas de los tratamientos (L: laboreo, CB: cebada y TR: trébol) estudiados durante las cuatro campañas que duró el ensayo (2009-2012). Por otra parte, en las Tablas IV.28 y IV.29 se presentan respectivamente, la concentración de aminoácidos en vinos y el consumo de éstos durante la fermentación. La Tabla IV.30, muestra la concentración de aminas biógenas determinadas en los vinos. En ese mismo apartado, se discuten las correlaciones existentes entre la concentración de aminoácidos en los mostos y de aminas biógenas en los vinos (Tabla IV.31) y entre las aminas biógenas y el N de los tejidos foliares en floración y envero (Tabla IV.32).

##### **IV.9.2.1. Parámetros físico-químicos generales**

Todos los parámetros analizados en los vinos del ensayo cumplieron los estándares marcados para vinos tranquilos, enmarcados en la D.O.Ca. Rioja.

Conforme al bajo impacto que supuso el efecto de la implantación de las cubiertas sobre los parámetros generales analizados en los mostos (Apartado IV.9.1.1), en el vino únicamente se observaron diferencias significativas en los parámetros de acidez, principalmente en la campaña 2011. Así, sólo durante dicha campaña, la acidez total fue mayor en los vinos con el tratamiento CB respecto a la de los otros tratamientos. En las campañas 2009 y 2011, el ácido tartárico fue mayor en los vinos del tratamiento CB que en los del tratamiento L y, sin embargo, en el 2011, el ácido láctico

fue menor con los tratamientos de las cubiertas que con el testigo (Tabla IV.26). Este reducido efecto observado en los vinos coincidió con los resultados obtenidos por Fourie *et al.* (2006) en vinos de la variedad Chardonnay, provenientes de viñedos sudafricanos con suelos de textura franca, y por Fourie *et al.* (2007a,c) en vinos de cv. Sauvignon blanc de sus ensayos con distintas especies de cubiertas vegetales. Ahora bien, a pesar de que las diferencias significativas entre tratamientos fueron escasas, al igual que ocurrió con los mostos, el efecto de las cubiertas vegetales reflejó ciertas tendencias, como un pH de los vinos de uvas procedentes de parcelas con cubiertas vegetales menor, frente a los vinos del tratamiento L, lo cual podría ser un condicionante de la producción de aminas biógenas en los vinos (Apartado IV.9.2.4), como observaron Landete *et al.* (2005) en su estudio, donde los vinos de Rioja que presentaron alto contenido en histamina, eran los que tenían valores de pH de 3,6 o superiores. Además, los vinos con los tratamientos de las cubiertas presentaron, aunque no de forma significativa, menor concentración de K que los del tratamiento L, por lo que, con las cubiertas en el viñedo, se podrían obtener vinos que tendrán, probablemente, menor riesgo de quiebras tartáricas, que condicionan la estabilidad de los vinos.

**Tabla IV.26.** Parámetros generales determinados en los vinos elaborados a partir de las uvas de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).

Tratamientos	VINOS									
	Grado alcohólico (% v v <sup>-1</sup> )	pH	A. T. <sup>a</sup> (g l <sup>-1</sup> ác. Tartárico)	Ácido Tartárico (g l <sup>-1</sup> )	Ácido málico (g l <sup>-1</sup> )	Ácido láctico (g l <sup>-1</sup> )	Potasio (mg l <sup>-1</sup> )	Acidez volátil (g l <sup>-1</sup> )	SO <sub>2</sub> libre (mg l <sup>-1</sup> )	SO <sub>2</sub> total (mg l <sup>-1</sup> )
	<b>2009</b>									
L	11,6	3,86	4,83	1,65 <b>b</b>	0,04	2,41	1618,96	0,33	27,71	59,33
CB	12,0	3,75	5,02	1,93 <b>a</b>	0,09	2,31	1426,33	0,32	28,56	68,93
TR	12,2	3,81	4,88	1,75 <b>ab</b>	0,04	2,42	1559,24	0,30	27,28	65,73
	<b>2010</b>									
L	12,5	3,84	4,91	1,66	0,04	2,25	1579,42	0,42	29,41	50,80
CB	12,7	3,78	4,93	1,66	0,11	2,18	1507,96	0,40	31,97	58,27
TR	12,6	3,76	5,15	1,81	0,04	2,14	1418,79	0,36	30,27	61,47
	<b>2011</b>									
L	12,8	3,80	4,80 <b>b</b>	1,69 <b>b</b>	0,04	2,50 <b>a</b>	1705,46	0,38	33,68	62,53
CB	12,7	3,70	5,22 <b>a</b>	2,02 <b>a</b>	0,05	1,89 <b>b</b>	1605,94	0,50	31,97	68,93
TR	13,3	3,74	4,76 <b>b</b>	1,88 <b>ab</b>	0,03	2,00 <b>b</b>	1538,89	0,44	35,39	62,53
	<b>2012</b>									
L	10,5	3,87	4,69	1,67	0,11	2,29	1600,33	0,47	27,71	64,67
CB	10,9	3,79	4,84	1,84	0,11	2,08	1469,67	0,35	29,41	59,33
TR	10,5	3,79	4,61	1,72	0,04	2,15	1427,33	0,38	28,56	62,53

<sup>a</sup>A.T.: acidez total, expresada en g l<sup>-1</sup> de ácido tartárico. En cada parámetro y para cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas (p ≤ 0,05 usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Los resultados encontrados en la bibliografía sobre el efecto de los tratamientos con cubiertas vegetales en las características y propiedades de los vinos son variados. Así, autores como Riou y Morlat (1996), Monteiro y Lopes (2007) y Xi *et al.* (2010), describieron una disminución de la acidez total y un incremento de pH en los vinos de los tratamientos con cubiertas vegetales respecto a los del laboreo. Sin embargo, coincidiendo con las tendencias observadas en nuestro ensayo, Maigre y Aerny (2001) obtuvieron en los vinos de su estudio, niveles de acidez total mayores y menor pH con el tratamiento de cubiertas vegetales que con el testigo, explicando el origen de este efecto al menor nivel de K obtenido en el mosto como consecuencia de las bajas temperaturas sufridas en la zona radicular (Maigre *et al.*, 1995) y por la disminución del vigor de las plantas. Bertuccioli *et al.* (1999) observaron un mayor contenido de alcohol y fenoles totales en los vinos elaborados a partir de uvas con tratamiento de cubiertas vegetales respecto al testigo, en el que trataron químicamente las calles de un viñedo de la variedad Sangiovese en Italia.

#### **IV.9.2.2. Parámetros de color**

De manera similar a lo ocurrido con el mosto, las diferencias entre tratamientos fueron significativas, principalmente, en la última campaña de ensayo (Tabla IV.27). En general, la tendencia mostrada por los valores de densidades ópticas e intensidad de color del vino varió de las campañas 2009-2010, en las que los vinos del tratamiento CB fueron los que presentaron los valores medios más bajos, a lo observado en los dos años siguientes en los que los vinos de este tratamiento CB fueron los que presentaron mayor valor de estos parámetros. Por su parte, la tonalidad presentó valores significativamente menores en los años 2009 y 2012 en los vinos del tratamiento CB respecto a los del tratamiento L. Este hecho tuvo que ver con el aumento en los vinos del tratamiento CB de los compuestos que absorben en el rojo (D.O. 520 nm) que, aunque son más inestables al envejecimiento sufrido por el vino que los que absorben en el amarillo (D.O. 420 nm), definen y matizan el color característico de un vino tinto joven. En la campaña 2010, fueron los vinos del tratamiento TR los que mostraron, significativamente, menos tonalidad que los del laboreo (Tabla IV.27).

Respecto al índice de polifenoles totales (I.P.T.), fue el tratamiento CB, al cuarto año de ensayo, el que marcó las diferencias, con valores de este parámetro mayores que

los de los vinos de los otros dos tratamientos, lo cual coincidió con los resultados obtenidos en el mosto. En el año 2012, se observaron concentraciones de antocianos menores que en el resto de campañas, sin que las diferencias entre tratamientos fueran significativas para ninguno de los años de estudio. Así, como ya se ha mencionado anteriormente, los mayores valores de I.P.T. con el tratamiento CB podrían estar relacionados con la disminución nutricional de N en la cepa, provocada por la reducción de  $\text{N-NO}_3^-$  disponible en ese tratamiento a lo largo de las cuatro añadas estudiadas. Además, la disminución de humedad del suelo observada en determinados momentos del ciclo con el tratamiento CB, pudo contribuir a que, sin llegar a provocarle a la planta un estrés severo por déficit hídrico, como respuesta, ésta aumentase la síntesis de polifenoles, especialmente antocianos, en las bayas, las cuales fueron ligeramente más pequeñas y por tanto con una mayor superficie de hollejo (donde se encuentra la mayoría de los compuestos fenólicos en las uvas tintas) respecto a la pulpa, que las de los otros tratamientos. Este fenómeno lo observaron Ojeda *et al.* (2002) en un experimento realizado en macetas con la variedad Shiraz, donde mostraron que déficit hídricos medios influyen directamente en la biosíntesis y concentración de los compuestos fenólicos de las bayas, aumentándolos.

Observaciones realizadas por diversos autores (McDonald *et al.*, 1998; Price *et al.*, 1995; Haselgrove *et al.*, 2000; Spayd *et al.*, 2002) mostraron también que la mayor exposición de las bayas a la luz, por cambios en la estructura foliar de la cepa, se relacionaban con niveles más altos de flavonoles, lo cual podría tener implicaciones importantes en la estabilidad y calidad del vino, particularmente si los flavonoles actúan como copigmentos de los antocianos. Coulon y Prud'Homme (2003) relacionaron los mayores valores de polifenoles totales y de densidad óptica en las tres longitudes de onda, en los vinos provenientes de uvas de los tratamientos con cubiertas vegetales en el viñedo, con la disminución del rendimiento y mayor exposición a la luz solar de los racimos. No obstante, para climas cálidos y soleados conviene tener en cuenta que las altas temperaturas a las que puedan estar sometidos los racimos muy expuestos, a partir del envero, suponen un detrimento de la acumulación de antocianos en los hollejos de la uva y, por tanto, en el del color de los vinos (Tarara *et al.*, 2008; Dry, 2009; Lorrain *et al.*, 2011). Por tanto, la mayor concentración en polifenoles observada en el vino en la campaña 2012 con el tratamiento CB podría tener efecto positivo en la calidad del vino, puesto que podría mejorar el color, las características organolépticas y la estabilidad de

los vinos, como observaron otros autores en vinos tintos provenientes de viñedos con cubiertas vegetales (Morlat *et al.*, 1993b; Riou y Morlat, 1996; Rodríguez-Lovelle *et al.*, 2000; Le Goff-Guillou *et al.*, 2000; Spayd *et al.*, 2002; Coulon y Prud'Homme, 2003; Monteiro y Lopes, 2007; Xi *et al.*, 2010; Ibáñez, 2013). Estos autores explicaron el incremento de polifenoles de sus ensayos como una consecuencia de la competencia ejercida por las cubiertas por el agua y los nutrientes del suelo, lo que induce a una reducción en el desarrollo vegetativo de la cepa, beneficioso tanto para la composición de la baya como a nivel sanitario, ya que induce un balance más favorable entre el crecimiento vegetativo y productivo, y posibilita un sistema de la pared vegetativa del viñedo más poroso, mejorando el microclima en la zona del racimo, lo que permite potenciar el color y el contenido de I.P.T. y antocianos en las uvas tintas y, como consecuencia, mejorar la calidad de bayas y vino.

Por su parte, tal y como ocurrió con el mosto, el tratamiento TR apenas presentó cambios en los parámetros colorimétricos en relación al laboreo. Estas cubiertas, por su capacidad de fijar  $N_2$  atmosférico, podrían actuar incrementando el N disponible de modo semejante a lo que observaron Delgado *et al.* (2004) en su ensayo, por medio de la aplicación de un fertilizante al suelo. Estos autores mostraron que los aumentos de aportes nitrogenados, siempre que el nivel de K sea moderado, pueden hacer disminuir los polifenoles presentes en los hollejos, pero si por el contrario, la alta disponibilidad de N coincide con valores altos de K en suelo, los polifenoles de los hollejos de las bayas se incrementan.

**Tabla IV.27.** Parámetros de color determinados en los vinos elaborados a partir de las uvas vendimiadas en cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).

Tratamientos	VINOS						
	D.O. <sup>a</sup> 420 nm	D.O. 520 nm	D.O. 620 nm	Intensidad de color	Tonalidad	I.P.T. <sup>b</sup>	Antocianos (mg l <sup>-1</sup> )
	<b>2009</b>						
L	1,69	2,39	0,57	4,65	0,71 <b>a</b>	39,35	583
CB	1,53	2,33	0,50	4,36	0,66 <b>b</b>	37,79	495
TR	1,68	2,48	0,56	4,72	0,68 <b>ab</b>	39,41	588
	<b>2010</b>						
L	1,91	3,44	0,63	5,37	0,67 <b>a</b>	39,46	567
CB	1,83	2,86	0,60	5,30	0,64 <b>ab</b>	41,52	565
TR	1,82	2,95	0,60	5,36	0,62 <b>b</b>	39,02	573
	<b>2011</b>						
L	1,96	3,16	0,68	5,79	0,62	46,05	635
CB	2,17	3,64	0,78	6,59	0,60	47,47	614
TR	2,10	3,45	0,72	6,27	0,61	47,67	677
	<b>2012</b>						
L	1,18	1,60	0,37	3,15	0,74 <b>a</b>	30,65 <b>b</b>	428
CB	1,35	2,03	0,43	3,82	0,67 <b>b</b>	36,09 <b>a</b>	465
TR	1,18	1,67	0,36	3,21	0,71 <b>ab</b>	31,24 <b>b</b>	423

<sup>a</sup>D.O.: densidad óptica, <sup>b</sup>I.P.T.: Índice de polifenoles totales.

En cada parámetro y para cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,1$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

#### IV.9.2.3. Efecto sobre los aminoácidos del vino

En la Tabla IV.28, se presentan las concentraciones de los aminoácidos en los vinos. La Tabla IV.29 muestra el consumo de aminoácidos durante la fermentación, determinados como diferencia entre la concentración de aminoácidos en las bayas en el momento de la vendimia y la del vino final.

En relación a la concentración de aminoácidos en los vinos se observó, en la campaña 2009, menor concentración de His en los vinos provenientes de las cepas bajo el tratamiento TR y en los vinos del tratamiento CB mayor concentración de Orn, respecto a los otros dos tratamientos. Los vinos del tratamiento CB tuvieron

concentración de Phe menor respecto a los vinos del tratamiento L (Tabla IV.28). En la campaña 2010, la concentración de Ser en los vinos fue menor con los tratamientos de cubiertas vegetales y, sin embargo, los del tratamiento L presentaron mayor concentración de His que los vinos del tratamiento CB, y menor contenido de Arg que los del tratamiento TR. En los vinos del tratamiento CB, se observó que la concentración de Lys fue menor que en los de los otros dos tratamientos.

En la tercera campaña de estudio, el número de aminoácidos cuya concentración fue significativamente diferente en función del tratamiento fue mayor. Así, los vinos del tratamiento CB presentaron concentración de Glu, Ser, Thr, Ile y Orn menor respecto a los otros dos tratamientos. Además, con el tratamiento CB se observó menor concentración de Asp, Asn, Gly, Arg, Ala, Tyr y aminoácidos totales en los vinos que con el tratamiento TR. En el año 2012, los vinos del tratamiento TR mostraron mayor concentración de Asp, Glu, His, Gly, Thr, Ala, Ile, Orn, Leu, Lys y aminoácidos totales respecto a los vinos de los otros tratamientos. La concentración en los vinos de Tyr fue mayor con el tratamiento TR que con la cebada, y la concentración de Phe mayor que con el tratamiento L. La concentración de Cit fue menor con el tratamiento CB que con los otros dos y la de Val menor con el tratamiento TR respecto al testigo (Tabla IV.28).

**Tabla IV.28.** Concentración de aminoácidos (mg N l<sup>-1</sup>) determinados en los vinos obtenidos de las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).

		AMINOÁCIDOS VINOS (mg N l <sup>-1</sup> )																			
Tratamientos		Asp <sup>a</sup>	Glu	Asn	Ser	His	Gly	Thr	Cit	Arg	Ala	Tyr	Val	Met	Trp	Phe	Ile	Orn	Leu	Lys	Total aas
		<b>2009</b>																			
L		0,09	0,27	0,25	0,06	0,08a	0,14	0,21	n.d. <sup>b</sup>	0,20	0,35	0,03	0,06	n.d.	n.d.	0,04a	0,04	0,16b	0,07	0,19	2,22
CB		0,09	0,30	0,27	0,07	0,08a	0,14	0,22	0,04	0,27	0,37	0,03	0,06	n.d.	n.d.	0,05b	0,05	0,22a	0,08	0,19	2,53
TR		0,09	0,32	0,26	0,07	0,04b	0,13	0,21	n.d.	0,24	0,34	0,03	0,05	n.d.	n.d.	0,04ab	0,04	0,18b	0,08	0,17	2,28
		<b>2010</b>																			
L		0,15	0,43	0,26	0,14a	0,18a	0,26	0,26	0,04	0,09b	0,42	0,03	0,11	0,04	0,03	0,04	0,06	n.d.	0,10	0,66a	3,31
CB		0,09	0,37	0,21	0,07b	0,09b	0,14	0,19	0,04	0,10ab	0,31	0,02	0,06	n.d.	n.d.	0,03	0,05	0,22	0,06	0,26b	2,31
TR		0,13	0,40	0,24	0,13b	0,13ab	0,18	0,23	0,03	0,14a	0,37	0,03	0,09	0,04	0,02	0,04	0,05	n.d.	0,09	0,67a	3,02
		<b>2011</b>																			
L		0,08ab	0,38a	0,28ab	0,11a	0,15	0,22ab	0,24a	n.d.	0,35ab	0,47ab	0,03ab	0,07	n.d.	n.d.	0,06	0,06a	0,15a	0,10	0,17	2,91ab
CB		0,03b	0,18b	0,18b	0,06b	0,07	0,09b	0,12b	n.d.	0,13b	0,20b	0,02b	0,04	n.d.	n.d.	0,03	0,03b	0,08b	0,04	0,11	1,43b
TR		0,11a	0,45a	0,36a	0,11a	0,19	0,26a	0,27a	n.d.	0,46a	0,57a	0,04a	0,06	n.d.	n.d.	0,07	0,06a	0,15a	0,11	0,22	3,50a
		<b>2012</b>																			
L		0,06b	0,23b	0,16	0,04	0,06b	0,06b	0,11b	0,03a	0,25	0,17b	0,02ab	0,03a	0,03	0,03	0,02b	0,01b	0,05b	0,03b	0,27b	1,65b
CB		0,05b	0,21b	0,15	0,04	0,08b	0,05b	0,10b	0,02b	0,28	0,16b	0,02b	0,03ab	0,03	0,04	0,02ab	0,02b	0,04b	0,03b	0,25b	1,61b
TR		0,10a	0,33a	0,20	0,06	0,11a	0,12a	0,18a	0,03a	0,37	0,28a	0,04a	0,08b	0,04	0,04	0,04a	0,04a	0,08a	0,07a	0,45a	2,66a

<sup>a</sup> Asp: ácido aspártico, Glu: ácido glutámico, Asn: asparagina, Ser: serina, His: histidina, Gly: glicina, Thr: treonina, Cit: citrulina, Arg: arginina, Ala: alanina, Tyr: tirosina, Val: valina, Met: metionina, Trp: triptófano, Phe: fenilalanina, Ile: isoleucina, Orn: ornitina, Leu: leucina, Lys: lisina, Total aas: aminoácidos totales sin prolina, <sup>b</sup>n.d.: no detectado.

Para cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Por otro lado, tal y como se aprecia al comparar entre las concentraciones de aminoácidos en el mosto (Tabla IV.24) y las determinadas en el vino (Tabla IV.28), la concentración individual de cada uno de los aminoácidos libres disminuyó de forma importante durante la fermentación. Esto estaría directamente relacionado con la actividad metabólica de las levaduras responsables de la fermentación, las cuales utilizan los aminoácidos como principal fuente de N para su metabolismo (Bell y Henschke, 2005). Garde-Cerdán *et al.* (2011), Martínez-Gil *et al.* (2012) y Portu *et al.* (2014), mencionaron la existencia de una proporcionalidad entre el contenido de aminoácidos inicial en el mosto y su consumo durante la fermentación. Así, a mayor concentración de aminoácidos en el mosto, mayor consumo de los mismos se producirá durante la fermentación. También en nuestros vinos de cv. Tempranillo los aminoácidos más consumidos durante la fermentación coincidieron con los que se encontraban en mayor concentración en uva; Arg, His, Ala y Ser (excepto en el 2012), Glu y Val en el año 2010, Trp en el 2010 y 2012 y Asp en las campañas 2010 y 2011 (Tabla IV.29).

Por otra parte, cabría destacar la reducción del aminoácido Ser en los vinos de los tres tratamientos en la campaña 2012 frente a las de los años anteriores del ensayo (Tabla IV.35), lo cual fue ligado a la baja concentración presente en las bayas (Tabla IV.31), que supuso una importante restricción en el consumo de este aminoácido durante la fermentación (Tabla IV.36). Asimismo, se observó esta situación respecto al Asp en el año 2009 y 2012 en los tres tratamientos, pero de forma menos acusada que en la Ser. Del mismo modo, en las cuatro variedades de la D.O. Jumilla que estudiaron Martínez-Gil *et al.* (2012): Monastrell, Syrah, Merlot y Petit Verdot, la Arg, Ala, Ser y Thr fueron los aminoácidos más consumidos durante la fermentación y los que mayor concentración presentaron en las bayas en el momento de vendimia (excepto la Ala en cv. Merlot).

En los estudios realizados con distintas variedades por otros autores (Valero *et al.*, 2003; Garde-Cerdán *et al.*, 2007; Martínez-Gil *et al.*, 2012), la Gly fue uno de los aminoácidos menos consumido durante la fermentación, ya que para las levaduras es una mala fuente de N (Cooper, 1982). Sin embargo, el consumo de este aminoácido en vinos del tratamiento CB fue elevado en los cuatro años de ensayo, respecto a lo consumido en los otros tratamientos. Además, en el año 2010 con el tratamiento CB y, en la campaña 2012 con los tres tratamientos, se observó un aumento de Orn en el

medio, al igual que lo ocurrido en los tres tratamientos en el año 2010 y con los tratamientos L y TR en el 2012 en el caso de la Lys. Estos aminoácidos, que se encontraban en muy baja concentración en el mosto (Tabla IV.24), posiblemente fueron excretados al medio como consecuencia de la autólisis de las levaduras (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2001; Moreno-Arribas y Polo, 2009) y/o debido al efecto tóxico del etanol (Ancín-Azpilicueta *et al.*, 2005) que inhibe los sistemas de transporte de los aminoácidos causando su excreción (Alexandre y Guilloux-Benatier, 2006). Además, la Orn es un producto secundario del metabolismo de la Arg. En la campaña 2012, con el tratamiento testigo también Asn y Tyr fueron excretadas al medio, aunque los valores fueron relativamente bajos.

Por otro lado, en la Tabla IV.29 se aprecia que tres de los aminoácidos presentes en las bayas (Met y Trp y Cit) fueron consumidos prácticamente en su totalidad durante la fermentación: Met y Trp, durante las campañas 2009 y 2011 en los tres tratamientos y en 2010 únicamente en el tratamiento CB y, la Cit en el año 2009 en el caso de las bayas procedentes de los tratamientos L y TR y de los tres tratamientos en 2011. Esto es importante, ya que algunos aminoácidos son precursores de alcoholes superiores y ésteres, compuestos que pueden contribuir al aroma del vino (Bell y Henschke, 2005; Garde-Cerdán y Ancín-Azpilicueta, 2008; Hernández-Orte *et al.*, 2005). Asimismo, repercuten en la mayor inestabilidad microbiológica que pueden presentar los vinos con alto contenido de N residual, con la posible formación de carbamato de etilo (cuyo aminoácido precursor es la Cit) y de aminas biógenas, compuestos que deprecian la calidad del vino y sus propiedades saludables (Uthurry *et al.*, 2007; Moreno-Arribas y Polo, 2009).

**Tabla IV.29.** Consumo de aminoácidos (mg N L<sup>-1</sup>) en la fermentación de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012). El consumo de los aminoácidos corresponde a la diferencia entre la concentración en el mosto y en el vino. El signo negativo indica excreción de los aminoácidos al medio.

CONSUMO DE AMINOÁCIDOS EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA (mg N l <sup>-1</sup> )																				
Tratamientos	Asp	Glu	Asn	Ser	His	Gly	Thr	Cit	Arg	Ala	Tyr	Val	Met	Trp	Phe	Ile	Orn	Leu	Lys	Total aas
<b>2009</b>																				
L	0,83	5,19	1,28	4,77	6,51	1,02	3,55	1,39	34,57	6,38	0,51	2,12	0,44	2,92	0,53	0,51	0,09	0,86	0,14	73,62
CB	0,91	4,01	0,84	4,27	4,35	4,29	3,36	1,08	28,93	5,62	0,48	2,34	0,38	2,80	0,51	0,51	0,08	0,76	0,14	62,00
TR	0,78	5,20	1,19	4,76	6,78	0,83	3,62	1,31	34,24	6,34	0,52	2,30	0,47	3,02	0,57	0,52	0,06	0,86	0,16	73,55
<b>2010</b>																				
L	2,54	4,33	1,20	5,61	8,03	0,64	4,33	2,11	34,10	6,50	0,61	4,18	0,74	5,47	1,17	1,15	0,23	1,75	-0,45	84,25
CB	2,08	3,57	0,69	5,16	3,75	3,70	3,83	1,07	28,71	6,24	0,41	3,07	0,55	4,69	0,85	0,96	-0,03	1,24	-0,06	67,34
TR	2,15	3,92	0,89	4,82	4,69	0,51	3,65	1,21	27,93	5,89	0,40	2,87	0,45	4,70	0,77	0,83	0,12	1,08	-0,51	66,37
<b>2011</b>																				
L	1,70	3,40	0,32	3,07	5,58	0,23	2,49	1,27	36,70	8,75	0,56	1,36	0,42	3,47	0,40	0,51	0,10	1,06	0,20	71,60
CB	1,53	2,93	0,25	2,50	3,08	3,06	1,89	0,86	27,87	7,68	0,37	1,18	0,25	2,70	0,36	0,51	0,11	0,82	0,14	55,22
TR	1,68	3,04	0,24	3,10	5,65	0,17	2,51	1,34	38,07	8,84	0,58	1,51	0,43	3,61	0,43	0,60	0,16	1,07	0,14	73,17
<b>2012</b>																				
L	1,19	4,93	-0,16	0,58	2,82	0,20	2,61	2,18	35,00	10,40	-0,02	1,49	0,70	6,53	0,50	0,62	-0,05	1,44	-0,13	72,24
CB	1,08	5,80	0,57	0,57	2,25	2,28	2,27	1,69	25,38	9,77	0,63	1,61	0,66	6,54	0,47	0,68	-0,04	1,41	0,01	61,39
TR	1,18	5,82	0,36	0,72	4,21	0,18	3,01	2,69	52,35	12,67	0,95	1,64	0,84	7,24	0,61	0,65	-0,08	1,67	-0,25	96,97

<sup>a</sup> Asp: ácido aspártico, Glu: ácido glutámico, Asn: asparagina, Ser: serina, His: histidina, Gly: glicina, Thr: treonina, Cit: citrulina, Arg: arginina, Ala: alanina, Tyr: tirosina, Val: valina, Met: metionina, Trp: triptófano, Phe: fenilalanina, Ile: isoleucina, Orn: ornitina, Leu: leucina, Lys: lisina, Total aas: aminoácidos totales sin prolina, <sup>b</sup>n.d.: no detectado.

#### IV.9.2.4. Efecto de las cubiertas vegetales sobre la concentración de aminas biógenas en el vino. Correlación entre aminoácidos y aminas biógenas

Las principales aminas biógenas encontradas en los vinos son histamina, tiramina, putrescina, cadaverina y feniletilamina (Lonvaud-Funel, 2001; Smit *et al.*, 2008; Beneduce *et al.*, 2010; López *et al.*, 2012). En nuestro estudio, además de estas aminas, se determinó la concentración de metilamina, etilamina e isoamilamina (Tabla IV.30). En los vinos, la histamina en 2011 y la isoamilamina en los cuatro años de ensayo no se detectaron. Además, hay que destacar que las concentraciones de aminas biógenas analizadas en los vinos estuvieron muy por debajo de los límites legales impuestos por algunos países para las importaciones de los vinos (Lehtonen, 1996).

Por otro lado, cabe destacar que no se han encontrado estudios sobre el efecto de estas cubiertas vegetales en las aminas biógenas de los vinos.

En relación al efecto provocado por los tratamientos en la concentración de histamina en los vinos, únicamente se observaron diferencias significativas en el año 2010, presentando los vinos del tratamiento CB los valores más elevados (Tabla IV.30). Sin embargo, al igual que lo observado en otras aminas biógenas, la tendencia cambió (en este caso sólo en la cuarta campaña de ensayo, ya que en 2011 no se detectó histamina en los vinos). Así, aunque la diferencia no fuera significativa, el vino procedente del tratamiento CB presentó, al igual que lo sucedido con His, su aminoácido precursor (Tabla IV.28), concentración de histamina menor que en los otros tratamientos. Por otro lado, se observaron correlaciones positivas entre histamina y ciertos aminoácidos del mosto (Glu, Cit, Ala, Tyr, Met, Trp y Leu) y correlaciones negativas con su precursor His, además de con Ser, Orn y Lys (Tabla IV.31). Como ya se ha mencionado, también se apreció correlación entre la degradación de la His presente en el mosto inicial, y la formación de histamina en el vino, tal y como observaron Smit *et al.* (2014). Trabajando con vinos de muy diferentes orígenes y métodos de elaboración distintos, Ough (1971) estableció una correlación positiva entre la concentración de N de los vinos y la histamina.

**Tabla IV.30.** Concentración de aminas biógenas ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los vinos obtenidos de las uvas procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo; CB: cebada y TR: trébol) durante las cuatro campañas del ensayo (2009-2012).

Tratamientos	AMINAS BIÓGENAS EN VINOS							Suma aminas biógenas
	Histamina	Metilamina	Etilamina	Tiramina	Putrescina	Cadaverina	Feniletilamina	
	<b>2009</b>							
L	0,26	0,06	0,03	0,97	0,91	0,86	0,26	3,65
CB	0,35	0,08	0,04	1,20	1,00	0,82	0,20	4,07
TR	0,27	0,07	0,02	0,82	1,00	0,89	0,15	3,56
	<b>2010</b>							
L	0,25 <b>b</b>	0,09	0,04 <b>a</b>	0,73	0,95	0,42	0,15	2,91
CB	0,41 <b>a</b>	0,10	0,02 <b>b</b>	0,74	0,97	0,64	0,11	3,34
TR	0,27 <b>b</b>	0,08	0,04 <b>a</b>	0,59	0,91	0,54	0,07	2,77
	<b>2011</b>							
L	n.d.	0,07	1,05	0,46	0,67	0,58	0,73	3,71
CB	n.d.	0,05	0,77	0,31	0,52	0,52	0,27	2,65
TR	n.d.	0,11	1,04	0,47	0,91	0,96	0,61	4,45
	<b>2012</b>							
L	0,97	0,05	2,02	0,51	0,30	0,32	0,14	4,41 <b>a</b>
CB	0,77	0,04	1,64	0,47	0,29	0,19	0,04	3,50 <b>b</b>
TR	0,81	0,06	2,13	0,54	0,30	0,23	0,16	4,36 <b>a</b>

Para cada amina biógena en cada campaña, letras diferentes entre tratamientos expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$  usando el test LSD). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos. n.d.: no detectado.

**Tabla IV.31.** Correlación observada entre la concentración de aminoácidos (mg N kg<sup>-1</sup> uva) en los mostos y la concentración de aminas biógenas (mg l<sup>-1</sup>) presentes en los vinos.

CORRELACIÓN ENTRE AMINOÁCIDOS EN UVA Y AMINAS BIÓGENAS EN VINOS								
	Histamina	Metilamina	Etilamina	Tiramina	Putrescina	Cadaverina	Feniletilamina	Suma Aminas
Ácido Aspártico	- 0,293	0,435**	- 0,271	- 0,196	0,274	- 0,093	0,031	- 0,357*
Ácido Glutámico	0,733**	- 0,273	0,285	0,315	- 0,301	- 0,254	- 0,287	0,277
Asparagina	0,022	0,294	- 0,500**	0,773**	0,547**	0,140	- 0,174	0,128
Serina	- 0,573**	0,510**	- 0,935**	0,539**	0,865**	0,438**	0,020	- 0,300
Histidina	- 0,390*	0,295	- 0,386*	0,378*	0,519**	0,260	0,342*	0,055
Glicina	- 0,321	0,335*	- 0,802**	0,741**	0,740**	0,442**	- 0,013	- 0,081
Treonina	- 0,024	0,496**	- 0,615**	0,641**	0,667**	0,162	- 0,152	- 0,013
Citrulina	0,654**	0,037	0,537**	0,055	- 0,309	- 0,394*	- 0,073	0,432**
Arginina	0,240	0,165	0,422*	0,079	- 0,120	- 0,114	0,301	0,544**
Alanina	0,558**	- 0,199	0,913**	- 0,370*	- 0,660**	- 0,424**	0,190	0,514**
Tirosina	0,540**	- 0,053	0,628**	0,037	- 0,358*	- 0,303	0,131	0,556**
Valina	- 0,065	0,420*	- 0,623**	0,406*	0,565**	0,069	- 0,234	- 0,301
Metionina	0,723**	0,041	0,456**	0,066	- 0,299	- 0,462**	- 0,183	0,307
Triptófano	0,803**	- 0,130	0,644**	- 0,213	- 0,531**	- 0,587**	- 0,286	0,227
Fenilalanina	0,031	0,440**	- 0,416*	0,324	0,429**	- 0,036	- 0,193	- 0,183
Isoleucina	0,076	0,365*	- 0,262	0,031	0,268	- 0,152	- 0,178	- 0,289
Ornitina	- 0,757**	0,440**	- 0,551**	0,334*	0,662**	0,500**	0,315	0,033
Leucina	0,507**	0,137	0,402*	- 0,114	- 0,235	- 0,433**	- 0,088	0,145
Lisina	- 0,471**	0,150	- 0,203	0,392*	0,429*	0,218	0,387*	0,314
AaT <sup>a</sup>	0,282	0,273	0,218	0,240	0,056	- 0,142	0,176	0,428**
Prolina	0,195	0,206	- 0,304	0,492**	0,316	0,078	- 0,201	0,018
AaTPro <sup>b</sup>	0,281	0,279	0,025	0,377*	0,173	- 0,067	0,039	0,310

<sup>a</sup> AaT: aminoácidos totales, <sup>b</sup> AaTPro: aminoácidos totales con prolina.

\* Indica correlación significativa entre el aminoácido y la amina biógena a  $p \leq 0,05$ ; \*\* Indica correlación significativa a  $p \leq 0,01$ .

Por lo general, la histamina es una de las aminas más abundantes en vinos (Glória *et al.*, 1998; Soufleros *et al.*, 1998) y la que más problemas de diversa índole causa en el metabolismo del ser humano (Smit *et al.*, 2008). A pesar de que los valores de histamina fueron del mismo orden que los encontrados por López *et al.* (2012) en vinos de la variedad Tempranillo, en nuestro estudio, únicamente en la campaña 2012 fue tras la etilamina, la amina con mayor presencia en los vinos (Tabla IV.30). Sin embargo, su concentración en los vinos estuvo muy por debajo de los niveles máximos permitidos por determinados países como límite para las importaciones de vinos. Alemania, Holanda, Finlandia, Bélgica, Francia, Canadá y Suiza y Austria determinaron el límite de histamina en vinos en 2, 3, 5, 6, 8, y 10 mg l<sup>-1</sup>, respectivamente (Lehtonen, 1996; Pérez-Hernández *et al.*, 2007).

La concentración de metilamina, cuyo aminoácido precursor es la Gly, no presentó diferencias significativas entre los vinos procedentes de los tratamientos estudiados. Ahora bien, en las campañas 2011 y 2012 esta amina tendió a presentar menor concentración con el tratamiento CB respecto a los vinos de los otros dos tratamientos. Este hecho coincidió con el menor nivel de Gly en las bayas (Tabla IV.24) y en el vino (Tabla IV.28) del tratamiento CB. La metilamina de los vinos del ensayo presentó correlación positiva con el Asp, Ser, Gly, Thr, Val, Phe, Ile y Orn de los mostos (Tabla IV.31).

La descarboxilación de Ala da lugar a la formación de la etilamina, amina volátil que únicamente mostró diferencias significativas entre tratamientos en el año 2010. La menor concentración de etilamina presentada por los vinos procedentes del tratamiento CB se mantuvo, aunque no de forma significativa, durante el resto de campañas (Tabla IV.30). Según Ancín-Azpilicueta *et al.* (2005), la concentración de esta amina biógena depende de la cepa de levadura usada para llevar a cabo la fermentación. Askar y Treptow (1986) propusieron la posibilidad de que además de por la descarboxilación de la Ala, esta amina se generara mediante una transaminación de acetaldehído o de otros compuestos nitrogenados. La etilamina no tiene repercusión a nivel sanitario, sin embargo, puede presentar influencia en el aroma del vino a pesar de que, debido al contenido de etanol y otros compuestos volátiles presentes en el medio, son necesarios niveles altos de esta amina para que los efectos sensoriales negativos que provoca lleguen a apreciarse en un vino (Ough y Daudt, 1981). La etilamina correlacionó

positivamente con la Cit, Arg, Tyr, Met, Trp, Leu y su aminoácido precursor Ala y, de manera negativa, con Asn, Ser, His, Gly, Thr, Val, Phe y Orn (Tabla IV.30). Smit *et al.* (2014) también encontraron relación entre Ala y etilamina en vinos procedentes de viñas sobre las que se aplicaron tres tratamientos de fertilización nitrogenada distintos: 0 y 60 kg N ha<sup>-1</sup> tras floración y otro tratamiento en el que aplicaron 60 kg N ha<sup>-1</sup> en brotación y 90 kg N ha<sup>-1</sup> tras floración, empleando nitrato amónico 27,5 % N.

El efecto provocado por los tratamientos en el viñedo no afectó a la concentración de tiramina en el vino, pero al tercer y cuarto año se observó una tendencia en la que la concentración de esta amina en los vinos del tratamiento CB fue menor respecto a los vinos de los otros dos tratamientos. La tiramina puede provocar problemas en la salud del ser humano ya que actúa de vasoconstrictor (Silla Santos, 1996; Arrieta y Prats-Moya, 2012). La dosis considerada tóxica en bebidas es de entre 25 y 40 mg l<sup>-1</sup> (Soufleros *et al.*, 1998), siendo peligrosos para el consumidor valores de entre 10 y 80 mg l<sup>-1</sup> (Glória *et al.*, 1998). Las correlaciones encontradas entre la tiramina en el vino y los aminoácidos del mosto fueron positivas en el caso de Asn, Ser, His, Gly, Thr, Val, Orn, Lys, Pro y aminoácidos totales con Pro y negativas con Ala (Tabla IV.31).

Los tratamientos ensayados sobre el viñedo no afectaron a la concentración de putrescina del vino (Tabla IV.30). Sin embargo, a partir de la tercera campaña se observó una tendencia de la concentración de esta amina en los vinos de los tratamientos de cubiertas vegetales a disminuir frente a los del tratamiento L. Las bajas concentraciones de Orn en bayas (Tabla IV.24), aminoácido precursor de la putrescina, se reflejaron en la menor concentración de dicha amina observada en las dos últimas campañas del ensayo respecto a la de los dos primeros años. A pesar de que la putrescina no es tóxica para el consumidor, afecta a la calidad sensorial del vino y por ello el control de su concentración es importante ya que, junto con la cadaverina, puede incrementar los efectos negativos de histamina, tiramina y feniletilamina (ten Brink *et al.*, 1990; Straub *et al.*, 1995). La concentración de putrescina en el vino se correlacionó positivamente con Asn, Ser, Hist, Gly, Thr, Val, Phe, Lys, y con Orn, uno de sus precursores y, de manera negativa con la Ala, Tyr y Trp (Tabla IV.31). Sin embargo, al igual que observaron Torrea-Goñi y Ancín-Azpilicueta (2001) y a Smit *et al.* (2014) no hubo correlación significativa con la Arg, precursora de putrescina vía Orn (Mangani *et*

*al.*, 2005; Ferrer *et al.*, 2007; Smit *et al.*, 2008; López *et al.*, 2012). Por otro lado, Adams (1991) y Vaz de Arruda *et al.* (2001) mostraron que el contenido de potasio presente en el suelo del viñedo puede ayudar a estimar la concentración de putrescina en la planta. Por ello, deficiencias de potasio en el suelo están ligadas a aumentos de su concentración. Por su parte, Landete *et al.* (2005) observaron que la concentración de putrescina en el vino depende más de la región geográfica y de la variedad de uva que de las prácticas enológicas. A pesar de que esta amina está considerada como la más abundante en el vino (ten Brink *et al.*, 1990; Halász *et al.*, 1994), en nuestro estudio no lo fue. Además, se observó una importante influencia de la añada en su concentración (Tabla IV.30).

Al igual que en el caso de la putrescina, el efecto provocado por los tratamientos con cubiertas sobre la concentración de cadaverina en los vinos también provocó un cambio de tendencia al tercer año, observándose menor concentración en los vinos del tratamiento CB. En el ensayo no se apreció correlación entre la cadaverina y la Lys, su aminoácido precursor. Sin embargo, dicha amina presentó relación positiva con los aminoácidos Ser, Gly y Orn y negativa con la Cit, Ala, Met, Trp y Leu (Tabla IV.31). Las aminas secundarias como son la putrescina y la cadaverina pueden reaccionar con nitrito formando nitrosaminas, que son sustancias carcinogénicas (ten Brink *et al.*, 1990).

En cuanto al efecto sobre la concentración de la feniletilamina en el vino no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, a pesar de que a partir del año 2010 se apreciaron diferencias entre tratamientos en la concentración en uva de su aminoácido precursor, la Phe. No obstante, a partir del tercer año, las concentraciones de feniletilamina en vinos siguieron una tendencia a presentar valores menores en el tratamiento CB frente a los otros dos tratamientos (Tabla IV.30). Esta amina fue la que menos correlaciones mostró con los aminoácidos, encontrándose únicamente con His y Lys (Tabla IV.31). Las concentraciones de feniletilamina presentes en los vinos estuvieron muy por debajo del límite máximo de 3 mg l<sup>-1</sup> considerado por Soufleros *et al.* (1998) como perjudicial en vinos. Por tanto, los riesgos de problemas sanitarios graves como hipertensión y migrañas, relacionados con la presencia de esta amina en vinos (Radler y Fäth, 1991), fueron bajos.

En relación a la isoamilamina en los vinos, únicamente se detectó en 2009 con el tratamiento CB y en 2010 con el tratamiento L (0,052 y 0,043 mg l<sup>-1</sup>, respectivamente). Probablemente, debido a que esta amina presentó concentraciones por debajo de su límite de cuantificación, la influencia de los tratamientos observada en los años 2010 y 2012 en la concentración de Leu en bayas (Tabla IV.24), precursor de la isoamilamina, e incluso las diferencias presentadas en el año 2012 en vinos (Tabla IV.28), con mayor concentración de Leu en los procedentes del tratamiento TR que en los de los otros tratamientos, no se apreciaron en la concentración de esta amina biógena.

A partir de la tercera campaña, los vinos procedentes del tratamiento CB presentaron menor concentración de aminas totales que los de los otros dos tratamientos, siendo la diferencia significativa en el último año de estudio (Tabla IV.30). Consecuentemente, el impacto negativo de estos compuestos en los vinos, tanto a nivel tóxico-sanitario, como desde el punto de vista sensorial, será menor en los vinos procedentes de cepas que hayan sido cultivadas con cubierta vegetal de cebada en las calles, que en aquellos procedentes de un suelo con trébol o que haya sido labrado. Este hecho está ligado a la nutrición de la cepa que afecta a la concentración y composición en aminoácidos de la baya y, junto con el metabolismo de las levaduras, del vino (Soufleros *et al.*, 1998). Por otro lado, el déficit hídrico no parece tener incidencia en el contenido de aminas biógenas en baya y en vino (Bover-Cid *et al.*, 2006). Sin embargo, Spayd *et al.* (1994) y Soufleros *et al.* (2007) relacionaron la fertilización nitrogenada con incrementos en la concentración de aminoácidos y aminas, apoyando la teoría observada en nuestro ensayo, donde las diferencias significativas en la concentración de aminas biógenas entre tratamientos dependieron del efecto provocado por las cubiertas vegetales sobre la disponibilidad de N en el suelo.

Por otra parte, las correlaciones encontradas entre el total de aminas biógenas en el vino y los aminoácidos del mosto, fueron negativas en el caso de Asp y positivas con Cit, Arg, Ala y Tyr (Tabla IV.31). Además, se observó correlación positiva entre el N.F.A. de los mostos y la suma de aminas biógenas de los vinos. Ahora bien, en el ensayo de fertilización realizado por Smit *et al.* (2014) en California, no encontraron correlación entre ambos parámetros. A pesar de que la principal vía de síntesis de las aminas biógenas es la descarboxilación de sus aminoácidos precursores, las correlaciones encontradas entre el aminoácido precursor y su amina no fueron muy

fuertes lo que, probablemente, pudo ser debido a que existen otras rutas de formación como son la aminación o transaminación de aldehídos y cetonas (Santos, 1996), aunque dichas correlaciones fueron significativas en algunos casos (Tabla IV.31). Así, la concentración de histamina, metilamina, etilamina y putrescina mostró correlación con el contenido de sus aminoácidos precursores (His, Gly, Ala y Orn, respectivamente), como también observaron en el caso de histamina y etilamina Smit *et al.* (2014) en su ensayo de fertilización nitrogenada. Sin embargo, la concentración de tiramina, cadaverina y feniletilamina no presentó correlación con el contenido de sus aminoácidos precursores (Tyr, Lys y Phe, respectivamente).

Por otro lado, como se ha puesto de manifiesto con el estudio de los aminoácidos (Apartado IV.9.1.4, Tabla IV.25) y de acuerdo a lo sugerido por otros autores (Linsenmeier *et al.*, 2008; Smit *et al.*, 2014), el nivel de N total presente en las hojas de la vid, el del mosto y el de los vinos son parámetros caracterizados por el estado N-nutricional de la cepa. La mayor proporción de N en la baya se encuentra en forma de proteínas, aminoácidos y amonio (Bell y Henschke, 2005) y una gran parte de las aminas biógenas se forman y degradan durante las fermentaciones alcohólica y maloláctica de los vinos (Smit *et al.*, 2014). En el ensayo se encontraron relaciones positivas entre el N presente en los tejidos foliares, limbo y pecíolo, determinados tanto en floración como en envero, con la suma de las aminas biógenas en los vinos (Tabla IV.32). Además, en el pecíolo de la hoja muestreado en floración, el N se correlacionó con la metilamina y, en el envero, con la concentración de histamina y de etilamina. El N presente en el limbo en envero correlacionó, además de con la histamina y con la etilamina, con la putrescina, aunque con esta última la correlación fue negativa (Tabla IV.32).

**Tabla IV.32.** Correlación existente entre el % de N de los tejidos foliares (limbo y pecíolo) en floración y en enero y la concentración de aminas biógenas ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los vinos.

	FLORACIÓN		ENVERO	
	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
<b>Histamina</b>	0,270	- 0,015	0,589**	0,438**
<b>Metilamina</b>	- 0,023	0,543**	- 0,269	0,137
<b>Etilamina</b>	0,234	0,239	0,596**	0,365*
<b>Tiramina</b>	0,287	- 0,046	0,045	0,043
<b>Putrescina</b>	- 0,09	0,072	- 0,433**	- 0,142
<b>Cadaverina</b>	0,041	0,016	- 0,253	- 0,230
<b>Feniletilamina</b>	0,022	0,299	- 0,088	- 0,079
<b>Suma de aminas biógenas</b>	0,495**	0,443**	0,541**	0,402*

\* Indica correlación significativa a  $p \leq 0,05$ ; \*\* Indica correlación significativa a  $p \leq 0,01$ .

#### IV.10 ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LOS VINOS

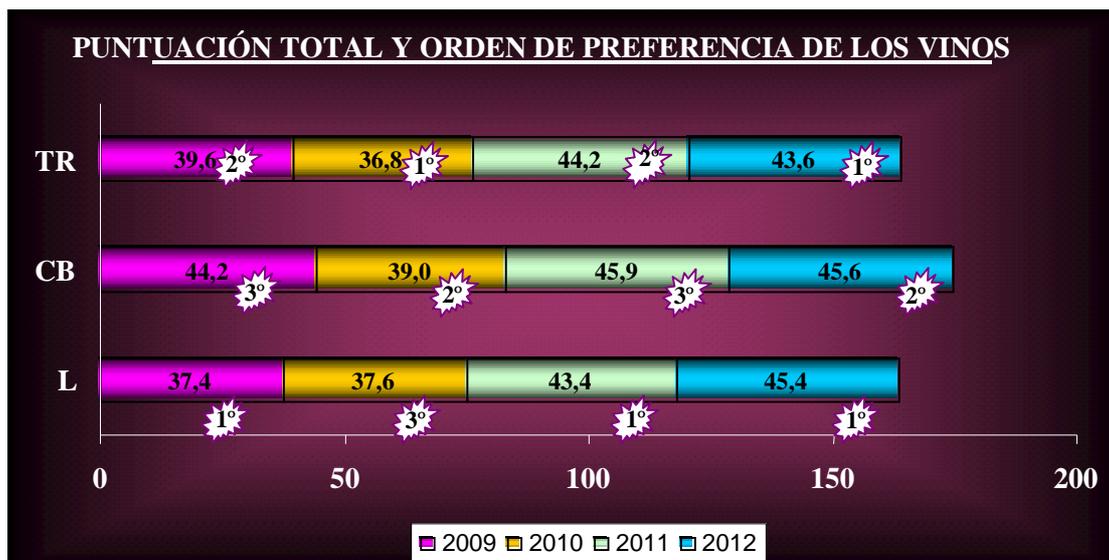
En este apartado se presentan los datos obtenidos del análisis organoléptico realizado por un panel de catadores formado por personal habituado a catar vinos de la D.O.Ca. Rioja. Debido a la dificultad de catar vinos que, como se ha comprobado a lo largo de esta memoria, presentaban parámetros analíticos similares entre sí, la cata se basó en una valoración numérica de la fase visual, olfativa y gustativa de los vinos, así como de su armonía (según la ficha de cata propuesta por el I.N.D.O., Figura III.45), sin especificar descriptores organolépticos concretos.

Por otra parte, el Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja tras un proceso de calificación mediante análisis y catas de un número representativo de muestras de toda la Denominación de Origen, valoró y calificó a los vinos de las campañas en las que se realizó esta Tesis Doctoral, 2009, 2010, 2011 y 2012, como añadas “muy buena, excelente, excelente y muy buena”, respectivamente.

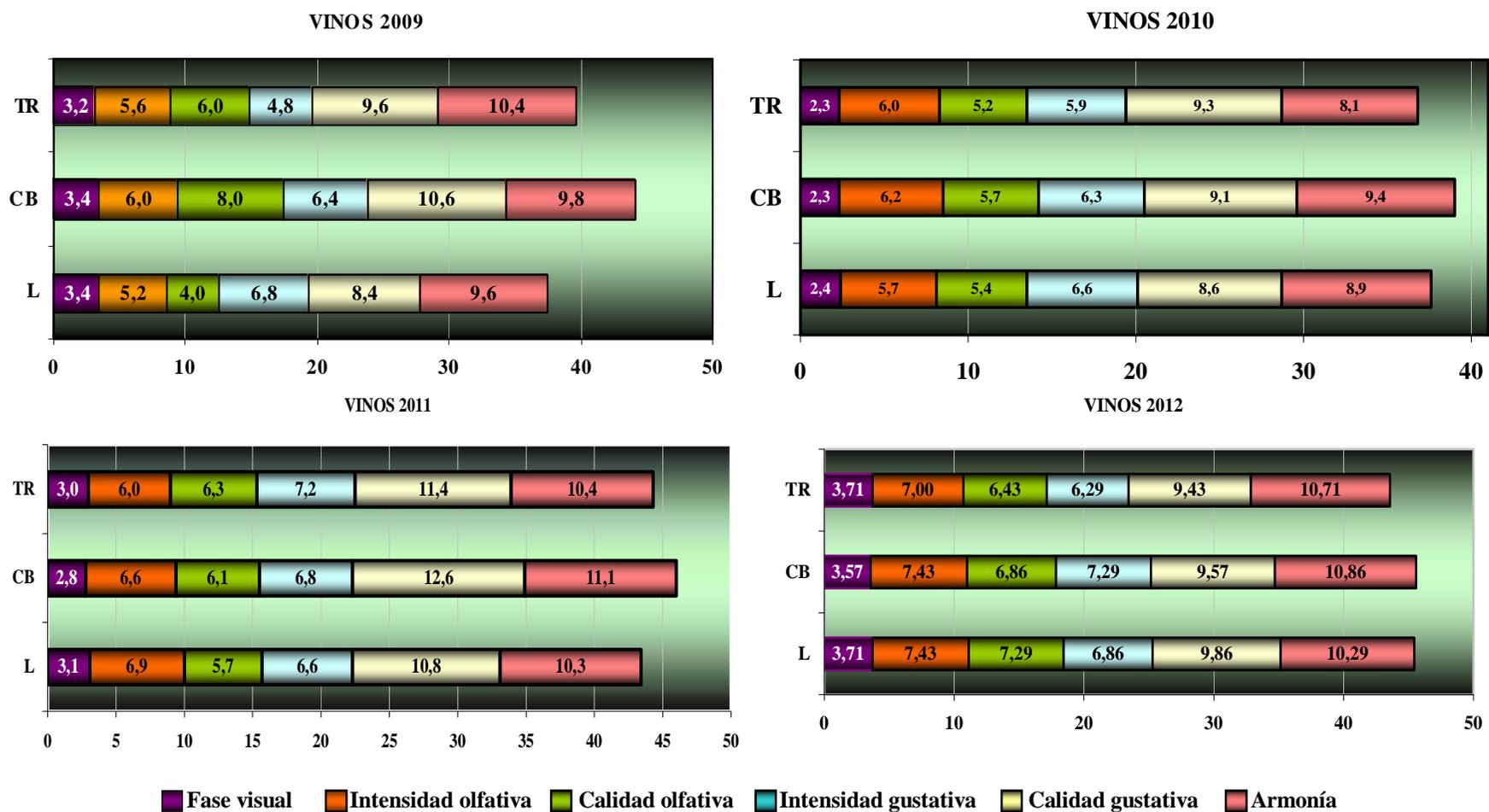
Como se puede apreciar en las Figuras IV.10 y IV.11, la valoración de los vinos de los tres tratamientos fue muy similar (hay que tener en cuenta que mayor puntuación supone peor valoración del vino), por lo que en ninguna campaña se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos. Aún así, en la mayoría de los años la valoración de los vinos del tratamiento L, tanto en puntuación total como en el orden de preferencia mostrado por los catadores, fue mejor que las de los vinos de los tratamientos con las cubiertas vegetales.

Existen pocos ensayos en los que se ha estudiado el mantenimiento del suelo del viñedo con cubiertas vegetales y la correspondiente valoración organoléptica de los vinos. Sin embargo, debido a la mejora, que a largo plazo, provocan las cubiertas en las características estructurales de la pared vegetativa, vigor y rendimiento de las cepas, lo que conlleva una mejora en la calidad de las bayas; la mayoría de los estudios apuestan por una mejora en la calidad sensorial de los vinos con cubiertas vegetales frente a los procedentes de plantas cuyas calles han sido labradas o tratadas con herbicidas. Así, Wheeler *et al.* (2005) encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en vinos de cv. Cabernet Sauvignon procedentes de una parcela situada en una zona

neozelandesa con elevada precipitación, y que fueron catados tras cuatro años de embotellado. En este estudio, los vinos procedentes del tratamiento con achicoria común (*Cichorium intybus* L.) utilizada como cubierta vegetal, presentaron un 61 % más de complejidad aromática y un 58 % más de “flavor” que los vinos procedentes de las plantas sin cubierta vegetal. Además, basándose en los comentarios de los catadores, estos autores describieron los vinos del tratamiento de suelo desnudo con “intensidad más dura”, “vinos menos maduros” y “menos varietales” que los provenientes de los tratamientos con cubiertas vegetales. Asimismo, el panel de catadores del ensayo de Ibáñez (2013), mostró preferencia por los vinos de cv. Tempranillo procedentes de los tratamientos con cubiertas vegetales (uno con cubierta vegetal espontánea y otro tratamiento en el que sembró *Festuca longifolia* los dos primeros años de ensayo, y posteriormente *Bromus catharticus*) frente a los vinos del tratamiento con laboreo. Esta mejor valoración de los vinos de los tratamientos con cubiertas vegetales, fue relacionada con rendimientos y pesos de baya más bajos, así como con un contenido de antocianos más alto respecto a los del laboreo. Si bien, los tratamientos mixtos (en los que se alternaba una calle del viñedo con laboreo y otra con cubierta), no fueron valorados en la cata en una posición intermedia entre los tratamientos con las cubiertas vegetales y el laboreo, como era de esperar, sino que su comportamiento varió en función de la campaña.



**Figura IV.10.** Puntuación total obtenida en los paneles de cata de los vinos procedentes de cada uno de los tratamientos estudiados (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol), en cada año de ensayo (2009-2012). Vinos mejor valorados son aquellos con menor puntuación en cada año. <sup>1º</sup> Orden de preferencia dada por los catadores a un vino respecto a los vinos de los otros tratamientos, en cada campaña (el 1º será el vino preferido en su conjunto por el catador, aunque no tiene por qué ser el mejor valorado por fases).



**Figura IV.11.** Puntuación obtenida en el panel de cata realizado a los vinos de cada tratamiento (L: laboreo, CB: cebada, TR: trébol) en cada uno de los años de ensayo. Vinos mejor valorados son aquellos con menor puntuación en cada fase estudiada (visual, intensidad y calidad olfativa y gustativa y armonía). La ausencia de letras indica que no existieron diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ , usando el test LSD).

## *V. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS*



En este capítulo, se describen las conclusiones generales de la presente Tesis Doctoral en base a los objetivos planteados inicialmente:

### **HUMEDAD DEL SUELO**

1. Las diferencias de humedad encontradas en el suelo entre los tres tratamientos fueron significativas en períodos muy breves del ciclo vegetativo de la vid, debido posiblemente a que el momento de máxima demanda hídrica por parte de las cubiertas vegetales no coincidió con el de la planta.
2. La estacionalidad de las cubiertas vegetales permitió que, durante el período de reposo vegetativo de la vid, el suelo de todos los tratamientos recuperase un nivel de agua estable, por lo que, al comienzo de cada nuevo ciclo se encontrara a capacidad de campo. Sin embargo, a pesar de que la recarga de agua del suelo con las precipitaciones fue similar para los tres tratamientos, la velocidad de agotamiento bajo las cubiertas fue mayor que con el laboreo.
3. La competencia hídrica ejercida sobre el perfil del suelo varió entre campañas, debido a que las condiciones climáticas de cada año condicionaron la brotación de las cubiertas vegetales, además del distinto crecimiento vegetativo y duración del ciclo que presentaban.
4. El trébol se mantuvo vegetativamente activo durante más tiempo, por lo que la competencia por el agua del suelo fue mayor con este tratamiento que con la cebada. Dicha diferencia de humedad se apreció sobre todo en las capas superficiales del suelo, especialmente a 60 cm de profundidad, en la que los suelos con cubierta de trébol se encontraron ligeramente más secos que en los suelos con cebada, cuya diferencia hídrica fue en muy pocas ocasiones significativa respecto al laboreo.
5. En la capa de suelo más profunda (100 cm), las diferencias hídricas entre tratamientos fueron menores, y la variabilidad mayor que en las capas superficiales. Sin embargo, las fluctuaciones hídricas provocadas por las

precipitaciones siguieron la misma tendencia que en las capas más superficiales, aunque en rangos menores. Esta circunstancia se debió a que el uso de las cubiertas vegetales favoreció una mayor infiltración de agua en el suelo, destacando especialmente ese efecto frente al laboreo durante la fase del período de reposo vegetativo de la vid.

6. Por todo ello, las diferencias de disponibilidad hídrica estimadas bajo las cubiertas son reducidas respecto a las necesidades del viñedo durante su ciclo, por lo que pueden ser compensadas por riegos de apoyo.

### DISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES DEL SUELO

7. Los efectos de las cubiertas en el contenido de nitrógeno del suelo se apreciaron al cuarto año de ensayo en la capa superficial del suelo, siendo mayor el nitrógeno total bajo el tratamiento de cubierta con trébol que en los tratamientos de laboreo y cubierta de cebada. Por su parte, la competencia ejercida por la cebada respecto al nitrógeno del suelo, no resultó significativa.
8. La incorporación de la biomasa aérea de las cubiertas vegetales a la superficie del suelo y la posterior mineralización de esa materia orgánica, provocó el aumento del nitrógeno en forma  $\text{N-NH}_4^+$  presente en superficie. Por ello, a pesar del consumo de nitrógeno del suelo realizado por las cubiertas vegetales, en determinados momentos del ciclo de la vid, y en los suelos de ambos tratamientos, se observó un mayor contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  que con el laboreo.
9. La forma de nitrógeno mayoritariamente absorbida por la vid ( $\text{N-NO}_3^-$ ), presentó un pico máximo de disponibilidad en el suelo entre floración y envero, coincidente con la demanda N-nutricional mayoritaria por parte de la vid. En el caso de la cubierta con trébol, al fijar nitrógeno atmosférico, fue capaz de aumentar la disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo en relación al laboreo, desde el segundo año de ensayo. Por el contrario, la disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo con la cubierta de cebada disminuyó en un rango similar al nitrógeno asimilado del suelo por la parte aérea de la cubierta de cebada.

10. El efecto de las cubiertas vegetales sobre la disponibilidad en el suelo de potasio, magnesio y sodio, estuvo marcado por la redistribución de nutrientes al reincorporar los restos aéreos de las cubiertas vegetales tras su siega. Así, una fracción importante de estos macronutrientes tomados del suelo por parte de las cubiertas, retornó de nuevo a la capa superficial tras su agostamiento. En la cuarta campaña, el suelo con cubierta de trébol presentó valores de estos macronutrientes significativamente mayores que bajo la cebada y el laboreo, que a su vez no presentaron diferencias entre sí.
11. La disponibilidad de fósforo y calcio en el suelo no se vió afectada por la presencia de las cubiertas vegetales.

### **COMPETENCIA NUTRICIONAL DE LAS CUBIERTAS**

12. La producción de biomasa aérea desarrollada por las dos cubiertas vegetales en el período de floración de la vid no presentó diferencias entre ambas, no obstante la biomasa varió en las dos cubiertas en función de las condiciones climáticas de cada año.
13. El nitrógeno, potasio, magnesio, calcio, cobre, boro y sodio se encontraron en mayor concentración en la biomasa de la cubierta de trébol que en la de la cebada. Sin embargo, en el caso del hierro y del zinc fue la cebada la que presentó valores mayores de estos nutrientes en su biomasa. El contenido de fósforo y manganeso fue similar en la biomasa aérea de ambas cubiertas vegetales. La distinta sensibilidad y tolerancia de las especies vegetales a la absorción de los nutrientes del suelo y los requerimientos diversos de los mismos por parte de las cubiertas para sus actividades estructurales y de desarrollo, podrían ser los factores determinantes de estas diferencias nutricionales, afectando de manera desigual a la competencia nutricional realizada por las cubiertas vegetales en el viñedo.

### **ESTADO NUTRICIONAL DE LA VID**

14. La concentración de nutrientes presentes en los tejidos foliares fue disminuyendo, excepto en el caso del calcio, manganeso, zinc en el pecíolo y del cobre, a medida que transcurría el ciclo de la vid, debido al efecto de dilución y a la translocación producida desde las hojas maduras hacia los meristemas, hojas jóvenes, bayas y elementos de reserva.
15. En general, el estado nutricional de la vid no se modificó de forma significativa por las cubiertas vegetales debido a que su implantación en el viñedo produjo un reducido efecto en la disponibilidad de los nutrientes del suelo.

### **INCIDENCIA EN LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE LA VID**

16. En la floración del tercer año de ensayo, que fue el de menor precipitación acumulada, la presencia de la cubierta vegetal de cebada afectó al desarrollo longitudinal de los pámpanos, aunque no a su peso.
17. En el año 2011, el peso seco de las hojas de ambos tratamientos con las cubiertas vegetales disminuyó respecto al laboreo. En la floración de 2010, nutrientes como el potasio, magnesio, calcio, zinc, cobre y boro redujeron su concentración en los pámpanos con las cubiertas, especialmente con el trébol. En 2011, el efecto en la concentración de fósforo, calcio, cobre y boro se observó en las hojas, especialmente con la cubierta de cebada. En los racimos, la influencia de las cubiertas vegetales únicamente fue significativa en la concentración de hierro con la cubierta de cebada, en el envero de 2010. Ni el contenido de manganeso ni el de sodio se vió afectado por el uso de las cubiertas vegetales.

### **INCIDENCIA EN LA PRODUCCIÓN Y EN EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LA VID**

18. Las cubiertas no modificaron la producción del viñedo. No obstante, en el último año de ensayo, se observó una tendencia a que el número y peso de los

racimos y la producción unitaria fueran menores con la cubierta de cebada que con el laboreo. Por el contrario, con la cubierta de trébol los valores de estos componentes del rendimiento fueron mayores.

19. El crecimiento vegetativo disminuyó en los dos últimos años de ensayo en las cepas con la cubierta de cebada. La reducción del vigor se observó al disminuir el peso medio del pámpano y el de madera de poda y al aumentar los valores del índice de Ravaz, por lo que resultaron cepas más equilibradas en cuanto a la relación vigor/producción que con los tratamientos de laboreo y cubierta de trébol.

## **INCIDENCIA EN LA COMPOSICIÓN Y CALIDAD DE LA UVA Y DEL MOSTO**

20. Las cubiertas vegetales apenas afectaron a los parámetros generales de los mostos. Únicamente en el año 2010, se evidenció menor peso de las bayas con la cubierta de cebada respecto a los otros dos tratamientos. La ausencia de diferencias entre tratamientos podría estar relacionada con el reducido efecto inducido por las cubiertas vegetales sobre el vigor de la vid.
21. Los parámetros de color del mosto aumentaron en el último año de estudio con el tratamiento de cubierta de cebada si lo comparamos con los otros dos tratamientos. Esta cubierta redujo el contenido de nitrógeno en el suelo, lo que probablemente podría provocar un incremento de la síntesis de polifenoles por parte de la vid. Además, las cubiertas vegetales favorecieron la presencia de antocianos en las bayas respecto al tratamiento de laboreo.
22. Los niveles de nitrógeno fácilmente asimilable (N.F.A.) de los mostos, se vieron afectados por la especie vegetal utilizada como cubierta. Así, con la cubierta de trébol, se observaron niveles superiores de N.F.A. en relación a los otros dos tratamientos, al cuarto año de ensayo. Por su parte, la competencia de la cebada por el nitrógeno del suelo podría ser la causa de la reducción observada en el tercer año de ensayo del nivel de N.F.A., incluso por debajo de los límites recomendados para asegurar un correcto desarrollo de la fermentación. Estas

diferencias de N.F.A. estuvieron más relacionadas con el efecto provocado por las cubiertas vegetales sobre la concentración de los aminoácidos que sobre la concentración del amonio.

23. El perfil aminoacídico mostró que los aminoácidos mayoritarios en las uvas fueron prolina y arginina, aunque en distinto porcentaje según el año, y que el manejo del suelo puede modificar dicho perfil.
24. La ratio prolina/arginina tuvo un valor medio para los cuatro años de 1,08, lo cual permite clasificar a la variedad Tempranillo en el grupo de las variedades acumuladoras de prolina.
25. Las relaciones encontradas entre el nitrógeno presente en los tejidos foliares y los aminoácidos de las bayas, muestran la influencia que tiene la disponibilidad de nitrógeno en el suelo, el cual puede ser modificado por el sistema de manejo del suelo utilizado en el viñedo.

### **INCIDENCIA EN LA COMPOSICIÓN Y EN LA CALIDAD DEL VINO**

26. En los vinos, únicamente se apreciaron diferencias en los parámetros de acidez, principalmente en la campaña 2011, con valores mayores de acidez total y ácido tartárico en los vinos del tratamiento de cubierta con cebada y, en el ácido láctico, que disminuyó con los tratamientos de cubiertas respecto al del laboreo.
27. Los parámetros de color del vino, especialmente el índice de polifenoles totales (I.P.T.) y la tonalidad, siguieron la tendencia mostrada en los mostos, con aumento de I.P.T. y disminución de la tonalidad con vinos procedentes de cepas con la cubierta de cebada especialmente en el último año de ensayo. Por su parte, las cubiertas vegetales no afectaron al contenido de antocianos presentes en el vino.
28. La concentración de aminoácidos en los vinos siguió la misma dinámica que en las bayas. Con la cubierta de cebada, se apreció reducción de la concentración de gran número de aminoácidos, respecto a los otros dos tratamientos. Esta

reducción estuvo relacionada con la menor disponibilidad de nitrógeno que tuvieron estas cepas por la competencia de la gramínea. Con el tratamiento del trébol, se observó un ligero aumento de la concentración de algunos aminoácidos.

29. Los aminoácidos más consumidos durante la fermentación coincidieron con los que se encontraban en mayor concentración en las uvas: arginina, histidina, alanina, serina, ácido glutámico, valina, triptófano y ácido aspártico, variando según la campaña.
  
30. El efecto de las cubiertas vegetales sobre la composición de aminos biógenas presentes en los vinos se apreció, más que a nivel individual de cada una de ellas, en el contenido total. Dicha concentración total fue menor con el tratamiento de cubierta con cebada (en el cuarto año), relacionada con la menor disponibilidad de nitrógeno para las cepas, como consecuencia de la competencia por el nitrógeno de la cebada. Consecuentemente, el impacto negativo que la presencia de estos compuestos puede suponer en el vino, tanto a nivel tóxico-sanitario como desde el punto de vista sensorial y de la calidad del vino, tendrá menor repercusión en los vinos de las cepas del tratamiento con cubierta de cebada, frente a los vinos del tratamiento con cubierta de trébol o del laboreo, a pesar de que en todos los casos, los niveles de aminos biógenas de los vinos se encontraban muy por debajo de los límites marcados como problemáticos en los vinos.
  
31. Las relaciones encontradas entre el nitrógeno presente en los tejidos foliares de la vid, tanto en floración como en envero, y la suma de aminos biógenas de los vinos, confirmaron que el nivel de nitrógeno total presente en las hojas de la vid, en el mosto y en los vinos es un parámetro caracterizado por el estado nutricional de nitrógeno de la cepa.

### **VALORACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL VINO**

32. Los tratamientos con cubiertas vegetales no afectaron a la calidad sensorial de los vinos. No obstante, los vinos de los tratamientos con cubiertas fueron

ligeramente peor valorados que los del tratamiento de laboreo, que fue el vino preferido por los catadores en el mayor número de ocasiones.

### **CONCLUSIÓN FINAL**

El manejo del suelo mediante la técnica de cubiertas vegetales en el viñedo, podría proponerse como un sistema alternativo al laboreo tradicional con el que, en condiciones determinadas, conseguir regular el desarrollo vegetativo así como el rendimiento productivo del viñedo y mejorar la calidad de la uva y del vino. Estos beneficios se unirían a otros como la mejora de la calidad del suelo, la reducción de la erosión o la mejora paisajística que contribuyen a una mayor sostenibilidad del viñedo como “agrosistema”.

Based on the initial objectives, the general conclusions of this Doctoral Thesis are pointed out in this chapter:

### **SOIL MOISTURE**

1. The differences found in soil moisture between the three treatments were only significant at specific periods during the growing cycle of the vine, probably due to the fact that the moment of maximum water demand from the cover crop was not the same as the vine.
2. As the cover crops were seasonal, during the dormancy period of the vine the soil moisture reached a stable level and, at the beginning of each new vegetative cycle, soil was at field capacity in the three treatments. However, although the ground water recharge by rainfall was similar for the three treatments, the rate of drying for the covers was higher than that of tilling.
3. Competition for water within the soil profile changed between years due to the weather conditions affected the time at which the cover crops sprouted as well as their vegetative growth and the duration of their cycle.
4. Clover remained vegetatively active for a longer period of time, so the competition for soil water was higher than that of barley. This moisture difference was observed mainly in the top layers of soil and especially at 60 cm depth, where soils were slightly drier than those of barley. On the other hand, at this horizon depth differences between barley and tillage treatments were most of the times non-significant.
5. For the deeper soil layer (100 cm), soil moisture differences between treatments were lower, and variability was higher than in the topsoil layers. However, the fluctuations in water content caused by rains followed the same trend as in the upper layers, although in smaller ranges, because the use of cover crops improved water infiltration. This effect was especially noticeable during the vine dormancy.

6. Therefore, the volume of water absorbed by the cover crops can be offset by irrigation applied throughout the period of vegetative growth of the vine.

#### AVAILABILITY OF SOIL NUTRIENTS

7. Cover crops effects on nitrogen availability were observed in the fourth year of trial and at the topsoil. Total nitrogen was higher for clover than for barley or tillage. Meanwhile, barley competition for soil nitrogen was not significant.
8. The adding of the cover biomass to the topsoil and subsequent organic matter mineralization provoked the rise of the  $\text{N-NH}_4^+$  in the upper soil layer. Therefore, despite the cover crops nitrogen consumption, a higher content of  $\text{N-NH}_4^+$  was observed at specific times of the cycle when comparing the soils from both cover crops to those of tillage.
9. The form of nitrogen mainly absorbed by the vine ( $\text{N-NO}_3^-$ ) showed a peak of availability between flowering and verasion, coincidental with the higher N demand by the vine. In the case of clover, as it fixes nitrogen from the atmosphere, soil  $\text{N-NO}_3^-$  availability increased from the second year of trial with respect to the tillage treatment. On the other hand, for barley, soil N availability was reduced matching the increase of nitrogen that this cover crop had added previously to the soil.
10. The effect of cover crops on potassium, magnesium and sodium soil availability was affected by a nutrient redistribution after the cover crop remains were added to the soil following mowing. Thus, a significant fraction of these macronutrients, that had been previously taken by the cover crops, returned to the topsoil after withering. In the fourth season, the soil of the clover treatment presented values significantly higher for macronutrients than those under barley and tillage, which did not differ from each other.
11. Soil availability for phosphorus and calcium was not affected by the presence of the cover crops.

### **COVER CROPS NUTRITIONAL COMPETITION**

12. The cover crops biomass production during the vine flowering period did not differ between each other, but the total values were variable depending on the climatic conditions of each season.
13. Nitrogen, potassium, magnesium, calcium, copper, boron and sodium were found in higher concentrations in the clover biomass than in barley. However, barley showed higher values than clover for iron and zinc. The content of phosphorus and manganese was similar in the aboveground biomass of both cover crops. The different sensitivities and tolerances of both cover crops to nutrient absorption as well as their different nutrient requirements to meet their needs, could explain the nutritional differences between both cover crops and, therefore, affect differently the competition they exert over the vineyard.

### **GRAPEVINE NUTRITIONAL STATUS**

14. Nutrient concentration in leaves tissues decreased throughout the vine cycle, except in the case of calcium, manganese, zinc (in petiole) and copper. This was caused by a dilution effect and the nutrient translocation from mature leaves toward the meristems, young leaves, berries and other storage tissues.
15. In general, the nutritional status of the vine was not affected significantly by the cover crops as their implantation had a low impact on soil nutrient availability.

### **IMPACT ON VINE GROWTH PARAMETERS**

16. During bloom of the third year of trial, the one with the lowest accumulated rainfall, competition from the cover crops affected the shoots longitudinal development in the barley treatment, but not their weight.
17. In 2011, the dry weight of leaves from both cover crops was lower than that of tillage. At bloom in 2010, nutrients such as potassium, magnesium, calcium, zinc, copper and boron had a lower concentration in the shoots from both cover

crops treatments, but especially for clover. In 2011, this effect was observed on the concentration of phosphorus, calcium, copper and boron in the leaves, especially for the barley treatment. For bunches, the influence of the cover crops affected significantly only the iron concentration of the barley treatment at the 2010 verasion. The content of either sodium or manganese was not affected by the cover crops.

### **IMPACT ON PRODUCTION AND VEGETATIVE DEVELOPMENT OF THE VINE**

18. Cover crops did not significantly modify the production of the vineyard. However, in the last season, a trend of lower number and weight of bunches and vine production were observed when comparing barley to tillage treatments. By contrast, values for clover for these parameters were slightly higher.
19. Vine vegetative growth declined in the last two years of the experiment for the barley treatment. This reduction in vigour implied a lower weight for both shoot and pruning with respect to the other two treatments –clover and tillage- and, subsequently, higher Ravaz index values, resulting in a better balance between vigour and production for these vines.

### **IMPACT ON GRAPE AND MUST COMPOSITION AND QUALITY**

20. Cover crops affected minimally must parameters. Only in 2010, the barley treatment showed a lower berry weight with respect to the other two treatments. The absence of differences between treatments could be related to low impact that cover crops caused on vine vigour.
21. Must colour parameters increased in the last year of study in the barley treatment. Barley reduced the available soil nitrogen, probably increasing the vine polyphenols synthesis. Additionally, both cover crops showed a higher presence of anthocyanins in berries when compared to tillage.

22. Yeast assimilable nitrogen (YAN) in musts was affected by the plant species used as covers. For the clover treatment, higher levels of YAN were observed in the fourth year. However, in 2011, barley soil nitrogen competition could explain the reduction of the levels of YAN, which were even lower than the limits recommended to ensure a proper fermentation development. These differences in YAN were more related to the effect caused by the cover crops on the must amino acids concentration than on the ammonium concentration.
23. The amino acid profile showed that the main amino acids in the grapes were proline and arginine, although they appeared in different percentages depending on the year. These results could imply that soil management can modify the grapes amino acid profile.
24. Proline to arginine ratio had an average value of 1.08 for the four years of study, which implies that Tempranillo could be classified into the group of proline accumulators.
25. The relationships found between nitrogen in leaf tissue and amino acids in the berries showed the influence of nitrogen availability in the soil. This availability can be modified by the vineyard soil management.

### **IMPACT ON WINE COMPOSITION AND QUALITY**

26. Wines showed differences between treatments only for the acidity parameters and mainly in the 2011 season, with higher values for total acidity and tartaric acid in the barley treatment and lower lactic acid values for both cover crops treatments with respect to tillage.
27. Wine parameters, especially total polyphenol index (TPI) and hue, followed the trend shown in musts, that is an increase of TPI and a decrease of hue for the barley treatment, especially in the last year season. On the other hand, cover crops did not affect the wine anthocyanin content.

28. Amino acids concentration in wines followed the same trend as in berries. The barley cover crop treatment showed a reduction in the concentration of many amino acids with respect to the other two treatments. This reduction was related to the lower soil nitrogen availability for these vines which had to compete for it with the grass. On the other hand, a slight increase in the concentration of some amino acids was observed with the clover treatment.
29. The amino acids which were most highly consumed during the fermentation process were those which had higher concentration in grapes: arginine, histidine, alanine, serine, glutamic acid, valine, tryptophan and aspartic acid, with varying proportions depending on the season.
30. The effect of cover crops on the composition of biogenic amines present in wines was observed, rather than at the individual level, in the total content. This total concentration, was lower for the barley treatment (in 2012), linked to the reduced soil N availability as a result of grass competition. The presence of these compounds has a negative impact on wine, both from a toxic and health point of view, as well as from the quality and organoleptic level, consequently the barley treatment seems to be advantageous with respect to the other two treatments. However, for all treatments, the levels of biogenic amines in wines were well below the limits to be considered as problematic.
31. The relationship found between leaf nitrogen, both at flowering and veraison, and the amount of biogenic amines in wines, confirmed that total amount nitrogen present in the vine leaves as well as in the must and wine, is a parameter determined by the vine N-nutritional status.

### **SENSORY EVALUATION OF THE WINE**

32. Cover crops did not significantly affect the wine organoleptic qualities. In spite of this, wines from the cover crop treatments were rated slightly worse than those from tillage, which was the preferred wine of the panel tasters in a greater number of occasions.

**FINAL CONCLUSION**

Vineyard soil management using cover crops can be employed as an alternative tool to traditional tillage, under certain conditions, in order to regulate the vegetative growth as well as the vineyard yield and to improve grape and wine quality. Cover crops also help to promote the vineyard “ecosystem” sustainability in terms of soil quality, erosion reduction or even improve the landscape.



## ***VI. BIBLIOGRAFÍA***



## A

- Adams, D.O. (1991). Accumulation of putrescine in grapevine leaves showing symptoms of potassium deficiency or spring fever. En: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. Rantz, J. (Ed.). American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, EE.UU. pp. 126-131.
- AENOR (1997). Análisis Sensorial. *Recopilación de Normas UNE*. Ed. AENOR, Madrid, España.
- Aerny, J. (1996). Composés azotés des moûts et des vins. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 28: 161-165.
- Aguirrezábal, F., Sagües, A., Cibrián, F., Suberviola, J., Oria, I. (2012). Ensayos de cubiertas vegetales en viña, 1995-2010. *Navarra Agraria*, 8: 1-16.
- Alcaraz-Ariza, F.J. (2013). Bioclimatología. En: *Geobotánica, Tema 2*. Creative Commons, Stanford, California, EE.UU.
- Alexandre, H., Guilloux-Benatier, M. (2006). Yeast autolysis in sparkling wine: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12: 119-27.
- Álvaro-Fuentes, J., Arrúe, J.L., Gracia, R., López, M.V. (2008). Tillage and cropping intensification effects on soil aggregation: Temporal dynamics and controlling factors under semiarid conditions. *Geoderma*, 145: 390–396.
- Ancín-Azpilicueta, C., Fraile-Jiménez de Maquirriain, P., Garde-Cerdán, T., Torrea-Goñi, D. (2005). Influence of inoculation of selected yeast on the quality of rosé and white wines. En: *Food Research, Safety and Policies*. Arthur P. Riley, Ed. pp. 57-92. Nova Science Publishers, Inc., Nueva York, EE.UU.
- Arrieta, M.P., Prats-Moya, M.S. (2012). Free amino acids and biogenic amines in Alicante Monastrell wine. *Food Chemistry*, 135: 1511-1519.
- Askar, A., Treptow, H. (1986). *Biogene Amine in Lebensmitteln*. Ulmer, Stuttgart, Alemania.
- Aygün, O., Schneider, E., Sheuer, R., Usleber, E., Gareis, M., Märtlbauer, E. (1999). Comparison of ELISA and HPLC for the determination of histamine in cheese. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1961-1964.

## B

---

- Baldini, E. (1992). *Arboricultura general*. 4ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Baeza, P., Sánchez de Miguel, P., Centeno, A., Junquera, P., Linares, R., Lissarrague, J.R. (2007). Water relations between leaf water potential, photosynthesis and agronomic vine response as a tool for establishing thresholds in irrigation scheduling. *Scientia Horticulturae*, 114: 151-158.
- Bahar, E., Yasasin, A.S. (2010). The yield and berry quality under different soil tillage and clusters thinning treatments in grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet-Sauvignon. *African Journal of Agricultural Research*, 5: 2986-2993.
- Barker, A.V., Pilbeam, D.J. (2007). *Handbook of Plant Nutrition*. CRC Press, Taylor and Francis, Boca Ratón, Florida, EE.UU.
- Barre, P., Blondin, B., Dequin, S., Feuillat, M., Sablayrolles, J.M., Salmon, J.M. (1998). La levure de fermentation alcoolique. En: *Oenologie: Fondements Scientifiques et Technologiques*. C. Flanzy Ed. pp. 454-497. Technique et Documentation, París, Francia.
- Bates, T.R., Dunst, R.M., Joy, P. (2002). Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in “Concord” grapevine roots. *HortScience*, 37: 313-316.
- Bell, S.J. (1994). The effect of nitrogen fertilisation on the growth, yield and juice composition of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon grapevines. Tesis Doctoral. Universidad de Western, Perth, Australia.
- Bell, S.J., Henschke, P.A. (2005). Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11: 242-295.
- Bertuccioli, M., Ferrari, S., Gheri, A., Lencioni, L., Zini, S., Porcinai, S. (1999). Relationships between grass cover crop in vineyard and Sangiovese grapes and wines composition in two Chianti classico areas. En: *6<sup>th</sup> Symposium International d’Oenologie, Oenologie 99*. pp. 106-111. Burdeos, Francia.
- Beneduce, L., Romano, A., Capozzi, V., Lucas, P., Barnavon, L., Bach, B., *et al.* (2010). Biogenic amines in wines. *Annals of Microbiology*, 60: 573-578.
- Benton, J. (1998). *Plant Nutritional Manual*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, EE.UU.

- Bhogal, A., Nicholson, F.A., Chambers, B.J. (2009). Organic carbon additions: effects on soil bio-physical and physico-chemical properties. *European Journal of Soil Science*, 60: 276-286.
- Bingham, F.T., Page, A.L., Coleman, N.T., Flach, K. (1971). Boron adsorption characteristics of selected amorphous soils from Mexico and Hawaii. *Soil Science Society of America Proceedings*, 35: 546-550.
- Bisson, L.F. (1991). Influence of nitrogen on yeast and fermentation of grapes. En: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. A.M. Rantz, Ed. pp. 78-89. Seattle, Washington, EE.UU.
- Bisson, L.F. (1999). Stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 107-119.
- Boubals, D. (1991). Techniques d'entretien du sol et environnement. En: *3<sup>rd</sup> International Symposium on no Tillage and other Soil Management Techniques in Vines*. pp. 3-10. Montpellier, Francia.
- Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F., Kunkee, R.E. (1996). Yeast and biochemistry of ethanol fermentation. En: *Principles and Practices of Winemaking*. R.B. Boulton, Ed. pp. 139-172. Chapman and Hall, Nueva York, EE.UU.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the colour of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52: 67-87.
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M.C. (2006). Biogenic mono-, di- and polyamine contents in Spanish wines and influence of a limited irrigation. *Food Chemistry*, 96: 43-47.
- Brady, N.C., Weil R.R. (2002). The nature and properties of soils. 13<sup>th</sup> edition. pp. 498-542. Prentice Hall, Upper Saddle River, Nueva Jersey, EE.UU.
- Branas, J. (1974). Viticulture. Déhan, Montpellier, Francia.
- Brown, J.C., Jolley, V.D. (1988). Strategy I strategy II mechanism affecting iron availability to plants may be established too narrow or limited. *Journal of Plant Nutrition*, 11: 1077-1098.
- Buckman H.O., Brady, N.C. (1991). Naturaleza y propiedades de los suelos. 4<sup>a</sup> Edición. Limusa, México D.F., México.
- Budelman, A. (1989). The performance of selected leaf mulches in temperature reduction and moisture conservation in the upper soil stratum. *Agroforestry Systems*, 8: 53-66.

- Burket, J.Z., Hemphill, D.D., Dick, R.P. (1997). Winter cover crops and nitrogen management in sweet corn and broccoli rotations. *HortScience*, 32: 664-668.
- Bustamante, M.A., Said - Pullicino, D., Agullo, E., Andreu, J., Paredes, C., Moral, R. (2011). Application of winery and distillery waste composts to a Jumilla (SE Spain) vineyard: Effects on the characteristics of a calcareous sandy - loam soil. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 140: 80-87.
- Busto, O., Guasch, J., Borrull, F. (1996). Biogenic amines in wine: A review of analytical methods. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 30: 85-101.

## C

---

- Cadahía, E, Simón, B.F., Sanz, M., Poveda, P., Colio, J. (2009). Chemical and chromatic characteristics of Tempranillo, Cabernet Sauvignon and Merlot wines from D.O. Navarra aged in Spanish and French oak barrels. *Food Chemistry*, 115: 639-669.
- Calderón, F.J., Jackson, L.E., Scow, K.M., Rolston, D.E. (2001). Short-term dynamics of nitrogen, microbial activity, and phospholipid fatty acids after tillage. *Soil Sciences Society of American Journal*, 65: 118-126.
- Carsouille, J. (1995). L'enherbement permanent du vignoble. Influence sur la production viticole et son environnement. *Phytoma*, 478: 38-41.
- Carvajal, M. (2003). Mecanismos de absorción de agua por las plantas. Implicación de las acuaporinas en la fisiología de la vid. [http://www.haro.org/pdf/micaela\\_carvajal.pdf](http://www.haro.org/pdf/micaela_carvajal.pdf)
- Cass, A., McGrath, M.C. (2004). Compost benefits and quality for quality for viticultural soil. En: *Soil Environment and Vineminerol Nutrition Symposium*. pp. 135-143. American Society for Enology and Viticulture, San Diego, California, EE.UU.
- Castelan-Estrada, M. (2001). Répartition de la biomasse chez *Vitis vinifera* L.; rendement de conversion du rayonnement solaire global et coûts énergétiques. Tesis Doctoral, Institut National Agronomique París-Grignon, París, Francia.
- Castro, J. (1993). Control de erosión en cultivos leñosos con cubiertas vegetales vivas. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

- Celette, F., Wery, J., Chatelot, E., Celette, J., Gary, C. (2005). Belowground interactions in a vine (*Vitis vinifera* L.)-tall fescue (*Festuca arundinacea* Shreb.) intercropping system: water relations and growth. *Plant and Soil*, 276: 205-217.
- Celette, F. (2007). Dynamique des fonctionnements hydrique et azoté au sein d'une vigne enherbée sous le climat méditerranéen. Tesis Doctoral, SupAgro, Montpellier, Francia.
- Celette, F., Gaudin R., Gary, C. (2008). Spatial and temporal changes to the water regime of a Mediterranean vineyard due to the adoption of cover cropping. *European Journal of Agronomy*, 29: 153-162.
- Celette, F., Findeling, A., Gary, C. (2009) Competition for nitrogen in an unfertilized intercroppingsystem: The case of an association of grapevine and grass cover in a Mediterranean climate. *European Journal of Agronomy*, 30: 41-51.
- Champagnol, F. (1994). Facteurs agronomiques de l'acidité des moûts et des vins. *Progrés Agricole et Viticole*, 111: 469-481.
- Chaney, K., Swift, R.S. (1984). The influence of organic matter on aggregate stability in some British soils. *Journal of Soil Science*, 35: 223-230.
- Cheng, X., Baumgartner, K. (2004). Arbuscular mycorrhizal fungi-mediated nitrogen transfer from vineyard cover crops to grapes. *Biology and Fertility of Soils*, 40: 406-412.
- Choné, X., van Leeuwen, C., Chery, P.H., Ribéreau-Gayon, P. (2001). Terroir influence on water status and nitrogen status of non irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*): vegetative development, must and wine composition. (Example of a Medoc Top Estate vineyard, Saint Julien area, Bourdeaux, 1997). *South African Journal of Enology and Viticulture*, 22: 8-15.
- Choné, X., Lavigne-Cruege, V., Tominaga, T., van Leeuwen, C., Castagned, C., Saucier, C., Dubourdieu, D. (2006). Effect of vine status on grape aromatic potential: flavor precursors (S-cysteine conjugates), glutathione and phenolic contents in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc grape juice. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 40: 1-6.
- Christensen, P. (1969). Seasonal changes and distribution of nutritional elements in Thompson Seedless grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20: 176-190.

- Christensen, P. (1984). Nutrient level comparisons of leaf petioles and blades in twenty-six grape cultivars over three years (1979 through 1981). *American Journal of Enology and Viticulture*, 35: 124-133.
- Coello, C., Hernández, R., Pino, G. (2007). La política vitivinícola. Capítulo VI. En *Derecho Público de la Comunidad Autónoma de La Rioja. II. Principales Competencias*. Chueca Rodríguez. Monografías/Técnica. Comunidad Autónoma de La Rioja, España.
- Coll, P., Arnal, D., Blanchart, E., Hinsinger, P., Le Cadre, E., Souche, G., Villenave, C. (2009). Viticultural soils quality: benefits of permanent grass cover on soil chemical characteristics and soil biological indicators. *Progrès Agricole et Viticole*, 126: 527-531.
- Cooper, T.G. (1982). Transport in *Saccharomyces cerevisiae*. En: *The Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces. Metabolism and Gene Expression*. J.N. Strathern, E.W. Jones y J.B. Broach, Eds. pp. 399-461. Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York, EE.UU.
- Conradie, W.J. (1980). Seasonal uptake of nutrients by “Chenin blanc” in sand culture: I. Nitrogen. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 1: 59-65.
- Conradie, W.J. (1981). Seasonal uptake of nutrients by “Chenin blanc” in sand culture: II. Phosphorus, potassium calcium and magnesium. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2: 7-13.
- Conradie, W.J. (1986). Utilisation of nitrogen by the grapevine as affected by time of application and soil type. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2: 76-82.
- Conradie, W.J. (2004). Partitioning of mineral nutrients and timing of fertilizer applications for optimum efficiency. En: *Proceedings of the Soil Environment and Vineminer Nutrition Symposium*. pp. 69-81. American Society for Enology and Viticulture, San Diego, California, EE.UU.
- Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja. (2014). Memoria Anual 2013. Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja, Logroño, España.
- Coulon, T.Y., Prud'Homme, P.Y. (2003). Effet d'un enherbement permanent sur la physiologie de la vigne dans les vignobles du Bordelais. *Progrès Agricole et Viticole*, 120: 154-161.
- Crespy, A. (2007). Manuel pratique de fertilisation, qualité des moûts et des vins. Collection Avenir Enologie, Ed. Oenoplurimedia, Chaintré, Francia.

Curtis, M.A. (2013). Influence of cover crop residue management on soil moisture, vine growth, and productivity in a pre-production vineyard in the Willamette valley. Tesis Doctoral, Universidad de Oregón, EE.UU.

## D

Dalland, A., Vaje, P.I., Matthews, R.B., Singh, B.R. (1993). The potential of alley cropping in improvement of cultivation systems in the high rainfall areas of Zambia. III. Effects on soil chemical and physical properties. *Agroforestry Systems*, 21: 117-132.

Delas, J., Molot, C., Soyer, J.P. (1991). Effects of nitrogen fertilization and grafting on the yield and quality of the crop of *Vitis vinifera* cv. Merlot. En: *Proceedings of International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. A.M. Rantz, Ed. pp. 242-248. Seattle, Washintong, EE.UU.

Delas, J. (2000). La fertilisation de la vigne. Editions Feret, París, Francia.

Delgado, R., Martín, P., Del Álamo, M., González, M. (2004). Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilisation rates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 623-630.

Deloire, A., Kraeva, E., Dai, G.H., Renault, A.S., Rochard, J., Chatelain, C., Carbonneau, A., Andary, C. (1998). Les mécanismes de défense de la vigne. Des utilisations possibles pour lutter contre les pathogènes. *Phytoma*, 510: 46-51.

Deloire, A., Ojeda, H., Kraeva, E., Carbonneau, A., Andary, C. (1999). L'Autodefense des baies de raisin: Une nouvelle composante de la qualité? *Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques*, 91: 5-7.

Deloire, A., Carbonneau, A., Wang, Z., Ojeda, H. (2004). Vine and water. A short review. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 38: 1-13.

Deluca, T.H., Keeney, D.R. (1993). Soluble organics and extractable nitrogen in paired prairie and cultivated soils of central Iowa. *Soil Science*, 155: 219-228.

Diago, M.P. (2010). Estudio y desarrollo del deshojado precoz como técnica para el control del rendimiento productivo de la vid (*Vitis vinifera* L.). Efectos sobre el desarrollo vegetativo, los componentes de la producción, así como sobre la composición y la calidad de la uva y del vino. Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja, Logroño, España.

- Dixon, R.A., Xie, D.Y., Sharma, S.B. (2005). Proanthocyanidins- a final frontier in flavonoid research? *New Phytologist*, 165: 9–28.
- Dokoozlian, N., Kliewer, W.M. (1996a). Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121: 869-874.
- Dokoozlian, N.K., Kliewer, W.M. (1996b). Enherbement permanent et fumure azotée sur cv. Gamay dans le Valais Central. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 33: 343-349.
- Dorigoni A., Sicher, L., Monetti, A. (1991). Einfluss verschiedener Bodenpflegesysteme auf die vegetative un generative Leistung der Rebe: Ein Vergleich zwischen kontrollierter Begrünung, Bodenbearbeitung und chemischer Unkrautbekämpfung, *Wein-Wissen*, 46: 108-114.
- Downey, M., Harvey, J., Robinson, S. (2003). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 15-27.
- Downey, M.O., Dokoozlian, N.K., 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.
- Dry, P. (2009). Bunch exposure management: Technical booket. GWRDC, Adelaida, Australia.
- Dry, P.R., Loveys, B.R., McCarthy, M.G., Stoll, M. (2001a) Gestion des stratégies d'irrigation dans les vignobles australiens. *Progès Agricole et Viticole*, 118: 457-470.
- Dry, P.R., Loveys, B.R., McCarthy, M.G., Stoll, M. (2001b). Strategic irrigation management in Australian vineyards. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 35: 129-139.
- Düring, H. (1994). Photosynthesis of undergrafted and grated grapevines: effects of rootstock genotype and plant age. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: 297-299.

**E**

---

- Elliott, E.T. (1986). Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils. *Soil Sciences Society of American Journal*, 50: 727-633.
- Esteban, M.A., Villanueva M.J., Lisarrague J.R. (2001). Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 409-420.
- Evans, C.M., Sparks, D.L. (1983). On the chemistry and mineralogy of boron in pure and mixed systems: a review. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 14: 827-846.

**F**

---

- FAO Penman-Monteith (1998). Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO irrigation and drainage. Allen R.G., Pereira L.S., Raes D., Smith M., Eds. Paper 56. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma, Italia.
- Ferrer, S., Landete, J., Polo, L., Pardo, I. (2007). Las bacterias y su repercusión sobre las aminos biógenas. *Bulletin de l'OIV*, 80: 914-916.
- Filipe-Ribeiro, L., Mendes-Faia, A. (2007). Validation and comparison of analytical methods used to evaluate the nitrogen status of grape juice. *Food Chemistry*, 100: 1272–1277.
- Firestone, M.K. (1982). Biological desnitrification. En: *Nitrogen in Agricultural Soils. Agronomy* 22. F.J. Stevenson, Ed. pp. 289-326. American Society of Agronomy (ASA), Crop Science Society of America (CSSA) y Soil Science Society of America (SSSA), Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Follet, R.F. (2008). Transformation and transport processes of nitrogen in agricultural systems. En: *Nitrogen in the Environment, Sources, Problems, and Management*. 2<sup>nd</sup> edition. J.L. Hatfield y R.F. Follett, Eds. pp. 19-50. Elsevier, Boston, EE.UU.

- Follet, J.R., Follett, R.F., Herz, W.C. (2010). Environmental and human impacts of reactive nitrogen. En *Advances in nitrogen management for water quality*, pp 1-37. J.A., Delgado, R.F. Follett (Eds.). SWCS, Ankeny, Iowa, EE.UU.
- Fourie, J.C., Agenbag, G.A., Louw, P.J.E. (2006) Cover crop management in a Chardonnay/99 Richter vineyard in the coastal region, South Africa. 2. Effect of different cover crop and cover crop management practices on grapevine performance. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27: 178-186.
- Fourie, J.C., Agenbag, G.A., Louw, P.J.E. (2007a). Cover crop management in a Sauvignon Blanc/Ramsey vineyard in the Semi-Arid Olifants river valley, South Africa. 2. Effect of different cover crops and cover crop management practices on grapevine performance. *South African Journal Enology and Viticulture*, 28: 81-90.
- Fourie, J.C., Louw, P.J.E., Agenbag, G.A. (2007b). Cover crop management in a Chardonnay/99 Richter vineyard in the Coastal Region, South Africa. 3. Effect of different cover crops and cover crop management practices on organic matter and macro-nutrient content of a medium-textured soil. *South African Journal Enology and Viticulture*, 28: 61-68.
- Fourie, J.C., Agenbag, G.A., Louw, P.J.E. (2007c) Cover crop management in a Sauvignon blanc/Ramsey vineyard in the Semi-Arid Olifants River Valley, South Africa. 3. Effect of different cover crops and cover crop management practices on the organic matter and macro-nutrient contents of a sandy soil. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 28: 92-100.
- Franzluebbers, A.J., Arshad, M.A. (1996). Water-stable aggregation and organic matter in four soils under conventional and zero tillage. *Canadian Journal of Soil Science*, 76: 387-393.
- Fregoni, M. (1980). Nutrizione e fertilizzazione della vite. Agricole. Boloña, Italia.
- Fregoni, M. (1998) Viticultura di qualità. Informatore Agrario, Italia.
- Fuentes-Yagüe, J.L. (1999). El suelo y sus fertilizantes. 5ª edición. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Fuentes-Yagüe J.L. (2002). Manual práctico sobre utilización de suelo y fertilizantes. Ediciones Mundi-Prensa y Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España.

## G

- Gagnard, J., Huguet, C., Ryser, J.P. (1988). L'analyse du sol et du végétal dans la conduite de la fertilisation: le contrôle de la qualité des fruits. International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants, París, Francia.
- Gallardo, A., Covelo, F., Morillas, L., Delgado, M. (2009). Ciclos de nutrientes y procesos edáficos en los ecosistemas terrestres: especificidades del caso mediterráneo y sus implicaciones para las relaciones suelo-planta. *Ecosistemas*, 18: 4-19.
- García-Escudero, E., Zaballa, O., Lahoz, I., Arroyo, M.C. (2001). Influencia de la variedad en la composición mineral de hojas de vid (*Vitis vinifera* L.) y en la calidad del vino. En: *Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*. pp. 1701-1708. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, Cáceres, España.
- García-Escudero, E., Romero, I., Benito, A., Domínguez, N., Martín, I. (2002). Evaluación del estado nutricional de la variedad Tempranillo en el ámbito de la DOCa Rioja. *Vida Rural*, 342: 24-29.
- García-Escudero, E., Romero, I., Lorenzo, I., García, C., Villar, M.T., López, D., Ibáñez, S., Martín I. (2006). Interpretación del análisis foliar en Tempranillo en la DOCa Rioja. *Cuaderno de Campo*, 34: 35-39.
- García-Escudero, E., Romero, I., Benito, A., Domínguez, N., Martín, I. (2013). Reference levels for leaf nutrient diagnosis of cv. Tempranillo grapevine in the Rioja Appellation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44: 645-654.
- Garde-Cerdán, T., Marsellés-Fontanet, A.R., Arias-Gil, M., Martín-Belloso, O., Ancín-Azpilicueta, C. (2007). Influence of SO<sub>2</sub> on the consumption of nitrogen compounds through alcoholic fermentation of must sterilized by pulsed electric fields. *Food Chemistry*, 103: 771-777.
- Garde-Cerdán, T., Ancín-Azpilicueta, C. (2008). Effect of the addition of different quantities of amino acids to nitrogen-deficient must on the formation of esters, alcohols, and acids during wine alcoholic fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 41: 501-510.

- Garde-Cerdán, T., Martínez-Gil, A.M., Lorenzo, C., *et al.* (2011). Implications of nitrogen compounds during alcoholic fermentation from some grape varieties at different maturation stages and cultivation systems. *Food Chemistry*, 124: 106-116.
- Garde-Cerdán, T., López, R., Portu, J., González-Arenzana, L., López-Alfaro, I., Santamaría, P. (2014a). Study of the effects of proline, phenylalanine, and urea foliar application to Tempranillo vineyards on grape amino acid content. Comparison with commercial nitrogen fertilisers. *Food Chemistry*, 163: 136-141.
- Garde-Cerdán, T., López, R., Garijo, P., González-Arenzana, L., Gutiérrez, A.R., López-Alfaro, I., Santamaría, P. (2014b). Application of colloidal silver versus sulfur dioxide during vinification and storage of Tempranillo red wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20: 51-61.
- Gardini, F., Zaccarelli, A., Belletti, N., Faustini, F., Cavazza, A., Martuscelli, M., Mastrocola, D., Suzzi, G. (2005). Factors influencing biogenic amine production by a strain of *Oenococcus oeni* in a model system. *Food Control*, 16: 609-616.
- Gärtel, W. (1996). Grapes. En: *Nutrient Deficiencies and Toxicities in Crop Plants*. W.F. Bennet, Ed. pp. 177-183. APS Press, St. Paul, Minnesota, EE.UU.
- Gaudillère, J.P., Chantelot, E., Soyer, J.P., Molot, C., Milin, S. (2003). L'azote des feuilles et des moûts, deux indicateurs complémentaires pour évaluer le statut azoté de la vigne. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 37: 91-101.
- Glória, M.B.A., Watson, B.T., Simon-Sarkadi, L. Daeschel, M.A. (1998). A survey of biogenic amines in Oregon Pinot noir and Cabernet sauvignon wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 279-282.
- Gómez Urdáñez, J.L. (2000). El Rioja Histórico. La Denominación de Origen y su Consejo Regulador. Consejo Regulador de la Denominación de Origen Calificada Rioja, Logroño, España.
- González Martínez, M.C. (1990). Métodos analíticos para análisis de suelos. *Colección Información Técnica Agraria. Serie: Agricultura*.
- Gonzalo-Diago, A., Dizy, M., Fernández-Zurbano, P. (2014). Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. *Food Chemistry*, 154: 187-198.
- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., Bending, G.D. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113: 17-35.

- Goulet, E., Dousset, S., Chaussod, R., Bartoli, F., Doledec, A.F., Andreux, F. (2004). Water - stable aggregates and organic matter pools in a calcareous vineyard soil under four soil - surface management systems. *Soil Use and Management*, 20: 318-324.
- Gouthu, S., Skinkis, P.A., Morre, J., Maier, C.S., Deluc, L.G. (2012). Berry nitrogen status altered by cover cropping: Effects on berry hormone dynamics, growth and amino acid composition of Pinot Noir. *Food Chemistry*, 135: 1-8.
- Gregorich, E.G., Carter, M.R., Angers, D.A., Monreal, C.M., Ellert, B.H. (1994). Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 74: 367-385.
- Griebel, T. (1996). Untersuchungen über die Anteile der Transpiration der Rebe und der Evaporation in begrünten Rebbeständen an der Gesamtverdunstung. *Geisenheimer Berichte*, 28: 1-183.
- Grossman, R.B., Reinsch, T.G. (2002). Bulk density and linear extensibility. En: *Methods of Soil Analysis. Part 4. Physical Methods*. Dane J.H. y Topp G.C., Eds. pp. 201-228. Soil Science Society of America Press, Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Grossmann, M., Smit, I., Loëhnertz, O., Ansonge, A. (2007). Biogenic amines and grapes: Effect of microbes and fining agents. *Bulletin de l'OIV*, 80: 245-250.
- Guerra, B., Steenwerth, K. (2012). Influence of floor management technique on grapevine growth, disease pressure, and juice and wine composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63: 149-164.
- Gupta, U.C., Jame, Y.W., Campbell, C.A., Leyshon, A.J., Nicholaichuk, W. (1985). Boron toxicity and deficiency: a review. *Canadian Journal of Soil Science*, 65: 381-409.

## H

---

- Hageman, R.H. (1984). Ammonium versus nitrate nutrition of higher plants En: *Nitrogen in crop production*. R.D. Hauch, Ed. pp. 67-86. American Society of Agronomy (ASA), Crop Science Society of America (CSSA) y Soil Science Society of America (SSSA), Madison, Wisconsin, EE.UU.

- Halász, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W.H. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in foods. *Trends in Food Science and Technology*, 5: 42–49.
- Hanson, E.J., Howell, G.S. (1995). Nitrogen accumulation and fertilizer use efficiency by grapevines in short –season growing areas. *HortScience*, 30: 504-507.
- Hanson, J. (2006). History of tillage. En: *28<sup>th</sup> Annual Zero tillage workshop program*. <http://www.mandakzerotill.org/books/proceedings/Proceedings%202006/History%20of%20tillage.htm>
- Haselgrove, L., Botting, D., van Heeswijck, R., Hoj, P., Dry, P., Ford, C., Iland, P. (2000). Canopy microclimate and berry composition: The effect on bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6: 141-149.
- Hatch, T.A., Hickey, C.C., Wolf, T.K. (2011). Cover crop, rootstock, and root restriction regulate vegetative growth of Cabernet Sauvignon in a humid environment. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62: 298-311.
- Hatcher, J.T., Bower, C.A. (1958). Equilibry and dynamics of boron adsorption by soils. *Soil Science*, 85: 319-323.
- Havlin, J.L., Beaton, J.D., Tisdale, S.L., Nelson, W.L. (1999). Nitrogen. En: *Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management*. Tisdale, S.L. Ed. pp. 86-153. Prentice-Hall, Inc. Simon and Schuster/A Viacom Company Upper Saddle River, Nueva Jersey, EE.UU.
- Haynes, R.J. (1986). Origin, distribution and cycling of nitrogen in terrestrial ecosystems. En: *Mineral nitrogen in the plant-soil system. Physiological ecology*. R.J. Haynes, Ed. pp. 1-51. Academic press, Orlando, EE.UU.
- Hernández, A.J., Lacasta, C., Pastor, J. (2000). Cubiertas vegetales para un viñedo ecológico en zonas semiáridas. En: *Actas del IV Congreso SEAE*, Córdoba, España.
- Hernández-Orte, P., Ibarz, M.J., Cacho, J., Ferreira, V. (2005). Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chemistry*, 89: 163-174.
- Hidalgo, J. (2006). Calidad del vino desde el viñedo. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.

- Hilbert, G., Soyer, J., Molot, C. (1999). Influence of soil management practices on the anthocyanins composition of grape berries. En: *6<sup>th</sup> Symposium International d'oenologie, Oenologie*, 99. pp. 102-105, Burdeos, Francia.
- Hilbert, G., Soyer, J. P., Molot, C., Giraudon, J., Milin, S., Gaudillère, J.P. (2003). Effects of nitrogen supply on must quality and anthocyanin accumulation in berries of cv. Merlot. *Vitis*, 42: 69–76.
- Hinojosa, G., Pino, C. (2000). Cultivo de cobertura en viñas. *Chile Agrícola*, 25: 23-26.
- Hirschfeld, D.J. (1998). Soil fertility and vine nutrition. En: *Cover Cropping in Vineyards*. Ingels C.A., Bugg R.L., McGourty G.T, Christensen L.P., Eds. pp. 61-68. Oakland, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, California, EE.UU.
- Holzappel, B., Treeby, M. (2007): The effect of nitrogen application on the nitrogen status and juice composition of Shiraz grafted on three rootstocks. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13: 14 -22.
- Hopkins, B.G., Jolley, V.D., Brown, J.C. (1992). Plant utilization of iron solubilized by oat phytosiderophore. *Journal of Plant Nutrition*, 15: 1599-1612.
- Hopkins, W.G. (2003). *Physiologie végétale*. Ed. De Boeck and Larcier, Bruselas.
- Huang, Z., Ough, C.S. (1989). Effect of vineyards locations, varieties and rootstocks on the juice amino acid composition of several cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40: 135–139.
- Huang, Z., Ough, C.S. (1991). Amino acids profiles of commercial grape juices and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42: 261-267.
- Hudson, B.D. (1994). Soil organic-matter and available water capacity. *Journal of Soil and Water Conservation*, 49: 189-194.
- Huglin, P. (1978). Nouveau mode d'évaluation des possibilités héliothermiques d'un milieu viticole. En: *Symposium International sur l'Écologie de la Vigne, volumen I*. pp. 89-98. Ministère de l'Agriculture et de l'Industrie Alimentaire, Constanța, Rumanía.
- Hunter, J.J. (1998). Plant spacing implications for grafted grapevine. II. Soil water, plant water relations, canopy physiology, vegetative and reproductives characteristics, grape composition, wine quality and labour requirements. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 19: 35-51.

## I

---

- Ibáñez, S. (2013). Gestión del suelo en viñedo mediante cubiertas vegetales. Incidencia sobre el control del rendimiento y del vigor. Aspectos ecofisiológicos, nutricionales, microclimáticos y de calidad del mosto y del vino. Tesis Doctoral, Universidad de La Rioja.
- Ingels, C.A., Scow, K.M., Whisson, D.S., Drenovsky, R.E. (2005). Effects of cover crops on grapevines, yield, juice composition, soil microbial ecology, and gopher activity. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56: 19-29.
- Instituto Tecnológico Geominero de España, (1990). Mapa geológico de España 1:50.000. Hoja 203 (Nájera). Madrid, España.

## J

---

- Jackson, R.S. (2008). Wine Science. Principles and Applications. 3ª edición. Elsevier inc. San Diego, California, EE.UU.
- Jackson, M.G., Timberlake, C.F., Bridle, P., Vallis, L. (1978). Red wine quality correlations between color, aroma and flavor and pigment and other parameters of young Beaujolais. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29: 715-72.
- Jackson, D.I., Lombard, P.B. (1993) Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality - A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44: 409-430.
- Jensen, J.S., Demiray, S., Egebo, M., Meyer, A.S. (2008). Prediction of wine color attributes from the phenolic profiles of red grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 1105-1115.

## K

---

- Kaplan, D.I., Burkman, W.G., Adriano, D.C., Mills, G.L., Sajwan, K.S. (1990). Determination of boron in soils containing inorganic and organic boron sources. *Soil Science Society of America Journal*, 54: 708-714.

- Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F., Schuman, G.E. (1997). Soil quality: A concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Science Society of America Journal*, 61: 4-10.
- Keller, M., Hess, B., Schwager, H., Koblet, W. (1995). Carbon and nitrogen partitioning in *Vitis vinifera* L.: responses to nitrogen supply and limiting irradiance. *Vitis*, 34: 19-26.
- Keller, M., Arnink, K.J., Hrazdina, G. (1998). Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison: I. Effects on grapevine growth, fruit development, and ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 333-340.
- Keller, M., Hrazdina, G. (1998). Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 341-349.
- Keller, M. (2010). The science of grapevines: anatomy and physiology. Academic Press, London, Reino Unido.
- Kennedy, A.J., Matthews, M.A., Waterhouse, A. (2002). Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 269-274.
- Kenney, D.R., Hatfield, J.L. (2008). The nitrogen cycle, historical perspective, and current and potential future concerns. En: *Nitrogen in the environment, Sources, Problems, and Management*, 2<sup>nd</sup> edition. J.L. Hatfield, R.F. Follett, Eds. Pp. 1-18. Elsevier, Boston, EE.UU.
- Khan, M.I.A., Ryan, J. (1978). Manganese availability of calcareous soils of Lebanon. *Agronomy Journal*, 70: 411-414.
- Kirschbaum, J., Rebscher, K., Brückner, H. (2000). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in fermented foods after derivatization with 3,5-dinitrobenzoyl chloride. *Journal of Chromatography A*, 881: 517-530.
- Kibblewhite, M.G., Ritz, K., Swift, M.J. (2008). Soil health in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B - Biological Sciences*, 363: 685-701.

- Kliewer, W.M. (1971). Effect of nitrogen on growth and composition of fruit from “Thompson seedless” grapevines. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences*, 96: 816-819.
- Kliewer, W.M. (1977). Influence of temperature, solar radiation and nitrogen on coloration and composition of *Emperor* grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 96–103.
- Kliewer, W.M, Cook, J.A. (1971). Arginine and total free amino acids as indicators of the nitrogen status of grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 96: 581-587.
- Kliewer, W.M., Cook, J.A. (1974). Arginine levels in grape canes and fruits as indicators of nitrogen status of vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25: 111–118.
- Kliewer, W.M., Bogdanoff, C., Benz, M. (1991). Responses of Thompson Seedless grapevines trained to single and divided canopy trellis systems to nitrogen fertilisation. En: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. J.M. Rantz, Ed. pp. 282-289. American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, EE.UU.
- Koes, R., Quattrocchio, F., Mol, J. (1994). The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution. *BioEssays*, 16: 123-132.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F. (2006). World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15: 259-263.
- Koundouras, S., van Leeuwen, C., Seguin, G., Glories, Y. (1999). Influence de l'alimentation en eau sur la croissance de la vigne, la maturation en eau sur la croissance de la vigne, la maturation des raisins et les caractéristiques des vins en zone méditerranéennes. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 33: 143-160.
- Kruger, F.J., Mitchell, D.T., Jarvis, J.U.M. (1983). Mediterranean-Type Ecosystems: The Role of Nutrients. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlín, Alemania.
- Krull, E.S., Baldock, J.A., Skjemstad, J.O. (2003). Importance of mechanisms and processes of stabilisation of soil organic matter for modelling carbon turnover. *Functional Plant Biology*, 30: 207-222.

- Kuo, S. (1996). Phosphorus. En: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. D.L. Sparks *et al.*, Eds. Soil Science Society of America (SSSA), Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Kuo, S., Sainju, U.M., Jellum, E. J. (1996). Winter cover cropping influence on nitrogen mineralization and corn yields. *Soil Biology and Fertility*, 22: 310-317.

## L

- Lal, R. (1989a). Agroforestry systems and soil surface management of a tropical alfisol: II.-Water runoff, soil erosion and nutrient loss. *Agroforestry Systems*, 8: 97-111.
- Lal, R. (1989b). Agroforestry systems and soil surface management of a tropical alfisol: III.- Changes in soil chemical properties. *Agroforestry Systems*, 8: 113-132.
- Lang, R. (1915). Versuch einer exakten Klassifikation der Boden in klimatischer und geologischer. Attempt to an exact classification in climatic and geological regard. *International Mitteil Bodenk*, 5: 312-346.
- Landete, J.M., Ferrer, S., Polo, L., Pardo, I. (2005). Biogenic amines in wines from three Spanish regions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 1119-1124.
- Landete, J.M., Pardo, I., Ferrer, S. (2006). Histamine, histidine, and growth-phase mediated regulation of the histidine decarboxylase gene in lactic acid bacteria isolated from wine. *FEMS Microbiology Letters*, 260: 84-90.
- Landete, J.M., Ferrer, S., Pardo, I. (2007). Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. *Food Control*, 18: 1569-1574.
- Lanini, W.T., Elmore, C.E., Shirbbs, J.M. (1991). Esperienze acquisite negli USA sulla pacciamatura del terreno nei frutteti. *Revista di Frutticoltura*, 4: 19-25.
- Larchevêque, C., Casanova, A., Dupuch, V., Renard, R. (1998). Influence de la fumure azotée sur une vigne de *Vitis vinifera* L. var. Merlot avec enherbement permanent (composition azotée, nature et teneur des acides aminés des moûts et des vins. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 32: 27-43.
- Larrea Redondo, A. (1974). Notas sobre Historia y Geografía del Vino de Rioja. *Berceo*, 87: 209-219.
- Le Bissonais, Y., Lecomte, V., Cerdan, O. (2004). Grass strip effects on runoff and soil loss. *Agronomie*, 24: 129-136.

- Lee, J., Keller, K.E., Rennaker, C., Martin, R.R. (2009). Influence of grapevine leafroll associated viruses (GLRaV-2 and -3) on the fruit composition of Oregon *Vitis vinifera* L. Cv. Pinot noir: free amino acids, sugars, and organic acids. *Food Chemistry*, 117:99–105.
- Lee, J., Schreiner, R.P. (2010). Free amino acid profiles from 'Pinot noir' grapes are influenced by vine N-status and sample preparation method. *Food Chemistry*, 119: 484-489.
- Lee, J., Steenwerth, K.L. (2011). Rootstock and vineyard floor management influence on 'Cabernet Sauvignon' grape yeast assimilable nitrogen (YAN). *Food Chemistry*, 127: 926-933.
- Le Goff-Guillou, I., Marsault, J., Riou, C. (2000). Impacts de l'enherbement sur le fonctionnement de la vigne, la composition des moûts, les durées de fermentation et la qualité des vins. *Progrés Agricole et Viticole*, 117: 103-110.
- Lehtonen, P. (1996). Determination of amines and amino acids in wine-a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 127-133.
- Lejon, P.H., Sebastia, J., Lamy, I., Chaussod, R., Ranjard, L. (2007). Relationships between soil organic status and microbial community density and genetic structure in two agricultural soils submitted to various types of organic management. *Microbial Ecology*, 53: 650-663.
- Linares, R. (2009). Estudio del empleo de cubiertas vegetales temporales para la regulación del régimen hídrico, crecimiento y manejo sostenible del viñedo. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, España.
- Lindsay, W.L. (1991). Micronutrients in agriculture. Soil Science Society of America (SSSA), Madison, EE.UU.
- Linsenmeier, A.W., Loos, U., Löhnertz, O. (2008). Must composition and nitrogen uptake in a long-term trial as affected by timing of nitrogen fertilization in a cool-climate Riesling vineyard. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59: 255-264.
- Lipka, Z., Tanner, H. (1974). Une nouvelle méthode de dosage de l'acide tartarique dans les moûts, les vins et autres boissons (selon Rebelein). *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, VI: 5-10.
- Lombard, P., Price, S., Wilson, W., Watson, B. (1988). Grass cover crops in vineyards. En: *Proceedings of the Second International Symposium for Cool Climate*

- Viticulture and Enology*. R. Smart et al. Eds. pp.152-155. New Zealand Society for Viticulture and Enology, Auckland, Nueva Zelanda.
- Lonvaud-Funel, A. (2001). MiniReview. Biogenic amines in wines: role of lactic acid Bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 199: 9-13.
- Loomis, R.S., Connor, D.J. (2002). Procesos del nitrógeno. En: *Ecología de Cultivos. Productividad y Manejo en Sistemas Agrícolas*. pp. 215-247. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Lopes, C., Montero, A., Rückert, E., Gruber, B, Steinberg, B., Schultz, H.R. (2004). Transpiration of grapevines and co-habiting cover crop and weed species in vineyard. A “snapshot” at diurnal trends. *Vitis*, 24: 111-117.
- Lopes, CM., Monteiro, A., Machado, J.P., Fernandes, N., Araújo, A. (2008). Cover cropping in a slopping non-irrigated vineyard: II- Effects on vegetative growth, yield, berry and wine quality of Cabernet Sauvignon grapevines. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 23: 37-43.
- Lopes, C.M., Santos, T.P., Monteiro, A., Rodrigues, M.L., Costa, J.M., Chaves, M.M. (2011). Combining cover cropping with deficit irrigation in a Mediterranean low vigor vineyard. *Scientia Horticulturae*, 129: 603-612.
- López, R., López-Alfaro, I., Gutiérrez, A.R., Tenorio, C., Garijo, P., González-Arenzana, L., Santamaría, P. (2011). Malolactic fermentation of Tempranillo wine: Contribution of the lactic acid bacteria inoculation to sensory quality and chemical composition. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 2373 -2381.
- López, R., Tenorio, C., Gutiérrez, A.R., Garde-Cerdán, T., Garijo, P., González-Arenzana, L., López-Alfaro, I., Santamaría, P. (2012). Elaboration of Tempranillo wines at two different pHs. Influence on biogenic amine contents. *Food Control*, 25: 583-590.
- López-Vélez, M., Martínez-Martínez, F., Del Valle-Ribes, C. (2003). The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. *Food Science Nutrition*, 43: 233-244.
- Lorrain, B., Chira, K., Teissedre, P.L. (2011). Phenolic composition of Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009 vintage: Comparison to 2006, 2007, and 2008 vintages. *Food Chemistry*, 126: 1991-1996.

- Löhnertz, O. (1991). Soil nitrogen and the uptake of nitrogen in grapevines. En: *Proceedings of the Internacional Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. J.M. Rantz, Ed. pp. 1-11. American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, EE.UU.
- Löhnertz, O., Prior, B., Bleser, M., Lisenmeier, A. (2000). Influence of N-supply and soil management on the nitrogen composition of grapes. *Acta Horticulturae*, 512: 55-64.
- Lovelle, B.R., Soyer J.P, Molot C. (2000). Nitrogen availability in vineyard soils according to soil management practices. Effects on vine. *Acta Horticulturae*, 526: 277-285.

## M

---

- Mabrouk, H., Sinoquet, H. (1998). Indices of light microclimate and canopy structure of grapevines determined by 3D digitising and image analysis, and their relationship to grape quality. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4: 2-13.
- Maigre, D. (2002). Comportement du Pinot noir en présence d'enherbement permanent et influence de la fumure azotée. 2. Résultats analytiques et organoleptiques. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 34: 239-244.
- Maigre, D., Aerny, J., Murisier, F. (1995). Entretien des sols viticoles et qualité des vins de Chasselas: influence de l'enherbement permanent et de la fumure azotée. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 27: 237-251.
- Maigre, D., Aerny, J. (2001). Enherbement et fumure azotée sur cv. Gamay dans le Valais central. Résultats analytiques et organoleptiques. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 33: 199-204.
- Mangani, S., Geurrini, S., Granchi, L., Vincenzini, M. (2005). Putrescine accumulation in wine: role of *Oenococcus oeni*. *Current Microbiology*, 51: 6-10.
- Marqués, M.J., García-Muñoz, S., Muñoz-Organero, G., Bienes, R. (2009). Soil conservation under grass cover in hillside vineyards under mediterranean climate. *Land Degradation and Development*, 20: 1-13.
- Marschner, H., Röemheld, V., Kissel, M. (1986). Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *Journal of Plant Nutrition*, 9: 695-713.

- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2<sup>th</sup> Edition. Academic Press limited, Londres, Reino Unido.
- Martínez, J., Rubio-Bretón, P. (2013). Composición fenólica no antociánica en vinos de Tempranillo de la D.O.Ca. Rioja. Efecto de la añada, el empleo de microoxigenación y la crianza en barrica. En: *Zubía. Revista de Ciencias. Monográfico 25*. pp. 31-45. Instituto de Estudios Riojanos (IER), Logroño, España.
- Martínez-Casasnovas, J.A., Ramos, M.C. (2009). Soil alteration due to erosion, ploughing and levelling of vineyards in north east Spain. *Soil Use and Management*, 25: 183-192.
- Martínez de Toda, F. (1991). Biología de la vid. Fundamentos biológicos de la viticultura. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Martínez-Gil, A.M., Garde-Cerdán, T., Lorenzo, C., Lara, J.F., Pardo, F., Salinas, R. (2012). Volatile compounds formation in alcoholic fermentation from grapes collected at 2 maturation stages: influence of nitrogen compounds and grape variety. *Journal of Food Science*, 71: 71-79.
- Martínez-Rodríguez, A., Carrascosa, A.V., Polo, M.C. (2001). Release of nitrogen compounds to the extracellular medium by three strains in *Sacharomyces cerevisiae* during induced autolysis in a model wine system. *International Journal of Food Microbiology*, 68: 155-60.
- Martonne, De E. (1926). Une nouvelle fonction climatologique: L'indice d'aridité. *La Meteorologie*, 2: 449-458.
- Mary, B., Beaudoin, N., Justes, E., Machet, J.M. (1999). Calculation of nitrogen mineralization and leaching in fallow soil using a simple dynamic model. *European Journal of Soil Science*, 50: 549-556.
- Matejovic, I. (1997). Determination of carbon and nitrogen in samples of various soils by the dry combustion. *Communications of Soil Science and Plant Analysis*, 28: 17-18.
- Mateus, N., Machado, J.M., De Freitas, V. (2002). Development changes of anthocyanins in *Vitis vinifera* grapes grown in the Douro Valley and concentration in respective wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1689-1695.
- Matthews, M.A., Anderson, M., Shultz, H. (1987). Phenologic and growth responses to early and late season water deficits in Cabernet franc. *Vitis*, 26: 147-160.

- Matthews, M.A., Ishii R., Anderson M.M., O'Mahony M. (1990). Dependence of wine sensory attributes on vine water status. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51: 321-335.
- Mauri, P.V., Vergara, G. (2003). Variedades del IMIA: cebada. *Boletín Agrario*, 39: 30-56.
- May, P. (2000). From bud to berry, with special reference to inflorescence and bunch morphology in *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6: 82-98.
- Mayse, M., Striegler, K., O'keefe, W., Pérez-Muñoz, V., García, F., Njoko, M. (1995). Sustainable viticultura practices in San Joaquin Valley of California. En: *Viticultura and Enology Research Center*, [www.cati.edu](http://www.cati.edu).
- Mazza, G. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35: 341-371.
- McCarthy, M.G, Dry, P.R., Hayes, P.F., Davidson, D.M. (1992). Soil management and frost control. En: *Viticulture*. R.G. Coombe y P.R. Dry, Eds. pp. 148-177. Winetitle, Adelaida, Australia.
- McDonald, M.S., Hughes, M., Burns, J., Lean, M.E.J., Matthews, D., Crozier, A. (1998). Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 368-375.
- Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 soil test extractant: a modification of Mehlich 2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 15: 1409-1416.
- Meisinger, J.J., Randall, G.W. (1991). Estimating nitrogen budgets for soil-crop systems. En: *Managing Nitrogen for Groundwater Quality and Farm Profitability*. R.F. Follet, D.R. Keeney y R.M. Cruse, Eds. pp. 85-124. Soil Science Society of America (SSSA), Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Millard, P., Neilsen, G.H. (1989). The influence of nitrogen supply on the uptake and remobilization of stored N for seasonal growth of apple trees. *Annals of Botany*, 63: 301-310.
- Merwin, I.A., Stiles, W.C. (1994). Orchard groundcover management impacts on soil physical properties. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119: 216-222.
- Montecinos, C. (1998). Fertilidad en la agricultura orgánica. *Chile Agrícola*, 235: 247-251.

- Monteiro, A., Lopes, C.M. (2007). Influence of cover crop on water use and performance of vineyard in Mediterranean Portugal. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 121: 336-342.
- Moreno, F., Pelegrin, F., Fernández, J.E., Murillo, J.M. (1997). Soil physical properties, water depletion and crop development under traditional and conservation tillage in southern Spain. *Soil and Tillage Research*, 41: 25-42.
- Moreno-Arribas, V., Pueyo, E., Polo, M.C., Martín-Álvarez, P.J. (1998). Changes in the amino acid composition of the different nitrogenous fractions during the aging of wine with yeast. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 70: 309–317.
- Moreno-Arribas, V., Torlois, S., Joyex, A., Bertrand, A., Lonvaud-Funel, A. (2000). Isolation, properties and behaviour of tyramine-producing lactic acid bacteria from wine. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 584-593.
- Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer, Nueva York, EE.UU.
- Moret, D., Arrue, J.L, López, M.V., García, R. (2006). Influence of fallowing practices on soil water and precipitation storage efficiency in semiarid Aragon (NE Spain). *Agricultural Water Management*, 82: 161-176.
- Morlat, R. (1987). Influence du mode d'entretien du sol sur l'alimentation en eau de la vigne en Anjou. Conséquences agronomiques. *Agronomie*, 7: 183-191.
- Morlat, R., Jacquet, A., Asselin, C. (1993a). Principaux effets de l'enherbement permanent contrôle du sol dans un essai de longue durée en Anjou. *Progrès Agricole et Viticole*, 110: 406-410.
- Morlat, R., Jacquet, A., Asselin, C. (1993b). L'enherbement permanent contrôlé des sols viticoles: principaux résultats obtenus en Anjou. En: *Proceedings del 7éme Colloque Viticole et Œnologique*. pp. 89-95. GESCO, Rheims, Francia.
- Morlat, R., Jacquet, A. (2003). Grapevine root system and soil characteristics in a vineyard maintained long-term with or without interrow sward. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54: 1-7.
- Morlat, R., Bodin, F. (2006). Characterization of viticultural terroirs using a simple field model based on soil depth- II. Validation of the grape yield and berry quality in the Anjou vineyard (France). *Plant and Soil*, 281: 55-69.
- Morris, J.R., Cawthon, D.L., Fleming, J.W. (1980). Effects of high rates of potassium fertilization on raw product quality and changes in pH and acidity during storage

- of Concord grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31: 323–328.
- Mpelasoka, B.S., Schachtmann, D.P., Treeby, M.T., Thomas, M.R. (2003). A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 154–168.
- Moyano, A., Prieto, A., Gallardo, J.F., Santa Regina, I. (1989). Boro hidrosoluble en suelos del centro-oeste semiárido de España y su relación con los parámetros edáficos. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 4: 109-115.
- Mullins, M.G., Bouquet, A., Willians, L.E. (1998). *Biology of Horticultural Crops. Biology of the Grapevine*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Mulvaney, R.L. (1996). Nitrogen–Inorganic forms. En: *Methods of Soil Analysis. Part 3*. D.L. Sparks et al., Eds. pp. 1123-1184. Soil Science Society of America (SSSA), Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Mundy, D.C. (2009). Why is nitrogen important for wine grape production? *Plant and Food Research*, 1: 1-4.
- Munsell Soil Color Charts (1998). Munsell, Color. Revised Washable Edition. Nueva York, EE.UU.
- Murphy, J., Riley, J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31–36.

## N

---

- Nadal, M., Arola, L. (1995). Effects of limited irrigation on the composition of must and wine of Cabernet Sauvignon under semi-arid conditions. *Vitis*, 34: 151-154.
- Naguib, K., Ayesh, A.M., Shalaby, A.R. (1995). Studies on the determination of biogenic amines in foods. 1. Development of a TLC Method for the determination of eight biogenic amines in fish. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43: 134-139.
- Navarro García, G., Navarro García, S. (2013). *Química Agrícola: química del suelo y de los nutrientes esenciales para las plantas*. 3ª edición. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.

Nerisoud, J.A., Parisod, J.F. (1983). Disponibilité de l'azote minéral pour la vigne en relation avec diverses fumures et techniques culturales. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 15: 367-371.

Neilsen, G.H., Neilsen, D., Bowen, P., Bogdanoff, C., Usher, K. (2010). Effect of timing, rate, and form of N fertilization on Nutrition, Vigor, Yield, and Berry yeast-Assimilable N of Grape. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 327-336.

## O

---

Ojeda, H. (1999). Influence de la contrainte hydrique sur la croissance du péricarpe et sur l'évolution des phénols des baies de raisin (*Vitis vinifera* L.) cv. Syrah. Tesis Doctoral, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Francia.

Ojeda, H., Deloire, A., Carbonneau, A. (2001). Influence of water deficits on grape berry growth. *Vitis*, 40: 141-145.

Ojeda, H., Andary, C., Creaba, E., Carbonneau, A., Deloire, A. (2002). Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 261-267

Olmstead, M.A. (2006). Cover crops and a floor management strategy for Pacific Northwest Vineyards. *Extension Bulletin 2010*. College of Agriculture, Human, and Natural Resource Sciences, Washington State University, Pullman, EE.UU.

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., Dean, L.A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture (USDA). Circular 939.

Olson, R.A., Kurtz, L. (1982). Crop nitrogen requirements, utilization, and fertilization. En: *Nitrogen in Agricultural Soils, Agronomy Monograph 22*. F.J. Stevenson Ed. pp. 567-604. American Society Agronomy (ASA), Crops Science Society of America (CSSA), Soil Science Society of America (SSSA), Madison, Wisconsin, EE.UU.

Orden APA/3465/2004 del 20 de octubre, por la que se aprueba el Reglamento de la Denominación de Origen Calificada «Rioja» y de su Consejo Regulador. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Boletín Oficial del Estado (BOE 27-10-2004).

- Orden ARM/1372/2009 de 27 de mayo, por la que se modifica el Reglamento de la Denominación de Origen Calificada Rioja. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. Boletín Oficial del Estado (BOE 29-05-2009).
- Orsini, L., Remy, J.C. (1976). Utilisation du chlorure de cobaltihexammine pour la détermination simultanée de la capacité d'échange et des bases échangeables des sols. *Science du Sol*, 4: 269-275.
- Ough, C.S. (1971). Measurement of histamine in California wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 19: 241-244.
- Ough, C.S., Daudt, C.E. (1981). Quantitative determination of volatile amines in grapes and wines. I. Effect of fermentation and storage temperature on amine concentrations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32: 185-188.
- Ovalle, C., del Pozo, A., Lavín, A., Hirzel, J. (2007). Cover crops in vineyards: performance of annual forage legume mixtures and effects on soil fertility. *Agricultura Técnica*, 67: 384-392.
- Ovalle, C., del Pozo A., Peoples M., Lavín, A. (2010). Estimating the contribution of nitrogen from legume cover crops to the nitrogen nutrition of grapevines using a <sup>15</sup>N dilution technique. *Plant and Soil*, 334: 247-259.

## P

---

- Papadakis, J. (1966). *Climates of the World and their Agricultural Potentialities*. J. Papadakis, Ed. Buenos Aires, Argentina.
- Paredes, M.C. (2013). Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas. Trabajo final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Universidad Católica Argentina. <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/fijacion-biologica-nitrogeno-leguminosas.pdf>.
- Parejo, J., Gonzalo, A., Giró, P. (1992). Seasonal differences of nutrient level in Chardonnay. En: *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Symposium on Grapevine Physiology*. pp. 171-174. Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, Istituto Agrario San Michele all'Ádige, Turín, Italia.
- Parker, S.R., Kluepfel, D.A. (2007). Long-term effects of weed management practices and cover cropping on the nematode community in a commercial vineyard in the Salinas Valley, California. *Journal of Nematology*, 39: 83-83.

- Pastor, M. (1989). Viabilidad del empleo de cubiertas de cereales segados químicamente con glifosato en olivar de secano. En: *Proceeding del 4º EWRS Mediterranean Symposium*, Tomo I: 281-293. Valencia, España.
- Pearce, I., Coombe, B.G. (2005). Grapevine phenology. En: *Viticulture*. 2<sup>nd</sup> Edition. R.G. Coombe y P.R. Dry, Eds. pp. 150-166. Winetitle, Adelaida, Australia.
- Peacock, W.L., Christensen, L.P., Broadbent, F.E. (1989). Uptake, storage and utilization of soilapplied nitrogen by Thompson seedless es affected by time of application. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40: 16-20.
- Peech, L., Alexander, L.T., Dean, L.A. (1947). Methods of Analysis for Soil Fertility Investigations. United States Department of Agriculture (USDA), Circular 757.
- Peregrina, F., Larrieta, C., Ibáñez, S., García-Escudero, E. (2010a). Labile organic matter, aggregates, and stratification ratios in a semiarid vineyard with cover crops. *Soil Science Society of America Journal*, 74: 2120–2130.
- Peregrina, F., López, D., Zaballa, O., Villar, M. T., González, G., García-Escudero, E. (2010b). Soil quality of vineyards in the Origin Denomination Rioja: Index of overcrusting risk (FAO-PNUMA), content of organic carbon and relation with soil fertility. *Revista de Ciências Agrárias*, 33: 338-345.
- Peregrina, F., Pérez-Álvarez, E.P., Colina, M., García-Escudero, E. (2012). Cover crop and tillage influence soil organic matter and nitrogen availability in a semi-arid vineyard. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58: S95–S102.
- Peregrina, F., Pérez-Álvarez, E.P., García-Escudero, E. (2014). Soil microbiological properties and its stratification ratios for soil quality assessment Ander different cover crop management systems in a semiarid vineyard. *Journal of Plant and Nutrition Soil Science*, 177: 548-559.
- Pérez-Álvarez, E.P., Martínez-Vidaurre, J.M., Martín, I., García-Escudero, E., Peregrina F. (2013a). Relationships among soil nitrate nitrogen and nitrogen nutritional status, yield components, and must quality in semi-arid vineyards from Rioja AOC, Spain. *Commucations in Soil Science and Plant Analysis*, 44: 232-242.
- Pérez-Álvarez, E.P., Pérez-Sotés, J.L., García-Escudero, E., Peregrina, F. (2013b) Cover crop short-term effects on soil NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N availability, nitrogen nutritional status, yield, and must quality in a calcareous vineyard of the AOC Rioja, Spain. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44: 711–721.
- Pérez-Álvarez, E.P., Garde-Cerdán T., García-Escudero, E., Martínez-Vidaurre, J.M. (2014a). Soil NO<sub>3</sub><sup>-</sup> influence on amino acid content in Tempranillo must form

- AOC Rioja growing area, Spain. En: *Proceedings of the International Terroir Congress*, Tokaj-Eger, Hungría.
- Pérez-Álvarez, E.P., Garde-Cerdán, T., García-Escudero, E., Martínez-Vidaurre, J.M. (2014b). Amino acid in Tempranillo must from three soil types. En: *Proceedings of the International Congress of the OIV*. pp. 497-499. Mendoza, Argentina.
- Pérez-Hernández C.N., Pérez Olivero S.J., Conde González, J.E, Pérez Pont, M.L., Díaz Romero, C., Pérez Trujillo, J.P. (2007). Contenidos de histamina y putrescina en vinos canarios monovarietales. En: *VI Jornadas Vitivinícolas Canarias*. Tenerife, España.
- Peuke, A.D. (2009). Nutrient composition of leaves and fruit juice of grapevine as affected by soil and nitrogen fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172: 557-564.
- Pierce, F.J., Larson, W.E. (1993). Developing criteria to evaluate sustainable land management. En: *Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Soil Management Workshop: Utilization of Soil Survey Information for Sustainable Land Use*. USA Soil Conservation Service, National Soil Survey Centre, Ed. pp. 7-14. Washington, DC, EE.UU.
- Plumb, G., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Cheynier, V., Williamson, G., (1998). Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins: Effect of polymerisation galloylation and glycosylation. *Free Radical Research*, 29: 351-358.
- Price S., Breen, P., Valladao, M., Watson, B. (1995). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46: 187-194.
- Prichard, T.L., Stills, W.M., Hendricks, L.C., Elmore, C.L. (1989). Orchard water use and soil characteristics. *California Agriculture*, 43: 23-25.
- Pinyerd, C.A., Odom, J.W., Long, F.J., Dane, J.H. (1984). Boron movement in a Norfolk loamy sand. *Soil Science*, 137: 428-433.
- Porta, J., López-Acevedo, M. (2005). Agenda de Campo de Suelos. Información de Suelos para la Agricultura y el Medio Ambiente. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Portu, J., López R., González-Arenzana L., López-Alfaro I., Santamaría P., Garde-Cerdán T. (2014). Amino acid content in red wines obtained from grapevine

nitrogen foliar treatments: consumption during the alcoholic fermentation. *Wine Studies*, 4475: 1-6.

Pou, A., Gulías, J., Moreno, M., Tomás, M., Medrano, H., Cifre, J. (2011). Cover cropping in *Vitis vinifera* L. cv. Manto negro vineyards under mediterranean conditions: effects on plant vigour, yield and grape quality. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 45: 223-234.

## R

Rahman, L., Whitelaw-Weckert, M.A., Hutton, R.J., Orchard, B. (2009). Impact of floor vegetation on the abundance of nematode trophic groups in vineyards. *Applied Soil Ecology*, 42: 96-106.

Radler, F., Fäth, KP. (1991). Histamine and other biogenic amines in wines. En: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. J. Rantz, Ed. pp: 185-195. American Society for Enology and Viticulture, Davis, EE.UU.

Reglamento (CEE), Nº 2676/90, Unión Europea, (1990). Métodos de análisis aplicables en el sector del vino. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 2/XIII/1990.

Reeves, D.W. (1997). The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil and Tillage Research*, 43: 131-167.

Reuter, S., Kubiak, R. (2003). Soil management systems to support soil microbial biomass in vineyards. En: *Conservation Agriculture: Environment, Farmers Experiences, Innovations, Socio-Economy, Policy*. pp. 401 - 405. Springer, Dordrecht, Holanda.

Reynard, J.S., Zufferey, V., Nicol, G.C., Murisier, F. (2011). Soil parameters impact the vine-fruit-wine continuum by altering vine nitrogen status. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 45: 211-221.

Reynier, A. (2005). Manual de Viticultura. 6ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.

Rhodes, W., Fairbridge, C.W. (1979). The Encyclopedia of Soil Science. Dowden Hutchinson and Ross, Stroudsburg, Pensilvania, EE.UU.

Ribeiro, A.C., Braga, J.M. (1974). Adsorção de boro pelo solo. *Experientiae*, 17: 293-310.

- Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bulletin de la Société Chimique de France*, 9: 2649-2652.
- Ribéreau-Gayon, P. (1982). The anthocyanins of grapes and wines. En: *Anthocyanins as Food Colours*. P. Markakis, Ed. pp. 209-244. Academic Press, Nueva York, EE.UU.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dobourdiou, D. (2003). Tratado de Enología. Química del vino. Estabilización y tratamientos. Hemisferio Sur y Ediciones Mundi-Prensa, Buenos Aires, Argentina.
- Riches, D., Porter, I.J., Oliver, D.P., Bramley, R.G.V., Rawnsley, B., Edwards, J., White, R.E. (2013). Review: soil biological properties as indicators of soil quality in Australian viticulture. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19: 311-323.
- Riou, C., Morlat, R. (1996). First results on the effects of controlled permanent cover on the vine and wine, in combination with soil diversity of Saumur vineyards. En: *Seizième Conference du COLUMA*. pp. 1137-1144. Reims, Francia.
- Ripoche, A., Metay, A., Celette, F., Gary, C. (2011) Changing the soil surface management in vineyards: immediate and delayed effects on the growth and yield of grapevine. *Plant and Soil*, 339: 259-271.
- Ritz, K., Black, H.I.J, Campbell, C.D., Harris, J.A., Wood, C. (2009). Selecting biological indicators for monitoring soils: a framework for balancing scientific opinion to assist policy development. *Ecological Indicators*, 9: 1212-1221.
- Robertson, P.G. (1997). Nitrogen use efficiency in row-crop agriculture: Crop nitrogen use and soil nitrogen loss. En: *Ecology in Agriculture*. L.E. Jackson, Ed. pp. 347-365. Academic Press, San Diego, California, EE.UU.
- Robinson, J.B. (2005). Critical plant tissue values and application of nutritional standards for practical use in vineyards. En: *Proceedings of the Soil Mineral Environment and Vine Nutrition Symposium*. L.P. Christenser y D.R. Smart, Eds. pp. 61-68. American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, EE.UU.
- Rodríguez-Lovelle, B., Soyer, J.P., Molot, C. (1999). Efectos del enherbado en viticultura sobre la nutrición mineral, el rendimiento y el vigor. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetal*, 14: 1-12.

- Rodríguez-Lovelle, B., Soyer, J.P., Molot, C. (2000). Incidence of permanent grass cover on grapevine phenological evolution and grape berry ripening. *Acta Horticulturae*, 526: 241-248.
- Rodríguez-Lovelle, B., Gaudillère, J.P. (2002). Carbon and nitrogen partitioning in fruiting and non-fruiting grapevines: effects of nitrogen limitation before and after veraison. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: 86-94.
- Romero, I., García-Escudero, E., Martín, I. (2010). Effects of leaf position on blade and petiole mineral nutrient concentration of Tempranillo grapevine (*Vitis vinifera* L.). *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 544-550.
- Romero, I., García-Escudero, E., Martín, I. (2013). Leaf blade versus Petiole analysis for nutritional diagnosis of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64: 50-64.
- Rowell, D.L. (1996). *Soil Science: Methods and Applications*. Addison Wesley Longman Limited, Essex, Inglaterra.
- Ruiz-Colmenero, M., Bienes, R., Marqués, M.J. (2011). Soil and water conservation dilemmas associated with the use of green cover in steep vineyards. *Soil and Tillage Research*, 117: 211-223.

## S

---

- Salón, S.L., Chirivella, C., Castel, J.R. (2005). Response of cv. Bobal to timing of deficit irrigation in Requena, Spain: Water relations, yield, and wine quality. *American Society for Enology and Viticulture*, 56: 1-18.
- Santamaría, P., López, R., García-Escudero, E., Zaballa, O. (1997). Ensayos de riego localizado de viñedos productivos de cv “Tempranillo”. *Viticultura Enología Profesional*, 50: 35-47.
- Santesteban, L.G. (2003). Evaluación del efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento, la fertilidad y la producción de la vid (*Vitis vinifera* L.) cv. “Tempranillo”. Tesis Doctoral. Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España.
- Santos, M.H.S. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29: 213-231.
- Sardans, J., Rodà, F., Peñuelas, J. (2004). Phosphorus limitation and competitive capacities of *Pinus halepensis* and *Quercus ilex* subsp. *rotundifolia* on different soils. *Plant Ecology*, 174: 307-319.

- Sawyer, J.E., Mallarino, A.P., Killorn, R. (2003). Interpretation of Soil Test Results. University Extension, Iowa State University, United States Department of Agriculture (USDA).
- Schaller, K. (1984). Influence de différents modes d'entretien du sol sur la dynamique des nitrates dans un sol loessique. En: *5ème Colloque International sur l'Enherbement du Vignoble*, Kaysersberg, Francia.
- Schaller, K. (1991). Ground water pollution by nitrate in viticultural areas. En: *International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. A.M. Rantz, Ed. pp. 12-22. Seattle, Washington, EE.UU.
- Schrader, L.E. (1984). Functions and transformations on nitrogen in higher plants. En: *Nitrogen in Crop Production*. Hauck, R.D. et al., Eds. pp. 55-65. American Society of Agronomy (ASA), Crop Science Society of America (CSSA) y Soil Science Society of America (SSSA), Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Schreiner, R.P. (2005). Spatial and temporal variation of roots, arbuscular mycorrhizal fungi, and plant and soil nutrients in a mature Pinor noir (*Vitis vinifera* L.) vineyard in Oregon, USA. *Plant and Soil*, 276: 219-234.
- Schreiner, R.P., Scagel, C.F., Bahann, J. (2006). Nutrient uptake and distribution in a mature 'Pinot noir' vineyard. *Horticultural Science*, 41: 336-345.
- Schreiner, R.P., Lee, J., Skinkis, P.A. (2013). N, P, and P supply to Pinot noir grapevines: impact on vine nutrient status, growth, physiology, and yield. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64: 26-38.
- Schreiner, R.P., Scagel, C.F., Lee, J. (2014). N, P, and P supply to Pinot noir grapevines: impact on berry phenolics and free amino acids. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65: 43-49.
- Scienza, A., Sicher, L., Venturelli, M.B., Maggiore, T., Pisani, P.L., Corino, L. (1988). L'inerbimento in viticoltura. *L'Informatore Agrario*, 21: 29-51.
- Sicher, L., Dorigoni, A., Stringari, G. (1995). Soil management effects on nutritional status and grapevine performance. *Acta Horticulturae*, 383: 73-82.
- Silla Santos, M.H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29: 213-231.
- Six, J., Paustian, K., Elliot, E.T., Combrink, C. (2000). Soil structure and organic matter: I. distribution of aggregate-size classes and aggregate-associated carbon. *Soil Science Society of American Journal*, 64: 681-689.

- Skinkis, P.A. (2009). Managing vineyard cover crop to influence vine vigor and fruit quality of Pinot noir in Oregon's Willamette Valley. En: *American Society for Enology and Viticulture (ASEV). 60<sup>th</sup> Annual Meeting. American Journal of Enology and Viticulture*, 60: 390A, California, EE.UU.
- Smart, R.E. (1991). Canopy microclimate implications for nitrogen effects on yield and quality. En: *Proceedings of International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. J.M. Rantz, Eds. pp. 90-101. American Society of Enology and Viticulture, Seattle, Washington, EE.UU.
- Smart, R.E., Robinson, M. (1991). *Sunlight into the Wine. A Handbook for Winegrape Canopy Management*. Winetitles, Adelaide, Australia.
- Smit, A.Y., du Toit, W.J., du Toit, M. (2008). Biogenic amines in wine: understanding the headache. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 29: 109-127.
- Smit, I., Pflieginger, M., Binner, A., Grobmann, M., Horst, W.J., Löhnertz, O. (2014). Nitrogen fertilisation increases biogenic amines and amino acid concentrations in *Vitis vinifera* var. Riesling musts and wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 2064-2072.
- Smith, G., Markham, K. (1998). Tauterism of flavonol glucosides: relevante to plant UV protection and flower colour. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 118: 99-195.
- Smith, R., Bettiga, L., Cahn, M., Baumgartner, K., Jackson, L.E., Bensen, T. (2008). Vineyard floor management affects soil, plant nutrition, and grape yield and quality. *California Agriculture*, 62: 184-190.
- Soil Survey Staff (2010). *Claves para la Taxonomía de Suelos (11<sup>th</sup> edition)*, United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service (USDA-NRCS), Pocahontas Press Inc., Blacksburg, Virginia, Washington, EE.UU.
- Soil and Plant Analysis Council (1999). *Soil Analysis Handbook of Reference Methods*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, EE.UU.
- Soufleros, E., Barrios, M., Bertrand, A. (1998). Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 266-278.
- Soufleros, E.H., Bouloumpasi, E., Zotou, A., Loukou, Z. (2007). Determination of biogenic amines in Greek wines by HPLC and ultraviolet detection after

- dansylation and examination of factors affecting their presence and concentration. *Food Chemistry*, 101: 704-716.
- South Australian Seed Growers Cooperative LTD (1997). Cultivos entrehileras, Covercrops. Guía para la selección de especies y manejo de la pradera.
- Somers, T.C., Evans, M.E. (1974). Wine quality: correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25: 1369-1379.
- Somers, T.C., Evans, M.E. (1977). Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, “chemical age”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28: 279-287.
- Sommer, K.J., Clingeleffer, P.R. (1995). Vine canopy development and carbohydrate partitioning is influenced by pruning. En: *Nine<sup>th</sup> Australian Wine Industry Technical Conference*. pp. 123-127. Winetitles, Adelaide, Australia.
- Soyer, J.P. (1990). Enseignements d’un essai de 25 ans sur des techniques d’entretien des sols. En: *2 Forum Viticulteurs/Chercheurs, INRA-VITI 90*. pp. 13-17. Actualites Viticoles, Burdeos, Francia.
- Soyer, J.P., Molot, C., Bertrand, A., Gazeau, O., R. Lovelle, B., Delas, J. (1995). Influence de l’enherbement sur l’alimentation azotée de la vigne et sur la composition des moûts et des vins. En: *5ème Symposium International Oenologie “Actualités Oenologiques 1995”*. pp. 81-84. Technique et Documentation, París, Francia.
- Spayd, S.E., Wample, E.L., Evans, R.G., Seymor, B.J., Nage, C.W. (1994). Nitrogen fertilization of white Riesling grapes in Washington must and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: 34-42.
- Spayd, S.E., Andersen-Bagge, J. (1996). Free amino acid composition of grape juice from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 389-402.
- Spayd, S.E., Tarara, J.M., Mee, D.L., Ferguson, J.C. (2002). Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 171-182.
- Spring, J.L. (2001). Influence du type d’enherbement sur le comportement de la vigne et la qualité des vins. Résultats d’un essai sur Chasselas dans le bassin lémanique.1. Résultats agronomiques. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 33: 253-260.

- Spring, J.L., Delabays, N. (2006). Essai d'enherbement de la vigne avec des espèces peu concurrentielles: aspects agronomiques. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 38: 355-359.
- Steenwerth, K., Belina, K.M. (2008). Cover crops and cultivation: Impacts on soil N dynamics and microbiological function in a Mediterranean vineyard agroecosystem. *Applied Soil Ecology*, 40: 370-380.
- Steenwerth, K., McElrone, A.J., Calderón-Orellana, A., Hanifin, R.C., Storm, C., Collatz, W., Manuck, C. (2013). Cover crops and tillage in a mature Merlot vineyard show few effects on grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64: 515-521.
- Stevenson, F.J., Cole, M.A. (1999). Cycles of soil. Carbon, nitrogen, phosphorus, sulphur, micronutrients. John Wiley and Sons, Nueva York, EE.UU.
- Stines, A.P., Grubb, J., Gockowiak, H., Henschke, P.A., Hoj, P.B., van Heeswijck, R. (2000). Proline and arginine accumulation in developing berries of *Vitis vinifera* L. in Australian vineyards: influence of vine cultivar, berry maturity and tissue type. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6: 150–158.
- Straub, B.W., Kicherer, M., Schilcher, S.M., Hammes, W.P. (1995). The formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 201: 79-82.
- Sweet, R.M., Schreiner, R.P. (2010) Alleyway cover crops have little influence on Pinot noir Grapevines (*Vitis vinifera* L.) in two western Oregon vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 240-252.

## T

---

- Tan, S., Crabtree, G.D. (1990). Competition between perennial ryegrass sod and Chardonnay wine grapes for mineral nutrients. *HortScience*, 25: 533-535.
- 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: 235-247.
- ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H.M.L.J., Huis in't Veld, J.H.J. (1990). Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11: 73-84.

- Ternan, J.L., Williams, A.G., Elmes, A., Hartley, R. (1996). Aggregate stability of soils in central Spain and the role of land management. *Earth Surface Processes and Landforms*, 21: 181-193.
- Tesic, D., Keller, M., Hutton, R.J. (2007) Influence of vineyard floor management practices on grapevine vegetative growth, yield, and fruit composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58: 1-11.
- Tisdall, J.M., Oades, J.M. (1982). Organic matter and water stable aggregates. *Journal Soil Science*, 33: 141-163.
- Tisdale, S.L., Nelson, W.L., Beaton, J.D., Havlin, J.L. (1993). Soil Fertility and Fertilizers. Quinta Edición. Mc. Millan, Ontario, EE.UU.
- Thiebeau, P., Herre, C., Doledec, A.F., Perraud, A., Panigai, L., Mary, B., Nicolardot, B. (2005). Incidence du mode de couverture du sol sur la fourniture en azote des sols de vigne en Champagne. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 39: 163–177.
- Thomas, G.A., Dalal, R.C., Standley, J. (2007). No-till effects on organic matter, pH, cation exchange capacity and nutrient distribution in a Luvisol in semi-arid subtropics. *Soil and Tillage Research*, 94: 295-304.
- Tonietto, J., Carbonneau, A. (2004). A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology*, 124: 81-97.
- Torrea-Goñi, D., Ancín-Azpilicueta, C. (2001). Influence of yeast strain on biogenic amines content in wines: relationship with the utilization of amino acids during fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52: 185–190.
- Tregouat, O., van Leeuwen, C., Choné, X., Gaudillère, J.P. (2002). Étude du régime hydrique et de la nutrition azotée de la vigne par des indicateurs physiologiques influence sur le comportement de la vigne et la maturation du raisin (*Vitis vinifera* L. cv Merlot, 2000, Bordeaux). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 36: 133-142.

## U

---

- Ugliano, M., Fedrizzi, B., Siebert, T., Travis, B., Magno, F., Versini, G. *et al.* (2009). Effect of nitrogen supplementation and *Saccharomyces* species on hydrogen

- sulphide and other volatile sulphur compounds in Shiraz fermentation and wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 4948-4955.
- Urbano-Terrón, P. (2002). *Fitotecnia. Ingeniería de la Producción Vegetal*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- United States Department of Agriculture, USDA (2009). Thesaurus and glossary. <http://agclass.nal.usda.gov/bib.shtml>
- USDA (1999). *Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo*. Departamento de Agricultura. Servicio de Conservación de Recursos Naturales. Instituto de la Calidad de Suelos. <http://soils.usda.gov/sqi>
- Usseglio-Tomasset, L. (1998). *Química Enológica*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Uthurry, C.A., Suárez-Lepe, J.A., Lombardero, J., García del Hierro, J.R. (2007). Ethyl carbamate production by selected yeasts and lactic acid bacteria in red wine. *Food Chemistry*, 94: 262-70.

## V

---

- Valero, E., Millán, C., Ortega, J.M., Mauricio, J. (2003). Concentration of amino acids in wine after the end of fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 830-835.
- Vance, A. (2012). *Impacts of crop level and vine vigor on vine balance and fruit composition in Oregon Pinot noir*. Tesis Doctoral, Oregon State University, Corvallis, EE.UU.
- van Leeuwen, C., Friant, P.H., Soyer, J.P., Molot, C., Choné, X., Dubourdieu, D. (2000). L'intérêt du dosage de l'azote total et l'azote assimilable dans le moût comme indicateur de la nutrition azotée de la vigne. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 34: 75-82.
- van Huyssteen, L., Weber, H.W. (1980a). Soil moisture conservation in dryland viticulture as affected by conventional and minimum tillage practices. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 1: 67-75.
- van Huyssteen, L., Weber, H.W. (1980b). The effect of selected minimum and conventional tillage practices in vineyard cultivation on vine performance. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 1: 77-83.

- van Huyssteen, L., van Zyl, J.L., Koen A.P. (1984). The effect of cover crop management on soil conditions and weed control in a Colombar vineyard in Oudtshoorn. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 5: 7-17.
- Vaz de Arruda, R., Silveira, R.L., Malavolta, E., Broetto, F. (2001). Effect of potassium on dry matter production and concentration of putrescine, spermidine and spermine in *Eucaliptus grandis* progenies. *Scient Foresta*, 59: 13-25.
- Vincenzini, M., Guerrini, S., Mangani, S., Granchi, L. (2009). Amino acid metabolisms and production of biogenic amines and ethyl carbamate. En: *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. H. König, G. Uden y J. Frohlich, Eds. pp. 167-176. Springer-Verlag, Heidelberg, Alemania.
- Vitousek, P.M., Howarth, R.W. (1991). Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochemistry*, 13: 87-115.
- Vivin, P., Castelan-Estrada, M., Gaudillère, J.P. (2003). Seasonal changes in chemical composition and construction costs of grapevine tissue. *Vitis*, 42: 5-12.

## W

---

- Walkley, A., Black, I.A. (1934). An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37: 29-37.
- Wermelinger, B., Koblet, W. (1990). Seasonal growth and nitrogen distribution in grapevines leaves, shoots and grapes. *Vitis*, 29: 15-26.
- Wermelinger, B. (1991). Nitrogen dynamics in grapevines: Physiology and modelling. En: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. J.M. Rantz, Ed. pp. 23-31. American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, EE.UU.
- Wheeler, S.J., Black, A.S., Pickering, G.J. (2005). Vineyard floor management improves wine quality in highly vigorous *Vitis vinifera* Cabernet Sauvignon in New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 33: 317-328.
- Williams, L.E. (1991). Vine nitrogen requirements. Utilization of N sources from soils, fertilizers and reserves. En: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. J.M Rantz, Ed. pp. 62-66. American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, EE.UU.

- Williams, L.E. (2000). Bud development and fruitfulness of grapevines. En: *Raisin Production Manual*. L.P. Christensen, Ed. pp: 24-29. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, EE.UU.
- Winkler, A.J., Cook, J.A., Kliewer, W.M., Lider, L.A. (1984). *General Viticulture*. 2ª ed. University of California, Berkeley, EE.UU.
- Whitelaw-Weckert, M.A., Rahman, L., Hutton, R.J., Coombes, N. (2007). Permanent swards increase soil microbial counts in two Australian vineyards. *Applied Soil Ecology*, 36: 224-232.
- Wolpert, J.A., Phillips, P.A., Striegler, R.K., McKenry, M.V., Foott, J.H. (1993). Berber orchardgrass tested as cover crop in commercial vineyard. *California Agriculture*, 47: 23-25.

---

## X

- Xi, Z.M., Zhang, Z.W., Cheng, Y.F., Li, H. (2010). The effect of vineyard cover crop on main monomeric phenols of grape berry and wine in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Agricultural Sciences in China*, 9: 440-448.

---

## Y

- Yaalon, D.H. (1997). Soils in the Mediterranean region: What makes them different? *Catena*, 28: 157-169.
- Yañez, J. (1989). Análisis de suelos y su interpretación. *Horticultura*, 49: 75-84.

---

## Z

- Zabadal, T.J., Dittmer, T.W. (2001). Vegetation-free area surrounding newly planted ‘Niagara’ grapevines affects vine growth. *HortTechnology*, 11: 35-37.
- Zagal, E., Rodríguez, N., Vidal, I., Hofmann, G. (2003). Eficiencia de uso y dinámica del nitrógeno en una rotación con y sin uso de residuos. *Agricultura Técnica (Chile)*, 63: 298-310.
- Zamora, F. (2009). Biochemistry of Alcoholic Fermentation. En: *Wine Chemistry and Biochemistry*. M.V. Moreno-Arribas y M.C. Polo, Eds. pp. 3-26. Springer Science, Nueva York, EE.UU.

- Zapata, C., Deleens, E., Chaillou, S., Magne, C. (2004). Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Plant Physiology*, 161: 1031-1040.
- Zorita Viota, T. (1988). El contenido de boro asimilable en varios suelos de las provincias de Cáceres y Zamora. *Anuario, Centro de Edafología y Biología Aplicada de Salamanca*, 13: 189-197.
- Zou, X.M., ruan, H.H., Fu, Y., Yang, X.D., Sha, L.Q. (2005). Estimating soil labile organic carbon and potencial turnover rates using sequential fumigation-incubation procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 1923-1928.

## PÁGINAS WEB

---

- [www.catadelvino.com](http://www.catadelvino.com)
- [www.vibrantrioja.com](http://www.vibrantrioja.com)
- Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja: [www.riojawine.com](http://www.riojawine.com)
- <http://image.slidesharecdn.com/morfologiavegetalhoja-101002121545-phpapp01/95/morfologia-vegetal-de-la-hoja-18-728.jpg?cb=1286021809>.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente: [www.magrama.gob.es](http://www.magrama.gob.es).
- IDERIOJA: <https://www.larioja.org/npRioja/default/defaultpage.jsp?idtab=445042>
- S.I.A.R.: [www.larioja.org/siar](http://www.larioja.org/siar)



*ANEXOS*



## ANEXO I. CLIMA

Anexo I, Tabla 1. Zonas de aridez definidas por el índice de Lang ( $P_i$ ), Lang (1915).

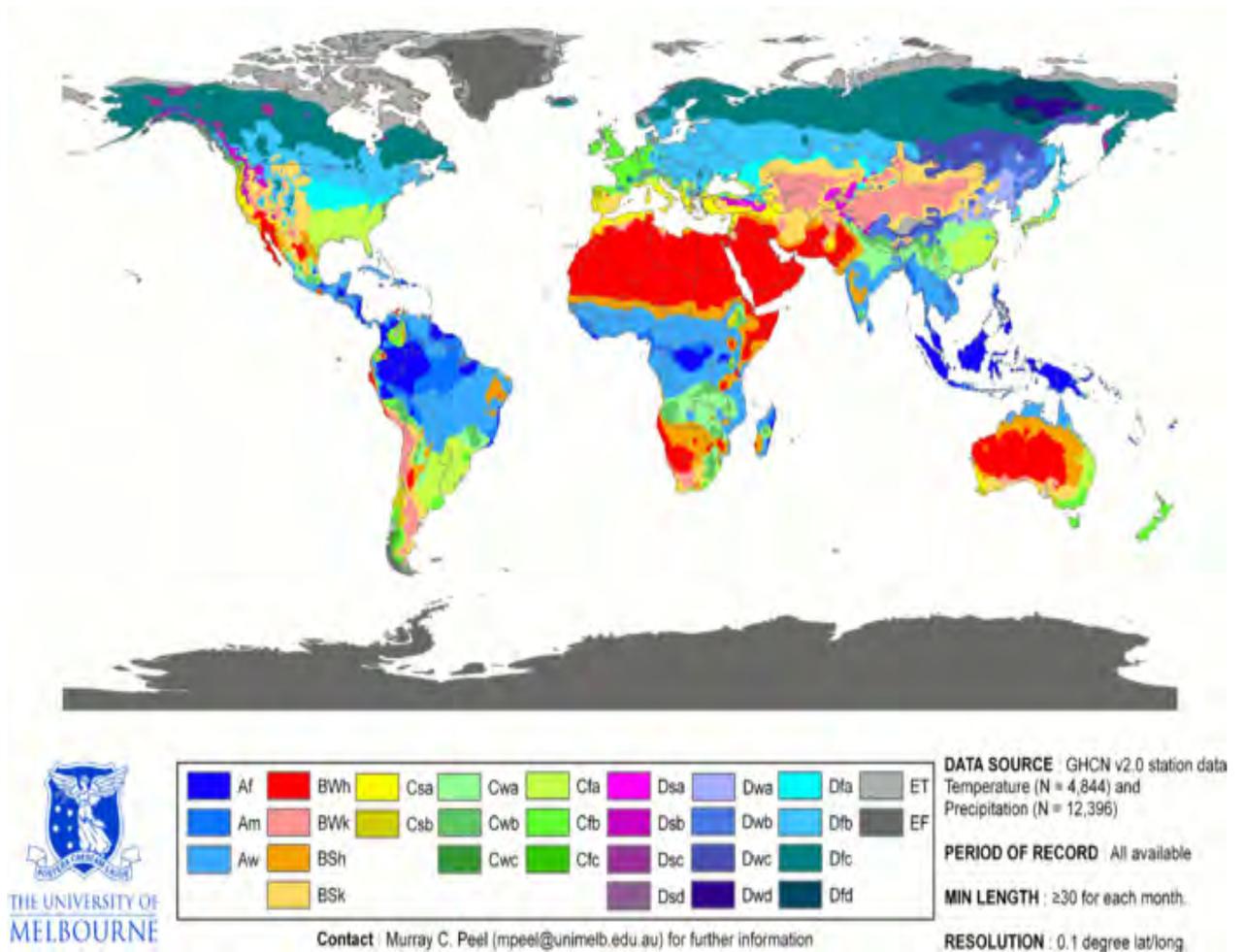
Valor de $P_f$	0-20	20-40	40-60	60-100	100-160	> 160
Zonas	Desiertos	Árida	Húmedas de estepa y sabana	Húmedas de bosques claros	Húmedas de grandes bosques	Perhúmedas con prados y tundras

Anexo I, Tabla 2. Zonas de aridez definidas por el índice de Martonne ( $I_a$ ), Martonne (1926).

Valor de $I_a$	0-5	5-10	10-20	20-30	30-60	> 60
Zonas	Desiertos (hiperárido)	Semidesierto (árido)	Semiárida de tipo Mediterráneo	Subhúmeda	Húmeda	Perhúmedas

Anexo I, Tabla 3. Regiones vitícolas establecidas según el índice de Winkler y Amerie ( $I_{Te}$ ), Winkler *et al.* (1984).

Valor de $I_{Te}$	< 1.371,8	1.371,8-1.649,6	1.649,6-1.926,8	1.926,8-2.204,0	> 2.204,0
Región	I- Mejor desarrollo de las variedades para vino seco de mesa de primera calidad	II- En los valles se producirán vinos buenos comunes. Vinos finos muy equilibrados	III- Uva de alto contenido en azúcar, con poco ácido. No vinos secos de calidad, sí dulces	IV- Vinos naturales dulces, excepto años cálidos. Blancos con acidez alta.	V- Vinos de mesa blancos y tintos comunes con variedades de acidez alta. Vinos para postre. Riego



**Anexo I, Figura 1.** Mapa mundial de la clasificación climática de Köppen para el período 1951-2000. Fuente: Kottek *et al.* (2006).

## ANEXO II. SUELO

**Anexo II, Tabla 1.** Referencia de diagnóstico de la materia orgánica en función del grupo textural (Yáñez, 1989).

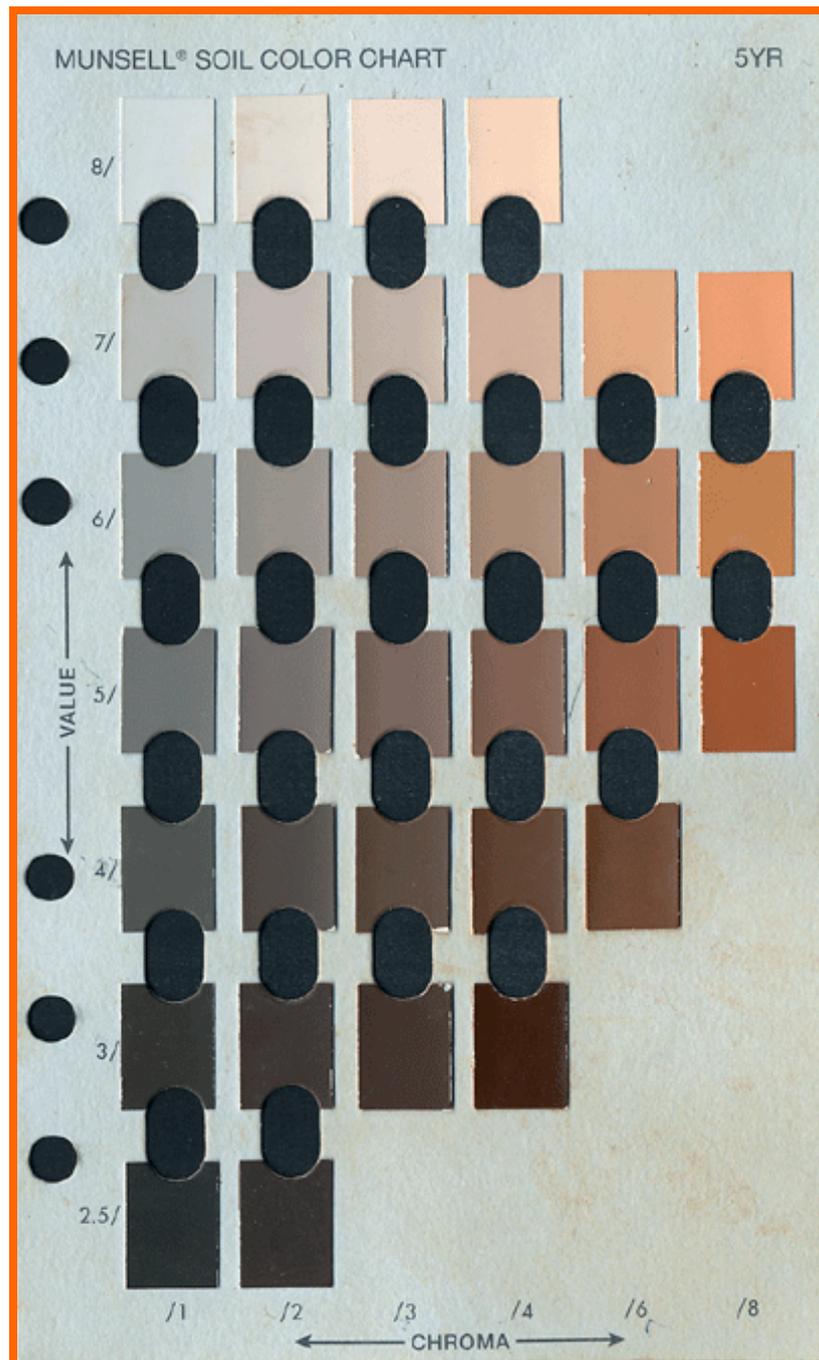
Diagnóstico	TIPO DE SUELO		
	Arenoso	Medio	Arenoso
	(< 10 % arcilla)	(10-30 % arcilla)	(> 30% arcilla)
	(% Materia orgánica)		
Muy pobre	< 1,25	< 1	< 1,50
Pobre	1,25-2,00	1,00-1,75	1-50-2,50
Normal	2-3	1,75-2,50	2,50-3,50
Alto	3-4	2,50-3,50	3,50-4,50
Excesivo	> 4	> 3,50	> 4,50

**Anexo II, Tabla 2.** Referencia de diagnóstico de la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.), (Gagnard *et al.*, 1988).

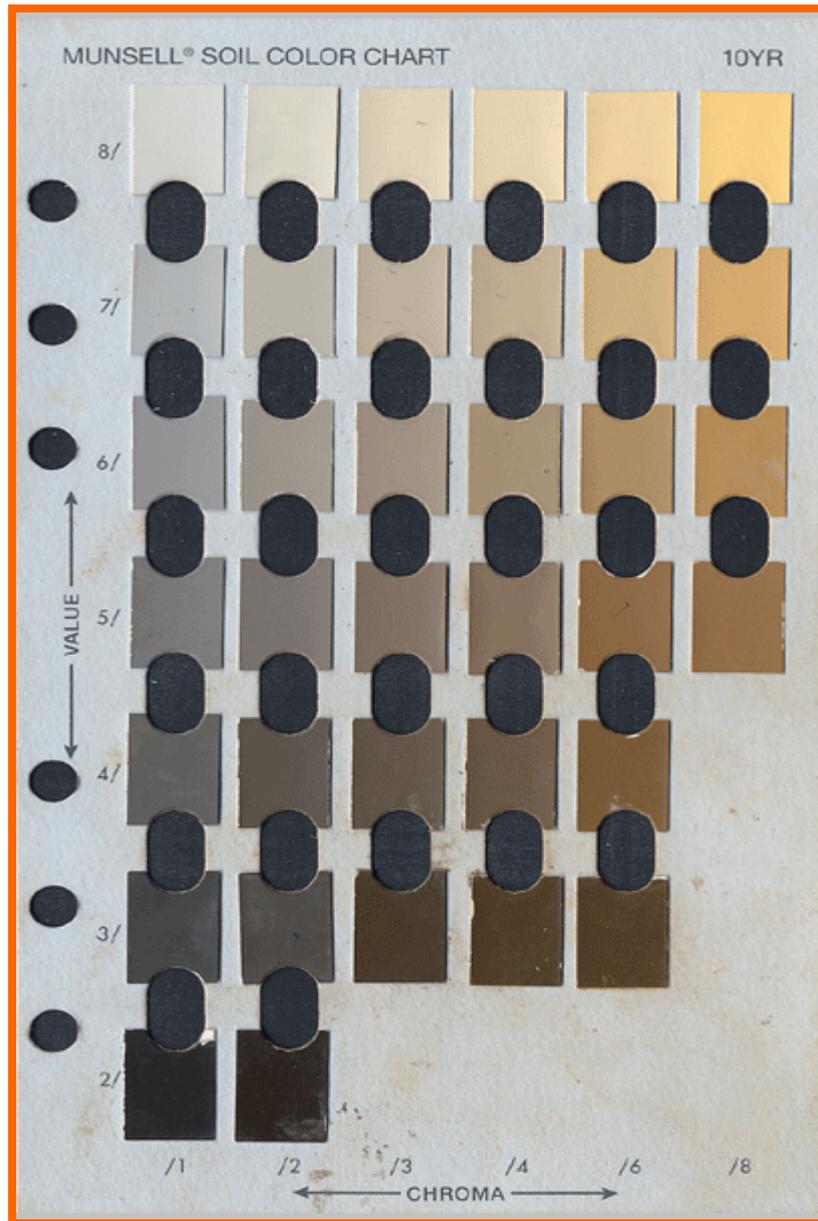
Diagnóstico	C.I.C. ( $\text{cmol}_{(+) } \text{kg}^{-1}$ )
Muy débil	< 6
Débil	6-10
Media o normal	10-20
Elevada	20-30
Muy elevada	> 30

**Anexo II, Tabla 3.** Norma de diagnóstico de carbonatos y de caliza activa (Yáñez, 1989).

Diagnóstico	Carbonatos	Caliza activa (%)
Muy bajo	< 5	-
Bajo	5-10	< 6
Normal	10-20	6-9
Alto	20-40	> 9
Muy alto	> 40	-



**Anexo II, Figura 1.** Hoja de la tabla Munsell correspondiente al matiz 5YR (“Yellow-Red”), tonalidad 5, utilizada para la evaluación del color del suelo mediante los parámetros claridad, brillo o value y pureza o chroma. Fuente: Munsell Soil Color Charts (1998).



**Anexo II, Figura 2.** Hoja de la tabla Munsell correspondiente al matiz 10YR (“*Yellow-Red*”), tonalidad 10, utilizada para la evaluación del color del suelo mediante los parámetros claridad, brillo o value y pureza o chroma. Fuente: Munsell Soil Color Charts (1998).

**Anexo II, Tabla 4.** Rangos de diagnóstico del contenido en el suelo de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  intercambiables (Fuentes Yagüe, 1999).

Diagnóstico	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{K}^+$	$\text{Na}^+$
	(cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup> suelo)			
Muy bajo	< 3,5	< 0,6	< 0,2	
Bajo	3,5-10	0,6-1,5	0,2-0,3	< 2
Normal	10-14	1,5-2,5	0,3-0,6	2
Alto	14-20	2,5-4	> 0,6	> 2
Muy alto	> 20	> 4		

**Anexo II, Tabla 5.** Escalas de diagnóstico de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  en función de la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) (Gagnard *et al.*, 1988).

Clase de fertilidad	$\text{K}^+/\text{CIC}$	$\text{Mg}^{2+}/\text{CIC}$	$\text{Ca}^{2+}/\text{CIC}$
	(%)		
Muy bajo	< 1	< 5	< 40
Bajo	1-3	5-7	40-60
Correcto	3-4	7-9	60-80
Alto	4-5	9-12	80-100
Excesivo	> 5	> 12	-

**Anexo II, Tabla 6.** Niveles de P Olsen y de K Mehlich-III en el suelo recomendados para cultivos herbáceos (Sawyer *et al.*, 2003).

Diagnóstico	P Olsen		K Mehlich
	Horizonte superficial	Horizonte subsuperficial	
	(mg kg <sup>-1</sup> )		(cmol <sub>(+)</sub> kg <sup>-1</sup> )
Bajo	6-10	4-7	0,23-0,33
Óptimo	11-14	8-11	0,34-0,43
Alto	15-20	12-15	0,44-0,51
Muy alto	> 21	> 16	> 0,52

## ANEXO III. MATERIAL FOLIAR

**Anexo III, Tabla 1.** Niveles de referencia para diagnosis nutricional de macronutrientes (peso seco, g 100 g<sup>-1</sup>) en limbo y pecíolo medidos en floración y en envero para cv. Tempranillo en la D.O.Ca. Rioja (García-Escudero *et al.*, 2013).

Nutrientes	NIVELES NUTRICIONALES DE REFERENCIA (Peso seco, g 100 g <sup>-1</sup> )									
	FLORACIÓN					ENVERO				
	BAJO	ÓPTIMO BAJO	ÓPTIMO	ÓPTIMO ALTO	ALTO	BAJO	ÓPTIMO BAJO	ÓPTIMO	ÓPTIMO ALTO	ALTO
	<b>LIMBOS</b>					<b>LIMBOS</b>				
<b>N</b>	< 2,96	2,96-3,13	3,13-3,28	3,28-3,46	> 3,46	< 2,08	2,08-2,19	2,19-2,29	2,29-2,42	> 2,42
<b>P</b>	< 0,243	0,24-0,27	0,27-0,31	0,31-0,36	> 0,36	< 0,13	0,13-0,15	0,15-0,16	0,16-0,18	> 0,18
<b>K</b>	< 0,78	0,78-0,89	0,89-1,00	1,00-1,15	> 1,15	< 0,63	0,63-0,77	0,77-0,91	0,91-1,13	> 1,13
<b>Mg</b>	< 0,28	0,28-0,32	0,32-0,36	0,36-0,41	> 0,41	< 0,31	0,31-0,38	0,38-0,45	0,45-0,56	> 0,56
<b>Ca</b>	< 1,90	1,90-2,10	2,10-2,29	2,29-2,53	> 2,53	< 2,82	2,82-3,10	3,10-3,34	3,34-3,62	> 3,62
	<b>PECÍOLOS</b>					<b>PECÍOLOS</b>				
<b>N</b>	< 0,76	0,76-0,94	0,94-1,10	1,10-1,27	> 1,27	< 0,43	0,43-0,47	0,47-0,51	0,51-0,56	> 0,56
<b>P</b>	< 0,24	0,24-0,30	0,30-0,34	0,34-0,39	> 0,39	< 0,07	0,07-0,09	0,09-0,13	0,13-0,18	> 0,18
<b>K</b>	< 0,97	0,97-1,3	1,3-1,75	1,75-2,36	> 2,36	< 0,71	0,71-1,14	1,14-1,68	1,68-2,36	> 2,36
<b>Mg</b>	< 0,47	0,47-0,56	0,56-0,66	0,66-0,78	> 0,78	< 0,61	0,61-0,78	0,78-0,95	0,95-1,21	> 1,21
<b>Ca</b>	< 1,28	1,28-1,42	1,42-1,55	1,55-1,72	> 1,72	< 1,66	1,66-1,86	1,86-2,09	2,09-2,36	> 2,36

**Anexo III, Tabla 2.** Niveles de referencia para diagnosis nutricional de micronutrientes (peso seco, mg kg<sup>-1</sup>) en limbo y pecíolo medidos en floración y en envero para cv. Tempranillo en la D.O.Ca. Rioja (García-Escudero *et al.*, 2013).

Nutrientes	NIVELES NUTRICIONALES DE REFERENCIA (Peso seco, mg kg <sup>-1</sup> )									
	FLORACIÓN					ENVERO				
	BAJO	ÓPTIMO BAJO	ÓPTIMO	ÓPTIMO ALTO	ALTO	BAJO	ÓPTIMO BAJO	ÓPTIMO	ÓPTIMO ALTO	ALTO
	<b>LIMBOS</b>					<b>LIMBOS</b>				
<b>Fe</b>	< 87	87-105	105-131	131-180	> 180	< 99	99-134	134-164	164-205	> 205
<b>Mn</b>	< 54	54-68	68-87	87-111	> 111	< 77	77-99	99-124	124-156	> 156
<b>Zn</b>	< 15	15-18	18-20	20-25	> 25	< 14	14-16	16-19	19-23	> 23
<b>Cu</b>	< 9,0	9,0-12	12-17	17-82	> 82	< 59	59-117	117-221	221-350	> 350
<b>B</b>	< 48	48-58	58-67	67-80	> 80	< 30	30-34	34-40	40-48	> 48
	<b>PECÍOLOS</b>					<b>PECÍOLOS</b>				
<b>N</b>	< 18	18-22	22-25	25-31	> 31	< 19	19-23	23-27	27-33	> 33
<b>P</b>	< 17	17-23	23-29	29-38	> 38	< 24	24-44	44-74	74-140	> 140
<b>K</b>	< 10	10-14	14-17	17-23	> 23	< 15	15-19	19-24	24-30	> 30
<b>Mg</b>	< 6,7	6,7-8,3	8,3-10	10-15	> 15	< 8,9	8,9-16	16-26	26-46	> 46
<b>Ca</b>	< 36	36-40	40-42	42-46	> 46	< 32	32-35	35-38	38-44	> 44





Instituto de  
Ciencias de la  
Vid y del Vino



Gobierno  
de La Rioja



CONSEJO SUPERIOR  
DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS



UNIVERSIDAD  
DE LA RIOJA