



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DESHOJE SOBRE LA
FOTOINHIBICIÓN EN PIELES DE BAYAS DE LA CEPA SAUVIGNON
BLANC (*Vitis vinífera* L)**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN ENOLOGÍA Y
VITIVINICULTURA

RODRIGO ANTONIO OPAZO PAVEZ

DIRECTOR DE TESIS

CLAUDIO PASTENES VILLARREAL

PROFESORES EVALUADORES

EDUARDO LOYOLA

KAREN SAGREDO

SANTIAGO DE CHILE

DICIEMBRE 2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

Título

**EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DESHOJE SOBRE LA
FOTOINHIBICIÓN EN PIELES DE BAYAS DE LA CEPA SAUVIGNON
BLANC (*Vitis vinífera* L).**

Tesis presentada para optar al Grado de Magíster en Enología y Vitivinicultura

Rodrigo Antonio Opazo Pavez

	Calificaciones (Memoria de título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
Directores de Tesis		
Claudio Pastenes Villarreal Ingeniero Agrónomo Ph. D.	7,0	Aprobado
Profesores Evaluadores/Consejeros		
Eduardo Loyola Ingeniero Agrónomo Dr.	6,4	Aprobado
Karen Sagredo Ingeniero Agrónomo Ph. D.	6,5	Aprobado

Santiago, Chile
2013

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de todo corazón a mis padres Rodrigo y María Antonieta, a mi hermana, abuela (mamá licha) e Isidora por todo su amor, fuerza, apoyo incondicional y muuucha paciencia. Además a mi familia Garrido Opazo, por su cariño y por hacerme sentir uno más de ellos, eternamente agradecidos.

A mi hermosa y dulce pez (María Paz Fernández) por su amor, compañía y entrega en este largo camino.

A los amigos de toda la vida “The Bocher” (criss, cancino, toti, pahio y hiucho) que siempre están para sacar carcajadas y son un gran apoyo. A los compañeros de laboratorio y magíster, en especial a la Jefa, por compartir gratos momentos de estudios y de esparcimiento.

Agradezco al profesor Claudio Pastenes por su sabiduría y buena onda, en la orientación durante el desarrollo de esta investigación. A Ursula Arriagada, Alejandra Estrella y Luis Villalobos por su ayuda y consejos.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
REFERENCIAS BIBLIGRÁFICAS.....	6
CAPÍTULO 2.....	8
RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVO.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
Lugar y época de trabajo.....	15
Material vegetal.....	15
Tratamientos.....	16
Muestreos.....	17
Evaluaciones.....	18
Recuperación del rendimiento cuántico máximo (Fv/Fm).....	18

Quenching fotoquímico (qP) y no fotoquímico (qN).....	18
Contenido de clorofilas y carotenoides.....	19
Radiación solar.....	20
Temperatura de racimo.....	20
Peso de bayas.....	20
Sólidos solubles.....	21
Acidez total y pH.....	21
Diseño experimental.....	21
Análisis estadístico.....	21
RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE LA ORIENTACIÓN ESTE Y OESTE.....	22
DISCUSIÓN.....	45
CONCLUSIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los sistemas fotosintéticos vegetales, han sido estudiados fundamentalmente en los tejidos de las hojas. Se trata de un sistema complejo, específicamente localizado en cloroplastos, capaz de absorber la radiación visible, generando ATP y un poder reductor NADPH. Esta energía y poder reductor, son utilizados en la reducción del CO₂ proveniente del aire, suministrando triosas fosfatos al citoplasma para la producción de sacarosa, o bien, para la síntesis de almidón al interior de los cloroplastos (Zouni y Col, 1999).

La absorción de la luz ocurre gracias a los pigmentos de clorofila del tipo *a* y *b*, que se asocian a complejos de proteínas en los tilacoides, denominados fotosistema I y II (PSI y PSII) (Zouni y Col, 1999). Las clorofilas absorben principalmente en las regiones del rojo y del azul del espectro luminoso, excitándose a un estado de mayor energía, a partir de la cual pueden surgir cuatro rutas alternativas para disipar la energía disponible. Puede reemitir un fotón y así volver al estado basal por un proceso conocido como fluorescencia. También puede volver al estado fundamental por conversión de su energía de excitación en calor. Además, puede ceder su energía a otra molécula de clorofila por transferencia de energía. La cuarta ruta es el proceso fotoquímico, en el que la energía del estado excitado es empleada en el transporte de electrones en los tilacoides (Demmig-Adams y Adams, 1992).

Los carotenoides son pigmentos también presentes en los fotosistemas, que absorben longitudes de onda entre 400 y 500 nm, con un característico color naranja. La radiación luminosa absorbida por estos pigmentos puede ser transferida a las clorofilas, actuando entonces como pigmentos auxiliares. Pero más importante aún, los carotenoides juegan un papel trascendental en la fotoprotección, mediante mecanismos fotoquímicos, capaces de

desactivar rápidamente el estado excitado de la clorofila. Además existe el mecanismo no fotoquímico, en donde los carotenoides violaxantina, anteraxantina y zeaxantina están implicados en la disipación de energía en forma de calor, desde los complejos de antena sobreexcitados (Mozzo *et al.*, 2008).

Los sistemas fotosintéticos están diseñados para absorber grandes cantidades de energía de la radiación luminosa y transformarla en energía química. A nivel molecular, la energía de un fotón puede ser dañina, sobre todo en condiciones desfavorables. En exceso, la energía de la radiación luminosa genera productos altamente reactivos, que pueden causar daños oxidativos en el aparato fotosintético si la energía de la radiación luminosa no se disipa de forma segura (Aro *et al.*, 1993). Cuando el organismo fotosintético es incapaz de adaptarse a las condiciones de aumento de radiación luminosa, puede ocurrir fotoinhibición, provocando una disminución de la actividad fotosintética (Niyogi, 1999).

En la fotoinhibición, el principal daño ocurre en la proteína D1, que forma parte del complejo del centro de reacción del PSII. Cuando es dañada por un exceso de energía de la radiación luminosa, debe ser eliminada de la membrana y sustituida por una molécula recién sintetizada (Huner *et al.*, 2005). Por lo tanto, la pérdida de la actividad fotosintética dependerá de la tasa a la cual las proteínas D1 son dañadas y a la cual son sintetizadas e integradas al complejo dañado (Baker, 1991). Los organismos fotosintéticos han evolucionado con múltiples mecanismos de fotoprotección, para hacer frente a los efectos potencialmente perjudiciales de la radiación luminosa. Por ejemplo, ajuste en el tamaño del complejo de antena, aumento de moléculas antioxidantes o aumento de la disipación en forma de calor (Niyogi, 1999). En presencia de radiación luminosa intensa se induce un aumento en el ΔpH del lumen tilacoidal, en donde se activa a la enzima violaxantina dehidrogenasa, que convierte la violaxantina en zeaxantina, con la anteraxantina como intermediario, provocando la disipación de la energía absorbida, en forma de calor (Holt *et al.*, 2005).

En general, más que la intensidad luminosa, el daño fotoinhibitorio se produce cuando la energía luminosa, excede la capacidad de los tejidos de utilizar dicha energía en la reducción del CO₂. El estrés hídrico, por ejemplo, induce un cierre estomático, limitando la concentración de CO₂ en los cloroplastos generando fácilmente fotoinhibición (Pastenes *et al.*, 2004). Evidentemente, todos los tejidos verdes en los vegetales contienen cloroplastos funcionales. Un ejemplo es la piel de las bayas de vid, fundamentalmente en la primera fase de crecimiento en cepas tintas, y a lo largo de todo el periodo de crecimiento y maduración, en cepas blancas. En este caso, existen estomas funcionales en la piel, los que se van sellando en forma de lenticelas progresivamente (Rogiers, *et al.*, 2004). Así, la difusión de CO₂ es cada vez menor. Ahora, no existe conocimiento acerca del impacto de la intensidad luminosa sobre la fotoinhibición en las bayas, ni la capacidad de los sistemas fotosintéticos de las pieles, de disipar la energía absorbida en forma de calor. Mucho menos se sabe si prácticas vitícolas, como el deshoje, afectan dicho proceso o en qué magnitud modifican la composición de los pigmentos de clorofilas y carotenoides, en donde los cambios en la magnitud de estos compuestos pueden favorecer o perjudicar el mosto y por consecuencia al vino. Las clorofilas son importantes en el color en vinos blancos, además son compuestos potencialmente oxidante que pueden perjudicar la composición organoléptica (Mínguez-Mosquera *et al.*, 1994), y los carotenoides son importantes precursores aromáticos (Kanasawud y Crouzet, 1990).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aro, E., MC Caffery, S. and Anderson, J. 1993. Photoinhibition and D1 protein degradation in peas acclimated to different growth irradiances. *Plant Physiology* 103: 835-843.

Baker, N. 1991. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 81: 563 – 570

Demmig-Adams, B. and Adams III, W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology* 43: 599-626.

Holt, N., Zigmantas, D., Valkunas, L., Li, X., Niyogi, K. and Fleming, G. 2005. Carotenoid cation formation and the regulation of photosynthetic light harvesting. *Science* 307: 433-434.

Huner, N., Ivanov, A., Sane, P., Pockock, T., Król, M., Balseris, A., Rosso, D., Savitch, L., Hurry, V. and Oquist, G. 2005. pp 155-169. Photoprotection of photosystem II: Reaction center quenching versus antenna quenching. In: *Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation and Environment*. (Ed.) Springer. Netherlands. 752 p.

Kanasawud, P. and Crouzet, J. 1990. Mechanism of formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids in aqueous medium. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 237-242.

Mínguez-Mosquera, I., Gandul-Rojas, B. and Mínguez-Mosquera, J. 1994. Mechanism and kinetics of the degradation of chlorophylls during the processing of green table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 1089-1095.

Mozzo, M., Dall'ost, L., Hienerwardel, R., Bassi, R. and Croce, R. 2008. Photoprotection in the antenna complexes of photosystem II role of individual xanthophylls in chlorophyll triplet quenching. *Biological Chemistry* 283: 6184-6192.

Niyogi, K. 1999. Photoprotection revisited: Genetic and molecular approaches. *Plant Physiology* 50: 333-351.

Pastenes, C., Pimentel, P. and Lilli, J. 2004. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. *Journal of Experimental Botany* 56: 425-426.

Rogiers, S., Hatfield, J.O., Jaudzems, V., White, R. and Keller, M. 2004. Grape berry cv. Shiraz epicuticular wax and transpiration during ripening and preharvest weight loss. *Journal of Experimental Botany* 55 (2): 121-127.

Zouni, A. and Col, R. 1999. Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongates* at 3.8Å resolution. *Nature* 409: 739-743.

CAPÍTULO II
EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DESHOJE SOBRE LA
FOTOINHIBICIÓN EN PIELES DE BAYAS DE LA CEPA SAUVIGNON BLANC
(Vitis vinífera L)

RESUMEN

La absorción de la luz ocurre gracias a los pigmentos de clorofila del tipo *a* y *b*, que se asocian a complejos de proteínas en los tilacoides, denominados fotosistema I y II (PSI y PSII). En los fotosistemas están presentes los carotenoides que pueden absorber la radiación luminosa, actuando como pigmento auxiliar, pero también tienen un papel trascendental en la fotoprotección. Prácticas como el deshoje, que buscan mejorar las condiciones de aireación e iluminación de los racimos, generan diferentes comportamientos en las pieles de las bayas. En este trabajo se realizaron dos ensayos, uno con racimos con exposición Este y otro con exposición Oeste, en donde se evaluaron los efectos de los tratamientos de oscuridad, sin deshoje, deshoje al estado de tamaño arveja y deshojes en enero, sobre el comportamiento de la fotosíntesis, composición de pigmentos de clorofilas *a* y *b*, y carotenoides en las pieles de las bayas de la cepa Sauvignon Blanc. Los distintos regímenes lumínicos afectaron con diferencias significativas la morfología de la baya, durante su crecimiento y desarrollo. En relación a la fotosíntesis, en ambos ensayos, los tratamientos deshojados presentaron fotoinhibición desde posenero, en donde los tratamientos con deshoje en enero presentaron F_v/F_m más bajos, con valores que oscilaron entre 0,79 y 0,38 en el ensayo Este, y entre 0,37 y 0,29 en el ensayo Oeste. Al comienzo de los ensayos, la concentración de las clorofilas presentaron diferencias significativas, fundamentalmente en el ensayo de la orientación Este, luego las clorofilas disminuyeron en los cuatro tratamientos hasta el final de la temporada. Los carotenoides totales aumentaron el contenido en el tiempo, además los tratamientos provocaron una activación del ciclo de las xantofilas en los fotosistemas. El alto grado de exposición de los racimos provocó daños en los fotosistemas, evidenciados en la disminución de F_v/F_m . Sin

embargo, aumentó el contenido de carotenoides al final de la temporada, lo que puede ser beneficioso, ya que podría conducir a la mayor formación de compuestos aromáticos.

Palabras claves: Clorofilas, Carotenoides, radiación, Fv/Fm.

ABSTRACT

The absorption of light occurs due to the chlorophyll pigments of the type *a* and *b*, which are associated with protein complexes in thylakoids, called photosystem I and II (PSI and PSII). Within the photosystems it is possible to find the Carotenoids. Carotenoids can absorb light radiation, acting as auxiliary pigment, but also having a transcendental role in photoprotection process. Procedures such as defoliation, seeking to improve the conditions of ventilation and illumination of clusters, generate different behaviors in the skin of the berries. In this work, two experiments were done, one bunch with East orientation and one with West orientation. The researchers evaluated the effect of the treatment dark, without leaf removal, leaf removal to pea state and leaf removal from veraison, on the behavior of photosynthesis and pigment composition of chlorophylls *a* and *b*, and carotenoids in the skins of the berries of Sauvignon Blanc. The different light patterns, affected with significant differences in the morphology of the berry, during their growth and development. In relation to photosynthesis, in both trials showed photoinhibition treatments from post-veraison leafless, where defoliation treatments at veraison showed Fv/Fm lower, with values ranging between 0,79 and 0,38 in the test this, and between 0,37 and 0,29 in the Western assay. At the beginning of the trials, the chlorophylls showed significant differences, mainly in the trial with east orientation. Then, the chlorophylls decreased in the four treatments until the end of the season. Total Carotenoids increased their content during the time. Moreover, treatments caused the activation of xanthophylls cycle in photosynthetic systems. High exposure of clusters caused damage photosynthetic systems, as evidenced by declining Fv/Fm. However, increased the carotenoid content at the end of the season, which can be beneficial as it could lead to increased formation of aromatics.

Keys words: chlorophylls, Carotenoids, radiation, Fv/Fm.

INTRODUCCIÓN

La radiación solar que llega a la tierra abarca una amplia franja del espectro radiactivo electromagnético; normalmente dentro de ella, una parte significativa (aproximadamente 40%) es la radiación visible. La radiación visible ocupa una franja del espectro que va desde los 400 a los 700 nm, constituida por la conjunción de todas las radiaciones luminosas de distinto color: luz violeta, azul, verde, amarilla, naranja y roja (De Las Rivas, 2008).

Los organismos fotosintéticos absorben entre el 85 y el 90% de la radiación visible; el resto es reflejado o transmitido. La radiación visible, es captada por los pigmentos unidos por las proteínas LHC (light-harvesting complex) en los PSI y PSII (Green y Durnford, 1996). Experimentos realizados sobre fotosistemas de espinacas (*Spinacia oleracea*), los cuales fueron iluminados con 30.000 lux, disminuyeron la actividad fotorreductora del NADP⁺. En fotosistemas acondicionados a la sombra, luego expuestos periódicamente a la luz solar directa, el daño producido en las proteínas se reveló mediante una restitución extremadamente lenta y por lo tanto, una menor eficiencia potencial de los fotosistemas (Krause *et al.*, 1999).

Las plantas deben responder a variaciones en cantidad y calidad de luz, por medio del desarrollo de adaptaciones de sus capacidades fotosintéticas y la habilidad para disipar la energía lumínica interceptada (Osmond, 1994). Por lo tanto, la evolución de las plantas ha tenido que mediar entre la maximización de la intercepción de luz para la fotosíntesis, y la minimización del potencial daño sobre el aparato fotosintético, debido a la

sobreexcitación. A bajo flujo de fotones (aproximadamente $100 \text{ umol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), más del 80% de la luz absorbida sería utilizada, de acuerdo al rendimiento cuántico máximo de oxígeno medido. Cuando el flujo de fotones se aproxima a la mitad de plena luz (aproximadamente $1000 \text{ umol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), sólo un 25% de la luz absorbida es utilizada y a plena luz del sol la utilización desciende aproximadamente un 10% (Percy, 1990). Cuando la planta es incapaz de adaptarse a las condiciones de aumento de luminosidad, puede ocurrir fotoinhibición, debido a una excesiva excitación del aparato fotosintético, dañando a las proteínas D1 (Horton *et al.*, 1994). En hojas de raps (*Brassica napus*), sometidas a una intensidad luminosa de $750 \text{ umol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, aumentaron enormemente la tasa de síntesis del polipéptido D1, en comparación con hojas crecidas a $350 \text{ umol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Osmond, 1994). La fotoinhibición se puede obtener con un fluorómetro, equipo que entrega los parámetros Fv/Fm, qP y qN. Fv/Fm es una medida de la máxima eficiencia del PSII, con valores óptimos de alrededor de 0,83 (Johnson *et al.*, 1993), valores más bajos indican plantas con estrés, particularmente el fenómeno de fotoinhibición (Maxwell y Johnson, 2000). El parámetro qP representa la proporción de centros PSII que están en estado abierto, capaces de realizar transporte de electrones. El parámetro qN representa la proporción de la energía absorbida que es remitida como calor (Maxwell y Johnson, 2000).

Es conocido que el contenido de carotenoides en las plantas está relacionado a los procesos metabólicos de las células vegetales, que son dependientes de los factores climáticos, las prácticas agrícolas y las variedades de las plantas. En general, los contenidos de carotenoides más altos se producen en bayas de regiones cálidas. Sin embargo, en la madurez, las bayas expuestas a la luz del sol tienen concentraciones de carotenoides más bajas que las bayas sombreadas (Oliveira, 2004). Es aceptado que los carotenoides son importantes en la fotoprotección, desactivando el estado excitado de la clorofila (Mozzo *et al.*, 2008), y además, juegan un papel relevante en las características organolépticas de los vinos, ya que son considerados precursores aromáticos (Razungles *et al.*, 1996).

Las clorofilas reflejan el color verde, el cual confiere el color a los tejidos vegetales. Los fotosistemas, mediante el ajuste de tamaños de antenas, se deben adaptar a diferentes

ambientes de luz y temperatura. Cuando las clorofilas de los fotosistemas están dañadas, estas moléculas deben ser detectadas y reemplazadas. Tal control cualitativo de las clorofilas es importante para una eficiente fotosíntesis (Masuda y Fujita, 2008). La regulación del metabolismo de clorofilas incluye variados niveles de control, para permitir un flujo metabólico equilibrado en respuesta de factores externos y endógenos, y para garantizar la adaptación de la planta durante su desarrollo, a las necesidades de clorofilas (Suzuki y Shioi, 1999).

Las pieles de las bayas de la vid, presentan cloroplastos, organelo celular en que se encuentran los pigmentos fotosintéticos. Por lo tanto, considerando que prácticas como el deshoje, que buscan mejorar las condiciones de aireación e iluminación de los racimos en viñedos con baja luminosidad y alta humedad ambiental (Salazar y Melgarejo, 2005), afectarán el comportamiento de la transferencia de energía en los sistemas fotosintéticos de las pieles de bayas de la cepa Sauvignon Blanc.

Sauvignon Blanc es considerada, después de la Chardonnay, como la variedad más fina entre las cepas blancas de origen francés. Esta variedad proveniente de Burdeos es muy vigorosa por lo que necesita podas largas; es además muy sensible a la sequía, oídio, botrytis y en general a las enfermedades de la madera. El racimo es pequeño y compacto, con bayas elípticas, pero deformadas por el contacto entre ellas. Las pieles de las bayas son de color verde, poco gruesas, pero consistentes, la pulpa es verdosa, dura y muy jugosa. La planta resiste bien al frío y su brotación es temprana (Melgarejo y Salazar, 2005). La cepa Sauvignon Blanc representa el 11% de la superficie plantada de vid con interés enológico en Chile, ocupando el segundo lugar del total de cepas plantadas y el primero en cepas blancas. Sus plantaciones se encuentran mayormente concentradas en el valle de Casablanca (SAG, 2013).

HIPÓTESIS

El deshoje en la zona frutal, aumenta la fotoinhibición en las pieles de bayas de la cepa Sauvignon Blanc, y modifica la composición de pigmentos fotosintéticos y carotenoides de los mismos.

OBJETIVOS

Determinar el efecto de distintos niveles de deshoje sobre la fotoinhibición en pieles de bayas de la cepa Sauvignon Blanc.

Determinar el efecto de distintos niveles de deshojes sobre el contenido de clorofilas (*a* y *b*) y carotenoides totales en las pieles de bayas de la cepa Sauvignon Blanc.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar y época de trabajo

El estudio se realizó durante la temporada 2009-2010 en la viña Haras de Pirque, ubicada en la subregión vitivinícola del valle del Maipo, en la zona de Pirque (33° 41' S y 70° 37' O longitud Oeste). Los análisis se efectuaron en el laboratorio de Fisiología del Estrés en Plantas (LFEP), de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Material vegetal

Para la realización de este estudio se utilizaron bayas provenientes de plantas de vid de la cepa Sauvignon Blanc de 9 años de edad, conducida en espaldera simple, con orientación norte-sur, sobre pie franco, con un marco de plantación de 2 x 1,5 m. Las plantas están bajo sistema de riego por goteo y recibieron similares prácticas culturales.

Tratamientos

Se realizaron dos ensayos, uno con racimos en la exposición Este de la espaldera y otro, con racimos en la exposición Oeste de la espaldera. Cada ensayo consistió de 4 tratamientos (Figura 1):

- Tratamiento 1 (T1): Racimos en oscuridad desde bayas tamaño de arveja.
- Tratamiento 2 (T2): Racimos sin deshoje.
- Tratamiento 3 (T3): Racimos con deshoje al estado de tamaño de arveja.
- Tratamiento 4 (T4): Racimos con deshoje en envero.



Figura 1. Tratamientos de luz del ensayo Este, 42 días después de cuaja (A-D) (figura válida para el ensayo Oeste). Racimos de oscuridad (A), racimos sin deshoje (B), racimos con deshoje al estado de tamaño de arveja (C) y racimos con deshoje en envero (D).

En T1, se utilizaron bolsas protectoras (SJA-BH, China), donde la parte inferior de las bolsas protectoras quedó abierta, con el propósito de regular la temperatura de los racimos.

En el caso de T3 y T4, el deshojese realizó removiendo las hojas más cercanas a los racimos seleccionados, asegurando la exposición directa del racimo a la radiación solar.

Para el establecimiento de los tratamientos, se eligieron para cada ensayo 4 plantas homogéneas en su expresión de crecimiento, tomando como criterio a Smart y Robinson (1991) y el criterio de selección de los racimos consideró el tamaño del racimo completo, así como el número y tamaño aproximado de bayas. En cada planta se eligieron 12 racimos, los cuales fueron divididos en 4 grupos de 3. Cada grupo fue sometido a un tratamiento de luminosidad.

Muestreos

Los muestreos se realizaron durante el crecimiento y maduración de la baya, a partir del estado de tamaño de arveja hasta la cosecha. De los tres racimos que conforman cada tratamiento, se obtuvo una muestra compuesta que consta de 3 bayas recolectadas aleatoriamente, éstas fueron marcadas en el pedicelo para identificar más tarde en el laboratorio, la cara expuesta a la luz (Figura 2A), y con esto poder realizar la medición del parámetro F_v/F_m . Las bayas fueron depositadas en un vaso precipitado cubierto para evitar el paso de la luz, y con papel humedecido (sin mojar las bayas) para mantener el ambiente fresco (Figura 2B). Luego de la medición del parámetro F_v/F_m , las muestras se congelaron a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ para posteriores análisis de laboratorio.

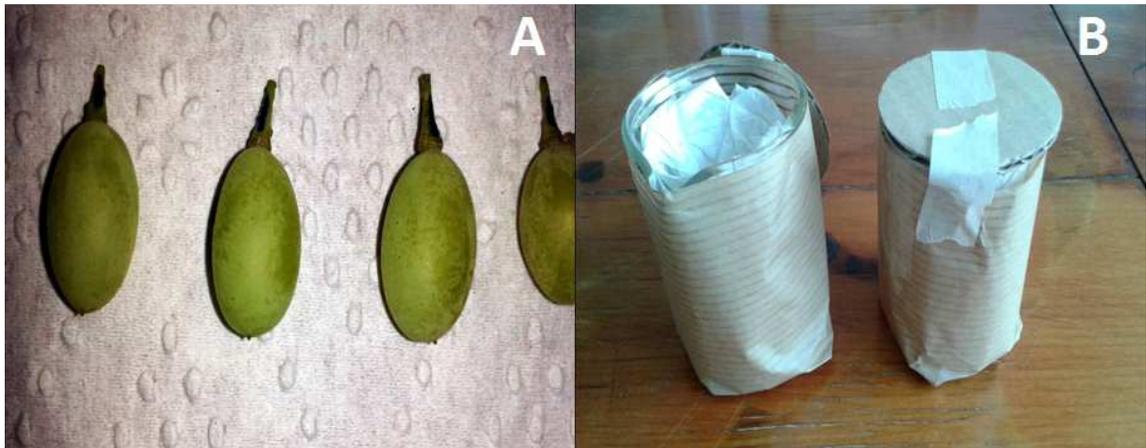


Figura 2. Bayas marcadas en el pedicelo para tener referencia de la cara expuesta a la luz en las mediciones de F_v/F_m (A). Vasos precipitados cubiertos para evitar el paso de la luz hacia las muestras (B).

Evaluaciones

Recuperación del rendimiento cuántico máximo (F_v/F_m): Las bayas antes de la medición fueron adaptadas a la oscuridad durante la noche en los vasos precipitados envueltos y humedecidos. Luego mediante un fluorómetro modulado (FMS1, Hansatech, U.K) se obtuvieron los parámetros F_0 , F_m y F_v/F_m ($F_v = F_m - F_0$). El parámetro F_0 corresponde al nivel de fluorescencia emitida por los PSII, cuando sus centros de reacción se encuentran en un estado abierto, en ausencia de saturación lumínica. El parámetro F_m corresponde al nivel de fluorescencia máximo emitido por los PSII cuando sus centros de reacción se encuentran en un estado cerrado (que se logra con un pulso de saturación de $\sim 2200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 1s) en ausencia de saturación continua (Holt *et al.*, 2005). Las mediciones se realizaron cada 15 días, una vez al día.

Quenching fotoquímico (qP) y no fotoquímico (qN): Estos parámetros fueron determinados con un fluorómetro modulado (FMS1, Hansatech, UK) cada 15 días, al 5%, 10%, 15%, 25%, 35% y 50% de la intensidad luminosa, correspondientes a 5, 15, 40, 140, 340 y $840 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivamente.

Cálculo de parámetros qP y qN:

$$qP = (Fm' - Fs) / (Fm' - Fo')$$

$$qN = 1 - (Fm' - Fo') / (Fm - Fo)$$

Fm' = emisión máxima de fluorescencia por los PSII cuando sus centros de reacción se encuentran en un estado cerrado, en presencia de saturación continua; Fs = emisión de fluorescencia durante el periodo iluminación; Fo' = emisión de fluorescencia en oscuridad, después del término del periodo de iluminación (preferentemente al tiempo de irradiación con la luz del rojo lejano) (Maxwell y Johnson, 2000).

Contenido de clorofila y carotenoides: Se extrajeron las pieles de las bayas, las cuales fueron secadas y pesadas. Las muestras se maceraron en un mortero con acetona al 80% v/v. El macerado fue llevado a un volumen de 1,5 mL con acetona 80% y centrifugado a 4028 RCF (G) por 2 minutos. Luego a una alícuota de 800µL se le determinó la absorbancia a 470, 649 y 665 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu, UV-1601, USA). Las mediciones de clorofilas se realizaron cada 15 días y de carotenoides se realizaron tres mediciones. Estas fueron en el ensayo Oeste los 16, 46 y 91 días después de ocurrido el estado de tamaño de arveja, y en el ensayo Este fueron a los 20, 50 y 95 días después de ocurrido el estado de tamaño de arveja. El contenido de clorofilas y carotenoides total es calculado de acuerdo a Lichtenthaler y Wellburn (1987):

$$\text{-Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g/mL)} = (12,25 \times A_{664}) - (2,79 \times A_{647})$$

$$\text{-Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g/mL)} = (21,5 \times A_{647}) - (5,10 \times A_{664})$$

$$\text{-Clorofila } total \text{ (}\mu\text{g/mL)} = \text{Clorofila } a + \text{Clorofila } b$$

$$\text{-Carotenoides (}\mu\text{g/mL)} = (1000A_{470} - 1,82 \text{ Clorofila } a - 85,02 \text{ clorofila } b) / 198$$

Para la determinación de violaxantina, anteraxantina, zeaxantina, luteína, y B-caroteno, se utilizó el extracto obtenido en la determinación de clorofila y carotenoides totales. Sin embargo, éste debió ser previamente filtrado a través de un filtro Whatmann 0,45 µm, para luego ser inyectado al HPLC (Waters, UV/Vis, USA).

Para la separación de los pigmentos se utilizó una columna C18 Lichrocart 250-4, Merck (4 x 250 mm, 5 µm diámetro de la partícula), usando una gradiente de dos fases móviles según lo descrito por De La Rivas, 1989:

1. Metanol – hexano (8:2, v/v).
2. Acetonitrilo – agua (9:1, v/v) con un contenido de 1,3% de trietil amina, para lograr la separación de luteína – zeaxantina.

Se efectuó un gradiente lineal en los primeros 22 min, de 0% a 32% de la fase 2, para llegar al 100% en los 6 min siguientes. Posteriormente, en los siguientes 4 min la fase 2 bajó hasta 0%, mientras que la fase 1 aumentó hasta un 100%, manteniéndose así hasta los 60 min de corrida, lavando y equilibrando la columna. El flujo fue de 1 mL min⁻¹.

La cuantificación de los pigmentos separados por el HPLC, fue realizado mediante el cálculo del porcentaje del área de un carotenoide específico (violaxantina, anteraxantina, luteína, zeaxantina o B-caroteno) con respecto al área de los carotenoides totales.

Radiación solar: La radiación fotosintéticamente activa (PAR) incidente sobre los racimos se determinó con un radiómetro (LICOR, Li – 185B, USA). El sensor se situó en posición horizontal a la altura del racimo. Esta medición se efectuó en ambas exposiciones de la espaldera a los 59 y 90DDC, a las 9:00, 11:00, 13:00, 15:00 y 17:00 horas.

Temperatura del racimo: Se determinó la temperatura de racimo con un termómetro infrarrojo (EXTECH, CHY 110, USA). Las mediciones se realizaron a los 59 y 90 DDC, cinco veces al día, a las 9:00, 11:00, 13:00, 15:00 y 17:00 horas, en ambas exposiciones de la espaldera.

Peso de bayas: Las bayas se pesaron en una balanza electrónica, luego se separó manualmente la piel de las semillas y las submuestras obtenidas de la separación fueron pesadas. Esta medición se efectuó cada 15 días.

Sólidos solubles. La concentración de sólidos solubles se obtuvo utilizando un refractómetro manual Arquimed, ajustando el cero con agua destilada (recopilado por Bordeau y Scarpa, 1998). La medición fue realizada sólo en cosecha.

Acidez total y pH: La acidez total se determinó mediante titulación con NaOH utilizando fenoftaleína como indicador y el pH se midió por potenciometría (recopilado por Bordeau y Scarpa, 1998). Ambas mediciones se realizaron en cosecha.

Diseño experimental

El diseño de cada ensayo, corresponde a bloques completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. Cada bloque equivale a una planta seleccionada, donde se eligieron 12 racimos en total, 3 racimos para cada uno de los 4 tratamientos. Los 3 racimos corresponden a la unidad experimental, de la cual se obtuvieron las muestras compuestas, que constaban de 3 bayas por cada fecha de muestreo.

Análisis estadístico

Para determinar si existen diferencias significativas, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA). Cuando se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos, los datos se sometieron a una prueba de separación de medias por el test de Tukey.

Los resultados expresados en porcentaje se sometieron a análisis de varianza, previa normalización mediante transformación de Bliss (Arcosen $[\text{Datos en } \% \sqrt{100}]^{1/2}$).

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa Minitab versión 16.

RESULTADOS

En la Figura 3 se observa la evolución de la radiación PAR incidente y temperatura de racimos de los distintos tratamientos a lo largo de un día, en ambas orientaciones, a los 59 DDC y 90 DDC, que corresponden a mediciones de pre-envero (3A, 3B, 3C y 3D) y pos-envero (3E, 3F, 3G y 3H). En el ensayo de la orientación Este, a los 59 DDC, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó los valores más altos de radiación en todas las mediciones, exhibiendo diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos, alcanzando la máxima intercepción a las 11:00 h con un valor promedio de $1470 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, para luego descender hacia el final de la tarde a $35 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Los restantes tratamientos con interferencia en la radiación PAR incidente hacia los racimos, lucieron valores relativamente constantes durante las horas de medición. A los 90 DDC se suma al tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, el tratamiento de deshoje enenvero, que fue realizado a los 73 DDC y se observa que los tratamientos deshojados tuvieron un comportamiento similar durante el día, sin diferencias significativas entre estos (Figura 3E), ambos con niveles de luminosidad significativamente superior al resto de los tratamientos hasta el medio día. El tratamiento de oscuridad en las dos fechas de medición tiene los menores niveles de radiación (Figuras 3A y 3E).

En la Figura 3C, que corresponde al ensayo de la orientación Oeste, se observa que los racimos del tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja aumentaron progresivamente la intercepción de la radiación, hasta alcanzar un máximo promedio de $1675 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a las 15:00 h, para luego descender hacia las 17:00 h. Además, dicho tratamiento presentó niveles de iluminación significativamente mayores a los restantes tratamientos, en todas las horas de medición durante el día. Los racimos del tratamiento sin deshoje y deshoje enenvero, exhibieron un aumento en la intercepción de radiación a las 13:00 h, para luego mantenerse relativamente constante hasta el final del día de medición. A

los 90 DDC se suma al tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, el tratamiento de deshoje en enero, que fue realizado a los 73 DDC y se observa que los tratamientos deshojados tuvieron un comportamiento similar durante el día, sin diferencias significativas entre estos, alcanzando un máximo de radiación a las 15:00 h; el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja de $1334 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y el de deshoje en enero de $1221 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Además, los tratamientos deshojados con respecto a los otros tratamientos, son significativamente más iluminados a lo largo del día de medición (Figura 3G). Los racimos de los tratamientos de oscuridad, a los 59 DDC y a los 90 DDC obtuvieron los menores niveles de radiación interceptada en todas las mediciones, con un promedio aproximado $0.4 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $0,6 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ respectivamente.

En la Figura 3B se observa que, independiente del nivel de luminosidad, los racimos experimentaron un aumento de la temperatura desde las 9:00 h hasta las 15:00 h, para luego disminuir hacia el final de la tarde. A las 9:00 h y 11:00 h se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, en que a la primera hora de medición el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó la mayor temperatura promedio y diferencias significativas con los tratamientos de deshoje en enero y sin deshoje. Luego a las 11:00 h, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja vuelve a exhibir la mayor temperatura promedio y junto al tratamiento de oscuridad presentaron temperaturas significativamente mayores que los tratamientos sin deshoje y con deshoje en enero. A las 15:00 h se registró la máxima temperatura de racimos, momento en el cual los racimos del tratamiento de oscuridad mostraron la mayor temperatura promedio con $29 \text{ }^\circ\text{C}$. A los 90 DDC, los tratamientos deshojados en el ensayo de la orientación Este alcanzaron la máxima temperatura promedio a las 11:00 h, y los tratamientos de oscuridad y sin deshoje, lo hicieron a las 13:00 y 15:00 h respectivamente (Figura 3F). A las 9:00 h el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, presentó temperaturas significativamente mayores con respecto al tratamiento sin deshoje, mientras que a las 11:00 h, los racimos de los tratamientos de deshoje al estado de tamaño de arveja y deshoje en pinta, presentaron temperaturas significativamente superiores a los racimos del tratamiento sin deshoje, los

que obtuvieron las menores temperaturas durante el día de medición con 19, 24,6, 26,5, 27,1 y 26 °C, correspondiente a las horas de medición desde 9:00 hasta 17:00 h (Figura 3F). En el ensayo de la orientación Oeste, a los 59 DDC (Figura 3D) los racimos de los distintos tratamientos experimentaron un aumento progresivo de la temperatura, desde la primera hora de medición hasta las 15:00 h, instante en que, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja exhibió la mayor temperatura promedio de 31 °C, seguido por los racimos en oscuridad con 29,8 °C, y finalmente los racimos del tratamiento sin deshoje con 27,5 °C y los racimos del tratamiento de deshoje en enero con 27,3 °C. Los racimos de los tratamientos de deshoje al estado de tamaño de arveja y oscuridad, mantuvieron las mayores temperaturas promedios desde las 13:00 h hasta el final del día de medición. En la Figura 3H, se observa un comportamiento similar a la fecha anterior, en donde aumentaron progresivamente las temperaturas de racimos, desde las 9:00 h hasta las 15:00 h, momento en que se registró la máxima temperatura de racimos en el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, con 30 °C y diferencias significativas con el tratamiento sin deshoje. A las 13:00 h, los racimos del tratamiento de deshoje en enero alcanzaron la temperatura promedio de 28 °C, siendo esta la mayor temperatura, significativamente superior al tratamiento sin deshoje. Los racimos del tratamiento sin deshoje, presentaron bajas temperaturas en todas las mediciones con un promedio aproximado de 24,5 °C.

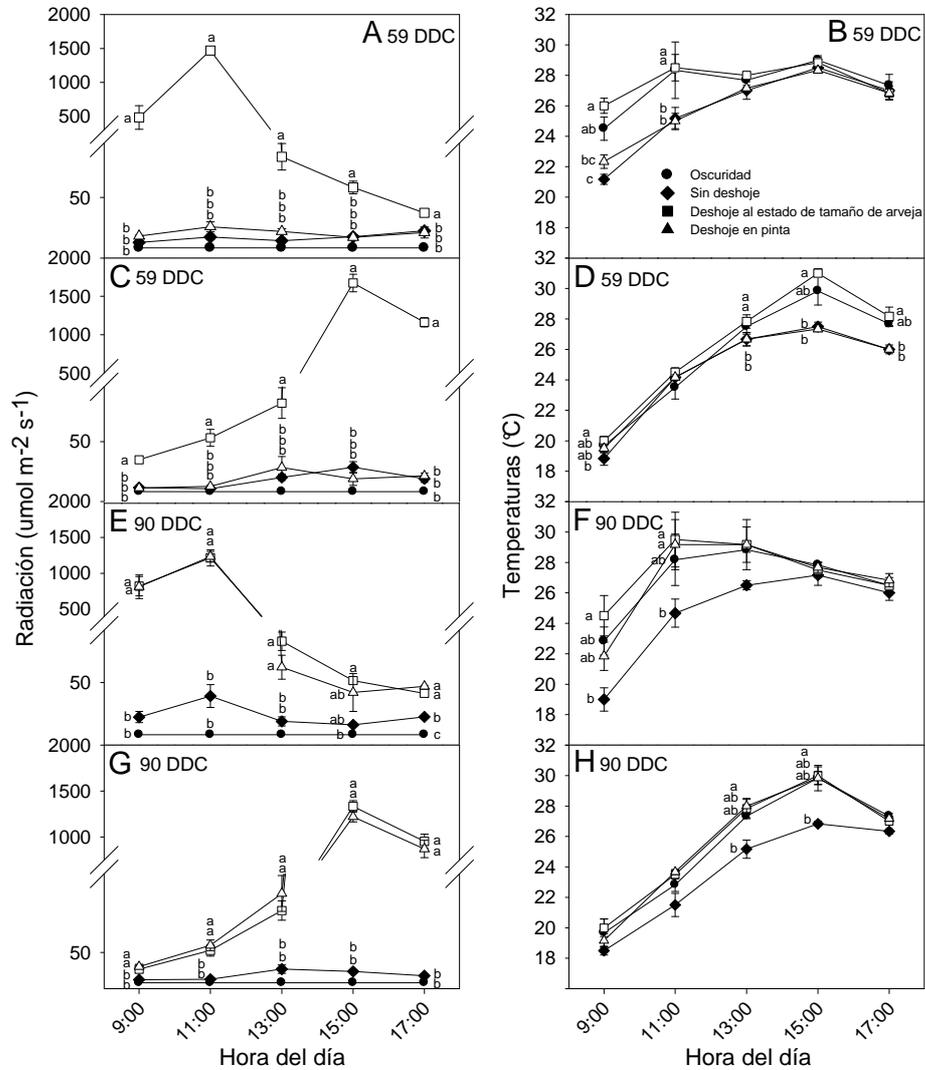


Figura 3. Evolución de la radiación incidente y la temperatura de los racimos, en los ensayos de la orientación Este y Oeste. Ensayo de la orientación Este, (A) radiación PAR medida 59 días después de cuaja (DDC), (B) temperatura medida 59 DDC, (E) radiación PAR medida 90 DDC, (F) temperatura medida 90 DDC. Ensayo de la orientación Oeste, (C) radiación PAR medida 59 DDC, (D) temperatura medida 59 DDC, (G) radiación PAR medida 90 DDC, (H) temperatura medida 90 DDC. Para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en envero (△). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos a una misma hora ($p < 0,05$). Barras verticales corresponden al error estándar (ES).

En la Figura 4A se observa que, todos los tratamientos aumentaron el peso fresco promedio de las bayas hasta los 97 DDC y luego, a partir de esta fecha, los tratamientos sin deshoje y oscuridad siguen aumentando, mientras que los tratamientos de deshoje en envero y al estado de tamaño de arveja los mantienen relativamente constante hasta los 127 DDC. A los 67 DDC el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja alcanzó el mayor peso promedio, de 3,4 g, con respecto a los tratamientos de deshoje en envero y oscuridad. A los 127 DDC las bayas de los tratamientos de oscuridad y sin deshoje, presentaron los mayores pesos promedios respecto de los tratamientos deshojados. Los pesos promedios de las bayas del ensayo de la orientación Oeste (Figura 4B), al igual que el ensayo de la orientación Este, se incrementaron progresivamente hasta la penúltima fecha de medición, a excepción del tratamiento de deshoje en envero, que disminuyó ostensiblemente una vez realizado el deshoje, para luego retomar el incremento al igual que los otros tratamientos. En Pos envero, a los 78 DDC, el tratamiento de oscuridad exhibió el mayor peso promedio con 3,9 g, luego a los 108 y 123 DDC, se observó un descenso en el aumento del peso de las bayas de los tratamientos deshojados, con un peso promedio de estos tratamientos de 4,46 g, contra los 5,86 g correspondientes a los pesos promedios de las dos últimas fechas de los tratamientos con interferencia lumínica (tratamientos sin deshoje y oscuridad total).

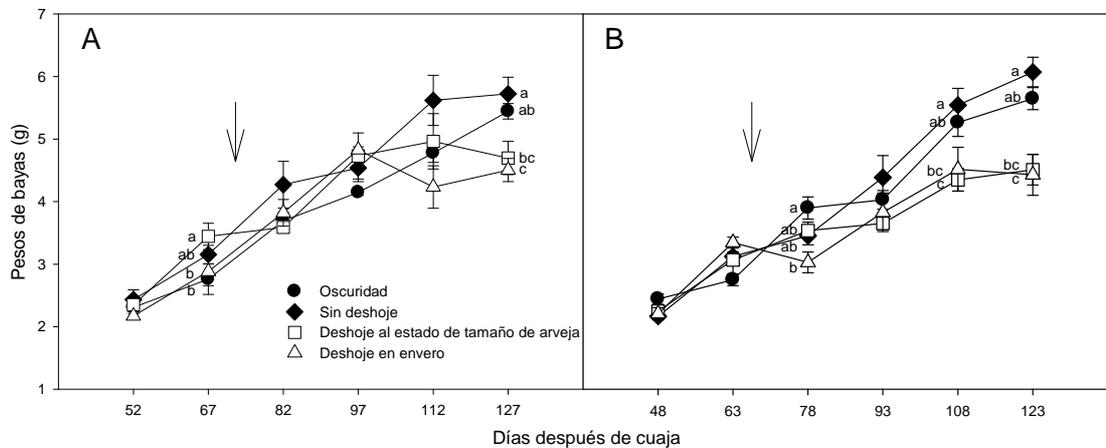


Figura 4. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución del peso de bayas durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Este (A) y Oeste (B), para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Se indica la fecha aproximada en que se implementó el tratamiento de deshoje en enero (↓). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

En relación al peso promedio de pieles (Figura 5A), se observó en los cuatro tratamientos una evolución sostenida desde los 67 DDC hasta los 127 DDC, con un fuerte incremento desde los 82 DDC y hasta los 112 DDC, manteniéndose la magnitud de este parámetro hasta el final de la temporada. El tratamiento de oscuridad presentó los menores pesos promedios de pieles, equivalentes a 0,25 g, 0,25 g, 0,29 g, 0,31 g, 0,49 g y 0,55 g, en cada una de las fechas de muestreo durante la temporada, pero exhibió diferencias significativas sólo a los 52 y 97 DDC con los tratamientos de deshoje al estado de tamaño de arveja y deshoje en enero respectivamente. Los cuatro tratamientos del ensayo de la orientación Oeste, a los 93 DDC hasta los 108 DDC aumentaron fuertemente el peso promedio de pieles, para mantenerse relativamente constantes hacia el final de temporada. Al comparar entre los tratamientos, sólo a los 63 DDC se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos de deshoje en enero y oscuridad, presentando este último el menor peso promedio de pieles con 0,25 g.

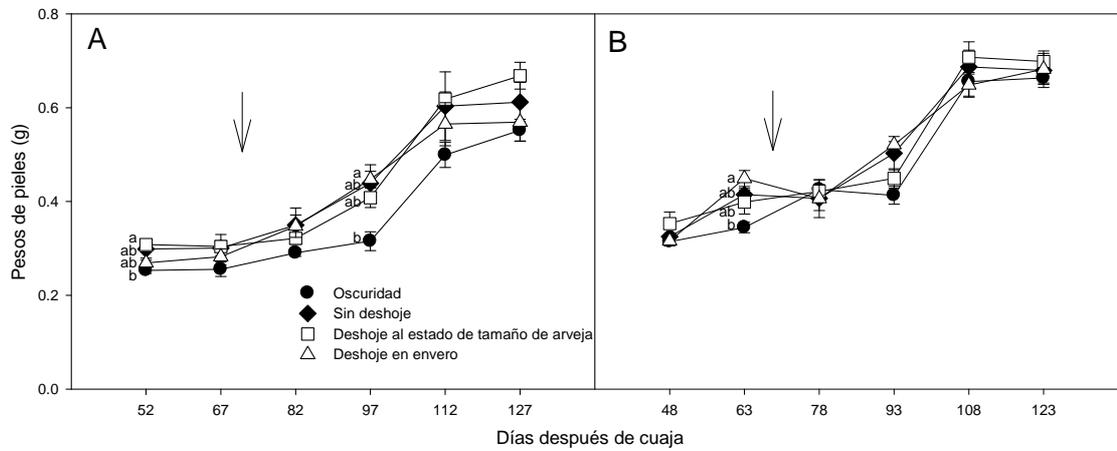


Figura 5. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución del peso de pieles durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Este (A) y Oeste (B), para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Se indica la fecha aproximada en que se implementó el tratamiento de deshoje en enero (↓). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

En general, en el ensayo de la orientación Este, desde los 52 DDC hasta los 97 DDC, aumentó la superficie promedio de los distintos tratamientos, para luego mantenerse relativamente constante hasta el final de la temporada (Figura 6A). A los 97 DDC se observaron diferencias significativas entre los tratamientos sin deshoje y deshoje en enero, en que este último presentó la mayor superficie promedio de pieles con $14,3 \text{ cm}^2$ (Figura 6A). En el ensayo de la orientación Oeste (Figura 6B), se observa una evolución de la superficie promedio de pieles durante la temporada, en donde los tratamientos con interferencia lumínica comienzan a evidenciar la mayor superficie promedio desde los 93 DDC, pero se manifestaron diferencias significativas a los 108 DDC y 123 DDC, momentos en que el tratamiento sin deshoje exhibió las mayores superficies promedios de pieles con $14,56 \text{ cm}^2$ y $15,51 \text{ cm}^2$ respectivamente. En el otro extremo de los valores de superficie promedios de pieles, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, desde los 93 DDC lució las menores superficies promedios de pieles hasta la última fecha de medición, con un área promedio de pieles de estas tres fechas de $12,1 \text{ cm}^2$.

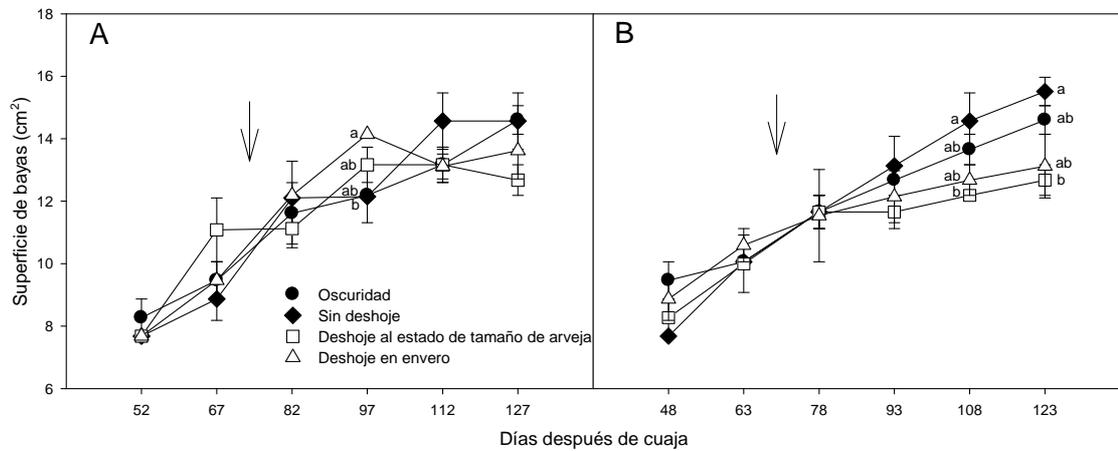


Figura 6. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución de la superficie de pieles durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Este (A) y Oeste (B), para los tratamientos de racimos de oscuridad(●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Se indica la fecha aproximada en que se implementó el tratamiento de deshoje en enero (↓). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

En relación al parámetro Fv/Fm del ensayo Este, las bayas de los tratamientos de oscuridad y sin deshoje mantienen valores relativamente altos y constantes en el tiempo (Figura 7A), con promedios durante la temporada para ambos tratamientos de 0,84. Los tratamientos de deshojes al estado de tamaño de arveja y en enero, presentaron en pospinta una baja considerable en los valores de Fv/Fm hasta la cosecha. El tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, desde los 67 DDC comienza a disminuir su valor, acentuándose en pospinta, con un aumento transitorio de su promedio a los 97 DDC, para luego volver a disminuir hacia el final de la temporada. El tratamiento de deshoje en enero muestra, desde ese momento, los valores más bajos de los cuatro tratamientos, oscilando entre 0,79 y 0,38. Además, presentó diferencias significativas con respecto a los tratamientos de oscuridad y sin deshoje hasta la cosecha. Los tratamientos del ensayo de la orientación Oeste, presentaron similar comportamiento que los tratamientos del ensayo de la orientación Este, donde el Fv/Fm de los tratamientos de oscuridad y sin deshoje, se mantienen relativamente constantes durante la temporada, con valores promedios para

ambos tratamientos de 0,83 (Figura 7B). El tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó, en posenvero, una disminución en los valores de Fv/Fm hasta la cosecha. Además, se observaron diferencias significativas a los 108 DDC con respecto a los tratamientos de oscuridad y sin deshoje, y presentó en esta fecha valores similares al tratamiento de deshoje en enero. Luego a los 123 DDC, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja exhibió una recuperación de Fv/Fm, mostrando diferencias significativas con los tratamientos con interferencia lumínica y deshoje en enero. El tratamiento de deshoje en enero, presentó, desde pospinta, los valores más bajos durante la temporada para los cuatro tratamientos, con valores que oscilaron entre 0,37 y 0,29 (Figura 7B).

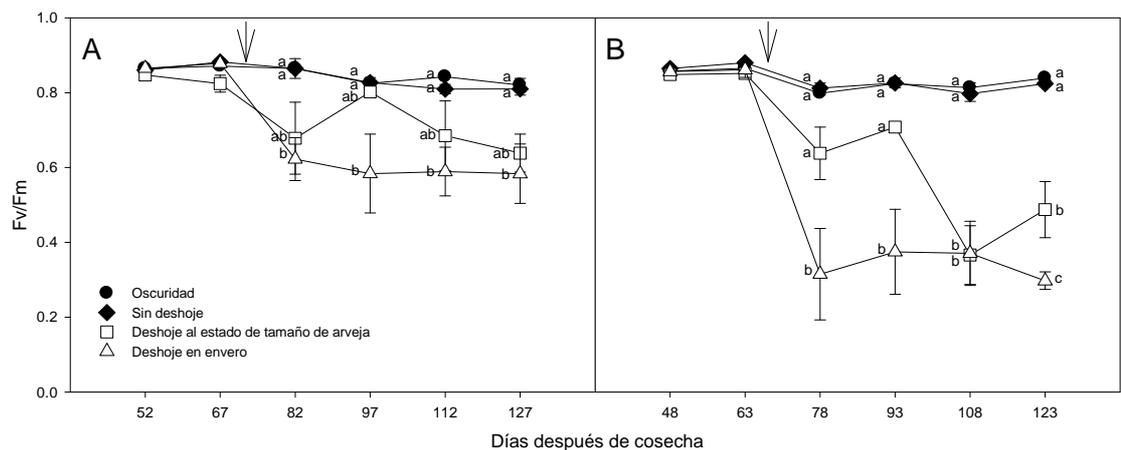


Figura 7. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución de Fv/Fm durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Este (A) y Oeste (B), para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Se indica la fecha aproximada en que se implementó el tratamiento de deshoje en enero (↓). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

En las figuras 8 y 9, se observan las evoluciones de los parámetros qP y qN en intensidades crecientes de luz. En el ensayo de la orientación Este, a los 52 DDC, 67 DDC y 82 DDC, el parámetro qP de los tratamientos disminuyó a medida que aumenta la intensidad luminosa, presentando el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja la mayor proporción de

centros PSII en estado abierto y con diferencias significativas que aparecen mayoritariamente con el aumento de la intensidad lumínica. A su vez, en las mismas fechas, incrementan los niveles de qN de los distintos tratamientos a medida que aumenta la intensidad lumínica. En la primera fecha, se observó que el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó el mayor qP, exhibiendo diferencias significativas en la fracción de menor intensidad con el tratamiento de oscuridad y en la fracción de mayor intensidad con los restantes tratamientos. El qP, en la segunda y tercera fecha, es en la fracción de mayor intensidad luminosa, en donde se resaltan las diferencias entre los tratamientos. En relación al qN, en los 82 DDC, los tratamientos deshojados, a menor intensidad luminosa acentúan la liberación de energía en forma de calor, y luego los qN de los distintos tratamientos se mantienen relativamente constantes. A los 97 DDC, 112 DDC y 127 DDC, los tratamientos deshojados aumentan su qP, manteniéndose relativamente constantes a las distintas intensidades lumínicas, acentuándose en los 112 DDC y 127 DDC con un promedio 0,75 y 0,62 respectivamente, en la última fecha se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos deshojados y con interferencia lumínica. En relación a los niveles de qN, a los 97 DDC los tratamientos deshojados a la menor intensidad luminosa acentúan la disipación de energía en forma de calor, y el tratamiento de deshoje en enero presentó diferencias significativamente mayor que los tratamientos de oscuridad. A las siguientes fechas, los tratamientos incrementan los valores qN a medida que aumenta la intensidad lumínica.

En el ensayo de la orientación Oeste, a los 48 DDC, 63 DDC y 78 DDC, el parámetro qP de los tratamientos disminuyó a medida que aumenta la intensidad luminosa, presentando el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja la mayor proporción de centros PSII en estado abierto. En estas tres fechas, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó el mayor nivel de qP, sólo a los 63 DDC desde los $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad luminosa, se encuentran diferencias significativas con los restantes tratamientos. Los niveles de qN de las fechas mencionadas anteriormente, incrementan a medida que aumenta la intensidad lumínica (Figura 9). A los 63 DDC y 78 DDC se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. A los 63 DDC, a los $140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de

intensidad lumínica, los tratamientos de oscuridad, sin deshoje y deshoje en enero, presentaron mayor nivel de qN con respecto al tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja. Este último tratamiento, a la mayor intensidad lumínica que fueron expuestas las bayas, presentó los mayores niveles de disipación de energía en forma de calor, en comparación con los tratamientos sin deshoje y de oscuridad. A los 78 DDC, en la primera y última medición de la intensidad lumínica, los tratamientos presentaron diferencias significativas. Los tratamientos deshojados, a los $5 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $16 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de la intensidad lumínica, presentan mayor nivel de qN con respecto a los tratamientos con interferencia lumínica. A los $840 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó la mayor disipación de energía en forma de calor, con respecto al tratamiento sin deshoje. Los niveles de qP de los tratamientos deshojados a los 93 DDC y 108 DDC, se mantuvieron relativamente constantes a las distintas intensidades lumínicas, con un promedio 0,61 y 0,59 respectivamente. A los 93 DDC, a la intensidad lumínica de $140 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $840 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, se observa con claridad que los tratamientos deshojas presentan diferencias significativas con los tratamientos con interferencia lumínica. El tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, a los 108 y 123 DDC presentó en las tres últimas intensidades diferencias significativas con los tratamientos con interferencia lumínica. Los qN a los 93 DDC, 108 DDC y 123 DDC, incrementan a medida que aumenta la intensidad lumínica. En los 108 DDC y 123 DDC se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos. A los 108 DDC, en todas las intensidades de luz, el tratamiento sin deshoje presentó diferencias significativas con respecto al tratamiento deshoje al estado de tamaño de arveja, y desde los $15 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica el tratamiento sin deshoje conservó el mayor qN. A los 123 DDC, el tratamiento sin deshoje desde los $15 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica, presentó la mayor disipación de energía en forma de calor, pero a las intensidades lumínicas de $40 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $140 \text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, exhibió diferencias significativas con el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja.

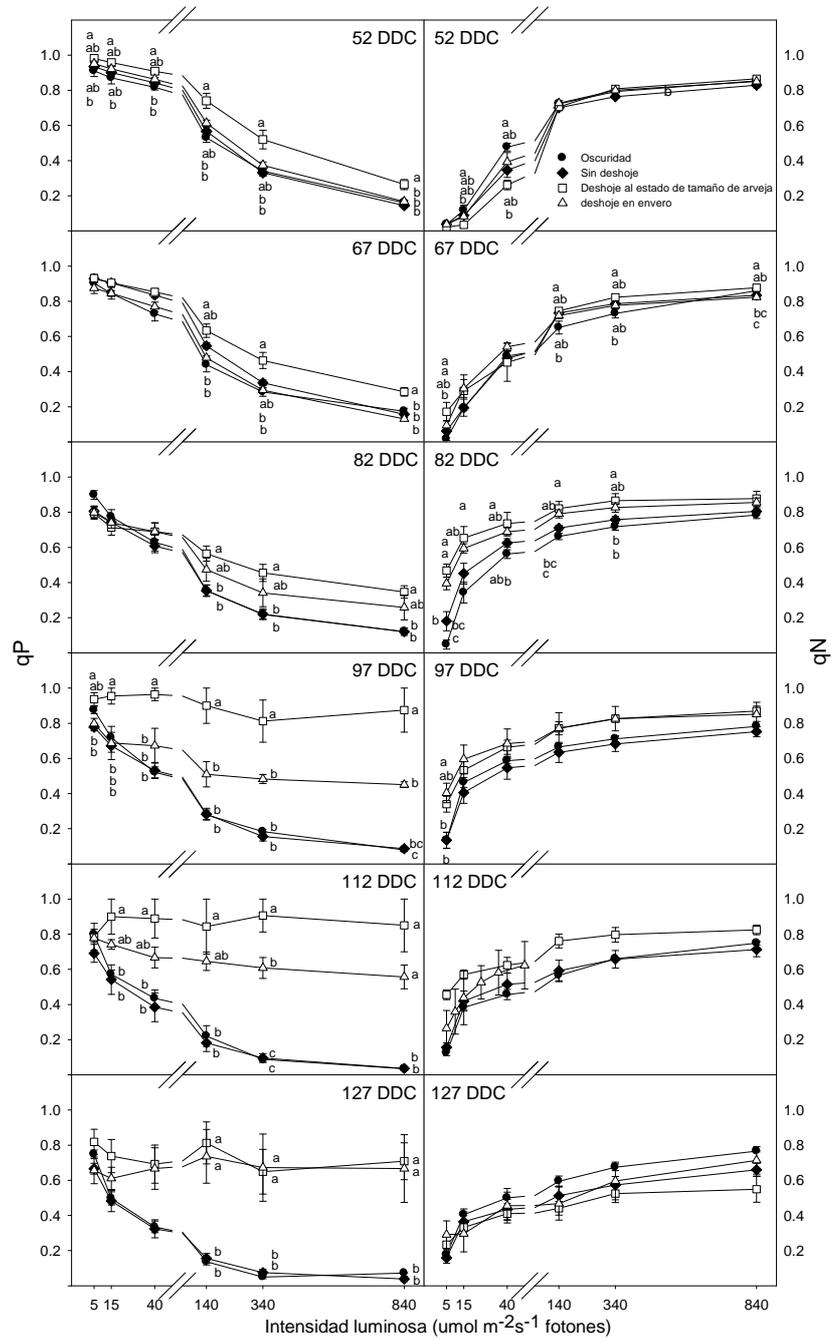


Figura 8. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución de qP y qN a intensidades crecientes, durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Este, para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

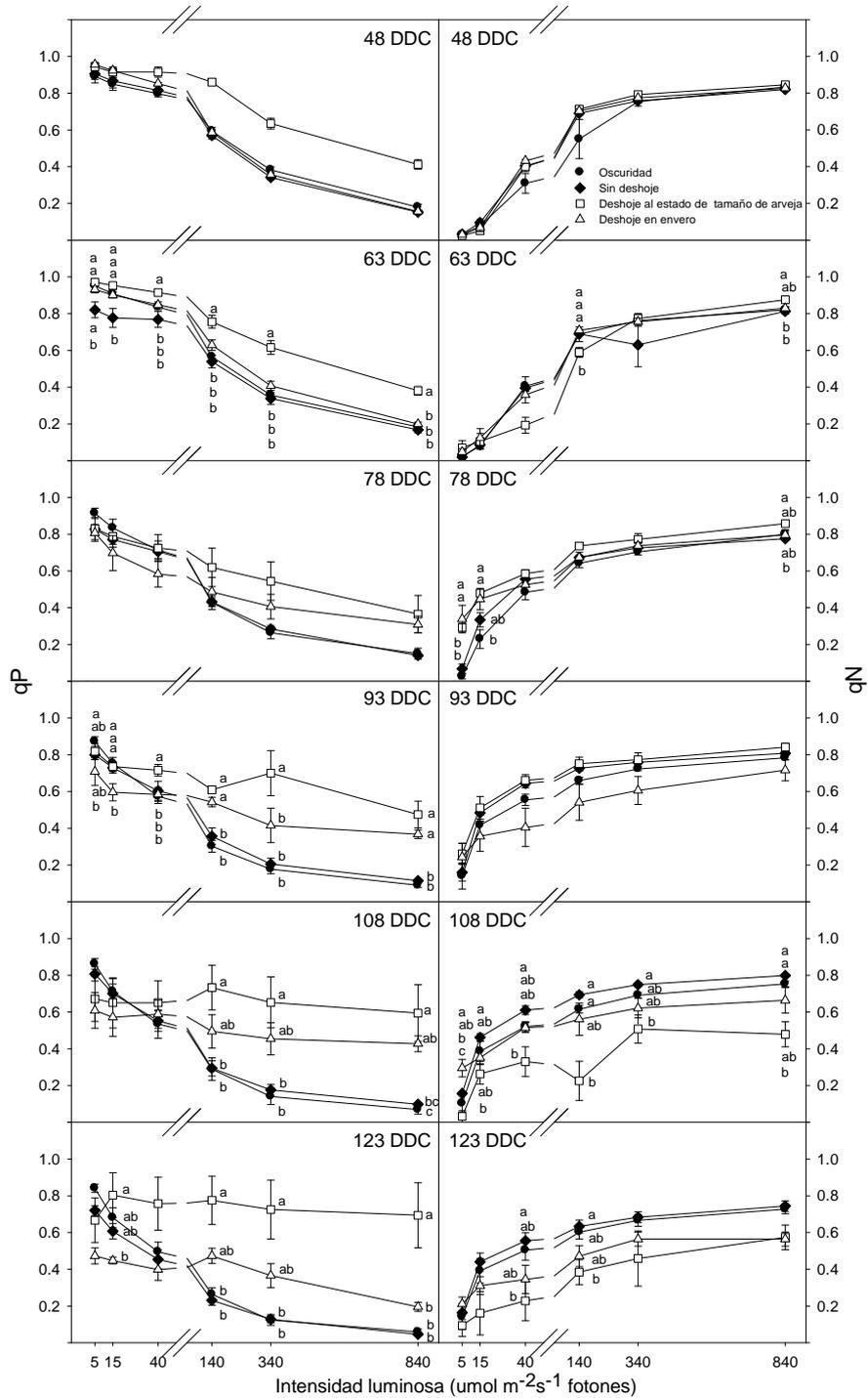


Figura 9. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución de qP y qN a intensidades crecientes, durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Oeste, para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

En cuanto al contenido promedio de clorofilas totales en las pieles de las bayas del ensayo de la orientación Este (Figura 10A), a los 52 DDC los distintos tratamientos presentaron cerca del máximo contenido de pigmentos en las bayas. Luego, 15 días más tarde, a los 67 DDC, el tratamiento de oscuridad disminuye fuertemente la concentración promedio de clorofilas, alcanzando niveles significativamente menores en esta fecha, que el deshoje en enero y sin deshoje (Figura 10A). Desde los 67 DDC hasta los 82 DDC, el contenido de clorofilas totales disminuye fuertemente en los cuatro tratamientos, para luego continuar la disminución, pero menos fuerte hasta la cosecha. Con respecto al contenido promedio de clorofilas totales del ensayo de la orientación Oeste (Figura 10B), a los 48 DDC se alcanzó el máximo contenido en las bayas de los tratamientos de deshoje al estado de tamaño de arveja, con $1,64 \mu\text{g cm}^{-2}$, momento que presentaron diferencias significativas con el tratamiento de oscuridad. En esta misma fecha de medición, las bayas de los tratamientos sin deshoje también obtuvieron su máximo contenido promedio de clorofilas totales, con $1,60 \mu\text{g cm}^{-2}$. Desde posenero hasta los 123 DDC, todos los tratamientos redujeron el contenido promedio de clorofilas totales.

Como se observa en la Figura 10C, el contenido de clorofilas *a* en las pieles de las bayas, desde los 52 DDC, disminuyeron progresivamente hasta el fin de la temporada, con excepción de las bayas de los tratamientos sin deshoje y deshoje en enero, en que aumentaron su valor promedio a los 67 DDC. Al comparar entre tratamientos a los 67 DDC, se observó que los tratamientos sin deshoje y deshoje en enero presentaron niveles significativamente mayor de este pigmento con respecto al tratamiento de oscuridad. En el ensayo de la orientación Oeste (Figura 10D), todos los tratamientos, disminuyeron el contenido de clorofilas *a* durante la temporada de medición. Eso sí, el tratamiento de oscuridad alcanzó la menor concentración de este pigmento desde la primera fecha hasta los 78 DDC (Figura 10D), similar a lo observado con las clorofilas totales.

En el ensayo de la orientación Este, el contenido del pigmento de clorofila *b* en las pieles disminuye en todos los tratamientos (Figura 10E), desde los 67 DDC hasta los 97 DDC, para posteriormente mantenerse constante hasta la cosecha, con valores entre $0,05 \mu\text{g cm}^{-2}$ y

0,23 $\mu\text{g cm}^{-2}$. Se encontraron diferencias significativas en la concentración de dicho pigmento a los 67 DDC, en que, los tratamientos sin deshoje y deshoje en enero alcanzaron contenidos de clorofila *b* significativamente mayor al resto de los tratamientos. En el ensayo de la orientación Oeste, el contenido de clorofilas *b* (Figura 10F) no evidenció diferencias significativas entre los tratamientos para ninguna de las fechas evaluadas. Se observó que, desde posenero, los cuatro tratamientos disminuyen considerablemente el contenido de clorofilas *b* hasta los 108 DDC. En la última fecha los tratamientos con deshoje al estado de tamaño de arveja y deshoje en enero aumentaron su contenido de clorofilas *b*, pero no lograron tener diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos.

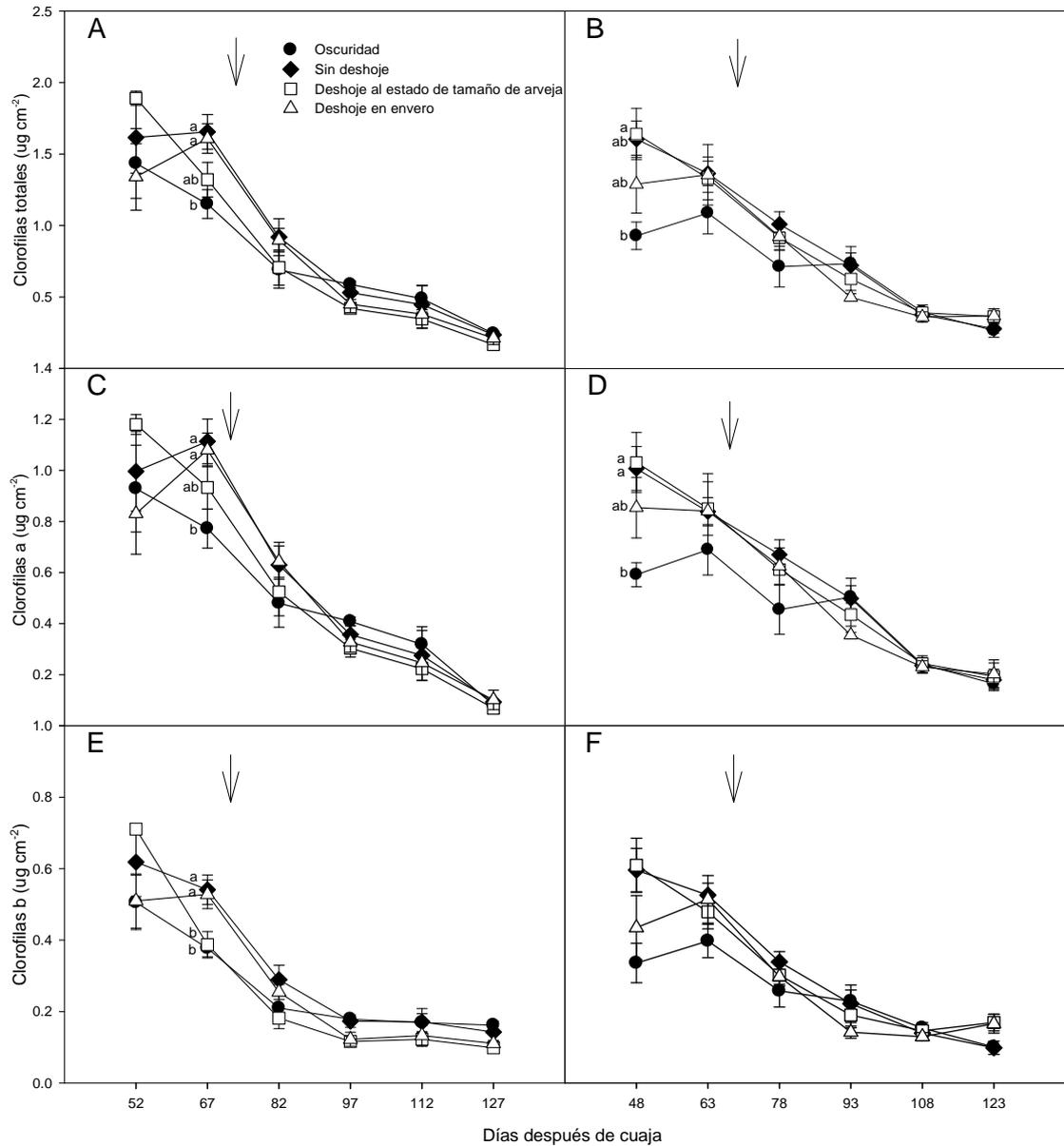


Figura 10. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución del contenido de clorofilas totales, *a* y *b*, durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Este (A, C y E) y Oeste (B, D y F), para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Se indica la fecha aproximada en que se implementó el tratamiento de deshoje en enero (↓). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

En el lado Este de la espaldera, los tratamientos de oscuridad, sin deshoje y deshoje al estado de tamaño de arveja, presentaron un aumento continuo de carotenoides totales durante la temporada, no así el tratamiento de deshoje en enero. Eso sí, luego de los 82 DDC, este tratamiento aumenta el contenido de carotenoides hacia el final de la temporada (Figura 11A). Se encontraron diferencias significativas en el contenido de carotenoides totales en pieles a los 52 DDC y 127 DDC. A los 52 DDC, las bayas del tratamiento de deshoje en enero exhibieron el mayor contenido de carotenoides, con un valor promedio de $0,05 \mu\text{g cm}^{-2}$. A los 127 DDC, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó el mayor valor promedio, con $0,11 \mu\text{g cm}^{-2}$ y diferencias significativas con el tratamiento sin deshoje. En el ensayo de la orientación Oeste (Figura 11B), se observa una evolución sostenida de los cuatro tratamientos durante el largo de la temporada, donde los tratamientos deshojados desde los 78 DDC hasta la fecha de término, exhibieron el mayor contenido de carotenoides totales. Se observaron diferencias significativas en la primera y la última fecha, a los 48 DDC el tratamiento de deshoje en enero presentó el mayor valor promedio, con $0,02 \mu\text{g cm}^{-2}$ y diferencias significativas con los restantes tratamientos. A los 123 DDC, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja alcanzó el máximo contenido promedio de carotenoides totales, con $0,14 \mu\text{g cm}^{-2}$ y diferencias significativamente mayor a los tratamientos sin deshoje y oscuridad.

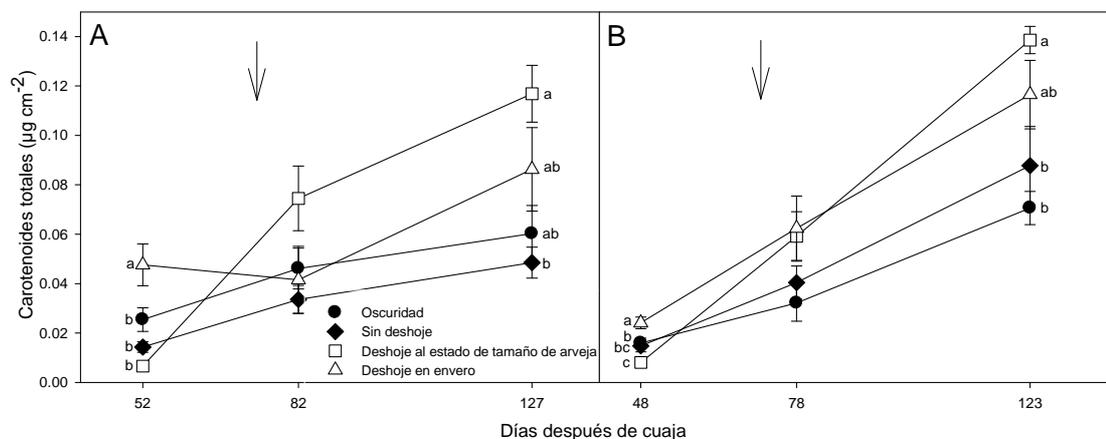


Figura 11. Efecto de la exposición de los racimos sobre la evolución del contenido de carotenoides totales durante la temporada 2009-2010, en los ensayos de la orientación Este (A) y Oeste (B), para los tratamientos de racimos de oscuridad (●), sin deshoje (◆), deshoje al estado de tamaño de arveja (□) y deshoje en enero (△). Se indica la fecha aproximada en que se implementó el tratamiento de deshoje en enero (↓). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para cada fecha ($p < 0.05$). Barras verticales indican ES.

A los 52 DDC, 82 DDC y 127 DDC (Cuadro 1), se observó que entre los distintos carotenoides, la Luteína se encontró en mayor porcentaje, alcanzando un mínimo de 56,7% y un máximo de 87,6%. A los 82 DDC, el tratamiento sin deshoje presentó diferencias significativamente mayor de este carotenoide que los demás tratamientos. Los carotenoides del ciclo de las xantofilas, violaxantina y zeaxantina exhibieron en algunas fechas un comportamiento inverso, en donde los tratamientos deshojados presentaron a los 82 DDC y 127 DDC los mayores porcentajes de zeaxantina, y los tratamientos con interferencia lumínica en las fechas 52 DDC y 127 DDC mostraron los mayores porcentajes de violaxantina. La violaxantina a los 82 DDC, los tratamientos sin deshoje y deshoje en enero presentaron el mayor contenido y diferencias significativas con respecto a los tratamientos de oscuridad y deshoje al estado de tamaño de arveja. A los 127 DDC, el tratamiento sin deshoje presentó el mayor contenido de violaxantina y diferencias significativas con los tratamientos deshojados. El carotenoide Zeaxantina, a los 52 DDC el tratamiento de deshoje en enero exhibió mayor contenido. En los 82 DDC y 127 DDC la

Zeaxantina sólo se presentó en los tratamientos de luminosidad. En relación al intermediario anteraxantina, se puede decir que, en general, las tres fechas exhibieron diferencias significativas entre los tratamientos, pero estos sin una tendencia clara en el contenido de anteraxantina.

En el ensayo de la orientación Oeste (Cuadro 2), se observó tendencias similares al ensayo de la espaldera Este. En que el carotenoide Luteína, en las tres fechas y entre los distintos carotenoides, presentó el mayor porcentaje, alcanzando un mínimo de 56,8% y un máximo de 85,7%. En este carotenoide, se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos deshojados e interferencia lumínica a los 78 DDC y 123 DDC. Los carotenoides del ciclo de las xantofilas, violaxantina y zeaxantina exhibieron en algunas fechas un comportamiento inverso. En donde los tratamientos de deshoje al estado de tamaño de arveja y envero, presentaron en las tres fechas los mayores porcentajes de zeaxantina, y en las dos últimas fechas diferencias significativas con respecto a los tratamientos con interferencia lumínica. Los tratamientos con interferencia lumínica, en las fechas 48 DDC y 123 DDC presentaron los mayores porcentajes de violaxantina. En relación al intermediario anteraxantina, en la primera fecha el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó el menor porcentaje, no así en las siguientes fechas exhibiendo el mayor porcentaje. El B-caroteno presentó diferencias significativas a los 123 DDC, en donde el tratamiento deshoje en envero exhibió el mayor porcentaje.

Cuadro 1. Proporción (%) de carotenoides del ensayo de la orientación Este, Violaxantina, Anteraxantina, Zeaxantina, B-caroteno y Luteina, por tratamiento en la fecha 52, 82 y 127 DDC. Cada valor corresponde al promedio \pm el error estándar.

Carotenoides	52 DDC	82 DDC	127 DDC
Violaxantina			
Oscuridad	17,7 \pm 0,18	5,3 \pm 0,53 b	7,9 \pm 0,43 ab
Sin deshoje	14,0 \pm 1,98	8,2 \pm 0,23 a	9,5 \pm 0,10 a
Deshoje al estado de tamaño de arveja	9,8 \pm 1,96	6,2 \pm 0,04 b	6,2 \pm 0,68 b
Deshoje en enero	13,0 \pm 4,98	8,8 \pm 0,40 a	5,8 \pm 0,30 b
Anteraxantina			
Oscuridad	9,5 \pm 0,29 a	4,6 \pm 0,98 ab	4,1 \pm 0,33a
Sin deshoje	4,9 \pm 0,68 b	2,0 \pm 0,36 c	1,7 \pm 0,11 b
Deshoje al estado de tamaño de arveja	1,1 \pm 0,07 c	7,7 \pm 0,14 a	5,3 \pm 0,72 a
Deshoje en enero	4,1 \pm 0,95 b	4,0 \pm 0,16 bc	4,7 \pm 0,09 a
Zeaxantina			
Oscuridad	0,8 \pm 0,00c	0 b	0 b
Sin deshoje	2,3 \pm 0,01b	0 b	0 b
Deshoje al estado de tamaño de arveja	3,3 \pm 0,02b	21,6 \pm 2,58 a	27,6 \pm 1,72a
Deshoje en enero	5,8 \pm 0,07a	24,2 \pm 0,90a	27,1 \pm 1,93 a
B-caroteno			
Oscuridad	4,2 \pm 0,53	27,4 \pm 4,00 a	1,5 \pm 0,25
Sin deshoje	5,6 \pm 1,16	12,3 \pm 3,89 b	1,3 \pm 0,29
Deshoje al estado de tamaño de arveja	8,3 \pm 5,01	3,9 \pm 0,18 bc	4,3 \pm 2,79
Deshoje en enero	3,0 \pm 1,95	2,2 \pm 0,40 c	4,0 \pm 0,78
Luteina			
Oscuridad	67,8 \pm 1,18	62,7 \pm 3,12 b	86,4 \pm 0,73a
	73,1 \pm 1,86	77,5 \pm 3,73 a	87,6 \pm 0,30 a
Deshoje al estado de tamaño de arveja	77,6 \pm 3,85	60,6 \pm 1,78 b	56,7 \pm 3,38 b
Deshoje en enero	74,1 \pm 0,10	60,7 \pm 1,11 b	58,3 \pm 2,30 b

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Proporción (%) de carotenoides del ensayo de la orientación Oeste, Violaxantina, Anteraxantina, Zeaxantina, B-caroteno y Luteina, por tratamiento en la fecha 48, 78 y 123 DDC. Cada valor corresponde al promedio \pm el error estándar.

Carotenoides	48 DDC	78 DDC	123 DDC
Violaxantina			
Oscuridad	17,0 \pm 0,48 a	13,8 \pm 0,73 a	10,5 \pm 0,46 ab
Sin deshoje	15,3 \pm 0,18 ab	11,1 \pm 0,54 ab	13,4 \pm 1,84 a
Deshoje al estado de tamaño de arveja	11,2 \pm 0,67 ab	7,6 \pm 0,66 b	8,6 \pm 1,04 ab
Deshoje en enero	10,2 \pm 2,81 b	11,6 \pm 0,87 a	8,3 \pm 0,72 b
Anteraxantina			
Oscuridad	6,9 \pm 1,69 a	2,7 \pm 0,26 b	2,7 \pm 0,78 bc
Sin deshoje	4,2 \pm 0,42 ab	2,4 \pm 0,05 b	2,2 \pm 0,45 c
Deshoje al estado de tamaño de arveja	2,3 \pm 0,12 b	4,3 \pm 0,55 a	6,3 \pm 0,89 a
Deshoje en enero	4,4 \pm 0,23 ab	3,5 \pm 0,26 b	6,0 \pm 0,46 ab
Zeaxantina			
Oscuridad	0	1,16 \pm 0,04 d	0
Sin deshoje	0	6,40 \pm 0,61 c	0
Deshoje al estado de tamaño de arveja	0,3 \pm 0,04 b	20,30 \pm 2,09 a	27,2 \pm 1,72 a
Deshoje en enero	3,3 \pm 0,69 a	15,00 \pm 1,55b	23,4 \pm 1,35 b
B-caroteno			
Oscuridad	7,4 \pm 0,97	5,9 \pm 0,85	1,1 \pm 0,15 ab
Sin deshoje	8,6 \pm 0,18	3,2 \pm 1,57	0,7 \pm 0,07 b
Deshoje al estado de tamaño de arveja	6,0 \pm 0,58	2,8 \pm 1,36	1,0 \pm 0,37 ab
Deshoje en enero	7,6 \pm 2,38	2,3 \pm 1,25	3,1 \pm 0,73 a
Luteina			
Oscuridad	68,8 \pm 1,93 b	76,0 \pm 2,12 a	85,7 \pm 0,75 a
Sin deshoje	71,8 \pm 0,50 ab	76,9 \pm 2,09 a	83,6 \pm 2,21 a
Deshoje al estado de tamaño de arveja	80,3 \pm 0,90 a	64,9 \pm 2,06 b	56,8 \pm 2,87 b
Deshoje en enero	74,7 \pm 3,15 ab	67,9 \pm 2,56 b	59,2 \pm 0,70 b

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En los ensayos de la orientación Este y Oeste, los parámetros sólidos solubles, pH y acidez total, se determinaron sólo en la fecha de cosecha (Cuadro 3). En el ensayo de la orientación Este, los sólidos solubles de las bayas de los tratamientos deshojados, presentaron diferencias significativamente mayor que las bayas de los tratamientos con interferencia lumínica. En el caso del pH no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, y exhibieron un promedio entre todos los tratamientos de aproximadamente 3,5. En cuanto la acidez total, se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, en donde las bayas de los tratamientos con interferencia lumínica presentaron un mayor promedio de acidez.

Los sólidos solubles y pH, del ensayo de la orientación Oeste, resultó en que los tratamientos de deshoje, presentaron valores significativamente mayor en comparación con las bayas de los tratamientos con interferencia lumínica, y por el contrario, en el parámetro de acidez total, las bayas de los tratamientos con interferencia lumínica presentaron valores significativamente mayor, con respecto a las bayas de los tratamientos deshojados.

Cuadro 3. Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix), Acidez total ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EAT¹) y pH por tratamiento al momento de cosecha, en los ensayos de la orientación Este y Oeste. Cada valor corresponde al promedio \pm el error estándar.

Parámetro	Este	Oeste
Sólidos solubles		
Oscuridad	22,4 \pm 0,26 b	20,2 \pm 0,11 b
Sin deshoje	23,3 \pm 0,38 b	21,1 \pm 0,5 b
Deshoje al estado de tamaño de arveja	26,2 \pm 0,37 a	25,2 \pm 0,34 a
Deshoje en enero	26,4 \pm 0,72 a	25,5 \pm 0,41 a
pH		
Oscuridad	3,5 \pm 0,04	3,3 \pm 0,01 b
Sin deshoje	3,4 \pm 0,02	3,3 \pm 0,03 b
Deshoje al estado de tamaño de arveja	3,4 \pm 0,02	3,8 \pm 0,06 a
Deshoje en enero	3,5 \pm 0,05	3,7 \pm 0,05 a
Acidez total		
Oscuridad	3,1 \pm 0,07 ab	3,0 \pm 0,07 a
Sin deshoje	3,1 \pm 0,35 a	3,3 \pm 0,16 a
Deshoje al estado de tamaño de arveja	2,3 \pm 0,08 b	2,3 \pm 0,09 b
Deshoje en enero	2,4 \pm 0,12 ab	2,3 \pm 0,09 b

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

(1) Equivalentes de ácido tartárico.

DISCUSIÓN

El deshoje es una de las prácticas vitícolas que impacta más fuertemente el microclima de la zona frutal, especialmente la radiación solar incidente y la temperatura a nivel de bayas (Jackson y Lombard, 1993). La temperatura de los racimos está directamente relacionada con la radiación solar incidente (Smart y Sinclair, 1976), como se observa en la Figura 3, en que los tratamientos deshojados presentaron temperaturas significativamente mayores con respecto al tratamiento sin deshoje. Lo anterior ocurrió, en general, en las primeras horas del día para el ensayo de la orientación Este y hacia el final del día de medición en el ensayo de la orientación Oeste, que corresponde a los momentos de mayor radiación incidente sobre los racimos en una hilera de orientación norte-sur en el hemisferio sur. Es común que, en condiciones de campo, la mayor exposición a la luz por prácticas de deshoje aumente la temperatura a nivel de fruta. Tales aumentos pueden afectar el metabolismo inicial de acumulación de compuestos primarios y secundarios (Downey *et al.*, 2006) y, finalmente, pueden resultar en una detención o reducción del mismo, especialmente en condiciones sostenidas de temperaturas por sobre los 30 °C (Coombe, 1987), como ocurre con los tratamientos de oscuridad y de deshoje al estado de tamaño de arveja en el presente estudio, pero sólo transitoriamente en las horas de media tarde (Figuras 3D y 3H).

Bergqvist *et al.* (2001), postulan que el incremento en la exposición lumínica del racimo aumenta el peso de las bayas, mientras la temperatura de la fruta no sea mayor que la óptima para su desarrollo. Hale y Buttrick (1976) por otra parte, señalan que la temperatura óptima de crecimiento de la baya es entre 25 y 30 °C, rango de temperatura similar a la registrada en los tratamientos del ensayo de la orientación Este (Figuras 3B y 3F). En frutos de manzano, Blanpied y Wilde (1968) reportaron que la división celular de manzanas no expuestas a la luz disminuyó, en parte, debido a las bajas temperaturas que dicha fruta experimentaba. De manera similar, Fujita *et al.* (2007) observaron una disminución del

peso de bayas de hasta un 10% del tratamiento con sombra, equivalente al 9% de la intensidad luminosa, con respecto al tratamiento de plena luminosidad. En el presente estudio, al contrario de las observaciones mencionadas, se apreció que las bayas de los tratamientos de oscuridad y sin deshoje, solocrecen lentamente hasta los 63 DDC y 67 DDC en los ensayos de las orientaciones Oeste y Este respectivamente, y luego se expanden fuertemente hasta alcanzar los mayores tamaños (Figura 4). Este efecto final es posible que esté determinado por una menor pérdida de agua por transpiración en comparación con las bayas de tratamientos deshojados, que según Crippen y Morrison (1986), pierden peso gradualmente al estar expuestas a mayores radiaciones producto de las altas temperaturas que experimentan (Figura 3). Más aún, las bayas de la exposición Oeste se exponen a mayores niveles de radiación y temperatura simultáneamente (Spayd *et al.*, 2002). Esto coincide con los resultados de estudios previos en Sauvignon Blanc (Suklje *et al.*, 2012) y Merlot (Spayd *et al.*, 2002).

La luz es un factor ambiental conocido en inducir el desarrollo en los tejidos de los vegetales (Dengler, 1980; Lee *et al.*, 2000; Yano y Terashima, 2001; Kim *et al.*, 2005; Cookson y Granier, 2006). Cookson y Granier (2006), observaron un aumento en la superficie y espesor de la piel de las hojas de *Arabidopsis thaliana*, al aumentar la intensidad luminosa con respecto al testigo. De acuerdo a Terashima (1992), las hojas crecidas al sol son más gruesas y tienen células en empalizada más largas que aquellas crecidas a la sombra. Al observar el ensayo de la orientación Este (Figura 5A) y el ensayo de la orientación Oeste (Figura 5B), en el primero se aprecia, con mayor claridad, que el tratamiento de oscuridad contenía los menores pesos promedios de pieles durante la temporada, con respecto a los tratamientos de mayor luminosidad (tratamientos sin deshoje, deshoje al estado de tamaño de arveja y deshoje en enero). Específicamente, en el ensayo de la orientación Este, a los 52 DDC y 97 DDC se observa que la respuesta típica de los tejidos foliares se acentúa en las pieles de las bayas. En el ensayo de la orientación Oeste, a los 63 DDC se aprecia que los tratamientos que interceptan mayor radiación presentan mayores pesos promedios de pieles, no obstante tales diferencias desaparecen posteriormente. Reynier (2002), indicó que los pesos de las pieles constituyen entre el 10 y

el 20% del peso total de la baya dependiendo de la variedad, similar a lo observado a los tratamientos de ambos ensayos (Figura 5). En relación a la expansión de la superficie de las bayas, solo a los 97 DDC los tratamientos deshojados presentaron mayor superficie, para luego desaparecer. Es claro que los tejidos de la piel tienden a engrosar y expandirse, debido a una mayor exposición a la luz. De lo anterior, resulta que las bayas más expuestas tienen pieles más gruesas o de mayor masa, pero en este trabajo, son iguales o levemente superior en peso y de superficie de piel menor.

El parámetro F_v/F_m , equivalente al rendimiento cuántico máximo de la fotosíntesis (Cornic y Briantais, 1991), adquiere valores típicos en plantas no estresadas de 0.75 hasta 0.85 (Bolhar-Nordenkampf *et al.*, 1991) y su disminución indica pérdida de la eficiencia fotoquímica (Baker y Horton, 1987). A partir de los resultados de ambas orientaciones (Figura 7), la recuperación del rendimiento cuántico máximo de la fotosíntesis, inferido a partir del parámetro F_v/F_m , luego que las bayas fueron adaptadas a la oscuridad durante toda la noche, se observa que los tratamientos deshojados mostraron una fuerte reducción de su eficiencia fotosintética. En el ensayo de la orientación Este, el tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja presentó, posiblemente al inicio de la temporada, fotoinhibición dinámica, en donde el descenso de la eficiencia cuántica suele ser temporal para luego volver a su valor inicial, y al final de la temporada una fotoinhibición crónica, es decir, la que no desaparece en el corto plazo, aún cuando la baya fue sometida a oscuridad (Osmond, 1994). En esta misma orientación, el tratamiento de deshoje en enero y los tratamientos deshojados de la orientación Oeste, exhibieron fotoinhibición crónica. Similar fotoinhibición reportaron Palliotti, *et al.* (2009), pero en tejidos de hojas basales expuestas de la orientación Oeste de la canopia en Sangiovese. Es importante señalar que la fotoinhibición de estos tratamientos puede ser el resultado combinado del fotodaño directo en los PSII y de la fotoprotección, que también disminuye la eficiencia cuántica de la fotosíntesis (Melis, 1999). Esto ocurre porque la energía de excitación excesiva es reorientada y disipada principalmente como calor, proceso que logra un balance entre la energía recibida por los PSII, con la capacidad de éstos para utilizarla, por lo que la fotoprotección se asocia a una disminución de la eficiencia fotosintética intrínseca de los

PSII (Baker 1991, Demmig-Adams & Adams 1992, Aro *et al.* 1993, Long *et al.* 1994, Osmond 1994). Lo anterior lo podemos corroborar en las Figuras 8 y 9, mediante el parámetro qP , que representa la proporción de centros PSII que están en estado abierto, disponibles para el transporte de electrones y qN , que representa la disipación de energía en forma de calor (Maxwell y Johnson, 2000). En la primera fecha de disminución de F_v/F_m de los tratamientos deshojados de ambos ensayos, presentaron el parámetro qP con valores mínimos, a una radiación PAR máxima y qN altos desde las menores intensidades lumínicas. Por lo tanto, la disipación de la energía en exceso en forma de calor, no fue suficiente para recuperar el proceso fotosintético de los tratamientos deshojados. Desde la segunda fecha de disminución de F_v/F_m , los qP fueron altos y con errores estándar amplios. Además hacia el final de la temporada, los qN de los tratamientos deshojados de ambos ensayos comenzaron a ser menor que los restantes tratamientos. Lo anterior puede deberse a que, bajo a la exposición prolongada a la luz, mas la fotoinhibición crónica de estos tratamientos, produce la pérdida permanente de la función en los centros de reacción PSII y conduce a la destrucción de los tejidos observándose necrosis (Long *et al.*, 1994).

Entre los parámetros importantes para estimar la aclimatación a la luz en hojas, se encuentra el contenido de pigmentos fotosintéticos (Allen, 1992). Posiblemente, al inicio de los ensayos de la orientación Este y Oeste, las bayas de los distintos tratamientos mostraron los primeros indicios de aclimatación. Pero en el ensayo Este, donde se observa con mayor claridad, a los 67 DDC, los tratamientos sin deshoje y deshoje en enero presentaron el mayor contenido de clorofilas totales, a y b . Lo mismo ocurrió en experimentos en hojas de *Arabidopsis thaliana* realizados por Krause (1988), los tratamientos de menor incidencia luminosa aumentaron la concentración de pigmentos fotosintéticos. Por el contrario, los tratamientos de oscuridad y deshoje al estado de tamaño de arveja disminuyeron el contenido de clorofilas totales, a y b . En el caso de las bayas de oscuridad, es posible que se haya inducido el proceso de senescencia, que entre otros, comienza con la degradación de clorofilas por la activación de la enzima PAO (Hörtensteiner, 2006). Este fenómeno, entre otros, fue observado en ensayos en cebada (*Hordeum vulgare*), en donde las plantas fueron sometidas a oscuridad durante cinco días, observándose un aumento en la senescencia con la

consecuente disminución en el contenido de clorofilas (Suzuki y Shioi, 1999). El tratamiento de deshoje al estado de tamaño de arveja, que a los 67 DDC es el único tratamiento que presenta el deshoje, generó una disminución del contenido de clorofilas, el que fue más acentuado en la orientación Este (Figura 10). Este fenómeno ha sido interpretado como un mecanismo para disminuir la captación de fotones y proteger a las antenas colectoras de los sistemas fotosintéticos ante un riesgo de daño (Krause, 1988). En general, se reconoce que cuando sucede un exceso radiativo, se produce una pérdida de pigmentos y senescencia (Lawlor, 1994), por la formación de especies reactivas de oxígeno, las que exceden la capacidad de protección de los cloroplastos, ocurriendo la fotodegradación de la clorofila (Neale y Melis, 1990). Eso sí, en este caso es improbable que se trate de un efecto de senescencia inducida por un estrés oxidativo, al menos en esta primera fecha, puesto que la capacidad de recuperar su rendimiento cuántico máximo está intacto (Figura 7). En fechas posteriores continúa la disminución del contenido de pigmentos de clorofila, y aunque los valores de F_v/F_m si comienza a disminuir, no se puede descartar de que se trate, simplemente, de un proceso natural de maduración, en que típicamente se pierden pigmentos de clorofila y aparición de los carotenoides (Rontani, 1996). En general, hacia el final de la temporada no se encuentran diferencias significativas en el contenido de clorofilas entre los distintos tratamientos, pero los tratamientos deshojados presentaron fotoinhibición (Figura 7), lo cual fortalece la presunción mencionada anteriormente de un daño permanente en los sistemas fotosintéticos de las pieles de las bayas.

En relación al contenido de carotenoides totales, según Razungles *et al.*, (1988), estos aumentan hasta el envero y luego disminuyen hacia el final de la maduración, y se ha observado que estos disminuyen por efecto de la fotodegradación (Marais *et al.*, 1991; Bureau *et al.*, 2000). Asimismo, se ha observado que los carotenoides son proporcionalmente más concentrados en bayas pequeñas que en bayas grandes (Guedes de Pinho *et al.*, 2001). En experimentos en la cepa Touriga Franca, se obtuvieron bayas de mayor peso y menor concentración de carotenoides, y por el contrario, en Touriga Nacional las bayas tienen un peso menor y mayor concentración de carotenoides (Oliveira *et al.*,

2004). Además, el aumento en el contenido de carotenoides, puede suceder por la síntesis de algunos de ellos específicamente (Young *et al.*, 2012).

En el presente estudio, la exposición de las bayas en la luz significó un aumento progresivo del contenido de carotenoides, en las pieles de las mismas, llegando a ser, para el caso de los racimos deshojados al estado de tamaño de arveja, significativamente superior en la última fecha. En este sentido, no se aprecia efecto de degradación inducidos por la luz, o bien, la tasa de síntesis supera las eventuales degradaciones a lo largo de la temporada. En general, muchos carotenoides sintetizados en tejidos vegetales, o bien se sintetizan asociados a procesos de senescencia (Razungles *et al.*, 1988) o bien como elementos fotoprotectores (Niyogi, 1999). Estudios realizados por Matus *et al.*, (1991) en pimentón, señalan que en la maduración existe bio-conversión de β -caroteno en violaxantina y, a su vez, Young *et al.* (2012) encontró hacia el final de la maduración de bayas Sauvignon Blanc un aumento de zeaxantinas. Los tratamientos deshojados desde la segunda fecha, presentaron el mayor porcentaje de zeaxantina en relación a violaxantina, dos compuestos que forman parte del sistema de interconversión del ciclo de las xantofilas. Lo anterior, incluso considerando que las bayas habían permanecido un largo periodo de tiempo en oscuridad, lo que indica la posible necesidad de estas bayas, de disipar energía en exceso en forma de calor. Esto, porque es sabido que la formación de parte importante del qN, se debe a la de-epoxidación de las violaxantinas en anteraxantinas y zeaxantina (Holt *et al.*, 2005). En relación a la Luteína, estudios realizados por Oliveira *et al.* (2004), encontraron en bayas de Maria Gomes y Loureiro, una mayor concentración de este carotenoide en tratamientos de oscuridad con respecto a los tratamientos de luminosidad, similar a lo observado en el presente ensayo. Las luteínas están involucradas en el ciclo luteína epóxido, formando luteína 5,6 epóxido, que funciona de manera similar a la violaxantina ya que, durante condiciones de oscuridad, hay una acumulación de luteína 5,6 epóxido, que se revierte a Luteína en condiciones de luz, liberando energía (García-Plazaola *et al.*, 2007). Estudios realizados por Young *et al.* (2012) en bayas de Sauvignon Blanc, identificaron luteína 5,6 epóxido en condiciones de baja luminosidad. Estudios en β -caroteno en racimos con luminosidad y oscuridad, son justamente estos últimos en los que se han reportado

mayores concentraciones (Razungles *et al.*, 1988; Oliveira *et al.*, 2004). Esto fue observado en el presente ensayo, pero solamente a los 82 DDC. Es interesante subrayar el hecho de que el aumento y mayor contenido de carotenoides al final de la temporada, puede ser beneficioso para la producción del vino final, pues debido a su degradación enzimática o química, este compuesto puede conducir a la formación de compuestos aromáticos (Schreier *et al.*, 1976; Schreier *et al.*, 1980; Razunglas *et al.*, 1988).

Diversos estudios han reportado que los sólidos solubles disminuyen con el sombreado de los racimos (Gao y Cahoon, 1994; Dokoozlian y Kliewer, 1996; Bergqvist *et al.*, 2001). Esto se explicaría por una reducción en la concentración o actividad de enzimas como la invertasa, o alguna otra enzima responsable de la regulación de la acumulación de azúcar en la fruta no expuesta a la luz (Dokoozlian y Kliewer, 1996). Estudios realizados con seguimiento de carbono 14, concluyeron que deshojes en floración (Koblet *et al.*, 1994) y deshojes en envero (Candolfi-Vasconcelos *et al.*, 1994; Intrieri, *et al.*, 2008) promueven la destinación de asimilados hacia las bayas. Esto mismo es lo que sucede en el presente estudio, en el que las bayas con exposición a la luz, efectivamente terminan con mayores concentraciones de sólidos solubles (Cuadro 3), aunque no se puede descartar la posible mayor concentración, debido a que las bayas de racimos expuestos resultaron ser más pequeñas (Figura 4).

En las bayas de vid, entre el 90% y 95 % de la acidez total esta explicada por el ácido tartárico, málico y cítrico (Zoecklein *et al.*, 2001). Diversos autores sostienen que la acidez titulable disminuye con aumentos en la exposición solar (Bergqvist *et al.*, 2001; Ristic *et al.*, 2007). Esta diferencia se atribuye a la mayor temperatura que experimenta la fruta expuesta a la luz, lo cual incrementa la tasa de respiración, principalmente del ácido málico (Dokoozlian y Kliewer, 1996). Se observó que los tratamientos de deshoje de ambos ensayos, presentaron menor acidez total y en el ensayo de la orientación Oeste, se expresó con mayor claridad (Cuadro 3). Sin embargo, es importante señalar que los tratamientos de oscuridad de ambas orientaciones, presentaron menor radiación (Figura 3), pero con temperaturas similares a los racimos de los tratamientos deshojados, por lo cual no coincide

con lo mencionado al comienzo del párrafo. Es probable que el análisis de la influencia de la temperatura no sea suficiente para obtener una conclusión completa del comportamiento de los ácidos en la baya, ya que la disminución de la acidez desde envero en adelante no sólo se debe a procesos de degradación por altas temperaturas, sino también a precipitación por cationes, transformación en azúcares y/o aminoácidos, entre otros (Kliewer, 1965, Kliewer et al., 1967; Pszczólkowski y Gil, 2008). En relación al pH, según Birgit (1998) señala que aumenta en bayas expuestas a la radiación solar, debido a un aceleramiento de la madures. Salazar y Melgarejo (2005), señalan que la migración de bases a la baya durante la maduración aumenta la alcalinidad. Los tratamientos de la orientación Este, no tuvieron efecto sobre las bayas, lo que coincide con los estudios realizados en la variedad Merlot por Spayd *et al.* (2002). Sin embargo, en la orientación Oeste, las bayas de los tratamientos deshojados, presentaron mayor pH con respecto a las bayas de los tratamientos con interferencia lumínica. Análogos resultados encontró Poniet *al.* (2006), en bayas expuestas en una orientación similar. Estos resultados implican que, en una orientación más invasiva en luz y temperatura podría regular el pH.

CONCLUSIONES

Los diferentes regímenes lumínicos afectan la morfología de la baya, durante su crecimiento y desarrollo, preponderantemente hacia el final de la temporada. En relación a las variables de sólidos solubles, pH y acidez total, en la orientación Oeste mediante los tratamientos de luminosidad se pueden obtener mayores diferencias en estos parámetros, con respecto a la orientación Este.

En relación a la fotosíntesis, los deshojes afectaron a los fotosistemas de las pieles de las bayas en ambas orientaciones, expresándose en fotoinhibición.

El efecto de los tratamientos en los pigmentos fotosintéticos, se presentó mayoritariamente en las primeras fechas de los distintos ensayos, fundamentalmente en el ensayo de la orientación Este, en el cual se observó con mayor claridad la adaptación de los sistemas fotosintéticos en las pieles de las bayas.

En el contenido de carotenoides totales, independientemente que los tratamientos deshojados aumentaron el contenido de este pigmento en el tiempo, y a su vez los carotenoides zeaxantinas exhibieron mayor porcentaje con respecto a los tratamientos con interferencia lumínica en las dos últimas fechas de ambos ensayos, los fotosistemas manifestaron daños, evidenciados en la disminución de F_v/F_m . Sin embargo, el mayor contenido de carotenoides al final de la temporada puede ser beneficioso, ya que puede conducir a la mayor formación de compuestos aromáticos, pero se debe tener en cuenta el daño en las pieles por golpe de sol.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, J. 1992. Protein phosphorylation in regulation of photosynthesis. *Biophys Acta* 1098: 275-335.

Aro, E., MC Caffery, S. and Anderson, J. 1993. Photoinhibition and D1 protein degradation in peas acclimated to different growth irradiances. *Plant Physiology* 103: 835-843.

Baker, N. 1991. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 81: 563 – 570.

Baker, N. and Horton, P. 1987. Chlorophyll fluorescence quenching during photoinhibition. pp 82. In: *Photoinhibition*. Elsevier Scientific. Netherlands, Amsterdam. 234.

Bergqvist, J., Dokoozlian, N. and Ebisuda, N. 2001. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin valley of California. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 1-7.

Blanpied, G. and Wilde, M. 1968. A study of the cells in the outer flesh of developing 'McIntosh' apple fruits. *Botanical Gazette* 129: 173-183.

Bolhar-Nordenkamf, H., Hofer, M. and Lechner, E. 1991. Analysis of light-induced reduction of the photochemical capacity in field-grown plants. Evidence for photoinhibition. *Photosynthesis research* 27:31-39.

Bordeau, E. y Scarpa, J. 1998. Análisis químico del vino. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 253 p.

- Bureau, S., Baumes, R. and Razungles, A. 2000. Effects of vine or bunch shading on the glycosylated flavor precursors in grapes of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1290-1297.
- Candolfi-Vasconcelos, M. C., Candolfi, M. P. and Koblet, W. 1994. Retranslocation of carbon reserves from the woody storage tissue into the fruit as response to defoliation stress during the ripening period in *Vitis vinifera*. *Planta* 192: 567-573.
- Cookson, S. J. and Granier, C. 2006. A dynamic analysis of the shaded-induced plasticity in *Arabidopsis thaliana* rosette leaf development reveals new components of the shade-adaptative response. *Annals of Botany* 97: 443-452.
- Coombe, B. G. 1987. Influence of temperature on composition and quality of grapes. *Acta Horticulturae* 206: 23-35.
- Cornic, G. and Briantais, J. 1991. Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentration during drought stress. *Planta* 183: 178-184.
- Crippen, D. and Morrison, J. 1986. The effects of sun exposure on the compositional development of Cabernet Sauvignon berries. *American Journal of Enology and Viticulture* 37: 235-242.
- De La Rivas, J. 1989. A new Reversed Phase-HPLC Method Resolving All Major Higher Plant Photosynthetic Pigments. *Plant Physiology* 91: 190-192.
- De La Rivas, J. 2008. La luz y el aparato fotosintético. pp 160-165. In: Azcon-Bieto, J; Talón, M. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Universidad de Barcelona. Barcelona, España. 300 p.

Demmig-Adams, B. and Adams III, W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology* 43: 599-626.

Dengler, N. G. 1980. Comparative histological basis of sun and shade leaf dimorphism in *Helianthus annuus*. *Canadian Journal of Botany* 58: 717-730.

Dokoozlian, N. K. and Kliewer, W. M. 1996. Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of American Society of Horticultural Science* 121: 869-874.

Downey, M. O., Dokoozlian, N. K. and Krstic, M. P. 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 257-268.

Fujita, A., Soma, N., Goto-Yamamoto, N., Mizuno, A., Kiso, K. and Hashizume, K. 2007. Effect of shading on proanthocyanidin biosynthesis in the grape berry. *Journal of Japan Society and Horticultural Science* 76: 112-119.

Gao, Y. and Cahoon, G.A. 1994. Cluster shading effects on fruit quality, fruit skin color, and anthocyanin content and composition in Reliance (*Vitis* hybrid). *Vitis* 33: 205-209.

Garcia-Plazaola, J.L., Matsubara, S. and Osmond, C. B. 2007. The lutein epoxide cycle in higher plants. *Plant Biology* 34: 759-773.

Green, B. and Durnford, D. 1996. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. *Plant Physiology* 47: 685-714.

Guedes de Pinho, P., Silva, A., Mendes, M., Gomez, J. and Hogg, T. 2001. Determination of carotenoid profiles in grapes, musts, and fortified wines from douro varieties of *Vitis vinifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5484-5488.

Hale, C. R. and Buttrose. 1976. Effect of temperature on ontogeny of berries of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon. *Journal of American Society of Horticultural Science* 99: 390-394.

Holt, N., Zigmantas, D., Valkunas, L., Li, X., Niyogi, K. and Fleming, G. 2005. Carotenoid Cation Formation and the Regulation of Photosynthetic Light Harvesting. *Science* 307: 433-434.

Hörtensteiner, S. 2006. Chlorophyll degradation during senescence. *Plant Biology* 57: 55-77.

Horton, P., Ruban, A. and Walters, R. 1994. Regulation of light harvesting in green plants, indication by nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology* 106: 415-420.

Huner, N.; Ivanov, A.; Sane, P.; Pockock, T.; Król, M.; Balseris, A.; Rosso, D.; Savitch, L.; Hurry, V. and Oquist, G. 2005. Photoprotection of Photosystem II: Reaction Center Quenching Versus Antenna Quenching. pp 155-169. In: *Photoprotection, Photoinhibition, GeneRegulation and Environment*. (Ed.) Springer. Netherlands, Amsterdam. 352 p.

Intrieri, C., Filippetti, I., Allegro, G., Centinari, M. and Poni, S. 2008. Early defoliation (hand and mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research* 14: 25-32.

Jackson, D. and Lombard, P. 1993. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – A review. *American Journal of Enology and Viticulture* 44: 409-430.

Johnson, G., Young, A., Scholes, J. and Horton, P. 1993. The dissipation of excess excitation energy in British plant species. *Plant cell and Environment* 16: 673-675.

- Kim, G. T., Yano, S. and Tsukaya, H. 2005. Photomorphogenesis of leaves: shade-avoidance and differentiation of sun and shade leaves. *Photochemical and Photobiological Sciences* 4: 770-774.
- Kliewer, W.M. 1965. Changes in the concentration of malates, tartrates and total free acids in flowers and berries of *Vitis vifera*. *American Journal of Enology and Viticulture* 18:126-137.
- Kliewer, W.M. 1967. Annual cyclic changes in the concentration of free amino acids in grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 18:126-137.
- Koblet, W., Candolfi-Vasconcelos, M. C., Aeschiman, E. and Howell, G. S. 1994. Influence of defoliation, roostock and training system on Pinot noir grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 45: 181-187.
- Krause, G. H. 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiology Plantarum* 74: 566-574.
- Krause, G. H., Schumude, C., Garden, H., Koroleva, O. Y. and Winter, K. 1999. Effects of solar ultraviolet radiation on potential efficiency of photosystem II in leaves of tropical plants. *Plant Physiology* 121: 1349-1358.
- Lawlor, D. W. 1994. The effects of water deficit on photosynthesis. pp 129-160. In: *Photoinhibition of photosynthesis; from molecular mechanisms to the field*. Elsevier Scientific. Amsterdam, Dutchland. 476 p.
- Lee, D. W., Oberbauer, S. F., Johnson, P., Krishnapilay, B., Mansor, M. and Mohamas, H. 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian Hopea (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany* 87: 447-455.

- Lichtenthaler, H. and Wellburn, A. 1987. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents. *Biochem. Society Transactions*. 603: 591-592.
- Long, S. P. Humphries, S. and Falkowski, P. G. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Journal Plant Physiology* 45: 633-662.
- Mairas, J., Wyk, C. J. and Rapp, A. 1991. Carotenoid levels in maturing Grapes as affected by climatic regions, sunlight and shade. *South African Journal of Enology and Viticulture* 12: 64-69.
- Masuda, T. and Fujita, Y. 2008. Regulation and evolution of chlorophyll metabolism. *Photochemical and photobiological Sciences* 7: 1131-1149.
- Matus, Z., Deli, J. and Szaboles, J. 1991. Carotenoid composition of yellow pepper during ripening: isolation of α -cryptoxanthin 5,6-epoxide. *Journal Agricultural Food Chemistry* 39: 1907-1914.
- Maxwell, K. and Johnson, G. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 660-663.
- Melis, A. 1999. Photosystem II damage and repair cycle in chloroplast: what modulates the rate of photodamage *en vivo*?. *Plant Physiology* 4: 130-135.
- Mozzo, M., Dall'osto, L., Hienerwadel, R., Bassi, R., Croce, R. 2008. Photoprotection in the Antenna Complexes of Photosystem II Role of Individual Xanthophylls in Chlorophyll Triplet quenching. *Biological Chemistry* 283: 6184-6192.
- Neale, P. J. and Melis, A. 1990. Activation of a reserve pool of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii* counteracts photoinhibition. *Plant Physiology* 92: 1196-1204.

Niyogi, K. 1999. Photoprotection Revisited: Genetic and Molecular Approaches. *Plant Physiology* 50: 333-351.

Oliveira, C., Ferreira, A., Costa, P., Guerra, J. and Guedes de Pinho, P. 2004. Effect of some viticultural parameters on the grape carotenoid profile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4178-4184.

Osmond, C.B. 1994. What is photoinhibition?. Some insights from comparisons of shade and sun plants. pp 1-24. In: N.R. Baker. and J.R. Bowyer. *Photoinhibition of photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the field*. Bios Scientific. Oxford, UK. 745 pp.

Palliotti, A., Silvestroni, O. and Petoumenou, D. 2009. Photosynthetic and photoinhibition behavior of two field grown grapevine cultivars under multiple summer stresses. *American Journal of Enology and Viticulture* 60: 189-198.

Pearcy, R. W. 1990. Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. *Plant Cell Physiology* 41: 421-453.

Poni, S., Casalini, L., Bernizzoni, F., Civardi, S. and Intrieri, C. 2006. Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape composition. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 397-407.

Pszczolkowski, P y Gil, G. 2008. Maduración y cosecha de la uva. pp 211-212. In: *Viticultura: fundamento para optimizar producción y calidad*. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 533 p.

Razungles, A., Bayonove, C., Cordonnier, R. E. and Sapis, J. C. 1988. Grape carotenoids: changes during the maturation period and localization in mature berries. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 44-48.

- Razungles, A., Babic, I., Sapis, J. C. and Bayonove, C. 1996. Particular Behavior of Epoxy xanthophylls during veraison and maturation of grape. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 3821-3825.
- Reynier, A. 2002. *Manual de Viticultura*. Mundi-Prensa. Madrid, España. 407p.
- Ristic, R., Downey, M. O., Iland, P. G., Bindon, K., Francis, I. L., Herderich, M. and Robinson, S. P. 2007. Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine colour, tannin and sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 13: 53-65.
- Rontani, J., Cuny, P. and Grossi, V. 1996. Photodegradation of chlorophyll phytyl chain in the senescent leaves of higher plants. *Phytochemistry* 42: 347-351.
- Salazar, D. y Melgarejo, P. 2005. *Viticultura: técnicas de cultivo de la vid, calidad de la uva y atributos de los vinos*. Primera edición. Editorial AMV y Mundi-Prensa. Madrid, España. 325 p.
- Schreier, P., Drawert, F. and Junker, A. 1976. Identification of volatile constituents from grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24: 331-335.
- Schreier, P., Drawert, F. and Abraham, K.O. 1980. Identification and determination of volatile constituents in burgundy Pinot noir wines. *Technoly* 13: 318-321.
- Servicio Agrícola y Ganadero, Chile. 2011. Catastro vitivinícola nacional 2011 [en línea] disponible en: ><http://www.sag.gob.cl/>> (consulta: 21 de Junio 2013).
- Smart, R. E. and Sicclair, T. R. 1976. Solar heating of grape berries and other spherical fruits. *Agricultural Meteorology* 17: 241-259.

Smart, R. E. and Robinson, M. 1991. Sunlight into wine: A handbook for winegrape canopy management. Winetitles editions. Adelaide, Australia. 408 p.

Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L. and Ferguson, J. C. 2002. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv Merlot berries. American Journal of Enology and Viticulture 53: 171-182

Suklje, K., Lisjak, K., Cesnik, H. B., Janes, L., Du Toit, Z., Coetzee, A., Vanzo, A. and Deloire, A. J. 2012. Classification of grape berries according to diameter and total soluble solids to study the effect of light and temperature on methoxypyrazines, glutathione and hydroxycinnamates evolution during berry ripening of Sauvignon blanc (*Vitis vinifera* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 60: 9454-9461.

Suzuki, Y. and Shioi, Y. 1999. Detection of chlorophyll breakdown products in the senescent leaves of higher plants. Plant Cell Physiology 40: 909-915.

Terashima, I. 1992. Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. Photosynthesis Research 31: 195-212.

Yano, S. and Terashima, I. 2001. Separate localization of light signal perception for sun and shade type chloroplast and palisade tissue differentiation in *Chenopodium album* L. Plant and Cell Physiology 42: 1303-1310.

Young, P., Lashbrooke, J., Alexanderson, E., Jacobson, D., Moser, C., Valasco, R. and Vivier, M. 2012. The genes and enzymes of the carotenoid metabolic pathway in *Vitis vinifera* L. BMC Genomics 13: 243-256.

Zoecklein, B., Fugelsang, K., Gump, B. and Nury, F. 2001. Análisis y producción de vino. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España. 613 p.