

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA  
SOBRE LOS COMPUESTOS TIOLADOS Y  
AMINOACÍDICOS DE UVAS Y VINOS**

LUIS IGNACIO GALAZ BARBOZA

**Santiago - Chile**

**2013**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS  
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA  
SOBRE LOS COMPUESTOS TIOLADOS Y  
AMINOACÍDICOS DE UVAS Y VINOS**

**EFFECTS OF NITROGEN FERTILIZATION ON  
THIOLATED AND AMINOACIDIC COMPOUNDS OF  
GRAPES AND WINES**

LUIS IGNACIO GALAZ BARBOZA

Santiago - Chile

2013

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

**EFFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA  
SOBRE LOS COMPUESTOS TIOLADOS Y  
AMINOACÍDICOS DE UVAS Y VINOS**

Memoria para optar al Título profesional de:  
Ingeniero Agrónomo

LUIS IGNACIO GALAZ BARBOZA

	<b>Calificaciones</b>
<b>Profesor Guía</b> Sr. Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,0
<b>Profesores Evaluadores</b> Sr. Eduardo Loyola M. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,1
Sra. Ana María Estevez A. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc	6,5
<b>Profesor Colaborador</b> Sr. Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo, Dr.	

**Santiago – Chile**

**2013**

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mis padres, Luis y Ernestina, por estar a mi lado durante todos estos años. Por su esfuerzo, sacrificio, dedicación y por el amor que me han entregado para llevar a cabo cada uno de mis sueños. Por entregarme las herramientas necesarias para caminar por la vida con convicción y honestidad, por enseñarme a luchar por mis ideales y por no rendirse nunca, incluso cuando no quedaban fuerzas para seguir.

A mis hermanas, Viviana y Javiera, por apoyarme en todo momento, por tenderme una mano en momentos claves, por los consejos y por hacerme sentir como un hermano especial.

A mi sobrino, Maximiliano, por ser el motor que me inspiró a seguir cuando no había motivación.

A mi abuela, María Norma (Q.E.P.D.) que siempre se preocupó por entregarme un gesto de amor y hasta el día de hoy me acompaña en cada una de mis acciones.

A mi novia, Andrea, por llegar a mi vida en un momento tan importante y por ser la responsable de que este proyecto pudiera ser concluido a tiempo.

A mis amigos, esos que me han acompañado de manera incondicional a lo largo de los años, entregando siempre un gesto de cariño.

A mi profesor guía, Elías Obreque, por su constante dedicación, paciencia y entrega para llevar a cabo la realización de este proyecto.

Finalmente quiero agradecer al profesor Alvaro Peña, por ser la persona que despertó el interés en mí por la enología.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO</b> .....	4
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	5
Objetivo general .....	6
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	7
Lugar de estudio .....	7
Materiales .....	7
Metodología.....	7
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	8
Fertilización nitrógenada en las plantas frutales .....	8
Antecedentes generales.....	8
Mecanismos de transporte de compuestos nitrogenados .....	9
Factores que influyen en la concentración de nitrógeno en la vid.....	10
Efectos de la aplicación de nitrógeno bajo tres condiciones iniciales .....	12
Fertilización foliar como alternativa a la fertilización convencional .....	13
Efecto de la fertilización nitrogenada: Composición aminoacídica .....	15
Efecto de los compuestos aminoacídicos en el vino.....	20
Efecto de la fertilización foliar nitrogenada: Tioles .....	23
<b>CONCLUSIONES</b> .....	32
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	33

## RESUMEN

La fertilización es una técnica utilizada para evitar deficiencias nutricionales en las plantas. En este sentido, el nitrógeno es el elemento mineral más importante en la nutrición, debido a su presencia en moléculas de gran importancia y su participación en diversos procesos metabólicos. Sin embargo, un exceso en su aplicación repercute en la planta con efectos tales como crecimiento vegetativo excesivo o retrasos en la madurez. Es por ello, que la fertilización foliar parece ser una alternativa complementaria al presentar menores limitaciones respecto a la fertilización convencional. Para el caso específico de la vid, estudios han demostrado que la fertilización nitrogenada tiene una influencia sobre la composición aminoacídica de la baya. Así, mayores niveles de nitrógeno en la planta, se asocian a un aumento en la concentración del nitrógeno total, amonio, aminoácidos libres y por ende en el nitrógeno asimilable por las levaduras (YAN). Este aumento en la concentración de los compuestos nitrogenados, tiene una influencia directa en el vino; no solo porque evita fermentaciones lentas o detenciones del proceso, sino que también porque existe un efecto sobre el perfil aromático del vino. Diversas investigaciones han demostrado que *Saccharomyces cerevisiae* es capaz de sintetizar aromas a partir de precursores indoros encontrados en la baya cuando existe una concentración adecuada del YAN en el mosto. Esta acción por parte de las levaduras se produce sobre una familia aromática particular: los tioles. Estos compuestos se caracterizan por ser los responsables del aroma varietal de los vinos Sauvignon blanc. Así, durante la fermentación alcohólica los precursores aromáticos, presentes en el mosto, son degradados, liberando el tiol volátil correspondiente al vino, mejorando así el perfil aromático al aportar notas tropicales tales como maracuyá, cítricos o pomelo. En consecuencia, la fertilización nitrogenada tiene un impacto tanto sobre la composición aminoacídica como aromática de uvas y vinos respectivamente. A pesar de lo descrito anteriormente, limitada información existe que sintetice e integre el efecto de la fertilización nitrogenada sobre los tioles y la composición aminoacídica en uvas y vinos. Así, el objetivo de este estudio fue analizar y describir el efecto de la fertilización nitrogenada sobre estos compuestos.

**Palabras claves:** Fertilización foliar, nitrógeno, aminoácidos, aromas, tioles, vinos.

## ABSTRACT

Fertilization is a technique used to avoid nutritional deficiencies in plants. In this sense, nitrogen is the most important mineral element in nutrition, due to the presence of important molecules and its participation in many metabolic processes. However, an excessive nitrogen application has an impact on plant, with effects as excessive vegetative growth or delaying in ripening. For these reasons, foliar spraying seems to be a complementary alternative to have less limitation respect to conventional fertilization. To specific case of the grapevine, some studies have demonstrated that nitrogen fertilization has an influence on berry aminoacidic composition. Thus, higher nitrogen levels in plant, are associated to an increase in total nitrogen, ammonium, free aminoacids concentration and hence yeast assimilable nitrogen (YAN). This increasing in the content of nitrogen compounds, has a directly influence on wine; not only because it avoid stuck and sluggish fermentations, but also because exists an effect on aromatic profile of the wine. Many researches have demonstrated that *Saccharomyces cerevisiae* is capable to synthesize aromas from odorless precursors located into berry when an adequate YAN concentration in must exists. This action by yeasts is produced on specific aromatic family, thiols. These compounds are characterized because they are responsible for the varietal aroma in Sauvignon blanc wines. Thus, during alcoholic fermentation aromatic precursors, present in the must, are degraded, releasing the respective volatile thiol to the wine, improving the aromatic profile to contribute tropical notes such as, passionfruit, citrus or grapefruit. Thus, nitrogen fertilization has an impact both aminoacidic and aromatic composition of grapes and wines respectively. Despite the above, there is a limited information to synthesize and integrate the effect of nitrogen fertilization on thiols and aminoacidic composition in grapes and wines. Thus, the aim of this study was analyze and describe the effect of nitrogen fertilization on these compounds.

**Key words:** Foliar spraying, nitrogen, aminoacids, aromas, thiols, wines.

**ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO**

1. YAN: Nitrógeno asimilable por las levaduras
2. 4MMP: 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona
3. 4MMPOH: 4-mercapto-4-metilpentan-2-ol
4. 3MH: 3-mercaptohexan-1-ol
5. A3MH/3MHA: 3-mercaptohexil acetato

## INTRODUCCIÓN

Las plantas obtienen del suelo la mayoría de los componentes esenciales para su desarrollo. Desde la solución salina del suelo, los macronutrientes y micronutrientes se incorporan hasta el interior de las células, donde se almacenan, metabolizan o transportan a otras células, tejidos u órganos (Azcón-Bieto, 2008). En el caso de la vid, diversos elementos nutritivos se necesitan para su desarrollo (Huglin, 1998), dentro de los cuales uno de los más importantes es el nitrógeno (N). Este compuesto se presenta abundantemente en las principales biomoléculas de la materia viva. Más aún, los suelos suelen ser más deficientes en nitrógeno que en cualquier otro elemento, por lo cual el nitrógeno, junto al fósforo (P) y el potasio (K), son los elementos claves en la nutrición mineral (Azcón-Bieto, 2008).

La mayor parte de los compuestos que controlan los procesos metabólicos son proteínas, las cuales están constituidas principalmente por N. Además, el nitrógeno es un integrante de la clorofila y, por consiguiente, su deficiencia en frutales puede afectar la inducción y diferenciación (Razeto, 1991). Dada la importancia que representa en la fisiología de la planta, el nivel de este macronutriente se puede incrementar mediante la fertilización, pero de esta forma, se fomentaría el crecimiento vegetativo, la sensibilidad de la planta a enfermedades y afectaría la madurez (Dufourcq *et al.*, 2009). Del mismo modo, la asimilación de nitrógeno es un proceso vital que controla el crecimiento y desarrollo de la planta. El nitrógeno inorgánico es asimilado, formando inicialmente los aminoácidos ácido glutámico, glutamato, aspargina y aspartato, los cuales sirven como importantes transportadores de nitrógeno en las plantas (Lam *et al.*, 1996).

La fertilización de nutrientes puede realizarse de diversas formas. Así, la fertilización foliar (en este caso nitrogenada) parece ser una técnica que implica algunos beneficios, como la disminución de las aplicaciones de nitrógeno, al complementarse con la fertilización realizada directamente en el suelo. A su vez, esta técnica no depende de la cantidad de agua presente en el suelo, ni de la composición de éste, aumentando así, la velocidad de asimilación (Gooding y Davis, 1992). Por otro lado, diversos estudios han demostrado que la fertilización foliar durante el invierno mejora significativamente los niveles de nitrógeno en la uva, el cual es considerado un factor clave en la liberación de compuestos aromáticos en los vinos (Dufourcq *et al.*, 2009). Los aromas presentes en vinos se pueden clasificar en primarios, secundarios y terciarios, siendo los primeros aquellos compuestos aromáticos que se encuentran en las células vegetales de las bayas sin daño alguno, mientras que los secundarios y terciarios, corresponden a aquellos componentes aromáticos provenientes de los procesos de fermentación y crianza del vino, respectivamente (Rapp, 1998). Dentro de los aromas primarios, los terpenos y los C<sub>13</sub> norisoprenoides están entre los componentes aromáticos más importantes encontrados en uvas, tanto en forma volátil como no volátil (Diéguez *et al.*, 2003).

Un grupo de compuestos aromáticos de alta relevancia presente en el vino, son los tioles que se liberan durante la fermentación alcohólica por el metabolismo enzimático de las levaduras desde precursores inodoros identificados en uvas, como S-cisteína y los conjugados del S-glutación (Peyrot Des Gachons, 2000). Los tioles están presentes en bajas concentraciones (nmol/L) y son muy sensibles a reacciones oxidativas. Los procesos para extraer los precursores, para así permitir a las levaduras liberarlos y finalmente preservarlos en la botella demandan una completa tecnología y conocimiento del enólogo (Dufourcq *et al.*, 2009). Se ha observado que bajos niveles de nitrógeno en *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc limitan la síntesis de precursores de aromas cisteinilados (unidos a cisteína) y glutación e incrementan el nivel de compuestos fenólicos en bayas (Choné, 2001; Peyrot Des Gachons *et al.*, 2005; Choné *et al.*, 2006). En consecuencia, una deficiencia de nitrógeno reduciría la calidad aromática y el potencial de envejecimiento de los vinos producidos a partir de Sauvignon blanc (Lacroux *et al.*, 2008).

Por otro lado, el nitrógeno juega un rol importante en la síntesis de compuestos orgánicos por parte de la planta, la cual se realiza a partir del amonio. Es ahí donde radica la importancia de los aminoácidos, ya que, son estos compuestos los primeros productos de la asimilación del amonio, y son los componentes básicos de las proteínas (Roubelakis-Angelakis, 1991). Los mostos de uva presentan una veintena de aminoácidos del reino vegetal, los cuales representan del 20 al 30% del nitrógeno total (Poux y Ournac, 1970). Si bien la composición cuantitativa y cualitativa de los aminoácidos en los mostos esta influenciada por la cepa, diversos estudios han demostrado que independiente del cultivar y el origen geográfico, los dos aminoácidos más abundantes son la prolina y la arginina, los cuales tienen como precursor común al ácido glutámico (Feuillat, 2003).

En este aspecto, la fertilización nitrogenada tiene un papel importante, ya que, si bien son diversos los efectos que el nitrógeno produce, el único efecto consistente de la aplicación de este macroelemento sobre los componentes de la baya, radica en un aumento de los compuestos nitrogenados tales como aminoácidos libres, totales, arginina, prolina, amonio y concentración de nitrógeno total, los cuales no solo juegan un rol en la nutrición de las levaduras, sino que además se asocian a los perfiles aromáticos de los vinos (Bell y Henschke, 2005). A partir de los antecedentes anteriormente expuestos, es posible observar que la composición aminoacídica y aromática en los vinos blancos es de alta relevancia. Asimismo, ambos factores podrían afectarse fuertemente por el contenido de nitrógeno y específicamente por la fertilización foliar nitrogenada, lo afectaría las características químicas y sensoriales del producto final.

### **Objetivo general**

Analizar y describir el efecto de la fertilización nitrogenada sobre los tioles y la composición aminoacídica en uvas y vinos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Lugar de estudio**

El estudio bibliográfico se realizó en las dependencias de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

### **Materiales**

La información necesaria se obtuvo desde fuentes, tanto escritas como digitales. Para aquellos recursos bibliográficos escritos se recurrió a tesis de magister, libros de interés enológico y revistas científicas. En el caso de los recursos digitales, se utilizó principalmente el servicio de información y bibliotecas (SISIB) de la Universidad de Chile con el objetivo de acceder a aquellas plataformas de las cuales se puedan extraer documentos científicos con una credibilidad suficiente para validar el estudio a realizar.

### **Metodología**

En primera instancia se realizó una búsqueda de aquella información necesaria para el desarrollo de este estudio, para posteriormente llevar a cabo una recopilación de los datos importantes. El orden lógico que siguió este estudio se sustentó en tres tópicos fundamentales: La importancia de la fertilización nitrogenada en las plantas frutales, el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la composición aminoacídica y el efecto de la composición nitrogenada sobre los tioles. Una vez reunida aquella información que permitió abarcar los temas anteriormente expuestos, es que se procedió a una discusión y análisis de los datos, con el objetivo de establecer una concordancia de la información obtenida desde las diferentes fuentes. Tras este análisis, se realizó una selección de los recursos realmente relevantes para la ejecución del estudio. Una vez hecho este procedimiento se llevó a cabo la transcripción de la información, con el objetivo de materializar en un solo documento la información recabada en las distintas fuentes bibliográficas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Fertilización nitrogenada en las plantas frutales

#### Antecedentes generales

Las plantas frutales requieren de trece elementos minerales para subsistir: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), azufre (S), hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), cobre (Cu), boro (B), cloro (Cl) y molibdeno (Mo). Debido a que desempeñan funciones indispensables e insustituibles, reciben la denominación de elementos esenciales. Los seis primeros reciben el nombre de macroelementos, por ser utilizados por la planta en grandes cantidades mientras que los demás se denominan microelementos, al ser requeridos en cantidades significativamente más baja que los macroelementos. La ausencia de cualquiera de estos trece elementos, conlleva a la muerte prematura de la planta, sin alcanzar a completar su ciclo normal de vida (Razeto, 1991). Para evitar el deceso de la planta por la ausencia de uno o varios elementos esenciales o en su defecto, limitaciones productivas por la deficiencia de alguno de ellos es que existe una práctica cultural denominada fertilización, siendo aquella que se basa principalmente en la adición de nitrógeno, uno de los problemas más controversiales de la nutrición mineral en árboles frutales (Wrona *et al.*, 2001).

El nitrógeno es el elemento mineral más importante en la nutrición de las plantas. Se caracteriza por ser uno de los elementos más limitantes en la nutrición dado que es constituyente de componentes importantes tales como proteínas, enzimas y coenzimas, ácidos nucleicos, vitaminas y forma parte de la molécula de clorofila, por lo cual influye directamente en la fotosíntesis. Por otro lado, el nitrógeno es necesario en el proceso de formación de resinas y aceites (Winkler *et al.*, 1974); por lo que este elemento resulta fundamental en el crecimiento, tanto en la división como en la elongación celular (Razeto, 1991). El nitrógeno requerido por cada organismo es tomado por la planta en forma de pequeñas moléculas: nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) o urea. El nitrato se reduce a amonio, y esta sustancia altamente tóxica se incorpora rápidamente en los aminoácidos glutamato y glutamina. Todos los aminoácidos restantes, necesarios para la síntesis de proteínas y almacenamiento del nitrógeno son formados mediante transaminasas (Sponholz, 1991).

Para el caso específico de la vid, el nitrógeno es el macronutriente derivado del suelo, más abundante en la planta y juega un rol importante en diversas funciones biológicas de ella (Bell y Henschke, 2005). Este compuesto tiene un impacto sobre el vigor, el rendimiento y la composición de la baya y el vino (Spayd *et al.*, 1994). Además, el nitrógeno se caracteriza por ser un elemento bastante móvil, tanto en suelo como en el interior de la planta, por lo que puede ser transportado fácilmente desde un órgano a otro, normalmente al estado de amida o aminoácido. Las hojas antes de su caída natural, devuelven entre un 50

y 60% de su nitrógeno hacia los tejidos de reserva del árbol. Por su parte, durante la floración ocurre un fuerte movimiento de nitrógeno desde otros órganos de las plantas hacia las flores (Razeto, 1991).

La vid es capaz de utilizar tanto el nitrato como el ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) absorbidos desde la solución suelo (Curre *et al.*, 1983). Hill-Cottingham y Lloyd-Jones (1979) mencionan que el amonio se metaboliza rápidamente en las raíces antes de ser trasladado hacia los brotes. Por su parte, Dintscheff *et al.* (1964) afirman que este ion es uno de los mayores constituyentes nitrogenados que llega a los brotes, hojas y racimos. En la vid, la actividad de la nitrato reductasa que indica la formación de aminoácidos, ocurre en el ápice de las raíces y en las partes verdes de las plantas, especialmente en las hojas (Perez y Kliwer, 1978) e incluso bayas (Schaller *et al.*, 1985). Así, el nitrato está presente en cualquier parte de la vid y en cualquier momento (Löhnertz, 1988). De este modo, las proteínas se sintetizan a partir de los aminoácidos en el citoplasma, los cloroplastos, o mitocondrias (Bray, 1983).

### **Mecanismos de transporte de compuestos nitrogenados**

Los compuestos nitrogenados se transportan vía xilema desde las raíces hacia las partes aéreas. Una pequeña proporción de los asimilados nitrogenados permanece en las raíces para procesos metabólicos y mecanismos de reserva, mientras que la gran mayoría se moviliza hacia la zona aérea de la planta. La proporción entre las formas de transporte orgánico (urea) e inorgánico ( $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ ) del nitrógeno, así como la composición de la fracción orgánica, son específicos en las plantas (Wermelinger, 1991). La proporción de nitratos en el xilema varía desde un 0% a casi un 100% del total de nitrógeno transportado entre diferentes especies de plantas (Hill-Cottingham y Lloyd-Jones, 1979). La fracción orgánica de nitrógeno de la traslocación de solutos está compuesta de un número limitado de aminoácidos. En el xilema de la vid se encuentra tanto el nitrato inorgánico como los compuestos orgánicos (Wermelinger, 1991). Los principales constituyentes aminoacídicos presente en el xilema de la vid son el ácido aspártico, ácido glutámico (y su amida) y arginina (Hill-Cottingham y Lloyd-Jones, 1979), teniendo esta última la relación carbono/nitrógeno (C/N) más baja (1,5), respecto al resto de los aminoácidos (Wermelinger, 1991).

El xilema puede contener un amplio rango de solutos nitrogenados que se originan a partir de las reservas de nitrógeno presentes en la raíz y que luego se transportan hacia los sumideros (Wermelinger, 1991). El transporte floemático involucra principalmente las mismas formas nitrogenadas que el transporte xilemático (Bray, 1983; Pate, 1980). La concentración y composición de la fracción nitrogenada varía durante el transporte en el xilema (Pate, 1980). La arginina, principal forma de transporte de nitrógeno distinto al nitrato inorgánico en la vid, (Perez y Kliwer, 1978; Schaller *et al.*, 1989), se absorbe fácilmente mediante el tejido caulinar desde el xilema (Bray, 1983).

El transporte en el xilema se caracteriza por ser principalmente unidireccional, pasivo, conducido por la corriente de transpiración del agua con una carga y descarga de los solutos, ya sea activo o difuso (Bidwell, 1979). Este transporte parece estar sujeto a un ritmo circadiano, con una máxima salida de nitrógeno desde las raíces, cercano al mediodía (alta tasa de transpiración) y un mínimo que se alcanza a la medianoche (Wermelinger, 1991). Por el contrario, el nitrógeno es traslocado durante la noche desde los brotes hacia las raíces en el floema, acumulándose ahí, reservas que permiten el transporte xilemático durante el día (Bray, 1983).

### **Factores que influyen en la concentración de nitrógeno en la vid**

Las respuestas de crecimiento, rendimiento, y el impacto resultante sobre la composición de la baya depende de la concentración de nitrógeno presente en la vid previo a una suplementación de éste sobre el viñedo (Bell y Henschke, 2005). Muchos son los factores que pueden influir sobre la concentración del nitrógeno en la planta, los cuales se detallan a continuación.

**Suelo y riego.** Huang y Ough (1989) estudiaron la repercusión de distintos factores sobre la concentración de aminoácidos totales presentes en la baya y en el mosto proveniente de estas. Para ello escogieron dos localidades, Oakville y Davis. En Oakville, se estudiaron 16 cultivares cultivados en un suelo franco arcilloso en donde no se realizó riego alguno. Para el caso de Davis, la textura del suelo correspondió a un franco arenoso y se realizó un riego por tendido en una ocasión. Los resultados para Oakville mostraron que los aminoácidos totales constituyen una concentración muy baja en las 16 variedades, fluctuando en un rango de 370 a 1551 mg/L. Finalmente se concluyó que los niveles de amonio están muy por debajo de su concentración respecto a reportes previos. Para el caso de Davis, en líneas generales se determinó que la concentración de aminoácidos totales es dos veces más alta que la existente en Oakville, variando entre 4231 mg/L en la variedad Carmine y 820 mg/L en Grenache. Además se estipuló que los niveles de arginina y amonio están bajo el nivel esperado en viñedos debidamente fertilizados.

**Patrón y Cultivar.** Para determinar la influencia del patrón sobre la concentración aminoacídica es que Huang y Ough (1989) realizaron ensayos en Chardonnay y Cabernet sauvignon en la localidad de Santa Ynez. Se utilizaron 8 patrones diferentes y un testigo que corresponde a una planta no injertada. Para el caso de Chardonnay las plantas injertadas sobre los patrones más vigorosos (St. George, Harmony, SO4 y 5A) registraron las concentraciones más altas de aminoácidos, alcanzando niveles de 5400 mg/L. Aquellos patrones de vigor intermedio (AxR1 y planta testigo) llegaron a valores cercanos a los 5000 mg/L mientras que los patrones 3309 y 1202 se posicionaron un poco más abajo. El patrón menos vigoroso (110R) registró la menor concentración aminoacídica llegando a cuantificar 3624 mg/L. Es interesante mencionar que en Cabernet sauvignon no se encontraron diferencias significativas.

**Clima (Temporada).** La investigación realizada sobre el cultivar Cabernet sauvignon durante tres temporadas por Bell y Robson (1999) permite concluir que en el transcurso de una temporada a otra, la concentración de nitrógeno en la planta varía según el nivel de fertilización. Para ello, se realizó un ensayo con cinco niveles de fertilización nitrogenada parcializada, 0, 50, 100, 200 y 400 g N/planta (en forma de urea), siendo aplicada los dos primeros tercios justo antes brotación y la dosis restante dos semanas posterior a floración. En este ensayo, se evaluó el peso de poda en las plantas para establecer diferencias entre las diversas concentraciones de nitrógeno producto de la influencia de la temporada. El primer año no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, no obstante en el segundo y tercer año se aprecian diferencias entre los tratamientos, alcanzando niveles máximos en el tratamiento N50 para el segundo año y N100 y N50 para el tercero respecto a los tratamientos restantes.

**Manejo del suelo.** La cobertura del suelo es un factor que podría influir en la concentración del nitrógeno en la planta, dada la competencia existente entre el cultivo de cobertura y la vid por la disponibilidad de nitrógeno. En Thompson seedless se logró demostrar que al medir la concentración de arginina y nitrato presente en el peciolo, los niveles son más bajos en aquellos suelos que poseen cobertura vegetal respecto a suelos desnudos (Bell *et al.*, 1979).

**Tasa de aplicación de nitrógeno.** Bell *et al.* (1979) estudiaron como influye el grado de fertilización de un viñedo sobre la concentración de nitrógeno en la planta. Para ello se utilizaron dosis de 0, 112, 224 y 448 kg N/ha en plantas de la variedad Thompson seedless. Los resultados mostraron que la concentración de arginina en brotes latentes y de nitrato en peciolo medido en floración y envero es significativamente mayor en vides fertilizadas, respecto a las no fertilizadas. Además, la concentración de arginina es menor en aquellas vides que fueron fertilizadas con 224 kg N/ha en relación a aquellas fertilizadas con 448 kg N/ha.

**Momento de aplicación (tiempo).** Para determinar si la aplicación de nitrógeno en diversos momentos fenológicos permite establecer diferencias significativas en la concentración de éste, Peacock *et al.* (1991) aplicaron una dosis de 50 kg N/ha (25 kg N aplicados en cuaja y 25 kg N a fines de septiembre) en diferentes estados fenológicos de la vid, tales como, brotación, cuaja, envero y maduración. Se estudiaron dos parcelas plantadas con vides de la variedad Thompson seedless. En la primera, se concluyó que al aplicar nitrógeno en cuaja, envero o a fines de septiembre conlleva a altos niveles de nitrógeno nítrico ( $\text{NO}_3 - \text{N}$ ) en peciolos analizados durante floración. El nitrógeno aplicado en brotación no arrojó diferencias significativas respecto al control (plantas sin fertilizar). En la segunda parcela se determinó que los altos niveles de  $\text{NO}_3 - \text{N}$  se alcanzaron con fertilizaciones realizadas en envero, fines de septiembre o el tratamiento parcializado, mientras que los bajos niveles se alcanzaron con adiciones realizadas durante cuaja o brotación. Los resultados arrojan que el nitrógeno aplicado en brotación logró un aumento en el nitrato presente en el peciolo en un 26%, mientras que la aplicación en envero produjo un incremento de 54%. Por su parte, la fertilización nitrogenada realizada a fines de

septiembre, provocó un aumento de un 67% mientras que la fertilización durante cuaja, el aumento solo alcanzó un 37%.

### **Efectos de la aplicación de nitrógeno bajo tres condiciones iniciales**

A partir de lo anteriormente expuesto, se puede establecer que la adición nitrogenada dependerá fuertemente de la concentración original de nitrógeno presente en la planta. Así, se pueden establecer distintas condiciones iniciales:

**Deficiente.** Al realizar una aplicación de nitrógeno en una planta bajo condiciones nutricionales deficientes, se incrementa el nivel de nitrógeno en la vid, estimulando así el metabolismo del nitrógeno y como consecuencia la síntesis de proteínas (Perez y Kliewer, 1978; Marschner, 1995; Zerihun y Treeby, 2002). Como consecuencia, un aumento en el área foliar (Kliewer y Cook, 1971; Bell y Robson, 1999) combinado con un incremento en la formación de clorofila estimula la producción de fotosintatos (Marschner, 1995). Esta producción puede, o no, ser suficiente para suplir a todos los receptores y/o rutas metabólicas que requieren carbohidratos en esta etapa (Bell y Henschke, 2005).

**Adecuado.** Una vez que se alcanza el máximo crecimiento, rendimiento y composición de la baya, se considera que la vid tiene un suministro adecuado de nitrógeno (Bell y Henschke, 2005). Cuando el nivel inicial de nitrógeno en la vid es adecuado, una adición del mismo no provoca un aumento en el crecimiento y rendimiento más allá de un punto máximo, obtenido mediante la adición de una menor cantidad de nitrógeno (Nielsen *et al.*, 1987; Conradie y Saayman, 1989; Nielsen *et al.*, 1989; Kliewer *et al.*, 1991; Spayd *et al.*, 1994; Bell y Robson, 1999).

**Alto.** Es importante tener en cuenta que un uso indiscriminado de nitrógeno, ya sea, para corregir una deficiencia o para mantener un nivel óptimo en la planta solo trae consigo perjuicios, tanto en el rendimiento como en la composición de la baya (Bell y Henschke, 2005). El principal efecto que provoca sobre la vid una alta concentración de nitrógeno, es la alteración del microclima, lo que podría explicar las reducciones en el rendimiento, al verse favorecido el sombreado en la zona de renovación (Kliewer, 1980).

Si se considera que al tener un sistema de conducción en espaldera, el aumento en el vigor de la planta, producto de altas tasas de aplicación de nitrógeno, conlleva a un aumento en la densidad de la canopia (Smart *et al.*, 1985; Wolf y Pool, 1988; Bell y Robson, 1999), el cambio en el microclima de la vid puede generar alteraciones a nivel de producción de fotosintatos, limitando la síntesis de estos últimos, ya que, un aumento en el número de hojas evita la máxima capacidad fotosintética por parte de la planta debido a un sombreado mutuo entre las mismas (Mullins *et al.*, 1992). El resultado final es una limitación que promueve la competencia entre sumideros y/o rutas metabólicas para los fotosintatos y disminuye las reservas de carbohidratos almacenadas en las partes permanentes de la vid (Buttrose, 1969; Kliewer *et al.*, 1972; Kliewer, 1977; Braun *et al.*, 1989; Marschner, 1995). Es importante destacar que una alteración en el microclima de la canopia, altera además un

gran número de factores medioambientales al interior de ella, como la radiación solar, temperatura, velocidad del viento y evaporación (Smart, 1985).

### **Fertilización foliar como alternativa a la fertilización convencional**

Las plantas absorben los nutrientes necesarios tanto por las raíces como por órganos superiores, principalmente a través de las hojas. Durante la evolución se han desarrollado órganos, raíces y hojas, los cuales están relativamente especializados para la absorción de nutrientes en formas particulares. Los nutrientes gaseosos como el CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> así como el SO<sub>2</sub> (Faller, 1968) y el NH<sub>3</sub> (Lemon y Van Houtte, 1980) se absorben desde la atmósfera a través de las hojas, mientras que los nutrientes solubles en agua, principalmente iones presentes en la solución suelo se absorben desde las raíces. Para las especies cultivadas, las que se caracterizan por presentar altos rendimientos, la absorción radical puede ser insuficiente para suplir la demanda de los órganos superiores, especialmente de frutos, granos y semillas. Es aquí donde la aplicación foliar ofrece una alternativa durante fases críticas, en donde existe una restricción nutricional. Además, esta técnica puede mitigar los problemas asociados a la fuerte retención de nutrientes que existe en algunos suelos, como por ejemplo el hierro (Fe) en suelos calcáreos (Mengel, 2002).

Es por ello que la fertilización foliar nitrogenada, resulta ser una práctica útil debido a que las aplicaciones de nitrógeno al suelo están sujetas a lixiviaciones a causa de riegos constantes y elevados flujos de agua por hora (por ejemplo 120 L/hr), especialmente en suelos gruesos que incluyen rocas calcáreas (Colapietra y Alexander, 2006). El nitrógeno incrementa y prolonga el vigor de la planta lo que resulta en un retraso de la maduración. Tanto el nitrógeno como el agua, incrementan el rendimiento de la planta y extienden los periodos de maduración y pinta (Colapietra, 1991).

La absorción de los nutrientes minerales sólidos se realiza atravesando las distintas estructuras que conforman la hoja hasta llegar a los canales de distribución de éstos nutrientes en la planta, es decir, xilema y floema (Marschner, 1995). Las estructuras que debe atravesar un nutriente son la cutícula (cera epicuticular y membrana cuticular), las paredes celulares y la membrana plasmática (Wojcik, 2004). El proceso de absorción foliar, en general, comprende dos etapas. En una primera fase los nutrientes contenidos en la solución acuosa aplicada sobre la superficie de la hoja penetran mediante mecanismos de difusión libre o limitada a través de la cutícula, aparentemente impermeable y repelente al agua por su naturaleza lipofílica y la pared celular formada por una mezcla de pectina, hemicelulosa y ceras que forman una estructura de fibras entrelazadas en las que se encuentran canales llamados espacios interfibrilares caracterizados por ser permeables al agua y sustancias disueltas en ella (Santos y Manjarrez, 1999). En una segunda etapa, para completar la absorción foliar se requiere atravesar la membrana celular o plasmática, límite más exterior del citoplasma (García y Peña, 1995).

Así, Callejas y Rojas (2004) sugieren que dentro de los factores relacionados con la eficiencia de las aplicaciones foliares destacan principalmente: las técnicas de aplicación,

condiciones climáticas, capacidad de absorción de los tejidos, capacidad de retranslocación de los elementos, limitaciones de las cantidades aplicadas y posibles daños de los tejidos.

No obstante, la fertilización foliar en ningún caso constituye un reemplazo total a la fertilización al suelo, sino que, debe ser utilizada como un complemento a ésta, especialmente en la aplicación de macronutrientes y en aquellos casos que existan condiciones que limiten la fertilización tradicional, superponiendo los aspectos técnicos por sobre los comerciales (Salvo, 2006).

### Efecto de la fertilización nitrogenada: Composición aminoacídica

Para Bell y Henschke (2005), son diversos los efectos que provoca la aplicación de nitrógeno, sobre la composición de la baya. No obstante, existe una fuerte interdependencia de factores genéticos, culturales y medioambientales.

Para explicar el efecto que la fertilización nitrogenada tiene sobre la composición de la baya, Spayd *et al.* (1994) realizaron un ensayo sobre *Vitis vinifera* cv. Riesling. Para ello, establecieron cuatro niveles de fertilización nitrogenada (aplicación directamente en el suelo): 56 kg N/ha, 112 kg N/ha, 224 kg N/ha más un control el cual no recibió fertilización (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Efecto de la tasa de fertilización nitrogenada sobre la composición del mosto (Spayd *et al.*, 1994)

	Rangos de fertilización nitrogenada (kg N/ha)			
	0	56	112	224
Nitrógeno Total (mg/L)	81	209	258	429
YAN (mg/L)	15	38	57	93
Amonio (mg/L)	12	45	70	107
<b>Aminoácidos libres (mg/L)</b>				
Alanina	16	45	61	102
Arginina	26	102	164	327
Ácido Aspártico	37	38	16	91
Cistina	1	<1	<1	<1
Ácido Glutámico	29	68	46	87
Glicina	1	3	3	4
Histidina	45	97	126	187
Isoleucina	1	5	8	13
Leucina	2	6	11	20
Lisina	6	4	9	7
Metionina	<1	1	1	2
Prolina	40	120	172	256
Serina	18	36	45	68
Treonina	9	35	45	75
Tirosina	5	7	12	13
Valina	17	44	57	69

Los resultados demostraron que la concentración de los compuestos nitrogenados presentes en el mosto experimentaron un aumento lineal a medida que la dosis de nitrógeno aumentaba, salvo excepciones puntuales. Durante tres años, la comparación del control con la dosis de 56 kg N/ha, demostró que el nitrógeno total del mosto y la concentración del

nitrógeno fácilmente asimilable al menos fue doblada cuando el nitrógeno fue aplicado al viñedo.

Complementando los resultados expuestos anteriormente, Bertrand *et al.* (1991), reportaron un aumento en la concentración de nitrógeno total en mostos provenientes de *Vitis vinifera* cv. Merlot, la que alcanzó un 50% mayor cuando el viñedo fue fertilizado con una dosis de 100 kg N/ha, respecto a un viñedo que no recibió adición de nitrógeno. Además, los mostos provenientes de vides fertilizadas con 224 kg N/ha, presentaron concentraciones de amonio que llegaron a ser 12 veces superior respecto al control.

La fertilización nitrogenada tiene un efecto sobre la concentración de los compuestos nitrogenados presentes el mosto, particularmente amonio, nitrógeno total, YAN, arginina y prolina. No obstante, es importante considerar otros efectos de la aplicación de nitrógeno tales como un retraso en la madurez de la fruta e incremento en el pH de la baya (Spayd *et al.*, 1994). Basado principalmente en el aumento del crecimiento vegetativo, estos autores sugieren que la concentración de nitrógeno a aplicar en el viñedo no debe superar los 56 kg N/ha para el caso de vides del cultivar Riesling que crezcan en suelos con bajas concentraciones de nitrógeno y que presenten un adecuado riego por goteo.

En el Cuadro 2, se muestra la fuerte relación existente entre el nivel de fertilización de la vid y el contenido de aminoácidos presentes en el mosto de uva. En ella se presentan los resultados obtenidos por Rapp (1976, citado por Sponholz 1991) en donde se aplicaron cinco dosis de nitrógeno (1 a 6 g/planta) sobre el cultivar Müller-Thurgau, el cual fue injertado sobre un patrón Kober 5BB. Además cada planta recibió una dosis de fósforo y potasio previa de 2 g/planta. Los resultados expuestos anteriormente muestran que con la dosis más baja de fertilización (1 g/planta), la arginina y la prolina son los principales aminoácidos, mientras que con niveles mayores, la glutamina incrementa drásticamente (Sponholz, 1991).

**Cuadro 2.** Influencia de la fertilización nitrogenada sobre el contenido de aminoácidos en bayas (Rapp, citado por Sponholz 1991).

Aminoácido (mg/L)	Nitrógeno (g/planta)				
	1	2	3	4	6
Ac.Aspartico	23	42	69	111	138
Treonina	46	165	256	229	284
Serina	41	152	304	260	330
Aspargina	14	50	93	108	171
Ac.Glutámico	132	223	330	355	380
Glutamina	125	767	2708	2045	4499
Prolina	284	587	598	943	867
Alanina	25	107	198	194	275
Valina	20	72	108	121	112
Metionina	6	33	44	39	33
Isoleucina	17	58	75	86	76
Leucina	22	92	112	136	136
Histidina	36	143	196	209	197
Arginina	331	1360	2073	2233	2322
<b>Total</b>	1324	4349	7923	7926	10894

Para reforzar la importancia de la fertilización nitrogenada sobre la concentración de arginina presente en las bayas, Bath *et al.* (1991) estudiaron el efecto de la adición de 2 dosis de nitrógeno (50 y 100 kg N/ha) más un respectivo control, sobre el cultivar Sauvignon blanc. Se observó que el aumento en la dosis de nitrógeno aplicado entre 50 y 100 kg N/ha resultó en el incremento correspondiente en la concentración de la arginina en el mosto de Sauvignon blanc (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Efecto de la aplicación de nitrógeno sobre la concentración de la arginina en el mosto de Sauvignon blanc (Bath *et al.*, 1991).

Nitrógeno (kg/ha)	Arginina (ug/mL)
0	494 <sup>a</sup>
50	663 <sup>b</sup>
100	700 <sup>b</sup>
LSD (p≤0,05)	141

\* Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas

Para el caso específico de la fertilización foliar nitrogenada, Schreiber *et al.* (2002) establecieron un ensayo en la localidad de Württemberg, sobre un viñedo del cultivar Riesling, el cual fue fertilizado con nitrógeno aplicado directamente al suelo bajo una dosis de 60 kg N/ha y un control respectivo (0 kg N/ha). Cuatro años después, a las plantas se les aplicó foliarmente una solución nitrogenada en forma de nitrato de amonio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), a

una dosis de 1,53 g/250 mL de agua desionizada, equivalentes aproximadamente a 20 kg N/ha (Cuadro 4).

Esta aplicación foliar se realizó cada dos semanas durante todo el desarrollo de la baya, incluyendo una aplicación adicional posterior a cosecha. Al evaluar el contenido de aminoácidos presentes en el mosto se determinó que aquellas plantas que recibieron fertilización foliar presentaron niveles más altos en los contenidos de aminoácidos totales y asimilables que aquellas plantas que no fueron fertilizadas. El contenido de aminoácidos totales y asimilables incrementó como resultado de la fertilización foliar. Las plantas que recibieron 60 kg N/ha en el suelo aumentaron la concentración de aminoácidos totales y aminoácidos asimilables en un 35% y 50% respectivamente. La concentración de arginina, particularmente en plantas que no recibieron adición de nitrógeno en el suelo, se incrementó como resultado de la fertilización foliar. Finalmente se determinó que los niveles más bajos de arginina se dieron en aquellas plantas presentes en suelos no fertilizados y adicionalmente no recibieron adición foliar (Schreiber *et al.*, 2002).

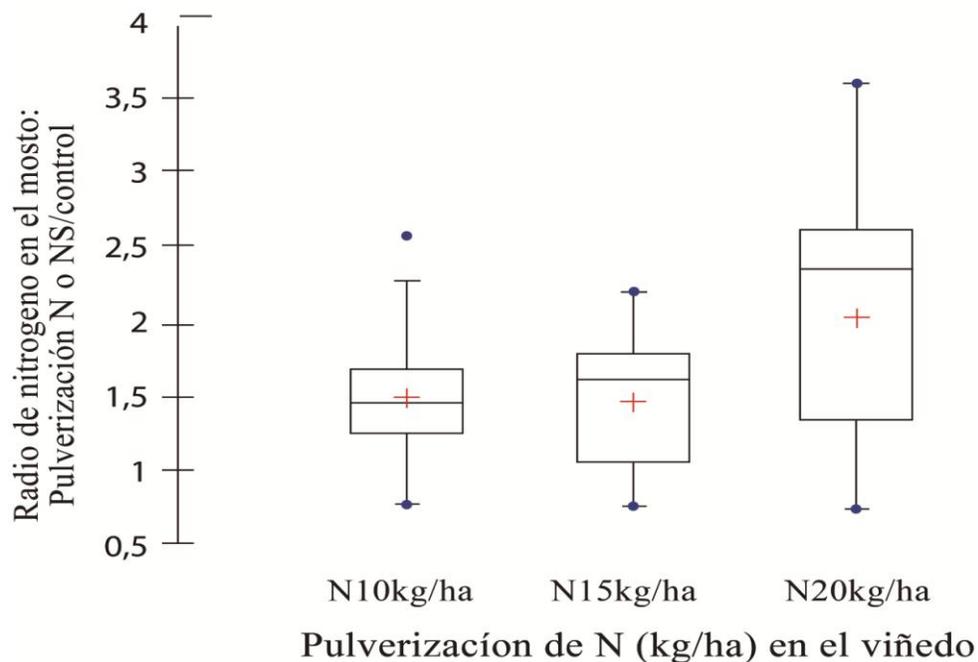
**Cuadro 4.** Concentración aminoacídica del mosto proveniente de plantas fertilizadas de manera foliar, comparadas con el control respectivo (Schreiber *et al.*, 2002).

Aminoácido (mg/L)	0 kg N/ha		60 kg N/ha	
	Foliar	Control	Foliar	Control
Alanina	3,86 <sup>a</sup>	1,27 <sup>b</sup>	3,90 <sup>a</sup>	2,96 <sup>b</sup>
Arginina	23,00 <sup>a</sup>	3,37 <sup>b</sup>	27,76 <sup>a</sup>	15,80 <sup>b</sup>
Aspargina	0,80	No detectado	0,72	0,32
Ácido Asparático	2,25 <sup>a</sup>	1,12 <sup>b</sup>	2,25 <sup>a</sup>	1,46 <sup>b</sup>
Glutamina	8,13 <sup>a</sup>	2,27 <sup>b</sup>	9,62 <sup>a</sup>	7,72 <sup>b</sup>
Ácido Glutámico	3,39	1,62	3,04	2,47
Glicina	0,44	1,47	0,39	0,39
Metionina	2,60 <sup>a</sup>	1,85 <sup>b</sup>	4,06 <sup>a</sup>	2,15 <sup>b</sup>
Ornitina	4,14	2,37	2,94	2,36
Fenilalanina	0,28	No detectado	0,15	0,74
Serina	3,85	2,04	2,33	2,91
Treonina	1,83	3,79	3,93	2,90
Tirosina	0,53	0,29	1,99	0,63
Valina	3,19 <sup>a</sup>	2,00 <sup>b</sup>	5,65 <sup>a</sup>	3,06 <sup>b</sup>
<b>Aminoácidos asimilables</b>	<b>58,30<sup>a</sup></b>	<b>23,46<sup>b</sup></b>	<b>68,74<sup>a</sup></b>	<b>45,88<sup>b</sup></b>
Cisteína	0,95	0,59	1,63	0,77
Lisina	3,82	2,64	3,92	3,77
Prolina	5,43	14,13	1,72	5,74
<b>Aminoácidos no asimilables</b>	<b>10,19</b>	<b>17,37</b>	<b>7,27</b>	<b>10,27</b>
<b>Aminoácidos totales</b>	<b>68,49<sup>a</sup></b>	<b>40,83<sup>b</sup></b>	<b>76,01<sup>a</sup></b>	

\*Letras diferentes indican diferencias significativas

Como resultado de la fertilización foliar, el contenido relativo de nitrógeno presente en el mosto experimentó un incremento cercano al 30%. Adicionalmente, el contenido de aminoácidos utilizable por las levaduras aumentó su concentración en un 100% para el tratamiento que no recibió fertilización nitrogenada en el suelo, mientras que el tratamiento que recibió una adición de 60 kg N/ha aumentó el contenido de nitrógeno utilizable por las levaduras en poco más de 30% (Schreiber *et al.*, 2002).

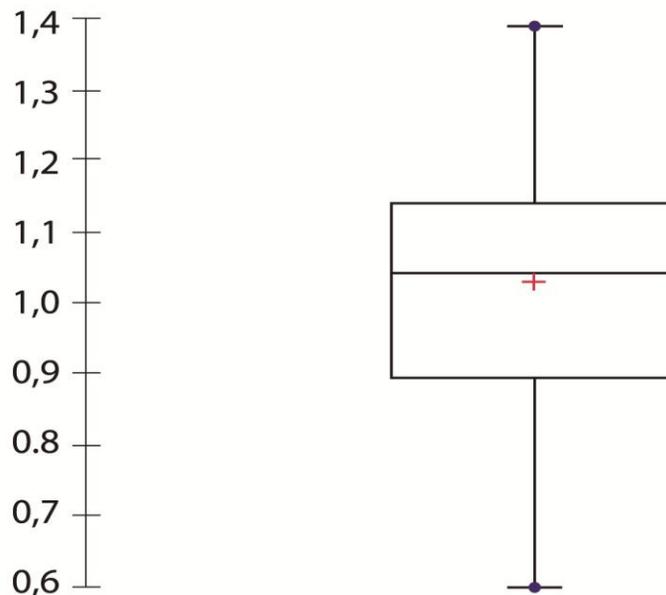
La Figura 1 muestra un estudio realizado por Dufourcq *et al.* (2009) el cual detalla la ganancia de nitrógeno observada en base a los distintos niveles de fertilización de nitrógeno, respecto al control. La mayoría del nitrógeno asperjado en forma de urea durante el envero implica un incremento en la concentración del nitrógeno en el mosto. En este caso se logró determinar que el aumento del nitrógeno en el mosto sigue una relación lineal, ya que para la aplicación de 10 kg N/ha se pudo alcanzar un incremento del 50%, mientras que para la aplicación de 20 kg N/ha el incremento fue superior al doble. Sin embargo, no se puede asegurar con certeza la variación lineal ya que son muchos los factores que influyen en la aplicación de nitrógeno en el viñedo, tales como manejo del cultivo, periodo y momento de la aplicación, condiciones climáticas y formulación de la urea.



**Figura 1.** Ganancia de nitrógeno en el mosto en relación a la cantidad de urea pulverizada en el viñedo (Dufourcq *et al.*, 2009).

En otro tópico de la investigación se intenta explicar el efecto real que tiene la aplicación de azufre combinado con nitrógeno, basado en los resultados expuestos por Téa (2004), en donde se establece que en trigo, el azufre cumple un rol sinérgico en la asimilación de nitrógeno. Para el caso de la vid, los resultados son diversos (Figura 2).

Radio de Nitrogeno en el mosto:  
Pulverización de nitrógeno + Azufre/pulverización de nitrógeno



**Figura 2.** Efecto de la pulverización de nitrógeno y azufre versus la pulverización de nitrógeno, sobre el nivel de nitrógeno presente en el mosto (Dufourcq *et al.*, 2009).

Los resultados expuestos arrojan que una pulverización mixta de nitrógeno con azufre aplicado sobre un determinado viñedo, no incrementa el nivel de nitrógeno del mosto en comparación con una misma dosis de nitrógeno aplicada bajo las mismas condiciones (Dufourcq *et al.*, 2009). Estos resultados vienen a reforzar lo expuesto por Lacroux *et al.* (2008) en donde se concluye que para el caso de la vid, no existe un efecto sinérgico al mezclar el nitrógeno con determinadas dosis de azufre.

### Efecto de los compuestos aminoacídicos en el vino

A partir de lo anteriormente descrito, se infiere que el nivel de nitrógeno presente en el viñedo puede influir fuertemente en factores como la composición aminoacídica de la baya. Si bien se especula que la adición de nitrógeno en el viñedo tiene diversos efectos, el único efecto consistente que ha podido ser cuantificado es el aumento de los compuestos nitrogenados en la baya, tales como, nitrógeno total, aminoácidos totales, arginina, prolina y amonio, y por consiguiente el nitrógeno fácilmente asimilable por las levaduras (YAN) (Bell y Henschke, 2005).

Entre las fuentes de nitrógeno disponibles para las levaduras presentes en el mosto, el amonio y los aminoácidos libres destacan por su importancia (Nicolini *et al.*, 2004). Estos promueven el crecimiento celular de las levaduras lo que influye directamente sobre el proceso de vinificación (Bisson, 1991; Kunkee, 1991). Cuando el viñedo presenta bajos niveles de nitrógeno, la arginina y la prolina son los principales aminoácidos presentes en

las bayas (Sponhloz, 1991). El amonio y el glutamato son fuentes nitrogenadas fácilmente disponibles para las levaduras, no obstante se pueden utilizar otros compuestos nitrogenados, tales como la arginina (Bisson, 1991; Kunkee, 1991). La levadura no utiliza la prolina, excepto bajo condiciones muy específicas presentes en el mosto (Bisson, 1991). Así, el YAN está definido como la suma del nitrógeno presente en el mosto, en forma de amonio y aminoácidos, excepto prolina (Ingledew y Kunkee, 1985; Bely *et al.*, 1991; Dukes y Butzke, 1998). Por ende, el nitrógeno es uno de los nutrientes importantes para llevar a cabo la fermentación alcohólica por parte de las levaduras, etapa en la cual ocurre la formación de diversos compuestos constituyentes del aroma del vino (Gonzalez-Marco *et al.*, 2010).

Aparte de la principal levadura vinífera, *Saccharomyces cerevisiae*, la fermentación alcohólica espontánea del mosto es un proceso complejo llevado a cabo por una acción secuencial de diversos géneros y especies de levaduras (Heard y Fleet, 1988), las que se encuentran en las uvas, mosto y vino, contribuyendo al aroma y sabor de este último (Lambrechts y Pretorius, 2000). Las etapas tempranas de la fermentación alcohólica están dominadas por el crecimiento de levaduras no *Saccharomyces*, las que se caracterizan por presentar un bajo poder fermentativo. De estas, *Hanseniaspora (Kloeckera)* y *Candida* (Heard y Fleet, 1986), son las principales levaduras, tanto en fermentaciones espontáneas como inoculadas (Fleet *et al.*, 1984; Heard y Fleet, 1985; Pardo *et al.*, 1989). Su crecimiento es significativo y puede influenciar la composición química del vino. Sin embargo, la sensibilidad al etanol, limita el crecimiento de estas levaduras a los primeros 2 o 3 días de fermentación y a concentraciones de etanol sobre 5-6% (v/v) su crecimiento declina a gran velocidad (Margalith, 1981). Bajo estas condiciones, las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y especies relacionadas, las cuales son más tolerantes al etanol y a su vez más competitivas para crecer en un medio con alta concentración de azúcar (Querol *et al.*, 1990), llegan a ser las levaduras dominantes, completando así el proceso de fermentación (Fleet y Heard, 1993).

*Saccharomyces cerevisiae* puede crecer en una amplia variedad de medios nitrogenados (Large, 1986); los rangos de consumo y metabolismo de éstos compuestos nitrogenados en cada medio dependen de cada cepa de levadura, su estado fisiológico, y las propiedades fisico-químicas del medio. Así, *Saccharomyces cerevisiae* puede utilizar aminoácidos tanto para sintetizar proteínas como también como una fuente nitrogenada: los aminoácidos son degradados por las células de las levaduras y el nitrógeno que ellos contienen es liberado, pero no siempre, como amonio y utilizado para sintetizar otros constituyentes celulares que contienen nitrógeno (Mauricio *et al.*, 2001). Las levaduras pueden también utilizar el carbono de los aminoácidos para efectos sintéticos; estos compuestos en consecuencia, actúan como fuentes de carbono o son liberados dentro del medio (Large, 1986). Los compuestos nitrogenados (particularmente los aminoácidos) se caracterizan por ser esenciales para el proceso de vinificación, no solo por que ellos influyen en el crecimiento poblacional de las levaduras, sino que también porque ellos afectan la formación de compuestos como alcoholes superiores, los cuales contribuyen al aroma del vino, influyendo así en su calidad (Henschke y Jiranek, 1994).

Así, *Saccharomyces cerevisiae*, ha mostrado que puede generar diversos metabolitos secundarios que son claves en la calidad del vino (Fleet, 1990; Lema *et al.*, 1996; Lambrechts y Pretorius, 2000; Fleet y Heard, 1993). La naturaleza y concentración de los productos finales esta dado por las especies de levaduras que participan en la fermentación (Romano *et al.*, 2003). Además de la producción de metabolitos primarios, la levadura interactúa con una serie de compuestos no volátiles, inodoros y precursores derivados de la uva los que presentan una importancia sensorial considerable (Bell y Henschke, 2005). Dentro de este grupo de compuestos aromáticos, es importante destacar a un grupo poco estudiado, como son los tioles.

### **Efecto de la fertilización foliar nitrogenada: Tioles**

La importancia del aumento en la concentración de los compuestos nitrogenados en la baya y posteriormente en el mosto, radica en el rol que las principales fuentes nitrogenadas, tales como amonio y aminoácidos libres juegan en el proceso fermentativo del vino, por consecuencia del crecimiento y metabolismo de las levaduras (Torrea y Ancín, 1999). La fracción nitrogenada del mosto es compleja y variable, estando involucrada no tan solo en la cinética fermentativa sino que además en la producción de compuestos que participan en las características sensoriales como el aroma (Dukes *et al.*, 1991; Rapp y Versini, 1991).

La complejidad aromática en los vinos varía dependiendo de la cepa utilizada, de los aromas producidos durante la fermentación y su desarrollo durante la crianza. Es por ello que las bodegas recurren a prácticas que permitan evitar problemas asociados a la deficiencia de nitrógeno, tales como fermentaciones lentas o detenciones de éstas, y producción de sulfuro de hidrógeno (SH<sub>2</sub>), mediante la adición al mosto de fosfato diamonio (FDA), urea o nutrientes de levadura (Hernandez-Orte *et al.*, 2005).

La fermentación representa el proceso más importante en el desarrollo de los compuestos del aroma y sabor (Rapp, 1988; Jackson, 2000; Lambrechts y Pretorius, 2000). La complejidad de la evolución del aroma y sabor durante la fermentación es aun un tópico relativamente poco conocido. Se pueden identificar tres rutas principales de la evolución del aroma y sabor durante la fermentación, es decir, algunos compuestos derivados de la uva permanecen químicamente intactos, esencialmente; otros son metabolizados para formar metabolitos de *flavor* activo, y otros son sometidos a hidrólisis o reacciones de biotransformación tanto intra como extra celularmente, lo cual modifica los atributos del aroma y sabor (Bell y Henschke, 2005). Así, la producción, liberación y modificación de los compuestos volátiles responsables del aroma que proviene de las uvas cosechadas y de los procesos de producción, degradación y modificación de los compuestos no volátiles por parte de las levaduras durante la fermentación, juega un rol importante en la definición del perfil del aroma y sabor del vino (Schreier, 1979).

Durante la fase de crecimiento de las levaduras, el metabolismo de los azúcares conduce a la formación de una variedad de compuestos volátiles, que incluye alcoholes superiores, ácidos grasos, ésteres, carbonilos, compuestos azufrados y varios ácidos orgánicos que contribuyen al aroma y sabor del vino (Rapp y Versini, 1991; Guth y Sies 2002; Francis y Newton, 2005; Swiegers *et al.*, 2005). Por otro lado, los compuestos nitrogenados también contribuyen a la formación de algunos de estos compuestos, especialmente alcoholes superiores y ésteres, y además, regulan la formación de otros compuestos volátiles, tales como sulfuro de hidrógeno, monoterpenos y tioles/mercaptanos (Rapp y Versini, 1991; Albers *et al.*, 1998).

El vino es una de las bebidas alcohólicas más complejas aromáticamente. Una gran cantidad de los más de 800 compuestos identificados en la fracción volátil del vino, se encuentran en bajas concentraciones ( $\mu\text{g}$  o  $\text{ng/mL}$ ) (Ortega-Heras *et al.*, 2002).

Dentro de los aromas varietales presentes en los vinos, los terpenos constituyen una familia importante, siendo el linalol, geraniol, nerol y citronellol los compuestos aromáticos más destacables, aportando aromas florales y cítricos al vino. Los carotenoides también juegan un rol importante en el aroma varietal. Estos tetraterpenos isoprenoides se originan a partir del compuesto precursor melanovato y es la oxidación de estos carotenoides la que produce fragmentos volátiles conocidos como  $\text{C}_{13}$ -norisoprenoides, los que incluyen:  $\beta$ -ionona (violeta),  $\beta$ -damascenona (frutos exóticos) y  $\beta$ -ionol (frutas y flores) (Iriti y Faoro, 2006). Otro grupo de compuestos aromáticos varietales liberados a partir de precursores inodoros son los tioles. Estos compuestos no están presentes en el mosto en su forma activa y se presentan en el mosto como inodoros, no volátiles, y conjugados a puentes de cisteína. Es *Saccharomyces cerevisiae* la responsable de la liberación de los tioles (a partir del precursor) durante la fermentación alcohólica (Swiegers y Pretorius, 2007).

Los mostos de uvas normales no exhiben aromas definidos ni intensos, a menos que ellos estén sujetos a procesos de oxidación o contaminación microbiana. Sin embargo, durante la vinificación y envejecimiento del vino, una gran cantidad de aromas emerge, muchos de los cuales proviene, en forma relativamente directa, desde precursores inodoros encontrados en la uva (Peña-Gallego *et al.*, 2012).

En los últimos años, la composición de los compuestos azufrados de los vinos ha llegado a ser sujeto de diversos estudios, respecto a su identificación y origen, así como sus características e impactos que tienen sobre el vino (Moreira *et al.*, 2002). Generalmente los compuestos azufrados se clasifican como perjudiciales para las características del vino. Sin embargo, las nuevas investigaciones sobre este tópico han permitido la diferenciación de una familia de compuestos azufrados responsables del aroma varietal en los vinos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1999).

Los compuestos volátiles azufrados en los vinos se clasifican en dos categorías principales según su punto de ebullición (bp): compuestos altamente volátiles ( $<90^\circ\text{C}$ ) y otros de baja volatilidad ( $>90^\circ\text{C}$ ) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1999). Los compuestos altamente volátiles, particularmente el sulfuro de hidrógeno, etanotiol y metanotiol están presentes en vinos reducidos y, a concentraciones más altas que su umbral de percepción, pueden ser percibidos con olores similares a huevo podrido, ajo, cebolla y repollo (Moreira *et al.*, 2002).

Entre los compuestos azufrados menos volátiles, el 3-(metiltio)-1-propanol (metionol) está presente en el vino en concentraciones de hasta  $5\text{mg/L}$ . Cuando este compuesto alcanza niveles sobre su umbral de percepción ( $1,2\text{ mg/L}$ ), contribuye al vino con un aroma a coliflor (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1999). Entre muchos otros compuestos azufrados de baja volatilidad identificados en el vino, con bajos límites de detección, la mayoría de estos se encuentran en niveles bajo su umbral de percepción; estos incluyen al 2-mercaptoetanol

(olor a aves de corral), 2-metiltetrahidrotiofeno-ona (olor metálico, gas natural), 2-metiltioetanol (frejol francés) y etil-3-metiltiopropionato (olor metálico, azufre) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1999; Rauhut, 1993).

Sin embargo, existen otros compuestos de baja volatilidad que le proporcionan al vino agradables aromas frutales (Rauhut 1993; Darriet *et al.*, 1995; Lambrechts y Pretorius, 2000, Swiegers y Pretorius, 2005). Muchos de estos compuestos azufrados se forman durante la fermentación y responden al nivel de nitrógeno presente en el mosto de manera similar que el sulfuro de hidrógeno. Estos tioles derivados de la uva corresponden a 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona (4MMP), 4-mercapto-4-metilpentan-2-ol (4MMPOH), 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) y 3-mercaptohexil acetato (3MHA) (Bell y Henschke, 2005). Los tioles volátiles 4MMP, 4MMPOH, 3MH y 3MHA son los principales compuestos que contribuyen al aroma varietal de los vinos Sauvignon blanc, y están asociados con aromas característicos tales como boj, zarzaparrilla negra, pomelo, maracuyá y ralladura de cítricos (Darriet *et al.*, 1995; Tominaga *et al.*, 1995; Dubourdieu, 2000) (Cuadro 1). El compuesto 4MMP también está presente en vinos provenientes de las cepas Scheurebe, Gewürztraminer, Riesling, Colombard, Petit Manseng, Semillon, Cabernet Sauvignon y Merlot. No obstante, estos compuestos aromáticos se encuentran en trazas en uvas y mosto (Bell y Henschke, 2005). Tominaga *et al.* (1998) caracterizaron los precursores aromáticos en los mostos de Sauvignon blanc como no volátiles, no glicosilados y conjugados inodoros de la S-cisteína.

**Cuadro 1.** Tioles volátiles presentes en el vino, asociados a sus respectivos precursores inodoros. Elaboración propia basado en Peyrot Des Gachons *et al.* (2000)

<b>Tioles</b>	<b>Precursores</b>	<b>Aromas</b>
4MMP	S-4-(4-metilpentan-2-ona)-L-cisteína	Boj
4MMPOH	S-4-(4-metilpentan-2-ol)-L-cisteína	Ralladura de cítricos
3MH	S-3-(hexan-1-ol)-L-cisteína	Pomelo

Los tioles han sido detectados en forma libre en la mayoría de los frutos tropicales, no así en las uvas, donde han sido más bien encontrados como precursores unidos a cisteína y glutatión (Peña-Gallego *et al.*, 2012). La presencia en la fruta de precursores aromáticos los cuales pueden actuar como fuentes de aromas potenciales o latentes ha sido un hecho bien conocido por muchos años (Hewitt *et al.*, 1956). La glicosidación es la ruta más común por la cual los aromas se acumulan en las frutas, lo cual está relacionado al hecho de que la glicosidación es usualmente el último paso en procesos biosintéticos (Hösel, 1981). Estos precursores se presentan en niveles bajos en el mosto, aunque han sido reportados niveles más altos que 100 ug/L para 3MH-Cis (Thibon *et al.*, 2008) y 3MH-Glu (Capone *et al.*, 2010), pero tienen una gran importancia sensorial debido al bajo umbral olfativo de las moléculas que liberan (Peña-Gallego *et al.*, 2012).

La degradación de los tioles precursores S-cisteína por acción de las levaduras durante la fermentación alcohólica, provoca la liberación correspondiente los tioles volátiles (Tominaga *et al.*, 1998; Murat *et al.*, 2001; Howell *et al.*, 2004). El mecanismo sugerido implica una  $\beta$ -liasa cisteína que en el caso del S-(4-metilpentan-2-ona), libera 4MMP, ácido pirúvico y amonio (Tominaga *et al.*, 1995). El nitrógeno juega un rol importante en la liberación de estos aromas al vino ya que se ha observado que bajos niveles de nitrógeno presente en *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc limita la síntesis de precursores aromáticos unidos a cisteína y glutatión (Choné, 2001; Peyrot Des Gachons *et al.*, 2005).

Por lo tanto, una deficiencia de nitrógeno reduce las características aromáticas y el potencial de envejecimiento de los vinos (Lacroux *et al.*, 2008). Por el contrario, altos niveles de nitrógeno podrían obtenerse a partir de la fertilización de los suelos. No obstante esta práctica incrementaría el crecimiento vegetativo, la sensibilidad de la planta a enfermedades, y afectaría el rendimiento y madurez de la fruta (Dufourcq *et al.*, 2009). Como alternativa a la fertilización del suelo, surge la fertilización foliar nitrogenada.

Choné *et al.* (2006) realizaron un estudio sobre viñedos franceses (Chateau Reynon, Bordeaux) en plantas de *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc injertadas sobre *Vitis riparia*, las cuales fueron plantadas en 1981. Para llevar a cabo la investigación escogieron un bloque dentro del viñedo el cual se caracterizaba porque el 25% de éste presentaba una severa deficiencia de nitrógeno, la que se explica por el bajo contenido de materia orgánica (0,5%). Diez días después de floración se aplicó una dosis de 60 kg/ha de nitrógeno, en forma de nitrato de amonio, a aquellas vides que presentaban deficiencia de nitrógeno. A partir de ello se determinaron dos tratamientos posibles: bajo nivel de nitrógeno (L) y bajo nivel de nitrógeno fertilizado después de floración (L+N) (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Aroma potencial, compuestos fenólicos totales y glutatión en el mosto proveniente de vides un nivel de nitrógeno bajo (L) y alto (L+N) (Choné *et al.*, 2006)

	L	L + N
P-4MMP (ng eq/L)	405 <sup>a</sup>	715 <sup>b</sup>
P-4MMPOH (ng eq/L)	760 <sup>a</sup>	2059 <sup>b</sup>
P-3MH (ng eq/L)	3358 <sup>a</sup>	14812 <sup>b</sup>
Índice total de polifenoles	0,28 <sup>a</sup>	0,21 <sup>b</sup>
Glutatión (mg/L)	17,9 <sup>a</sup>	120 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes indican diferencias significativas

La corrección de la deficiencia de nitrógeno después de floración (L+N) conlleva a un incremento significativo en la concentración de precursores de cisteína en el mosto, comparado con L, a pesar de tener un mayor tamaño de bayas.

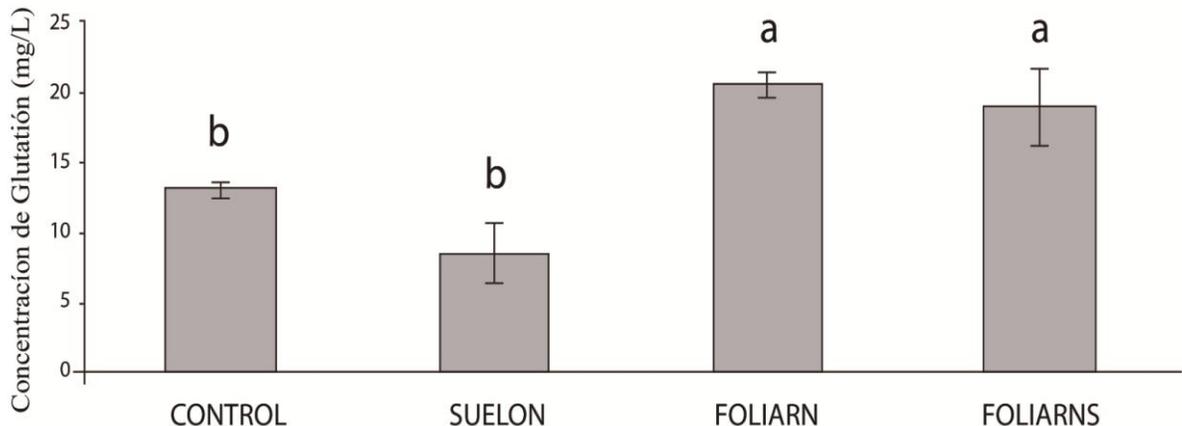
Lo anteriormente descrito indicaría que niveles de nitrógeno más altos incrementan la síntesis de precursores de cisteína en uvas del cultivar Sauvignon blanc. La respuesta de los tres precursores a la fertilización con nitrógeno no fue la misma. Comparado con L, los

niveles de P-4MMP y P-4MMPOH en el mosto de L+N fueron 76% y 171% más alto respectivamente, mientras que el nivel de P-3MH fue 341% superior. Por consecuencia, el metabolismo de P-3MH podría ser diferente que el de P-4MMP y P-4MMPOH. Por otro lado, la influencia del nitrógeno sobre los niveles de glutatión en el mosto mostró la misma tendencia que se observó en los precursores de cisteína. Los niveles de glutatión en L+N fueron siete veces más altas que en L. Consecuente a ello, se puede establecer que una adición de nitrógeno trae consigo un efecto positivo en los niveles de glutatión y a su vez este incremento proporciona una mejor protección a los tioles volátiles durante el procesamiento de la uva (Choné *et al.*, 2006).

Para reforzar la importancia del nitrógeno en la composición aromática potencial de los vinos, y a su vez, comprender las ventajas que la fertilización foliar nitrogenada tiene sobre la fertilización realizada directamente al suelo, Lacroux *et al.* (2008) realizaron un estudio sobre viñedos franceses ubicados específicamente en la localidad de Bordeaux. Para ello utilizaron plantas de *Vitis vinifera* L cv. Sauvignon blanc, las cuales estaban injertadas sobre patrón 41B. Cabe señalar que la localidad escogida presenta una leve deficiencia de nitrógeno dada por el bajo contenido de materia orgánica (10 g/kg). En base a estos antecedentes se establecieron cuatro tratamientos los cuales se detallan a continuación:

- **Control:** Sin fertilización
- **SueloN:** 30 kg N/ha (nitrato de amonio) aplicado al suelo posterior a floración
- **FoliarN:** 10 kg N/ha (urea) distribuida en dos aplicaciones previas a enero
- **FoliarNS:** 10 kg N/ha (urea) y 5 kg S/ha (azufre micronizado) distribuida en dos aplicaciones previo a enero.

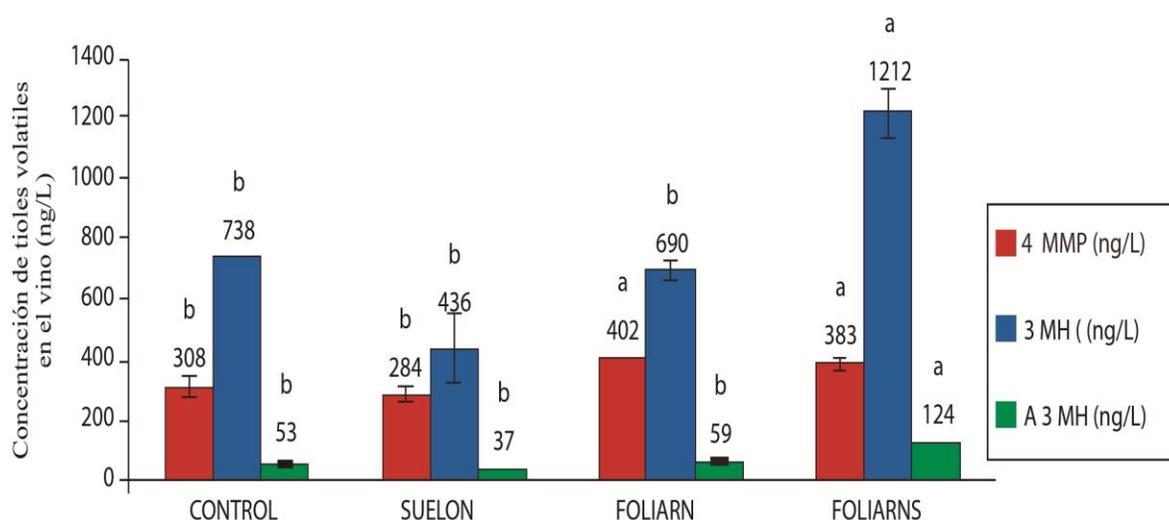
Es importante señalar que durante el estudio no realizaron aplicaciones de potasio y cobre (Figura 3).



**Figura 3.** Contenido de glutatión en vinos producidos a partir de microvinificaciones (Lacroux *et al.*, 2008)

El contenido de glutatión es mayor en aquellos tratamientos en donde el nitrógeno se aplicó de manera foliar (FoliarN y FoliarNS) respecto al tratamiento control y a aquel en el que el nitrógeno fue aplicado directamente al suelo (SueloN). La adición de azufre en el tratamiento foliar de nitrógeno (FoliarNS) no registró un incremento significativo en el nivel de glutatión comparado con el tratamiento que solo recibió aplicación de nitrógeno (FoliarN).

En la Figura 4 se muestra el contenido de tioles volátiles presentes en cada vino según el tratamiento recibido.



**Figura 4.** Concentraciones de tioles volátiles en vinos producidos por microvinificación (Lacroux *et al.*, 2008)

La concentración de tioles volátiles no difiere significativamente entre el tratamiento control y SueloN. Por otro lado, el contenido de 4MMP (boj) es más alto en el tratamiento FoliarN respecto al control. Sin embargo, el contenido de 3MH (pomelo) y A3MH (maracuyá) no lo son. En el tratamiento foliar que combina la aplicación de nitrógeno con azufre, los tres compuestos volátiles están presentes en concentraciones más altas respecto al tratamiento control (Lacroux *et al.*, 2008). Altos niveles de nitrógeno en la vid incrementan la concentración de precursores de tioles volátiles en las uvas (Peyrot Des Gachons *et al.*, 2005). Si bien Téa *et al.* (2007) observaron una mejor absorción de nitrógeno en trigo en presencia de azufre, para el caso específico de esta investigación no hubo diferencias significativas entre los vinos producidos a partir de la fertilización FoliarN y FoliarNS, aunque estos últimos presentaron un mayor contenido de tioles volátiles (Lacroux *et al.*, 2008).

Otro punto de suma importancia a considerar en este estudio, hace referencia al impacto sensorial que tiene un tratamiento determinado sobre las características finales del vino (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Intensidad aromática de los vinos obtenidos a partir de microvinificaciones (en una escala entre 0 – 5, de neutral a muy intenso) (Lacroux *et al.*, 2008)

<b>INTENSIDAD AROMATICA (0-5)</b>				
	<b>CONTROL</b>	<b>SUELO-N</b>	<b>FOLIAR-N</b>	<b>FOLIAR-NS</b>
<b>Promedio</b>	1,95c	1,95c	3,4b	4,0a

\*Letras diferentes indican diferencias significativas

El efecto positivo que tiene la aplicación de nitrógeno foliar (FoliarN) sobre el aroma de los vinos Sauvignon blanc se confirma por la evaluación de los vinos producidos a partir de microvinificaciones. Por otra parte, el vino producido a partir del tratamiento FoliarNS tiene una mayor preferencia por el panel respecto al vino producido a partir del tratamiento FoliarN. El panel no logró diferenciar los vinos provenientes del tratamiento SueloN respecto de aquellos producidos a partir del tratamiento control. Estos resultados son consistentes con el análisis de tioles volátiles en los vinos (Lacroux *et al.*, 2008).

Sin duda que uno de los estudios más completos respecto a la influencia de la fertilización foliar nitrogenada sobre la composición aromática potencial en los vinos es el de Dufourcq *et al.* (2009). El estudio fue realizado en dos localidades de Francia y sobre cinco variedades de uva. La primera región en estudio se localiza en el sudeste de Francia (Gascony, Fronton, Gaillac), donde se trabajó sobre las variedades Colombard, Gros manseng, Negrete y Sauvignon; mientras que la segunda región se localiza en el valle de Loire (Muscadet y Touraine) en donde la investigación se realizó sobre las variedades Melon y Sauvignon. Los tratamientos consistieron en dos aplicaciones de nitrógeno foliar (urea) cercanas a envero, las cuales fueron de 10, 15 o 20 kg N/ha solubilizadas en una solución de 400 litros de agua. En aquellos tratamientos en que la aplicación de nitrógeno se asoció con azufre (en su forma elemental) este último elemento fluctuó sus dosis entre 5 a 10 kg S/ha. A su vez se estableció un tratamiento control, el cual no recibió fertilización alguna.

Una vez medido el efecto de la fertilización foliar sobre el nivel de nitrógeno presente en el mosto, se procedió a la vinificación, con el objetivo de determinar las variaciones aromáticas que generan los distintos tratamientos. Para ello, los procesos de vinificación se optimizaron, para así, producir tioles varietales en el vino. La aplicación de nitrógeno se realizó cuando el 20% de las bayas estaba en estado de pinta. El estado sanitario de las uvas cosechadas no presentó variaciones, mientras que la madurez se vió levemente retrasada sin llegar a constituir un valor significativo. El Cuadro 7 muestra los resultados obtenidos en las distintas localidades sobre las variedades estudiadas.

**Cuadro 7.** Concentración de tioles varietales en vinos y contenidos de nitrógeno en mosto (Dufourcq *et al.*, 2009)

Vendimia	Variedad	Origen	Suma molar [3MH+3MHA] (nmol/L)		Nitrógeno en mosto (mg/L)	
			N+S	Control	N+S	Control
2007	Colombard	Gascony	26,8	14,4	218	153
2007	Gros manseng	Gascony	59,5	11,5	141	84
2007	Gros manseng	Gascony	80,9	12,7	153	94
2007	Melon	Muscadet	4,2	1,0	255	130
2007	Melon	Muscadet	5,6	2,3	241	112
2007	Melon	Muscadet	6,8	2,4	231	116
2007	Négrette	Fronton	19,6	5,8	197	108
2007	Sauvignon	Gaillac	5,4	0,4	n.a	n.a
2007	Sauvignon	Touraine	3,2	1,4	114	81
2006	Colombard	Gascony	31,0	19,8	363	141
2006	Colombard	Gascony	57,6	37,9	237	197
2006	Négrette	Fronton	7,4	1,8	228	59
2006	Négrette	Fronton	11,2	4,5	183	130
2006	Sauvignon	Gaillac	13,4	1,9	144	65
2005	Colombard	Gascony	36,4	26,9	212	187

Algunas variedades como Colombard y Gros Manseng presentaron concentraciones más altas de tioles acorde a las condiciones particulares de producción (suelo, clima y manejo cultural). En la localidad de Gascony, estas variedades dan origen a vinos blancos frescos y frutuosos. En este caso, los tioles constituyen el principal componente aromático que contribuye a la calidad esperada. El resto de las variedades blancas, Sauvignon y Melon en las localidades de Touraine, Gaillac y Muscadet, estuvieron en condiciones controladas para producir vinos más estructurados. Las bayas presentaron concentraciones de nitrógeno de bajas a moderadas. La concentración de tioles varietales medidos en los controles presentó una variación entre 0,4 y 2,4 nanomoles por litro, para la suma molar del 3MH y 3MHA. A este nivel los tioles contribuyen al aroma del vino pero no existe una sobreexpresión de ellos. Los tioles analizados en los vinos rosé provenientes de las uvas Négrette se presentaron en una cantidad interesante (1,8 a 5,8 nanomoles por litro), lo que sugiere que ellos seguramente contribuyeron al aroma y sabor del vino. Los resultados arrojaron que siempre hubo una ganancia de tioles varietales, los cuales fueron medidos en el vino, y comparados con el control. En promedio se observaron concentraciones tres veces superiores e incluso se llegaron a medir hasta doce veces más aromas los vinos analizados. Incluso si el vino control tuviera una alta concentración de tioles (10 a 40 nanomoles por litro), los vinos obtenidos de vides fertilizadas alcanzaron los más altos niveles, lo que sugiere que la técnica de fertilización foliar es totalmente influyente para la producción de estos componentes.

Por otro lado, cuando los vinos controles presentaron bajas concentraciones de tioles (0,4 a 6 nanomoles por litro), el incremento en la concentración fue menos dispersa y en el mismo rango (Dufourcq *et al.*, 2009).

Así, la aplicación foliar de nitrógeno y azufre sobre el viñedo parece ser un técnica muy favorable. En vides con pobre expresión aromática por deficiencia de nitrógeno, esta técnica incluso podría permitir conservar las cubiertas vegetales en el viñedo, las que se sabe inducen a bajos niveles de nitrógeno en el mosto y en consecuencia algunos sabores desagradables en el vino (Spring y Lorenzini, 2006).

Bajos niveles de nitrógeno en viñedos de Sauvignon blanc pueden influir negativamente sobre la calidad del vino (Peyrot des Gachons *et al.*, 2005). Los precursores aromaticos y el contenido de glutatión en el mosto se reduce, y los compuestos fenólicos aumentan (Choné *et al.*, 2006).

La fertilización nitrogenada aplicada directamente al suelo, puede incrementar los niveles de nitrógeno en el viñedo (Spayd *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1979), no obstante, esta técnica tiende a incrementar el vigor de la planta (Kliwer y Cook, 1974) y la susceptibilidad a la Botrytis (Delas, citado por Lacroux *et al.*, 2000). Son estos efectos los que pueden reducir o anular el impacto positivo de una mejora en la concentración de nitrógeno presente en el viñedo. A través de la fertilización foliar, el nivel de nitrógeno presente en el viñedo puede ser mejorado sin provocar un incremento en vigor. A su vez, existe un aumento en la concentración del nitrógeno asimilable por las levaduras en el mosto. Por lo tanto, esto permite aumentar la cinética fermentativa, evitando detenciones del proceso. Por otra parte, las adiciones de nitrógeno al mosto podrían limitarse e incluso evitarse (Lacroux *et al.*, 2008). Una fermentación limpia y rápida es un factor de calidad en la enología, particularmente para los vinos Sauvignon blanc (Lavigne y Dubourdieu, citado por Lacroux *et al.* 2008). Los vinos Sauvignon blanc obtenidos a partir de vides que fueron fertilizadas foliarmente previo a envero son más ricas en tioles (Lacroux *et al.*, 2008). El glutatión es un compuesto importante para la protección del aroma en los vinos Sauvignon blanc (Dubourdieu *et al.*, citado por Lacroux *et al.* 2008), por lo que se espera que la fertilización foliar nitrogenada contribuya al potencial de envejecimiento de los vinos (Lacroux *et al.*, 2008).

## CONCLUSIONES

El nitrógeno es un elemento mineral fundamental para las plantas, al ser constituyente de moléculas esenciales y participar en diferentes procesos metabólicos. La concentración de este compuesto, está afectada por diversos factores.

Para el caso específico de la vid, se ha demostrado que la fertilización nitrogenada resulta ser una práctica que trae consigo un aumento en la concentración de compuestos nitrogenados en la baya tales como: amonio, nitrógeno total, aminoácidos libres y YAN. Este incremento tiene una repercusión directa en el proceso fermentativo al favorecer el metabolismo de las levaduras durante la fermentación alcohólica. Asimismo, la fertilización nitrogenada tiene un efecto sobre las características sensoriales del vino, ya que adecuados niveles de nitrógeno en la planta favorecen la síntesis de precursores aromáticos unidos a cisteína y glutatión, los que mediante la acción de las levaduras, liberan los tioles respectivos al vino. Así, mayores niveles de nitrógeno en el viñedo favorecen el aumento en la concentración de compuestos nitrogenados, y repercuten en el perfil aromático del vino. No obstante existen limitaciones en el viñedo que impiden realizar grandes aplicaciones de nitrógeno. Es en base a estas limitantes que la fertilización foliar nitrogenada surge como una técnica favorable, que permite un aumento en la concentración de compuestos nitrogenados en la baya mayor en comparación a la fertilización realizada directamente al suelo. A su vez, la fertilización foliar nitrogenada permite un incremento en la concentración de tioles varietales en el vino respecto a la fertilización convencional.

Si bien se ha logrado demostrar la importancia de la fertilización sobre la mejora en la expresión aromática en vinos, es importante realizar un mayor número de investigaciones en este tópico, que permitan reforzar los estudios realizados con anterioridad. Todo esto debido a que hoy en día el vino no solo es considerado una bebida alcohólica, sino que un alimento con características sensoriales distintivas.

**BIBLIOGRAFÍA**

Albers, E.; G. Liden; C. Larsson and L. Gustafsson. 1998. Anaerobic redox balance and nitrogen metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. Recent Research Developments in Microbiology, 2: 253-279.

Azcón-Bieto, J. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª ed. Madrid: Interamericana McGraw-Hill. 651p.

Bath, G.I.; C.J. Bell and H.L. Lloyd. 1991. Arginine as indicator of nitrogen status. (pp. 202-205) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1º, June 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.

Bell, A.; C.S. Ough and W.M. Kliewer. 1979. Effects of must and wine composition, rates of fermentation, and wine quality of nitrogen fertilization of *Vitis vinifera* var. Thompson seedless grapevines. American Journal of Enology and Viticulture, 30 (2): 124-129.

Bell, S.J. and A. Robson. 1999. Effect of nitrogen fertilization on growth, canopy density, and yield of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon. American Journal of Enology and Viticulture, 50(3): 351-358.

Bell, S. and P. Henschke. 2005. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. Australian Journal of Grape and Wine Research, 11 (3): 242-295.

Bely, M.; J.M. Sablayrolles and P. Barre. 1991. Automatic detection and correction of assimilable nitrogen deficiency during alcoholic fermentation under enological conditions. (pp. 211-214) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1º, June 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.

Bertrand, A.; C. Ingargiola and J. Delas. 1991. Effects of nitrogen fertilization and grafting on the composition of must and wine from Merlot grapes, particularly on the presence of ethyl carbamate. (pp. 215-220) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1º, June 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.

Bidwell, R.G. 1979. Plant physiology. New York: Macmillan publishing Co. Inc. 726p.

- Bisson, L.F. 1991. Influence of nitrogen on yeast and fermentation of grapes. (pp. 78 - 89) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1<sup>o</sup>, june 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.
- Braun, J.W.; J.K. Garth and C.A. Brun. 1989. Distribution of foliage and fruit in association with light microclimate in red raspberry canopy. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 64: 565-572.
- Bray, C.M. 1983. Nitrogen metabolism in plants. London: Longman publishing group. 214p.
- Buttrose, M.S. 1969. Fruitfulness in grapevines: Effects of changes in temperature and light regimes. *Botanical Gazette*, 130 (3): 173-179.
- Callejas, R. y C. Rojas. 2004. Claves para una óptima fertilización foliar. *Agroeconómico*, 81: 19-20.
- Capone, D.; M. Sefton; Y. Hayasaka and D. Jeffery. 2010. Analysis of precursors to wine odourant 3-mercaptohexan-1-ol using HPLC-MS/MS: resolution and quantitation of diastereoisomers of 3-S-cysteinylhexan-1-ol and 3-S-glutathionylhexan-1-ol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (3): 1390-1395.
- Choné, X. 2001. Etude de l'influence des déficits hydriques modérés et l'alimentation en azote sur le potentiel aromatique des raisins de *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. Bordeaux: University of Bordeaux.
- Choné, X.; V. Lavigne-Cruège; T. Tominaga; C. Van Leeuwen; C. Castagnède; C. Saucier. et al. 2006. Effect of vine nitrogen status on grape aromatic potential: flavor precursors (S-cysteine conjugates), glutathione and phenolic content in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc grape juice. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 40: 1-6.
- Colapietra, M. 1991. Influenza di dosi crescenti di fertilizzanti distribuiti con la fertirrigazione su alcune caratteristiche qualitative dell'uva. *Vignevini*, 18: 21-27.
- Colapietra, M. and A. Alexander. 2006. Effect of foliar fertilization on yield and quality of table grapes. *Acta Horticulturae*, 721: 213-218.
- Conradie, W.D. and D. Saymaan. 1989. Effects of long-term nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization on chenin blanc vines I. Nutrient demand vine performance. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40 (2): 85-90.
- Currle, O; O. Bauer; W. Hofäcker; F. Schumann and W. Frisch. 1983. *Biologie der Rebe*. Neustadt: Meininger Verlag. 311p.

- Darriet, P.; T. Tominaga; V. Lavigne; J. Boidron and D. Dubourdieu. 1995. Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. Sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour Fragrance Journal*, 10: 385-392.
- Diéguez, S.C.; M.L. De la Peña and G.F. Gomez. 2003. Approaches to spirit aroma: contribution of some aromatic compounds to the primary aroma in samples of orujo spirits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (25): 7385-7390.
- Dintscheff, D.; K. Stoeff; G. Peschakoff and E. Kolarowa. 1964. Untersuchungen über die Stickstoffernährung der weinrebe unter Anwendung des stabilen Stickstoffisotops <sup>15</sup>N. *Vitis*, 4: 347-356.
- Dubourdieu, D. 2000. The role of yeast in grape flavour development during fermentation: the example of Sauvignon blanc. (pp. 196-203) in: *Proceedings of the ASEV 50th anniversary annual meeting (june, 2000, Seattle, USA)*. Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 369p.
- Dufourcq, T.; F. Charrier; P. Poupault; R. Schneider; L. Gontier and E. Serrano. 2009. Foliar spraying of nitrogen and sulphur at veraison: a viticultural technique to improve aromatic composition of white and rosés wines. 16th International GIESCO Symposium. Davis: *Viticulture & Enology, UC Davis*. 604p.
- Dukes, B; B. Goldspink and J. Elliot. 1991. Time of nitrogen fertilization can reduce fermentation time and improve wine quality. (pp. 242-248) in: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1°, june 1991, Seattle, USA)*. Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.
- Dukes, B. and C. Butzke. 1998. Rapid determination of primary amino acids in grape juice using an O-phthaldialdehyde/N-Acetyl-L-Cisteyne spectrophotometric assay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 125-134.
- Faller, N. 1968. *Der schwefeldioxidgehalt der luft als komponente der pflanze*. Giessen: Justus Liebig University.
- Feuillat, M. 2003. Los compuestos nitrogenados (cap. 3, pp. 97-113). En: Flanzy, C. (ed.). *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. Madrid, España: Mundi prensa. 797p.
- Fleet, G.H.; S. Lafon-Lafourcade; P. Ribereau-Gayon. 1984. Evolution of yeast and lactic acid bacteria during fermentation and storage of Bordeaux wines. *Applied and Environmental Microbiology*, 48 (3): 1034-1038.
- Fleet, G.H. 1990. Growth of yeast during wine fermentations. *Journal of Wine Research*, 1 (3): 221-223.

- Fleet, G.H. and G.M. Heard. 1993. Yeast: growth during fermentation. (pp. 27-54). In: Fleet, G.H. (Ed.). *Wine Microbiology and Biotechnology*. Switzerland: Harwood academic. 510p.
- Francis, I.L. and J.L. Newton. 2005. Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2): 114-126.
- García, H. y V. Peña. 1995. La pared celular, componente fundamental de las celular vegetales. 1<sup>a</sup> ed. México: UACH. 137p.
- Gonzalez-Marco, A.; N. Jimenez-Moreno and C. Ancin. 2010. Influence of nutrients addition to nonlimited-in-nitrogen must on wine volatile composition. *Journal of Food Science*, 75 (4): 206-211.
- Gooding, M.J. and P. Davis. 1992. Foliar urea fertilization: a review. *Fertilizer Research*, 32 (2): 209-222.
- Guth, H. and Sies, A. 2002. Flavour of wines: towards an understanding by reconstitution experiments and an analysis of ethanol's effect on odour activity of key compounds. (pp. 128-139) in: *Proceedings of the eleventh Australian wine industry technical conference (7-11, october 2011, Adelaide, Australia)*. Adelaide, Australia: Australian Wine Industry Technical Conference. 276p.
- Heard, G.M. and G.H. Fleet. 1985. Growth of natural yeast flora during the fermentation of inoculated wines. *Applied and Environmental Microbiology*, 50 (3): 727-728.
- Heard, G.M. and G.H. Fleet. 1986. Occurrence and growth of yeast species during the fermentation of some australian wines. *Food Technology in Australia*, 38: 22-25.
- Heard, G.M. and G.H. Fleet. 1988. The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice. *Journal of Applied Bacteriology*, 65: 23-28.
- Henschke, P. and V. Jiranek. 1994. Yeasts – metabolism of nitrogen compounds. (pp. 77-164). In: Fleet, G.H. (Ed.). *Wine Microbiology and Biotechnology*. Switzerland: Harwood Academic. 510p.
- Hernandez-Orte, P.; M. Ibraiz; J. Cacho and V. Ferreira. 2005. Effect of the addition of ammonium and amino acids to must of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chemistry*, 89 (2): 163-174.
- Hewitt, E.; D. Mackay; K. Konigsbacher and T. Hasselstrom. 1956. The role of enzymes in food flavors. *Food Technology*, 10 (10): 487-489.

- Hill-Cottingham, D.G. and C.P. Lloyd-Jones. 1979. Translocation of nitrogenous compounds in plants. (pp 397-405). In: Hewitt, E.J. and C.V. Cutting (eds.). Nitrogen Assimilation of Plants. London. 708p.
- Hösel, W. 1981. The biochemistry of plants. Secondary plant products. In: E. Conn (ed). London: Academic press. 725p.
- Howell, K.; J. Swiegers, G. Elsey; T. Siebert; E. Bartowsky; G. Fleet et al. 2004. Variation in 4-mercapto-4-methyl-pentan-2-one release by *Saccharomyces cerevisiae* commercial wine strains. *Ferms Microbiology Letters*, 240 (2): 125-129.
- Huang, Z. and C.S. Ough. 1989. Effect of vineyard locations, varieties and rootstocks on the juice amino acid composition of several cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40 (2): 135-139.
- Huglin, P. 1998. *Bilogie et écologie de la vigne*. 2<sup>a</sup> ed. Paris: Tec et doc. 372p.
- Ingledeew, W.M. and R. Kunkee. 1985. Factors influencing sluggish fermentations of grapejuice. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36: 65-76.
- Iriti, M. and F. Faoro. 2006. Grape phytochemicals: a bouquet of old and new nutraceuticals for human health. *Med Hypotheses*, 67 (4): 833-838.
- Jackson, R. 2000. *Wine science: Principles, practice, perception*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press. 645p.
- Kliewer, W.M. and J.A. Cook. 1971. Arginine and total free aminoacids as indicators of nitrogen status of grapevines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 96: 581-587.
- Kliewer, W.M. and J.A. Cook. 1974. Arginine levels in grape canes and fruits as indicators of nitrogen status of vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25: 111-129.
- Kliewer, W.M.; L.A. Lider and N. Ferrari. 1972. Effect of controlled temperature and light intensity on growth and carbohydrate levels of Thompson seedless grapevines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 97: 185-188.
- 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 (2): 96-103.
- Kliewer, W.M. 1980. Vineyard canopy management – a review. (pp. 342-352) in: *Proceedings grape and wine centennial syposium* (18-21, june 1980, Davis, California). California, USA: University of California. 398p.

- Kliwer, W.M; C. Bogdanoff and M. Benz. 1991. Responses of Thompson seedless grapevines trained to single and divided canopy trellis systems to nitrogen fertilization. (pp. 282-289) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1°, june 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.
- Kunkee, R. 1991. Relationship between nitrogen content of must and sluggish fermentation. (pp. 148 - 155) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1°, june 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.
- Lacroux, F.; O. Tregoat; C. Van Leeuwen; A. Pons; T. Tominaga; V. Lavigne-Cruège. et al. 2008. Effect of foliar nitrogen and sulphur application on aromatic expression of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 42 (3): 125-132.
- Lam, H.M.; K.T. Coschigano; I.C. Oliveira; R. Melo-Oliveira and G.M. Coruzzi. 1996. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into aminoacids in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47: 569-593.
- Lambrechts, M.G. and I. Pretorius. 2000. Yeast and its importance to wine aroma – a review. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 21: 97-129.
- Large, P. 1986. Degradation of organic nitrogen compounds by yeasts. *Yeasts*, 2: 1-34.
- Lema, C.; C. Garcia-Jares; I. Orriols and L. Angulo. 1996. Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* populations to the production of some components of Albariño wine aroma. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47 (2): 206-216.
- Lemon, E. and R. Van Houtte. 1980. Ammonia exchange at the land surface. *Agronomy Journal*, 72: 876-883.
- Löhnertz, O. 1988. Untersuchungen zum zeitlichen Verlauf der Nährstoffaufnahme bei *Vitis vinifera* (cv. Riesling). Thesis. Giessen, Germany: University of Giessen. 228p.
- Margalith, P.Z. 1981. Flavor microbiology. Illinois, USA: Charles Thomas (ed). 309p.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press. 889p.
- Mauricio, J.; E. Valero; C. Millán and J. Ortega. 2001. Changes in nitrogen compounds in must and wine during fermentation and biological aging by flor yeasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 3310-3315.

- Mengel, K. 2002. Alternative or complementary role of foliar supply in mineral nutrition. *Acta Horticulturae*, 594: 33-74.
- Moreira, N.; F. Mendes; O. Pereira; P. Guedes de Pinho; T. Hogg and I. Vasconcelos. 2002. Volatile sulphur compounds in wines related to yeast metabolism and nitrogen composition of grape musts. *Analytica Chimica Acta*, 458: 157-167.
- Mullins, M.; A. Bouquet and L. Williams. 1992. *Biology of the grapevine*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press. 239p.
- Murat, M.; T. Tominaga and D. Dubourdieu. 2001. Assessing the aromatic potential of Cabernet sauvignon and Merlot musts used to produce rose wine by assaying the cysteinylated precursor of 3-mercaptohexan-1-ol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (11): 5412-5417.
- Neilsen, G.H.; D.S. Stevenson and A. Gehringer. 1987. The effect of NPK fertilization uptake, yield and fruit composition on foch grapes in British Columbia. *Canadian Journal of Plant Science*, 67 (2): 511-520.
- Neilsen, G.H.; D.S. Stevenson and J.J. Fritzpatrick. 1989. The effect of municipal wastewater irrigation and rate of N fertilization on petiole composition, yield and quality of okanagan riesling grapes. *Canadian Journal of Plant Science*, 69 (4): 1285-1294.
- Nicolini, G.; G. Versini; R. Larcher; C. Beretta; A. Olivari; E. Eccli. et al. 2004. Measurement of promptly assimilable nitrogen by yeast in grape juice and application examples (*Vitis vinifera* L.). *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 57: 13-27.
- Ortega-Heras, M.; M.L. Gonzalez-San Jose and S. Beltran. 2002. Aroma composition of wine studied by different extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 458: 85-93.
- Pardo, I.; M.J. Garcia; M. Zuñiga and F. Uruburo. 1989. Dynamics of microbial populations during fermentation of wines from the Utiel-Requena region of Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (2): 539-541.
- Pate, J.S. 1980. Transport and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31: 313-340.
- Peacock, W.; L. Christensen and D. Hirschfelt. 1991. Influence of timing on nitrogen fertilizer application on grapevines in the San Joaquin valley. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42 (4): 322-326.
- Peña-Gallego, A.; P. Hernandez-Orte; J. Cacho and V. Ferreira. 2012. S-Cysteinylated and S-Glutathionylated thiol precursors in grapes. A review. *Food Chemistry*, 131: 1-13.

- Perez, J.R.; W.M. Kliewer. 1978. Nitrate reduction in leaves of grapevine and other fruit trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 103 (2): 246-250.
- Peyrot Des Gachons, C. 2000. Recherches sur le potentiel aromatique des raisins de *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. Bordeaux: University of Bordeaux.
- Peyrot Des Gachons, C.; C. Van Leeuwen; T. Tominaga; J.P. Soyer; J.P. Gaudillere and D. Dubourdieu. 2005. Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc in field conditions. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 85: 73-85.
- Poux, C. and A. Ournac. 1970. Acides aminés libres et polypeptides du vin. *Ann TechnoAgric*, 19: 217-237.
- Querol, A.; M. Jimenez and T. Huerta. 1990. A study on microbiological and enological parameters during fermentation of must from normal and poor grape harvest in the region of Alicante (Spain). *Journal of Food Science*, 55: 1603-1606.
- Rapp, A and G. Versini. 1991. Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. (pp. 156-164) in: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine* (1<sup>o</sup>, June 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.
- Rapp, A. 1988. Wine aroma substances from gas chromatographic analysis. *Modern Methods of Plant Analysis*, 6: 29-66.
- Rapp, A. 1998. Volatile flavour of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung*, 42 (6): 351-363.
- Rauhut, D. 1993. Yeast-production of sulphur compounds. (pp. 183-224). In: Fleet, G.H. (Ed.). *Wine microbiology and biotechnology*. Switzerland: Harwood academic. 510p.
- Razeto, B. 1991. La nutrición mineral de los frutales: deficiencias y excesos. Santiago de Chile: Soquimich. 105p.
- Ribéreau-Gayon, P.; Y. Glories; A. Manejan and D. Dubourdieu. 1999. *Handbook of enology: The chemistry of wine stabilization and treatments*. 2nd edition. Chichester: Wiley. 450p.
- Romano, C.; P. Fiore; M. Paraggio; M. Caruso and A. Capece. 2003. Function of yeast species and strains in wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 86 (2): 169-180.

- Roubelakis-Angelakis, K. 1991. Amino acid and protein metabolism in *Vitis* spp. (pp. 52-61) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1<sup>o</sup>, June 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.
- Salvo, R. 2006. Evaluación de dos fertilizantes foliares en una pradera de ballica bianual *Lolium multiflorum* spp. italicum. Memoria Licenciado en Agronomía. Valdivia, Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, UACH. 60p.
- Santos, A. y D. Manjarrez. 1999. Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. Terra, 17: 247-255.
- Schaller, K.; O. Löhnertz; D. Oswald and B. Sprengart. 1985. Nitratanreicherung in reben: nitratdynamik in rapper und beeren während einer vegetationsperiode in verschiedenen rebsorten. Wein-Wiss, 40: 147-159.
- Schaller, K.; O. Löhnertz; R. Geiben and N. Breit. 1989. N-stoffwechsel von reben: N-und argnindynamik im holzkörper der sorte müller-thurgau im verlaufe einer vegetationsperiode. Wein-Wiss, 44: 91-101.
- Schreiber, A.T.; N. Merkt; R. Blaich and R. Fox. 2002. Distribution of foliar applied labelled nitrogen in grapevines (*Vitis vinifera* cv. Riesling). Acta Horticulturae, 594: 139-148.
- Schreier, P. 1979. Flavor composition of wines: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 12: 59-111.
- Smart, R. 1985. Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality. A review. American Journal of Enology and Viticulture, 36 (3): 230-239.
- Smart, R.; M. Robinson; G. Due and C. Brien. 1985. Canopy microclimate modification for the cultivar Shiraz I. Definition of canopy microclimate. Vitis, 24: 17-31.
- Spayd, S.E.; R.L. Wample; R.G. Evans; R.G. Stevens; B.J. Seymour and C.W. Nagel. 1994. Nitrogen fertilization of white Riesling grapes in Washington. Must and wine composition. American Journal of Enology and Viticulture, 45: 34-42.
- Sponholz, W.R. 1991. Nitrogen compounds in grapes, must and wine. (pp. 67-77) in: Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine (1<sup>o</sup>, June 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.
- Spring, J. and F. Lorenzini. 2006. Effet de la pulvérisation d'urée sur l'alimentation azotée et la qualité du Chasselas en vigne enherbée. Revue Suisse de Viticulture Arboriculture Horticulture, 38 (2): 105-113.

Swiegers, J. and I. Pretorius. 2005. Yeast modulation of wine flavor. *Advances in Applied Microbiology*, 77: 131-175.

Swiegers, J.H.; E.J. Bartowsky; P.A. Henschke and I.S. Pretorius. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11 (2): 139-173.

Swiegers, J. and I. Pretorius. 2007. Modulation of volatile sulphur compounds by wine yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74 (5): 954-960.

Téa, I. 2004. Contribution à l'amélioration de la qualité technologique des farines panifiables de blé par l'apport foliaire d'azote et de soufre: implication des protéines de réserves et du glutathion. Toulouse: INP Toulouse.

Téa, I.; T. Genter; N. Nault; L. Lummerzheim and D. Kleiber. 2007. Interaction between nitrogen and sulphur by foliar application and its effects on flour bread-making quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87 (15): 2853-2859.

Thibon, C.; S. Shinkaruk; T. Tominaga; B. Bennetau and D. Dubourdieu. 2008. Analysis of the diastereoisomers of the cysteinylated aroma precursor of 3-sulfanylhexanol in *Vitis vinifera* grape must by gas chromatography coupled with ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1183 (2): 150-157.

Tominaga, T.; I. Masneuf and D. Dubourdieu. 1995. A S-Cysteine conjugate, precursor of aroma of white sauvignon. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 29: 227-232.

Tominaga, T.; C. Peyrot Des Gachons and D. Dubourdieu. 1998. A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (2): 5215-5219.

Torrea, D and C. Ancin. 1999. Use of nitrogen compounds in spontaneous and inoculated wine fermentations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (10): 4018-4024.

Wermelinger, B. 1991. Nitrogen dynamics in grapevine: Physiology and modeling. (pp. 23-31) in: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine* (1<sup>o</sup>, June 1991, Seattle, USA). Seattle, USA: The American Society for Enology and Viticulture. 323p.

Winkler, A.; J. Cook; W. Kliewer and L.L. Lider. 1974. *General Viticulture*. London: Academic Press. 710p.

Wojcik, P. 2004. Uptake of mineral nutrient from foliar fertilization. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12: 201-218.

Wolf, T.K. and R.M. Pool. 1988. Effects of rootstock and nitrogen fertilization on the growth and yield of chardonnay grapevines in New York. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39: 29-37.

Wrona, D.; E. Pacholak; S. Svagzdys and A. Sadowski. 2001. Effects of nitrogen fertilization on apple trees grown in three different locations. *Acta Horticulturae*, 564: 443-448.

Zerihun, A. and M. Treeby. 2002. Biomass distribution and nitrate assimilation in response to N supply *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet savignon on five vitis rootstock genotypes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8 (3): 157-162.