

EFFECTO DEL SOMBREADO DE RACIMOS SOBRE COLOR Y CALIDAD EN UVAS ROJAS PARA MESA (*Vitis vinifera* L.)

EFFECT OF BUNCH SHADING ON COLOR AND QUALITY OF RED TABLE GRAPES (*Vitis vinifera* L.)

Graciela del Valle Leguizamón-M^{1,2}, Alberto González-León¹, Rogerio R. Sotelo-Mundo¹, María A. Islas-Osuna¹, Elsa Bringas-Taddei¹, Jesús M. García-Robles¹, Tania Carvallo¹ y Reginaldo Báez Sañudo^{1*}

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD, A. C.) Carretera a la Victoria Km 0.6. 83000, Hermosillo, Sonora, México. Tel (662)289 2400. Ext. 226. ²Dirección Actual: Departamento de Ciencias Agronómicas Aplicadas, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero. Avenida Belgrano Sur 1912. 4200, Santiago del Estero, Argentina.

*Autor para correspondencia (rbaz@casabel.ciad.mx)

RESUMEN

El color es el principal atributo de calidad externo en las uvas rojas (*Vitis vinifera* L.) y es conferido por antocianinas que son altamente influenciadas por las condiciones ambientales. En este estudio se evaluó el efecto del sombreado de racimos sobre los parámetros de calidad y contenido de antocianinas de uvas, con el propósito de seleccionar las variables que definen el desarrollo del color. Se utilizaron racimos del cv. 'Flame Seedless' producidos durante la temporada 2003 - 2004, que fueron cubiertos en el pre-verano con una red plástica blanca o con una red negra (que presumiblemente retenían 50% de luminosidad) y un tratamiento testigo sin sombreado. Se encontraron efectos significativos de los tratamientos en lo referente a color (hue y CIRG), pero no en las características internas de calidad. Los racimos cubiertos con red negra presentaron al momento de la cosecha un índice CIRG = 3.18, con una acumulación de 688 $\mu\text{g g}^{-1}$ de antocianinas, que superaron a los testigos (CIRG = 3.10 y 678 $\mu\text{g g}^{-1}$) y a los racimos cubiertos con la red blanca (CIRG = 2.61 y 653 $\mu\text{g g}^{-1}$). Las correlaciones entre CIRG vs. sólidos solubles totales, pH y acidez titulable presentaron valores 0.69, 0.53 y -0.71, respectivamente. Una función logarítmica ($R^2 = 0.70$) modeló la relación entre la intensidad lumínica y la temperatura máxima que alcanzaron los racimos. Las temperaturas mínimas registradas durante la noche definieron el color, descrito por una relación cuadrática ($R^2 = 0.86$).

Palabras clave: *Vitis vinifera*, antocianinas, sólidos solubles totales, acidez titulable.

SUMMARY

Color is the most important external quality attribute in red grapes (*Vitis vinifera* L.). It is conferred by anthocyanins, which are highly influenced by environmental conditions. In this study we evaluated the effect of bunch shading on quality parameters and anthocyanins content in order to select the variables defining color development. Bunches of the cv. 'Flame Seedless' cultivated during the 2003-2004 growing season were used. They were covered in pre-

veraison with a white plastic net or a black net (assumedly both retained 50% of luminosity) and a control treatment without shading. Significant shading effects were found on color parameters (hue, CIRG), but not on internal quality characteristics. Bunches covered with black net showed CIRG = 3.18 and accumulated 688 $\mu\text{g g}^{-1}$ of anthocyanins at harvest, which exceeded those of the control (CIRG = 3.10, 678 $\mu\text{g g}^{-1}$) and those bunches covered with white net (CIRG = 2.61, 653 $\mu\text{g g}^{-1}$). The correlations between color vs. total soluble solids, pH and titrable acidity were 0.69, 0.53 y -0.71, respectively. A logarithmic function ($R^2 = 0.70$) modeled the relationship between light intensity and bunch temperature. Minimum temperatures registered during the night defined color, described by a quadratic function ($R^2 = 0.86$).

Index words: *Vitis vinifera*, anthocyanins, total soluble solids, titrable acidity.

INTRODUCCIÓN

El color es el principal atributo de calidad de las uvas rojas (*Vitis vinifera* L.) y en cultivares con bayas coloreadas como 'Flame Seedless' las antocianinas son los pigmentos encargados de impartirlo (Cantos *et al.*, 2002). Estos compuestos, que además son potentes antioxidantes, se almacenan en las vacuolas de las tres o cuatro primeras capas de células hipodermales. Su presencia es favorecida por condiciones de alta luminosidad (Jackson y Lombard, 1993; Beckwith *et al.*, 2004) y restringida especialmente por temperaturas nocturnas altas (Mori *et al.*, 2005).

Se han desarrollado estudios del manejo del dosel de la vid para encontrar el área foliar y la exposición a la luz más adecuadas (Jackson y Lombard, 1993), que garanticen la maduración de las bayas y mejoren la composición de los frutos a la cosecha (Roubelakis-Angelakis y Kliewer,

1986). Los estudios de color y contenido de antocianinas se han hecho en uvas para la elaboración de vino, provenientes de zonas frías donde las temperaturas bajas retrasan la maduración al no acumular los grados días de crecimiento (GDC) necesarios. Estas zonas presentan condiciones de alta luminosidad y temperaturas bajas, situación que favorece al desarrollo del color (Spayd *et al.*, 2002).

En los últimos años el cultivo de la vid destinada al consumo en fresco se ha extendido hacia regiones de diferentes condiciones climáticas, en las que la radiación solar no es una limitante para el desarrollo de la baya (Bergqvist *et al.*, 2001). Sin embargo, las temperaturas altas provocan la disminución del color en cultivares coloreados, lo que constituye la principal problemática a resolver (Kliewer y Torres, 1972; Haselgrove *et al.*, 2000; Jeong *et al.*, 2004; Mori *et al.*, 2005). Lo anterior fue señalado por primera vez en el cv. 'Tokay' por Kliewer y Torres (1972), pero aún no se conoce el mecanismo del efecto de la temperatura. Hay evidencias que indican que la falta de coloración puede atribuirse a la inhibición de la síntesis de pigmentos por las temperaturas altas (Mori *et al.*, 2005), a la degradación de los mismos por acción de la peroxidasa (EC 1.11.1.7) (Zhang *et al.*, 2005) o a una combinación de ambos mecanismos (Yamane *et al.*, 2006). Cuando las bayas alcanzan cierto contenido de azúcar, la síntesis y acumulación de antocianinas se bloquean (Boss *et al.*, 1996; Spayd *et al.*, 2002) y en zonas cálidas es común que el contenido de sólidos solubles totales se alcance antes que el color deseado (Steyn *et al.*, 2000).

La temperatura y la luminosidad que incide sobre los racimos afectan la composición y el metabolismo de las bayas (Bergqvist *et al.*, 2001), respuesta que varía con el estado de desarrollo de las mismas (Haselgrove *et al.*, 2000). Steyn *et al.* (2000) sugirieron que la luminosidad provoca un incremento de la concentración total de antocianinas monoméricas y flavonoles, pero las temperaturas excesivas de los racimos expuestos a la luz directa la disminuyen. Estas condiciones afectan en primer término a los flavonoles de la epidermis de la baya (Roubelakis-Angelakis y Kliewer, 1986) y por consiguiente a la concentración de las antocianinas (Spayd *et al.*, 2002). Según Beckwith *et al.* (2004) el color desarrollado por las hojas de *Panisetum* en condiciones de alta luminosidad puede perderse debido a la transformación de las antocianinas en antocianidinas, como una manera de contrarrestar el estrés lumínico.

El exceso de luz (Jeong *et al.*, 2004) y las temperaturas superiores a 30 °C (Yamane *et al.*, 2006), en especial las que ocurren durante el período nocturno (Mori *et al.*, 2005), parecen ser las principales razones de la falta de

color de las bayas (Spayd *et al.*, 2002). En frutos de pera (*Pyrus communis* L.) 'Rosemarie' y 'Forelle' el calor constante provocó degradación de antocianinas y reducción del color, contrario al obtenido cuando se expuso a las peras a periodos alternantes de temperaturas superiores a 30 °C (Steyn *et al.*, 2000). Es decir, la modificación del microclima que rodea a los frutos puede ayudar a mejorar el color de los mismos (Dokoozlian y Kliewer, 1996; Steyn *et al.*, 2000; Jeong *et al.*, 2004), por lo que se han probado estrategias de sombreado (Haselgrove *et al.*, 2000; Jeong *et al.*, 2004) y de ubicación de los racimos en el viñedo (Price *et al.*, 1995; Spayd *et al.*, 2002). Haselgrove *et al.* (2000) indicaron que el sombreado altera sustancialmente la temperatura del racimo y así provoca cambios en la coloración y el contenido de antocianinas. Sin embargo, los resultados de tales metodologías son contradictorios (Downey *et al.*, 2006).

El problema de la falta de color en uvas que crecen en zonas cálidas continúa vigente (Mori *et al.*, 2005). La mayoría de los estudios solucionarlo se han hecho en invernaderos con condiciones controladas (Yamane *et al.*, 2006), para evitar la variabilidad frecuente en los trabajos en campo (Tomás-Barberán y Espín, 2001; Kalt *et al.*, 2003).

Durante el envero de la uva (*i. e.*, inicio de la maduración), además de los cambios de color se incrementa la cantidad de sólidos solubles (Robinson y Davies, 2000), especialmente de glucosa y de fructosa y disminuye el contenido de ácidos orgánicos (Ruffner, 1982; Kanellis y Roubelakis-Angelakis, 1999). Estas características y el color pueden estar afectados por factores ambientales (Esteban *et al.*, 2001) como la temperatura (Kanellis y Roubelakis-Angelakis, 1999), y por tratamientos que afecten el microclima del racimo (Jeong *et al.*, 2004).

El estado de desarrollo de las bayas es un factor esencial al generar estrategias de manejo para mejorar el color y el contenido de los flavonoides (Haselgrove *et al.*, 2000; Downey *et al.*, 2004). El estudio de la interacción entre la luz y la temperatura es de importancia para el desarrollo de uvas de calidad (Bergqvist *et al.*, 2001), especialmente en regiones de cultivo con clima cálido y luminosidad alta como en Sonora, México, región en la que el cultivo de vid está destinado al consumo en fresco y el desarrollo del color es problemático en cultivares rojos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del sombreado de racimos sobre los parámetros de calidad y contenido de antocianinas de uvas, con el propósito de seleccionar las variables que definen el desarrollo de color en uvas del cv. 'Flame Seedless'.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El estudio se hizo en un viñedo ubicado en la localidad de Pesqueira, Sonora (29°18'29" LN, 110°55'30" LO) con plantas de la variedad 'Flame Seedless', durante la temporada 2003-2004. El sistema de conducción del cultivo fue "Lira", bajo los lineamientos de las buenas prácticas agrícolas, sin restricciones de agua y sin hacer las dos últimas aplicaciones de etefón (Ethrel®, Bayer), el cual comúnmente se utiliza para incrementar el color. Los frutos cuajaron el 15 de febrero, el envero inició el 4 de mayo y la cosecha se hizo el 20 de mayo.

Para evaluar el efecto del sombreado de racimos sobre el color y calidad de las bayas, dos semanas antes del envero (21 de abril) los racimos se cubrieron individualmente con una red color blanco (T1) o una de color negro (T2) (Figura 1). Ambas retenían 50 % de la luminosidad, según especificación del fabricante (Tenax, Guadalajara, México). Como testigo se etiquetaron racimos sin cubrir (T0). Los tratamientos T0, T1 y T2 se distribuyeron al azar en cinco hileras de 50 plantas cada una y se marcaron 70 racimos por tratamiento. La intensidad lumínica incidente (Lux) en la superficie del racimo y la temperatura (°C) de los mismos se registraron mediante sensores digitales Data Logger HOBO (Onset, Massachusetts, USA) provistos con el programa Box Car Pro versión 4.0. Los sensores se colocaron en la parte interna de las redes y en la superficie de los racimos expuestos a la luz, para registrar los valores cada hora durante las 24 h, por un periodo 27 d. Con estos datos se calcularon los promedios de cada intervalo de muestreo, de: temperaturas máxima y mínima, diferencia entre temperaturas máxima y mínima diarias, e intensidad lumínica máxima.

Cuatro racimos por tratamiento se muestrearon cada semana al inicio de los tratamientos y cada 3 ó 4 d a partir del envero hasta la cosecha. Las muestras se colectaron a las 11 am, se almacenaron en hielo y se transportaron al Laboratorio de Calidad de Frutas y Hortalizas, distante a 20 km del viñedo, donde se hicieron las determinaciones analíticas de color y calidad. Submuestras de los racimos fueron congeladas a -40 °C para el posterior análisis de contenido de antocianinas.



Figura 1. Tratamientos a los que fueron sometidos las uvas 'Flame Seedless': (T0) sin red; (T1) sombreado con red blanca; y (T2) sombreado con red negra. Las imágenes corresponden a 10 d después del envero. Se muestra también la ubicación del sensor.

Determinación de color, sólidos solubles totales y acidez titulable

Se midió el color (L^* , croma y hue) de las bayas de uva, con el sistema CIElab mediante un colorímetro Minolta CR-300* (Ramsey, New Jersey, USA). Aún cuando las diferencias entre colores eran evidentes a la vista, no se podían detectar numéricamente. Por ello se calculó el índice específico para bayas de color rojo (“color index for red grapes”, CIRG por sus siglas en inglés) a partir de los valores de colorimetría, con la ecuación $CIRG = 180 - hue / (L^* + croma)$ (Carreño *et al.*, 1995). Valores cercanos a cero corresponden a bayas de color verde y los cercanos a tres a bayas rojas. En cada racimo se midió el color de 20 bayas en distintas porciones del mismo. El porcentaje de sólidos solubles totales (SST) se midió con un refractómetro ATAGO PR-101 (Atago, Tokyo, Japan). La acidez titulable (AT) se determinó mediante un titulador automático Mettler DL67 (Hightstown, New Jersey, USA), con NaOH 0.1 N para neutralizar los ácidos a pH 8.3, y se expresó como contenido de ácido tartárico (%). El jugo se obtuvo de 30 bayas por racimo.

Contenido de antocianinas

Esta cuantificación se llevó a cabo a partir de 4 g de epicarpio que fueron homogeneizados en 8 mL de metanol puro (99 %) (Sigma, St. Louis, Missouri, USA). El homogeneizado se agitó durante 1 h a 375 rpm en un agitador orbital (Environ Shaker, Illinois, USA) y posteriormente se centrifugó durante 15 min a 3743 g en una centrífuga Allegra 64R (Beckman Coulter, California, USA) a 4 °C. El sobrenadante recuperado y evaporado hasta sequedad a 30 °C se reconstituyó en 2 mL de solución de ácido acético 2 % (v/v) en agua y metanol 8 %; se filtró con membrana de 0.2 μ m (Millipore, Billerica, USA) justo antes de realizar la separación cromatográfica.

Para la detección de las antocianinas se utilizó cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (HPLC) (Varian ProStar, modelo 410; Varian, Australia), con detección mediante arreglo de poli-diodos (PDA Varian ProStar 330). Para la separación se utilizó una columna C_{18} de 25 mm x 4.6 mm de diámetro con tamaño de partícula de 5 μ m con guardacolumna (Pickering Lab Inc, Mountain View, California, USA). Como fase móvil A se utilizó una solución 5 % (v/v) de ácido acético (Sigma) en agua grado HPLC, con pH ajustado a 2.3; como fase móvil B se utilizó metanol/acetonitrilo/agua en proporción (60:33:7) (J. T. Baker). La columna fue re-equilibrada con 90 % de la fase A y 10 % B durante 5 min. Se inyectaron 40 μ L de cada extracto y el flujo de

eluyente fue 1 mL min⁻¹ conforme al programa de elución indicado en el Cuadro 1; se registró la absorbancia a 520 nm. El contenido de antocianinas se expresó en equivalentes de malvidina 3-*O* glucósido (Extrasynthese, Genay, France), utilizada como estándar externo. Las determinaciones del contenido de antocianinas se hicieron por triplicado.

Cuadro 1. Gradientes de concentración para los solventes empleados en la obtención de los perfiles de antocianinas. A: metanol- agua (90/10); B: metanol- acetonitrilo- agua (60/33/7).

Tiempo (minutos)	A (%)	B (%)
0	90	10
0-6	90	10
6-17	89	11
17-21	88	12
21-27	86	14
27-37	77	23
37-39	53	47
39-40	15	85
40-48	0	100

Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente aleatorizado. La unidad experimental fue un racimo con cuatro repeticiones por tratamiento. Los muestreos se analizaron de manera independiente y el análisis de varianza se realizó con el modelo general lineal, y en caso de presentar diferencias se aplicó la prueba de diferencias mínimas significativas (DMS, 0.05). Además, se hicieron análisis de correlación (Pearson), análisis de regresión y selección de variables por pasos “*Stepwise*”. En todos los casos se utilizó el paquete estadístico Number Cruncher Statistical System (NCSS, Utah, USA) versión 2001.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Temperatura y luminosidad incidentes en los racimos

Se observó que las temperaturas máximas registradas resultaron significativamente más altas en los racimos cubiertos con la red negra (T2), en los muestreos previos al envero (4 de mayo) (Cuadro 2). Esta tendencia continuó hasta la madurez, aunque las diferencias ya no fueron significativas. En la temperatura mínima de los racimos (Cuadro 3) no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en los muestreos cercanos a madurez, variable que más afecta a la síntesis de antocianinas (Mori *et al.*, 2005).

Las diferencias entre las temperaturas máximas y mínimas diarias resultaron estadísticamente iguales entre tratamientos (Cuadro 4). Esto se atribuyó a que si bien al mediodía las bayas cubiertas con la red negra alcanzaron temperaturas altas, durante la noche perdieron el calor con

más facilidad (Cuadros 2 y 3). Nobel (1991) explicó que cuando un cuerpo oscuro absorbe luminosidad, parte en forma de calor y otra parte de la energía absorbida la emite con longitud de onda mayor, de modo que el cuerpo muestra enfriamiento. En cambio, la red de color blanco reflejó parte de la luz recibida y por la noche perdió menos energía en forma de calor.

La intensidad lumínica máxima (Cuadro 5), como era previsible, T0 alcanzó valores mayores, aunque aparecieron valores altos para T1 en etapas posteriores al envero. Esto podría deberse a que durante el día recibió luz y por el color blanco de la red, reflejó parte de la energía luminosa (Nobel, 1991), la que pudo ser leída por el sensor. Cabe destacar que la luz recibida durante el pre-envero ejerce efectos más pronunciados sobre las variables fisiológicas que la que se recibe pasado el envero por la condición de madurez de la baya (Dokoozlian y Kliewer, 1996).

Relación de intensidad lumínica – temperatura

La regresión lineal entre la intensidad lumínica máxima incidente en el racimo y la temperatura máxima, presentó un coeficiente de determinación $R^2 = 0.71$ para todos los tratamientos en conjunto. Al considerar cada tratamiento por separado, los coeficientes de determinación (R^2) fueron 0.66, 0.68 y 0.71 para T0, T1 y T2, respectivamente. En contraste, Bergqvist *et al.* (2001) reportaron que la relación disminuía al aumentar el sombreado en el cv. ‘Cabernet Sauvignon’; estos autores también indicaron que la temperatura de los racimos se incrementó linealmente en respuesta a la luminosidad, y que al mediodía las bayas de los racimos expuestos directamente al sol alcanzaron de 9 a 10 °C por arriba de los sombreados. En el presente trabajo las diferencias no fueron pronunciadas, lo que podría atribuirse al efecto de las redes y al las temperaturas altas que reducen las diferencias entre tratamientos.

Al considerar todos los tratamientos e incluir las temperaturas nocturnas, la relación se ajustó a un modelo logarítmico con $R^2 = 0.70$ (Figura 2), según el cual la temperatura del racimo aumentó al incrementarse la intensidad lumínica, hasta alcanzar la región de aproximadamente 3000 lux que correspondió a temperaturas entre 35 y 40 °C. Después de este valor, no hubo aumento de temperatura aún cuando la intensidad lumínica se incrementara. Los racimos alcanzaron la temperatura máxima 1 h después de la incidencia de luminosidad máxima, y estos son los valores mostrados en

los Cuadros 2 y 5, lo que indica que realmente existía una relación entre ellas, similar a las reportadas por Martínez de Toda (1991) y Bergqvist *et al.* (2001).

Color de los racimos

Los tratamientos de sombreado tuvieron un efecto significativo en el tono (hue) obtenidos en la cosecha ($30.08^\circ \pm 4.15^\circ$; $53.55^\circ \pm 1.54^\circ$ y $35.05^\circ \pm 3.50^\circ$, para T0, T1 y T2 respectivamente), pues T1 resultó significativamente menos rojo que los otros dos tratamientos ($P < 0.05$).

Las variables de color de las bayas, luminosidad (L^*) y saturación del color (croma) (datos no mostrados), no evidenciaron diferencias significativas atribuibles a los tratamientos, a pesar de que visualmente se apreciaban diferencias entre tratamientos (Figura 3), por lo que se recurrió a la determinación del CIRG. El análisis de regresión lineal de los datos indicó 97 % del CIRG fue explicado por el tono (hue) ($P < 0.001$), relación más alta que la encontrada por Carreño *et al.* (1995). Los valores que este índice alcanzó al momento de la cosecha fueron 3.10 ± 0.10 , 2.61 ± 0.25 y 3.18 ± 0.10 , para T0, T1 y T2 respectivamente, donde un mayor CIRG representa un color más rojo (Figura 4). T2 presentó un valor de CIRG = 2.83 ± 0.13 , 10 d después del envero, que superó ligeramente a los otros tratamientos, T0 (2.47 ± 0.19) y T1 (2.81 ± 0.19), lo que significa que con T2 el color se obtuvo más rápido.

Kliewer y Torres (1972) encontraron que frutos de los cultivares ‘Cardinal’, ‘Pinot Noir’ y ‘Tokay’ madurados a temperatura nocturna y diurna constantes de 15 °C alcanzaron más coloración que frutos madurados a temperaturas diurnas altas (35 °C) y temperaturas nocturnas bajas (25 °C), o viceversa. Además, mencionaron que en uvas ‘Tokay’ la formación de pigmentos se inhibió a temperaturas de 25 °C, mientras que en uvas ‘Kyoho’ las temperaturas nocturnas superiores a 15 °C redujeron la síntesis de pigmentos responsables del color, sin importar la temperatura durante el día (Mori *et al.*, 2005). En cambio, los racimos del presente estudio adquirieron color aún con temperaturas diurnas máximas mayores a 35 °C (Cuadro 2), lo cual podría haber sido promovido por la disminución de las temperaturas nocturnas (Cuadro 3), ya que las oscilaciones térmicas entre el día y la noche favorecen la coloración de los frutos (Steyn *et al.*, 2000).

Cuadro 2. Temperatura máxima registrada en racimos de distintos tratamientos. T0 (sin red); T1 (sombreado con red blanca); y T2 (sombreado con red negra), desde 30 d antes de la cosecha.

Días desde enero	Temperatura máxima en los racimos (°C) ± ee		
	T0	T1	T2
-14	33.6 ± 0.0 a	33.6 ± 0.0 a	32.8 ± 0.0 b
-6	34.9 ± 0.1 c	35.6 ± 0.7 bc	36.9 ± 0.5 a
-4	33.9 ± 0.7 a	33.9 ± 1.1 a	34.5 ± 1.3 a
0	38.0 ± 0.5 b	37.9 ± 0.0 b	39.4 ± 0.7 a
3	37.2 ± 0.6 a	37.4 ± 0.4 a	37.9 ± 0.3 a
7	37.0 ± 0.8 a	37.9 ± 0.9 a	36.7 ± 1.0 a
10	36.3 ± 0.9 a	35.6 ± 0.6 a	35.6 ± 1.0 a
13	39.0 ± 2.6 a	39.1 ± 0.0 a	-

Medias con letras iguales en la misma hilera no fueron estadísticamente diferentes (DMS, 0.05); ee = error estándar.

Cuadro 3. Temperatura mínima registrada en racimos de distintos tratamientos: T0 (sin red); T1 (sombreado con red blanca); y T2 (sombreado con red negra), desde 30 d antes de la cosecha.

Días desde enero	Temperatura mínima en racimos (°C) ± ee		
	T0	T1	T2
-6	13.7 ± 1.6 a	14.1 ± 1.7 a	13.6 ± 1.7 a
-4	13.1 ± 1.6 a	13.2 ± 1.7 a	13.1 ± 1.6 a
0	15.0 ± 0.7 a	15.1 ± 0.5 a	15.0 ± 0.6 a
3	14.1 ± 0.4 a	14.4 ± 0.3 a	14.1 ± 0.2 a
7	14.9 ± 0.3 a	14.9 ± 0.4 a	14.8 ± 0.3 a
10	11.9 ± 0.7 a	12.2 ± 0.6 a	11.9 ± 0.7 a
13	12.2 ± 0.4 a	12.5 ± 0.5 a	11.7 ± 0.1 a

Medias con letras iguales en una misma no fueron estadísticamente diferentes (DMS, 0.05); ee = error estándar.

Cuadro 4. Diferencia entre las temperaturas máximas y mínima diarias registradas en racimos de tres tratamientos: T0 (sin red); T1 (sombreado con red blanca); y T2 (sombreado con red negra), desde 30 d antes de la cosecha.

Días desde enero	Diferencia entre temperaturas máximas y mínimas (C°) ± ee		
	T0	T1	T2
-6	21.2 ± 1.5 a	21.5 ± 1.6 a	23.3 ± 1.7 a
-4	20.3 ± 1.8 a	20.7 ± 2.2 a	21.4 ± 2.3 a
0	23.0 ± 1.1 a	22.8 ± 0.5 a	24.4 ± 0.4 a
3	23.1 ± 1.0 a	23.1 ± 0.7 a	23.8 ± 0.5 a
7	22.2 ± 0.6 a	22.0 ± 0.9 a	21.9 ± 0.8 a
10	24.4 ± 1.3 a	23.4 ± 0.7 a	23.7 ± 1.0 a
13	26.7 ± 2.9 a	27.9 ± 0.4 a	-

Medias con letras iguales en la misma hilera no fueron estadísticamente diferentes (DMS, 0.05); ee = error estándar.



Figura 2. Relación entre intensidad lumínica (lux) y temperatura (°C) en racimos de uvas (*Vitis vinifera* L.) al considerar las lecturas obtenidas para todos los tratamientos, tanto de día como de noche.

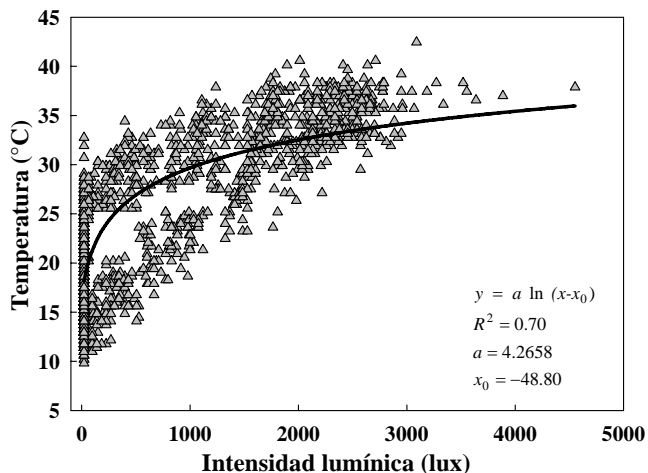


Figura 3. Luminosidad y color visual en racimos correspondientes a los tres tratamientos. (T0) sin red; (T1) sombreado con red blanca; y (T2) sombreado con red negra al momento de la cosecha.

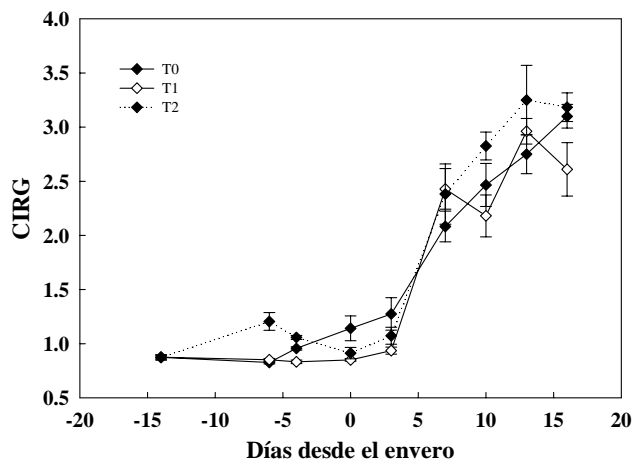


Figura 4. Evolución del índice CIRG (índice de color para uvas rojas) en los tres tratamientos de sombreado de racimos, en función de días desde el envase. Las barras indican el error estándar (DMS 0.05 = 0.29).

En otros estudios hechos en el Valle de San Joaquín, en California, EE. UU., la alta luminosidad incidente sobre el racimo provocó la disminución del color y la degradación de azúcares en uvas ‘Cabernet Sauvignon’ y ‘Grenache’ (Bergqvist *et al.*, 2001) y ‘Pinot Noir’ (Spayd *et al.*, 2002). Como hipótesis se postula que los frutos sometidos a temperaturas altas aumentan su tasa respiratoria y la deglucosilación de antocianinas, lo que da lugar a la formación de compuestos sin color (Azcón-Bieto y Talón, 1993), como las agliconas (Zhang *et al.*, 2005). Bioquímicamente eso correspondería a la disminución de la actividad de UDP- flavonoide 3-O- glucosil transferasa (UFGT), una enzima clave que, a diferencia de otras que modulan la ruta del fenilpropanoide, se expresa sólo a

partir del envero. Su expresión y actividad afectan la coloración de las uvas (Robinson y Davies, 2000; Mori *et al.*, 2005).

En este estudio, los valores más altos de CIRG se obtuvieron en racimos sombreados con la red negra y en los testigos, mientras que los valores más bajos correspondieron a los cubiertos con red blanca a pesar que ambas tenían, según el fabricante, la misma capacidad de retención lumínica. Esto pudo atribuirse a que los racimos de T2 se enfriaron más fácilmente y alcanzaron temperaturas menores a 15 °C (Cuadro 3), o a que existen diferencias cualitativas en la luminosidad recibida por las bayas, que en este ensayo no fueron consideradas.

En el presente trabajo, las diferencias térmicas diarias entre tratamientos no fueron significativas (Cuadro 4), pero las medias mínimas diarias estuvieron por debajo de 15 °C, particularmente después del envero. Winkler *et al.* (1974) encontraron que en regiones cálidas las bayas no adquirirían color cuando las fluctuaciones diarias de temperatura no eran marcadas.

Sólidos solubles totales, pH, acidez titulable y antocianinas

Al momento de la recolección de racimos no hubo diferencias entre los tres tratamientos, en cuanto a contenido de sólidos solubles totales (SST) (Figura 5). Yamane *et al.* (2006) tampoco encontraron diferencias atribuibles a temperaturas, ni tampoco las encontraron Downey *et al.* (2004) en racimos de uva ‘Shiraz’ sombreados durante todo el crecimiento.

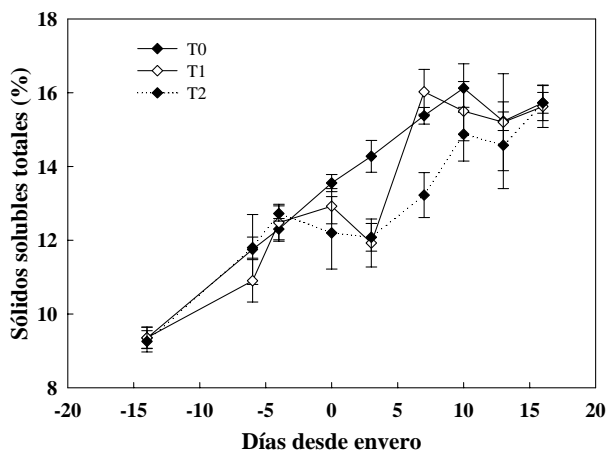


Figura 5. Evolución de los sólidos solubles totales (%) en los tres tratamientos de sombreado de racimos, desde pre-envero a la cosecha. Las barras indican el error estándar (DMS 0.05 = 0.386).

La acumulación de azúcares fue sostenida para T0 durante la madurez, lo que coincidió con Winkler *et al.* (1974), a diferencia de T1 y T2 que presentaron un comportamiento irregular (Figura 5). Aunque el principal aporte de SST es a través del floema, existe un aporte minoritario por la oxidación del ácido málico que puede ser incentivado por temperaturas altas (Azcón-Bieto y Talón, 1993; Kanellis y Roubelakis-Angelakis, 1999). Según Davies y Robinson (1996), existen múltiples mecanismos asociados con la acumulación de azúcares en las vacuolas de las uvas.

Al momento de la cosecha el valor del pH para T1 (4.83 ± 0.02) fue mayor que en T0 (4.35 ± 0.28) y T2 (4.38 ± 0.11) (datos no mostrados), en oposición a lo reportado por Bergqvist *et al.* (2001), quienes encontraron que en uvas ‘Grenache’ el pH disminuyó ligeramente al aumentar la intensidad lumínica. Price *et al.* (1995) no encontraron diferencias en uvas ‘Pinot’ expuestas a distintas intensidades de luz. No se encontraron reportes previos de estas variables para el cv. ‘Flame Seedless’.

En la acidez titulable todos los tratamientos dieron valores cercanos a 0.5 %, sin diferencias significativas entre tratamientos. Según Winkler *et al.* (1974), el intervalo normal de acidez para uvas de mesa, expresado como ácido tartárico, oscila entre 0.2 y 1.0 %. Los valores de acidez en la cosecha fueron 0.48 ± 0.03 , 0.45 ± 0.01 , 0.46 ± 0.03 (LSD 0.05) para T0, T1 y T2, respectivamente. La caída de acidez desde 5 d antes del envero hasta 10 d después (datos no mostrados), se atribuye a que el ácido málico es usado como sustrato para la síntesis de azúcar y para la respiración durante la maduración (Ruffner, 1982), a diferencia del ácido tartárico que es metabolizado más lentamente y sólo a temperaturas mayores de 30 °C (Yamane *et al.*, 2006). Price *et al.* (1995) encontraron que los racimos más expuestos al sol presentaban valores más bajos de ácido málico que los no expuestos, lo que se relacionó con una menor acidez.

En el contenido de antocianinas, expresado en equivalentes de malvidina 3-O glucósido, se evidenciaron diferencias significativas entre el tratamiento T2 ($688 \pm 1.49 \mu\text{g g}^{-1}$) comparado con T0 y T1 que alcanzaron 678 ± 7.43 y $653 \pm 3.96 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente ($P < 0.05$). Esta diferencia puede explicar los valores de CIRG de T2 y T1 de los tratamientos señalados previamente, y podría explicarse por las menores temperaturas nocturnas a las que fueron expuestos los racimos de T2, similar a lo que Mori *et al.* (2005) indicaron para el cv. ‘Kyoho’.

En uvas de ‘Flame Seedless’ el contenido de antocianinas obtenidos en el presente ensayo fue

sensiblemente superior a los valores reportados por Cantos *et al.* (2002) quienes obtuvieron $151 \mu\text{g g}^{-1}$ en la etapa de cosecha.

Según Jackson y Lombard (1993), la alta luminosidad se asocia con un alto contenido de antocianinas. En cambio, en este trabajo el tratamiento T2 sombreado con la red negra presentó un mayor contenido de estos pigmentos. Por otra parte, Downey *et al.* (2004) sombreadon los racimos desde el cuajado, teniendo cuidado de no modificar otros factores del microclima del racimo; en tales condiciones encontraron que el contenido de antocianinas se redujo sólo en el año con temperaturas máximas y mínimas altas. Spayd *et al.* (2002) encontraron diferencias imputables al sombreado de racimos en uno de los dos años de estudio, lo que atribuyeron a la combinación de la luminosidad incidente con la temperatura de las bayas.

La disminución del contenido de antocianinas puede ser consecuencia de diversos mecanismos que afectan su acumulación (Downey *et al.*, 2006). En este trabajo, con temperaturas máximas superiores a 30°C , pudo suceder que las antocianinas hayan sido degradadas por inhibición de algunas enzimas de la ruta biosintética, o por la baja traslocación de sustratos para la biosíntesis de los compuestos (Mori *et al.*, 2005). Este efecto es dependiente del tipo de antocianina del cultivar, ya que algunas son más estables a altas temperaturas (Downey *et al.*, 2004). En un ambiente en el que la intensidad lumínica no sea limitante, es posible que el efecto inhibitorio se deba más a la temperatura. Se requieren estudios adicionales para separar los efectos de diferentes condiciones climáticas en donde se producen uvas de color.

Relaciones entre las variables

En las correlaciones entre CIRG y las variables fisiológicas (Cuadro 6), se encontró que las de sólidos solubles totales fueron menores a la reportada de 0.95 por Esteban *et al.* (2001) en uvas ‘Tempranillo’; esto puede atribuirse a las diferentes condiciones ambientales del ensayo, como temperatura, en comparación con las de este trabajo.

Se detectaron correlaciones significativas entre el color (CIRG), SST, pH y acidez titulable, aunque los coeficientes fueron menores para T2 al analizar los tratamientos por separado. Si bien es cierto que pueden considerarse bajos, los valores de correlación son aceptables para frutos que provienen de condiciones de

campo, debido a los factores sin controlar. Kalt *et al.* (2003), al trabajar con arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) en distintas etapas de madurez, encontraron que no había comportamientos lineales en todas las etapas de crecimiento del fruto.

La regresión entre los sólidos solubles totales y la acidez titulable obtuvo un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.72$ ($P < 0.01$); en cambio, Esteban *et al.* (2001) encontraron una relación de tipo exponencial ($R^2=0.70$), posiblemente porque esta relación es sumamente dependiente de las condiciones ambientales y, por ende, de la estación de crecimiento (Jones y Davis, 2000).

La regresión entre el CIRG y la temperatura mínima (t_{\min}) se ajustó a una función cuadrática $\text{CIRG} = (130.91) + (-19.20)(t_{\min}) + (0.71)(t_{\min})^2$, con $R^2 = 0.86$. Esto indica que la temperatura mínima estuvo implicada en la expresión del color, y no la intensidad lumínica, aunque en la selección de variables mediante el análisis por pasos sólo alcanzó una $R^2 = 0.11$. Otros autores han relacionado la luminosidad con la expresión del color (Beckwith *et al.*, 2004, Jeong *et al.* 2004), aunque la mayoría lo separa del efecto de la temperatura (Bergqvist *et al.*, 2001). Es necesario entonces que se hagan estudios de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos, mediante procesos de activación y expresión genética de enzimas, como glucosidasas o peroxidadas que modifican químicamente las antocianinas y modifican el color.

CONCLUSIONES

En la uva de mesa cv. ‘Flame Seedless’ se encontró un modelo matemático de tipo logarítmico, el cual relaciona a la temperatura máxima que alcanzó del racimo con la intensidad lumínica incidente. La temperatura mínima del racimo durante la noche tuvo influencia sobre la expresión del color, más que la intensidad lumínica. En términos de color, medido como CIRG, las bayas de los racimos sombreados con red negra y los testigos sin sombreado obtuvieron una coloración más roja que los cubiertos con la red blanca, sin que las variables fisiológicas hayan sido afectadas en la etapa de cosecha. El contenido de antocianinas fue mayor en los racimos sombreados con la red negra durante el pre-verano, lo que se pudo relacionar con el color, por lo que este tratamiento podría mejorar el color en uvas ‘Flame Seedless’.

Cuadro 5. Intensidad lumínica (lux) recibida por los racimos de tres tratamientos. T0 (sin red); T1 (sombreado con red blanca); y T2 (sombreado con red negra). Los valores representan el promedio dentro de cada intervalo de muestreo.

Días desde enero	Intensidad lumínica en el racimo (lux) ± ee		
	T0	T1	T2
-14	2949 ± 0.0 a	2411.2 ± 0.0 b	2583 ± 0.0 b
-6	2745 ± 50.6 a	2295 ± 92.3 b	2545 ± 117.3 a
-4	2454 ± 28.0 a	2035 ± 0.0 c	2199 ± 48.4 b
0	2548 ± 31.2 a	2053 ± 179.8 b	2131 ± 62.4 b
3	2616 ± 113.0 a	2680 ± 59.2 a	2501 ± 211.0 a
7	2686 ± 52.7 a	2815 ± 248.7 a	2635 ± 24.8 a
10	2637 ± 80.7 a	2619 ± 175.5 a	2554 ± 70.0 a
13	2651 ± 272.3 b	4220 ± 333.7 a	-

Medias con letras iguales en una misma hilera no fueron estadísticamente diferentes (DMS, 0.05); ee = error estándar.

Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson entre el índice de color para uvas rojas (CIRG) con parámetros de calidad en bayas de vid 'Flame Seedless'.

	CIRG		
	Sólidos solubles	pH	Acidez titulable
General	0.69 **	0.54 *	-0.71 **
(T0) Sin Red	0.74 **	0.51 *	-0.76 **
(T1) Red Blanca 50%	0.76 **	0.68 **	-0.72 **
(T2) Red Negra 50%	0.67 **	0.52 *	-0.74 **

*, **Significativo a $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$, respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Azcón-Bieto J, M Talón (1993)** Fisiología y Bioquímica Vegetal. Ed. Interamericana-McGraw-Hill. España. 581 p.
- Beckwith A G, Y Zhang, N P Seeram, A C Cameron, M G Nair (2004)** Relationship of light quantity and anthocyanin production in *Pennisetum setaceum* cvs. Rubrum and Red Riding Hood. J. Agric. Food Chem. 52:456-461.
- Bergqvist J, N Dokoozlian, N Ebisuda (2001)** Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California. Am. J. Enol. Vitic. 52:1-7.
- Boss P K, C Davies, S P Robinson (1996)** Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* cv. Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. Plant Physiol. 111:1059-1066.
- Cantos E, J C Espín, F Tomás-Barberán (2002)** Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. J. Agric. Food Chem. 50:5691-5696.
- Carreño J, A Martínez, L Almela, J A Fernández-López (1995)** Proposal of an index for the objective evaluation of the color of red table grapes. Food Res. Internat. 28:373-381.
- Coombe B G (1992)** Research on development and ripening of the grape berry. Am. J. Enol. Vitic. 43:101-110.
- Davies C, S P Robinson (1996)** Sugar accumulation in grape berries cloning of two putative vacuolar invertase cDNAs and their expression in grapevine tissues. Plant Physiol. 11:275-283.

- Dokoozlian N K, W M Kliewer (1996)** Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 12:869-874 .
- Downey M O, J S Harvey, S P Robinson (2004)** The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Austral. J. Grape Wine Res.* 10:55-73.
- Downey M O, N K Dokoozlian, M P Krstic (2006)** Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *Am. J. Enol. Vitic.* 57: 257-268
- Esteban M A, M J Villanueva, J R Lissarrague (2001)** Effects of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo. *J. Sci. Food Agric.* 81:409-420.P
- Haselgrove I, D Botting, R van Heeswijck, P B Høj, P R Dry, C Ford, P G Iland (2000)** Canopy microclimate and berry composition: The effect of bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L cv. Shiraz grape berries. *Austral. J. Grape Wine Res.* 141:141-149.
- Jackson D I (1986)** Factors affecting soluble solids, acid, pH, and color in grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 37:179-183.
- Jackson D I, P B Lombard (1993)** Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality - a review. *Am. J. Enol. Vitic.* 44:409-430.
- Jeong S T, N Goto-Yamamoto, S Kobayashi, M Esaka (2004)** Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. *Plant Sci.* 167:247-252.
- Jones G V, R E Davis (2000)** Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *Am. J. Enol. Vitic.* 51:249-261
- Kalt W, C Lawand, D A J Ryan, J E Mc Donald, H Donner, C F Forney (2003)** Oxygen radical absorbing capacity, anthocyanin and phenolic content of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during ripening and storage. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 128:917-923.
- Kanellis A K, K A Roubelakis-Angelakis (1999)** Grape. *In* Biochemistry of Fruit Ripening. G Seymour, G Tucker (eds). Chapman and Hall. London. pp:189-234.
- Kliewer W M, R E Torres (1972)** Effect of controlled day and night temperature on grape coloration. *Am. J. Enol. Vitic.* 23:71-77.
- Martínez de Toda F (1991)** *Biología de la Vid.* Ed. Mundi-Prensa. Madrid España. 346 p.
- Mori K, S Sugaya, H Gemma (2005)** Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Sci. Hort.* 105:319-330.
- Nobel P (1991)** *Physicochemical and Environmental Plant Physiology.* Academic Press. San Diego. CA. 634 p.
- Price S F, P J Breen, M Valladao, B T Watson (1995)** Cluster sun exposure and quercetin Pinot Noir grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 46: 187-194.
- Roubelakis-Angelakis K A, W M Kliewer (1986)** Effects of exogenous factors on phenylalanine ammonia-lyase activity and accumulation of anthocyanins and total phenols in grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 37:275-280.
- Robinson S P, C Davies (2000)** Molecular biology of grape berry ripening. *Austral. J. Grape Wine Res.* 6:175-182.
- Ruffner H P (1982)** Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*: a review - Part A. *Vitis* 21:247-259.
- Spayd S E, J M Tarara, D L Mee, J C Ferguson (2002)** Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot Berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 53:171-182.
- Steyn W J, D M Holcroft, S J E Wand, N C Cooks, G Jacobs (2000)** Dating Rosemarie: How to make her blush? Proceedings of the Cape Pomological Association Symposium. pp:55-62.
- Tomás-Barberán F A, J C Espín (2001)** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 81:853-876.
- Winkler A J, J A Cook, W M Kliewer, L A Lider (1974)** *General Viticulture.* University of California Press. California. USA. 709 p.
- Yamane T, S T Jeong, N Goto-Yamamoto, Y Koshita, S Kobayashi (2006)** Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *Am. J. Enol. Vitic.* 57:54-59.
- Zhang Z, X Pang, D Xuewu, Z J Y Jiang (2005)** Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chem.* 90:47-52.