

## **HETEROGENEIDAD INTRAVARIETAL DE CLONES DE VARIEDADES DE UVA TRADICIONALMENTE CULTIVADAS EN TENERIFE**

**Jacinto Darías Martín <sup>1</sup>,  
Francisco Martín Galarza <sup>1</sup>,  
Marta Pomar García <sup>1</sup>,  
María Hontoria Fernández <sup>2</sup>,  
Eugenio Díaz Díaz <sup>3</sup>,  
José A. Miguel Tabares <sup>1</sup>  
y José Alfonso González Lorente <sup>4</sup>.**

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica. Tecnología de Alimentos. Centro Superior de Ciencias Agrarias. Universidad de La Laguna.

<sup>2</sup> Viverviña S. L.

<sup>3</sup> Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Sección de Productos Agroalimentarios.

<sup>4</sup> Casa Museo Insular de la Vid y el Vino de Tenerife. Cabildo de Tenerife.

### **RESUMEN**

En el presente trabajo se ha estudiado la diferencia entre variedades e intravarietal, en el potencial enológico, de clones de las variedades de uva tintas Listán Negro y Negramoll. A partir de clones seleccionados y plantados bajo las mismas condiciones edafoclimáticas y agronómicas, se realizaron análisis de grados Brix, pH, acidez total, ácido málico, ácido tartárico y madurez fenólica, desde el envero hasta la vendimia. Asimismo se llevó a cabo un estudio de parámetros relacionados con la producción media de las variedades en el momento de la vendimia. Se observó que la acidez y la producción media por planta son los parámetros más sensibles a la presencia o ausencia de virosis en la planta, presentando una mayor susceptibilidad la variedad Listán Negro. Igualmente se han detectado diferencias en el potencial fenólico entre variedades e intravarietales con posible influencia de la virosis. Se ha querido, de esta forma, estudiar las diferencias entre variedades, la heterogeneidad intravarietal y la posible influencia de la presencia o ausencia de virus en el potencial enológico de las plantas.

### **INTRODUCCIÓN**

España ocupa el primer lugar en el mundo de superficie cultivada de vid, mientras que ostenta el tercer puesto en producción de vino. Este rendimiento tan bajo se debe a factores como las condiciones climáticas, tipos de suelo, variedades cultivadas y técnicas culturales empleadas en cada zona. Entre los factores causantes de estas bajas producciones se encuentra, también, el deficiente estado sanitario del viñedo español, con importantes pérdidas producidas por las enfermedades víricas de la vid, tanto en el rendimiento como en la calidad de los productos (Peña, 1988).

De los 34 grupos de virus vegetales determinados, más de 30 han sido descritos afectando a la vid (Francki et al., 1991). De todos ellos el de mayor repercusión es el GFLV

(Grapevine Fanleaf Virus) tanto por su extensión en el viñedo mundial como por los daños que ocasiona. En la uva produce corrimiento, maduración irregular y menor contenido en azúcar (Fresno y López-Pérez, 1996). Otro virus que ha causado enfermedades muy importantes en Europa es el del Enrollado, suponiendo el segundo virus de más importancia económica después del GFLV. En variedades tintas, ocasiona coloración menos intensa de los frutos, grandes retrasos en la maduración y menor contenido en azúcar con una mayor acidez, provocando un deterioro en la calidad de las uvas y del vino (Fresno y López-Pérez, 1996).

La principal fuente de diseminación de estos virus son los patrones de material vegetal en los que pueden permanecer de forma latente. Por tanto, es imprescindible testar y controlar el material vegetal destinado a nuevas plantaciones. Para ello, es necesario una selección clonal previa de acuerdo a la ausencia de síntomas de virosis en las plantas y un estudio de las características enológicas de los clones seleccionados.

El principal objetivo de este trabajo fue el estudio del potencial enológico de seis clones seleccionados pertenecientes a las dos variedades de uva más importantes de las islas Canarias: Listán Negro y Negramoll. Se persigue, asimismo, establecer una comparativa entre plantas libres de virus y otras que no lo están. Las condiciones son idóneas para ello ya que todas las plantas se encuentran en la misma parcela, sujetas a idénticas condiciones edafoclimáticas y agronómicas.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### *Material.*

El material se obtuvo a partir de plantas seleccionadas en distintas zonas de Tenerife (España) por la empresa Viverviña S.L. en base a su vigor, sensibilidad a enfermedades, sintomatología externa de ausencia de virus, productividad, caracteres organolépticos, autenticidad varietal y experiencia de los viticultores y de los técnicos que realizaron la selección clonal.

Como complemento a la selección clonal, esta empresa emprendió en 1996 un estudio (Hontoria et al., 1998) para testar la presencia de los virus GFL V (grapevine fanleaf virus, virus del entrenudo corto infeccioso de la vid) y GLRa V (virus del enrollado de la vid) en colaboración con el ICIA (Instituto Canario de Investigaciones Agrarias) y el Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario de la Alberca (Murcia), así como un trabajo de caracterización molecular en colaboración con el INIA y el INCAVI (técnica de AFLP).

Una vez seleccionados, los clones fueron plantados en grupos de diez, diferenciados e identificados dentro de la misma parcela, en espaldera abierta y con un marco de plantación de 2 m entre plantas y 3 m entre líneas.

El material utilizado para este estudio consta de seis clones diferentes: cuatro de la variedad Listán Negro (Negro (LN20, LN21 y LN22: clones viróticos y LN42: clon libre de virus) y dos de Negramoll (NM116: clon virótico y NM26: clon libre de virus). Se trabajó con diez plantas de cada clon, que fueron controladas desde el envero hasta la maduración. Durante este periodo, se tomaron muestras semanales de 200 granos para la realización de los análisis físico-químicos. Toda la analítica se realizó por triplicado.

### *Tratamiento de la muestra.*

Cada muestra de 200 granos se pesó y se trituró. Se congelaron 150 g de uva triturada para los análisis relativos a la madurez fenólica. El resto, se filtró y se centrifugó, el líquido resultante se utilizó para el análisis de pH, acidez total, ácidos málico y tartárico y grados Brix.

### **Métodos.**

Para la obtención del índice de polifenoles totales (IPT) y de antocianos a pH 3.2 y pH 1, el índice de madurez celular (Ea) y la madurez fenólica de las pepitas (Mp) se utilizó el método de SAINT-CRICQ de GAULEJAC *et al.* (1998).

Los análisis de pH, acidez total y grados brix se realizaron por los métodos oficiales (reglamento CEE 2676/90). La determinación del ácido tartárico se llevó a cabo por reacción colorimétrica con metavanadato y el ácido málico por reacción enzimática, ambos según el método descrito por Zoecklein *et al.* (1994).

Asimismo, en el momento de la vendimia se recogieron datos de producción de los clones plantados: producción media por planta, peso del racimo, número de racimos por planta, número de granos por racimo y peso medio del grano. Quedando pendiente de realizar el peso de madera de poda para la determinación del índice de Ravaz.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un test de Duncan para establecer diferencias significativas entre clones.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Parámetros convencionales**

La figura 1 muestra los valores obtenidos para los grados Brix durante la maduración de las uvas de los cuatro clones de la variedad Listán Negro (LN20, LN21, LN22 y LN42) y los dos de Negramoll (NM116 y NM26), siendo los clones LN42 y MN26 plantas libres de virus.

La evolución de los grados Brix desde el envero hasta la vendimia muestra que la variedad Negramoll tiene una maduración más tardía que la Listán Negro, comportamiento observado anteriormente en otro estudio sobre estas variedades de uva (García Fernández *et al.*, 1998).

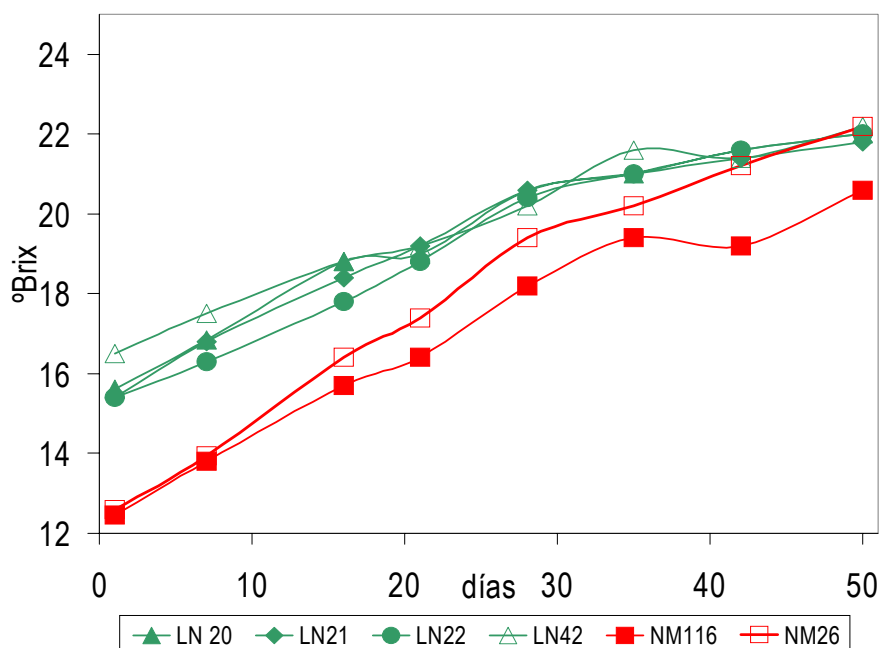
En cuanto a la influencia de la virosis, se aprecian diferencias significativas en seis de los puntos de muestreo a lo largo de la maduración para la variedad

Negramoll, de manera que los valores del grado Brix son superiores en el clon libre de virus. Se obtuvo similar comportamiento, aunque de forma menos acusada, para los clones de Listán Negro.

La variedad Negramoll presenta en todo momento un pH más ácido que la Listán Negro (figura 2) (García Fernández *et al.*, 1998). En esta última se obtuvo un pH menor a partir de la tercera muestra recogida a lo largo de la maduración en el clon libre de virus frente al resto. Esta diferencia se acentúa a medida que se acerca la vendimia. En la variedad Negramoll, las plantas sanas tienen un pH similar a las viróticas. Trabajos realizados anteriormente (Fresno y López-Pérez, 1996) obtienen que las plantas que presentan virus, suelen tener un pH más ácido que las sanas.

De acuerdo con los resultados para el pH, en la figura 3 se aprecia una mayor acidez total para la variedad Negramoll que para Listán Negro desde el envero hasta la vendimia. En cuanto a la influencia del virus, estadísticamente no se aprecian diferencias significativas.

En la bibliografía consultada, según (Fresno y López-Pérez, 1996), los virus tanto del enrollado como el entrenudo corto, producen un aumento significativo de la acidez total frente a las plantas sanas.



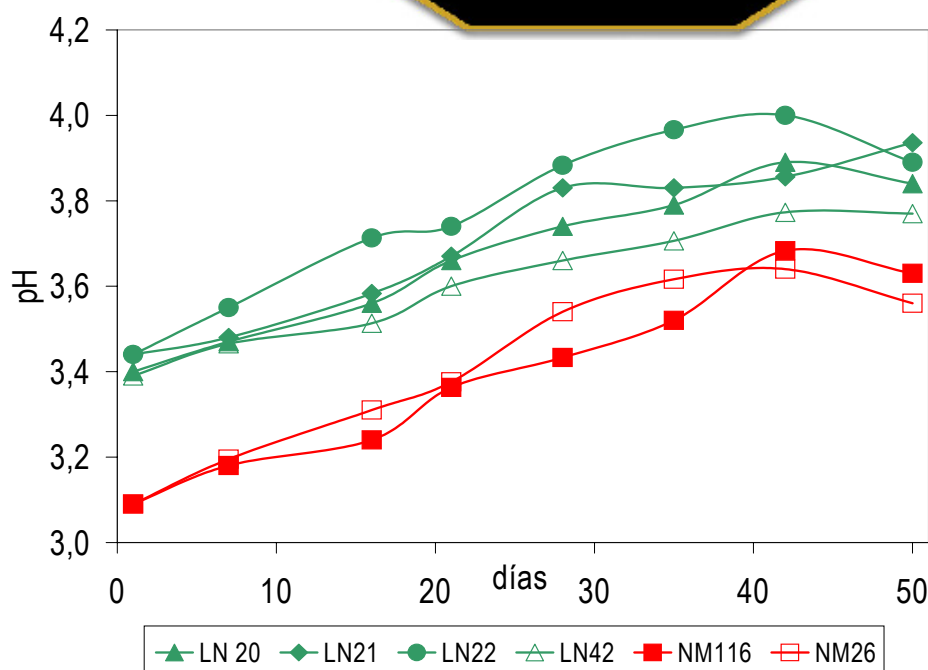
**Figura 1.** Evolución del grado brix desde el envero hasta la vendimia de diferentes clones de variedades de uva.

En la figura 4 se observa un comportamiento paralelo del ácido málico con la acidez total, presentando curvas descendentes durante la maduración y siendo la variedad Negramoll la que tiene mayor contenido en este ácido.

No se observan diferencias destacables atendiendo a la presencia o ausencia de virus de los clones en estudio, aunque la Listán Negro libre de virus muestra contenidos menores en ácido málico en los primeros muestreos después del envero.

La figura 5 del ácido tartárico muestra una evolución con muchas fluctuaciones sin variaciones importantes en su contenido desde el envero hasta la vendimia y sin diferencias apreciables entre varietales, ni entre clones libres de virus y viróticos. Por tanto, se puede suponer que tan solo el ácido málico influye en la pauta de comportamiento observada en la curva de evolución descendente de la acidez total.

La tabla 1 muestra los datos de producción obtenidos en el momento de la vendimia para los seis clones en estudio. Se observan diferencias significativas en los parámetros relativos a la producción entre los clones libres de virus y los viróticos. Para los cuatro clones de la variedad Listán Negro, el libre de virus presenta mayor producción media por planta, siendo los racimos más pesados, con superior número de granos y de menor tamaño. Para los dos clones estudiados de la variedad Negramoll se obtienen resultados similares, aunque en este caso las diferencias son menos acusadas.



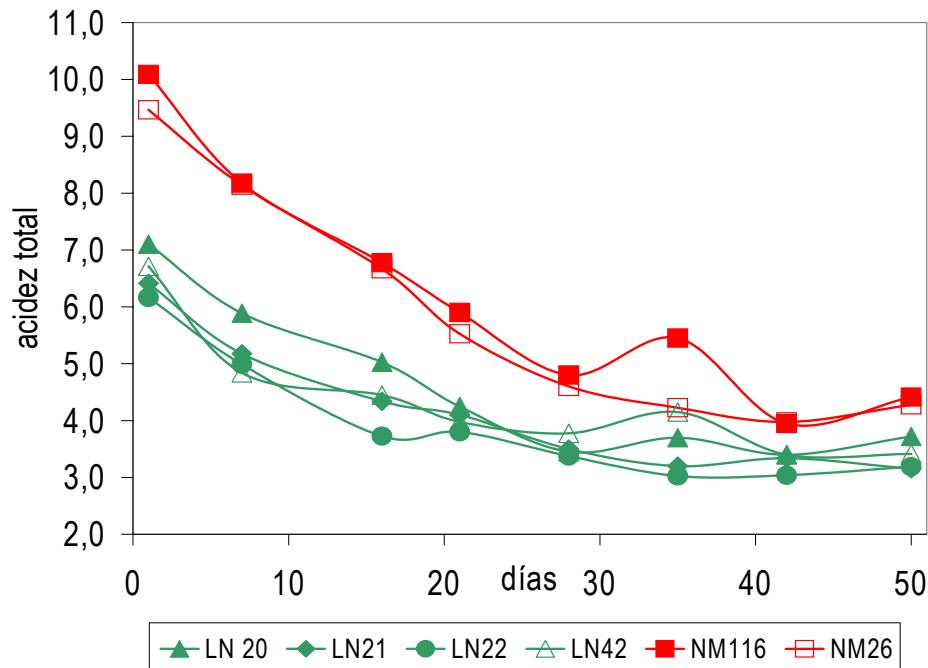
**Figura 2.** Evolución del pH desde el envero hasta la vendimia de diferentes clones de variedades de uva.

Fresno y López-Pérez (1996) encontraron que se produce una considerable disminución de la producción en los varietales afectados por el virus del enrollado de la vid. Esta disminución es progresiva a medida que pasan los años, por lo que la influencia del virus se va acentuando en sucesivas cosechas.

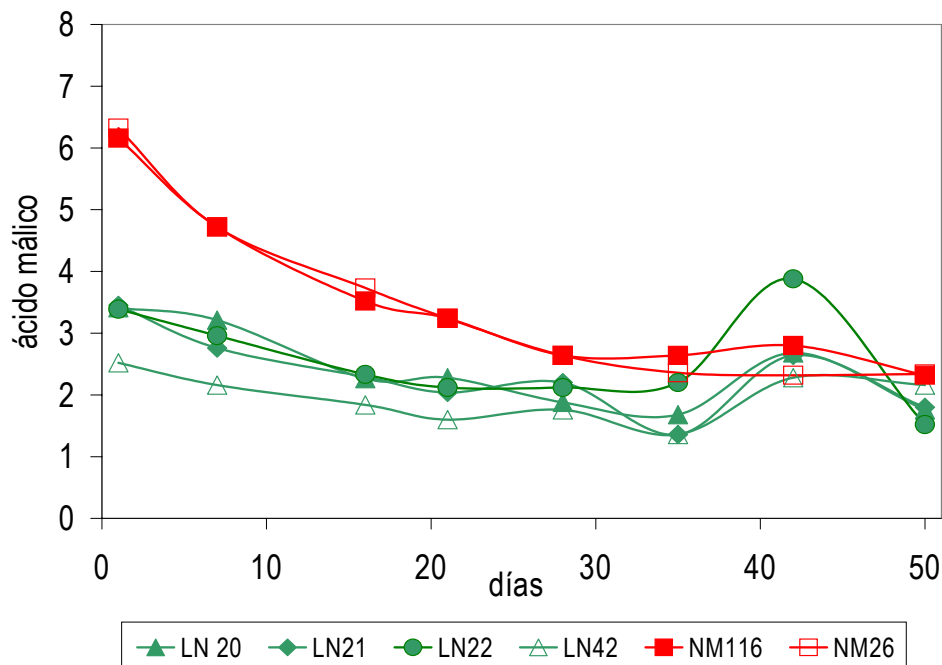
Respecto al estudio estadístico ANOVA realizado para los parámetros estudiados en el momento de la vendimia (Tablas 2 y 3) se observan diferencias significativas entre clones libres de virus y viróticos en la acidez total para la variedad Listán Negro, mientras que existen mayores diferencias para la Negramoll en los valores de pH, Acidez total y ácido málico. Estos valores, ponen de manifiesto, la heterogeneidad de clones de una misma variedad.

**Tabla 1.** Datos de producción de los diferentes clones en el momento de la vendimia.

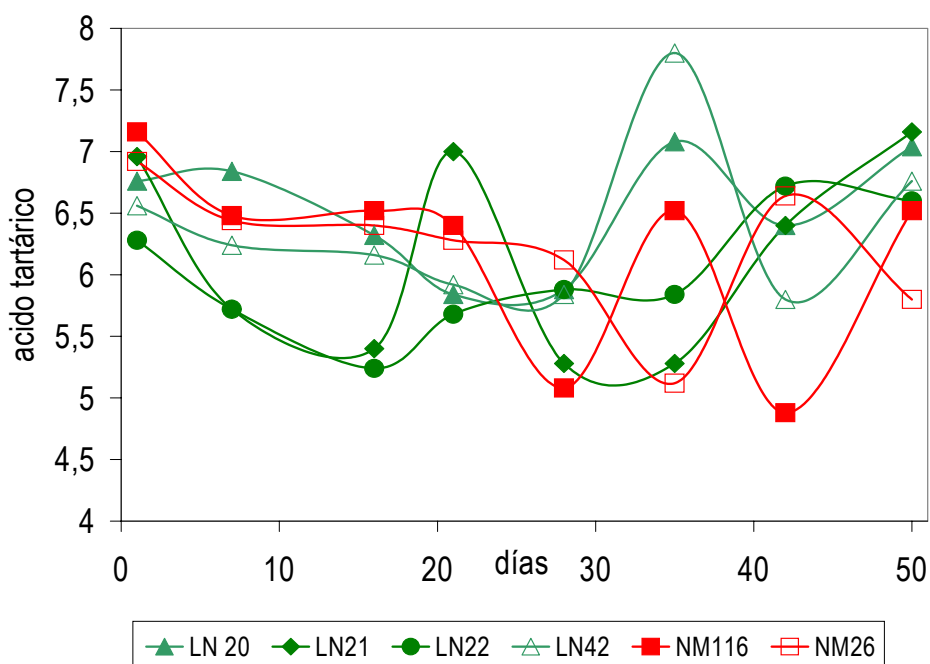
	L.N 20	LN 21	LN 22	LN 42	NM 116	NM 26
Producción media planta (kg)	6,13	7,08	8,09	9,36	6,60	7,10
Peso Racimo (g)	306,57	313,19	292,5	328,32	266,66	401,07
Nº Racimo planta	21,3	23,5	21,9	21,6	25,7	19,2
Nº medio de granos por racimo	143,92	133,84	132,95	175,57	122,32	167
Peso medio del grano (g)	2,13	2,34	2,2	1,86	2,18	2,4



**Figura 3.** Evolución de la acidez total (g ácido tartárico/l) desde el envero hasta la vendimia de diferentes clones de variedades de uva.



**Figura 4.** Evolución del ácido málico (g/l) desde el envero hasta la vendimia de diferentes clones de variedades de uva.



**Figura 5.** Evolución del ácido tartárico (g/l) desde el envero hasta la vendimia de diferentes clones de variedades de uva.

**Tabla 2.** Estudio estadístico ANOVA (test de Duncan) de los parámetros estudiados para los clones de la variedad de uva Listán Negro en el momento de la vendimia.

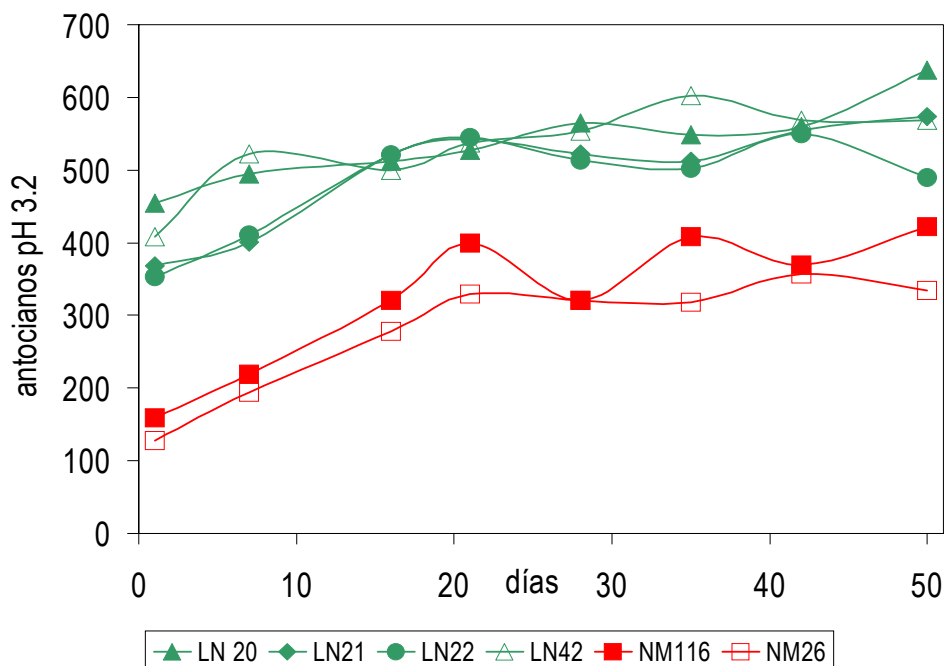
	LN 20	LN 21	LN 22	LN 42	F	Sig.
°Brix	22.01b	21.80a	22.01b	22.20c	675.238	0.000
pH	3.84b	3.93d	3.89c	3.77a	44.057	0.000
Acidez total (g ac.tart/l)	3,72b	3,2a	3,19a	3,41a	14.983	0.001
Ácido málico (g/l)	1,76b	1,8b	1,52a	2,16c	19.497	0.000
Ácido tartárico (g/l)	7.04c	7.16d	6.6a	6.76b	70.143	0.000

**Tabla 3.** Estudio estadístico ANOVA (test de Duncan) de los parámetros estudiados para los clones de la variedad de uva Negramoll en el momento de la vendimia.

	NM 116	NM 26	F	Sig
°Brix	20.6a	22.2d	384.000	0.000
pH	3.63b	3.56a	73.5	0.001
Acidez total (g ac. tart./l)	4,41b	4,28b	4.321	0.106
Ácido málico (g/l)	2,32a	2,34a	1.000	0.374
Ácido tartárico (g/l)	6.52b	5.8a	486.000	0.000

### RESULTADOS DEL ESTUDIO DE MADURACIÓN FENÓLICA

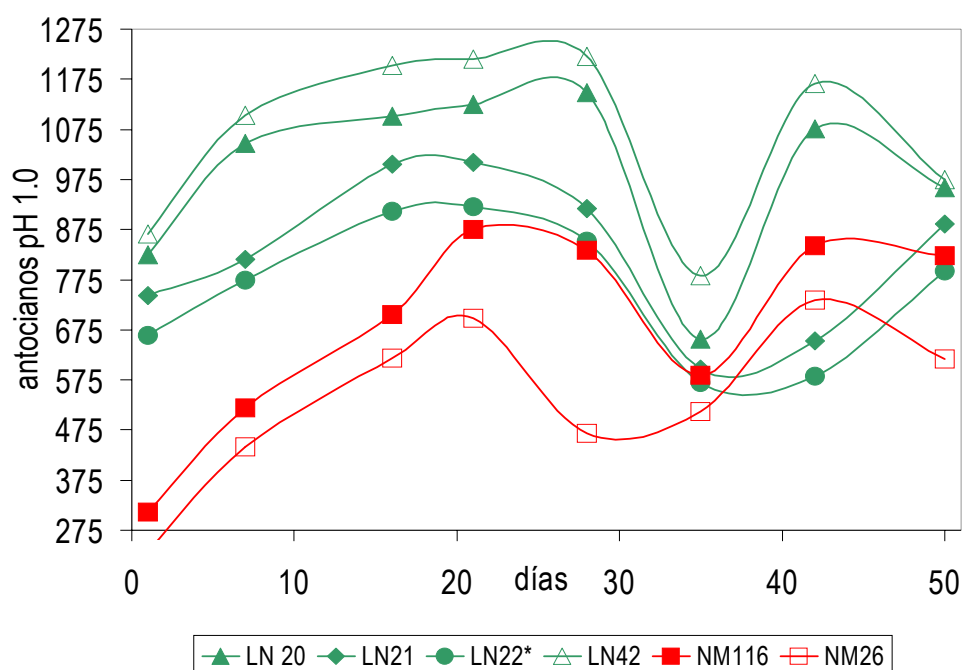
La figura 6 muestra los valores de antocianos a pH 3.2, en mg/ kg de uva, frente a días a partir de enero. Se observa un aumento progresivo a lo largo de la maduración de la cantidad de antocianos que son extraíbles durante la fermentación, con un mayor contenido para la variedad Listán Negro, presentando valores superiores a 300 mg en vendimia respecto a Negramoll. Aplicando un análisis de la varianza, ANOVA, no se detectaron diferencias significativas, para una misma variedad, entre los clones con y sin virus .



**Figura 6.** Evolución de antocianos a pH 3.2 (mg/kg de uva) desde el enero hasta la vendimia de los clones de dos variedades de uva.

El contenido de antocianos totales presentes en la uva (figura 7) es también superior para la variedad Listán Negro durante la maduración, aunque se observan valores similares a Negramoll a medida que se aproxima la vendimia. La evolución es variable, presentando un mínimo dos semanas antes de la vendimia aproximadamente. La vendimia se llevó a cabo con un grado de 22 °Brix, excepto para la NM116, que fue de 20.6.

En cuanto a la presencia del virus, existe una diferencia significativa a favor del clon libre de virus de la Listán Negro frente al conjunto de los clones del mismo varietal. En efecto, según la bibliografía consultada, existe una influencia negativa en el color debido a la presencia de virus. (Fresno. J. y López-Pérez. A. *Virosis de la Vid*, 1996). Sin embargo, la Negramoll presenta un comportamiento inverso, siendo el clon con virus el que presenta un potencial mayor en antocianos a pH1 frente al libre de virus. Esto puede deberse a las diferencias en el peso del grano de uva, más pequeño (2.18 g) en la NM116 que en la NM26 (2.40 g).



**Figura 7.** Evolución de antocianos a pH 1 (mg/kg de uva) desde el envero hasta la vendimia de los clones de dos variedades de uva.

La Negramoll presenta un índice de madurez celular (Ea) mayor durante casi toda la maduración de la uva (figura 8), lo que significa que los antocianos son menos extraíbles en la fermentación. Esto unido a un menor contenido de antocianos totales en la uva (antocianos a pH 1) explicaría la gran diferencia en la cantidad de antocianos extraíbles (antocianos a pH 3.2) observada entre las dos variedades de uva. La evolución es ligeramente descendente con un mínimo en el 6º muestreo (SAINT- CRICQ *et al.*, 1998).

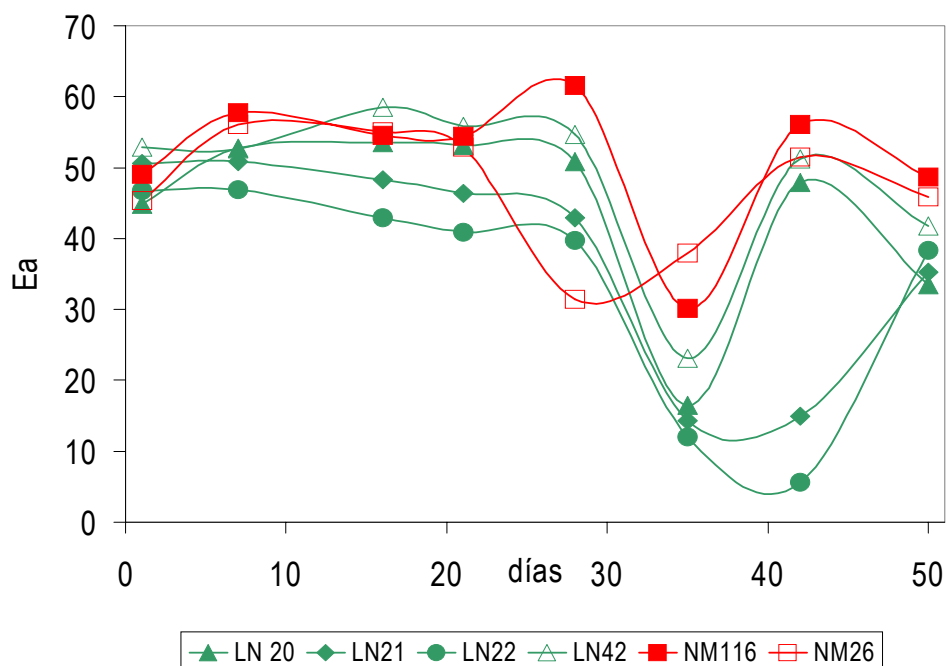
Saint- Cricq *et al* (1998), obtuvo valores similares a la Listán negro en el varietal Tempranillo en la Rioja, oscilando entre 38- 48. En cambio, el varietal Merlot en Burdeos y en la Rioja presenta valores de 54.5 y 54, respectivamente. González González J.L. *et al.* (2000), en la D.O. Tacoronte-Acentejo, coincide claramente con nuestro estudio, obteniendo en la

variedad Negramoll, un índice de madurez celular de 47.5 en vendimia, frente a la Listán, 37.15. Barrera González R. et al (2001), en la D.O. Tacoronte-Acentejo, en Negramoll obtuvo valores de 49.8 y en Listán negro de 43.38.

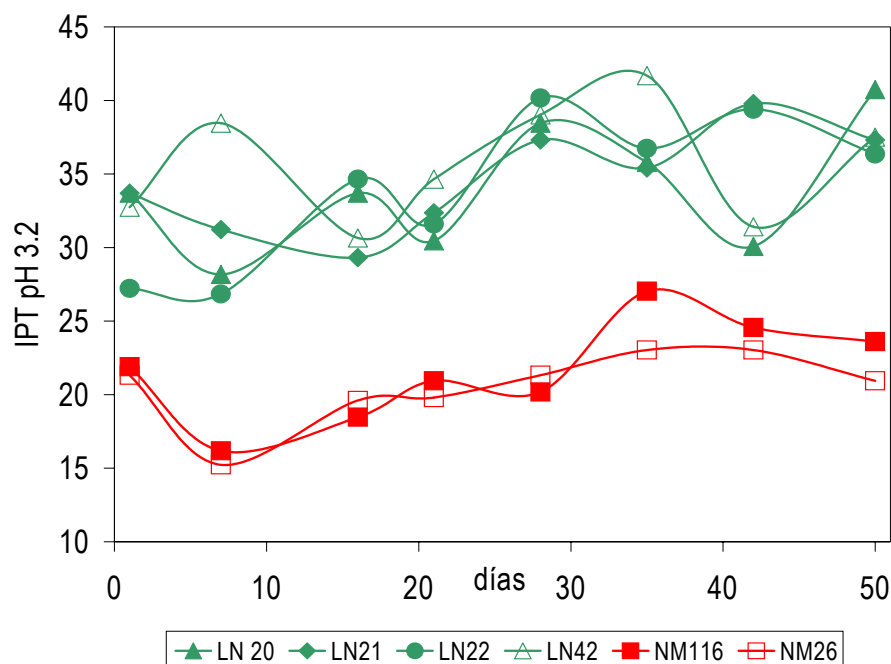
Asimismo, se observa un valor superior de Ea en el clon libre de virus de Listán Negro, por lo que las membranas de los hollejos presentarán una mayor barrera a la extracción de compuestos colorantes. En Negramoll no se presentan diferencias significativas.

La figura 9 muestra diferencias significativas entre variedades, en el índice de polifenoles totales, presentando la Listán Negro valores superiores. No se observan diferencias significativas en ningún clon debida al virus.

Un estudio realizado en la D.O. Tacoronte-Acentejo por González González J.L. et al. (2000), sobre varietales Listán negro y Negramoll, presentó resultados superiores a los nuestros en vendimia, siendo la Listán la más rica con un valor en D.O. 280 de 54.15, y en Negramoll de 30.7. Barrera González R. et al (2001), en Negramoll tuvo valores de 40.8, en Listán negro de 38.2 D.O. 280 en vendimia.



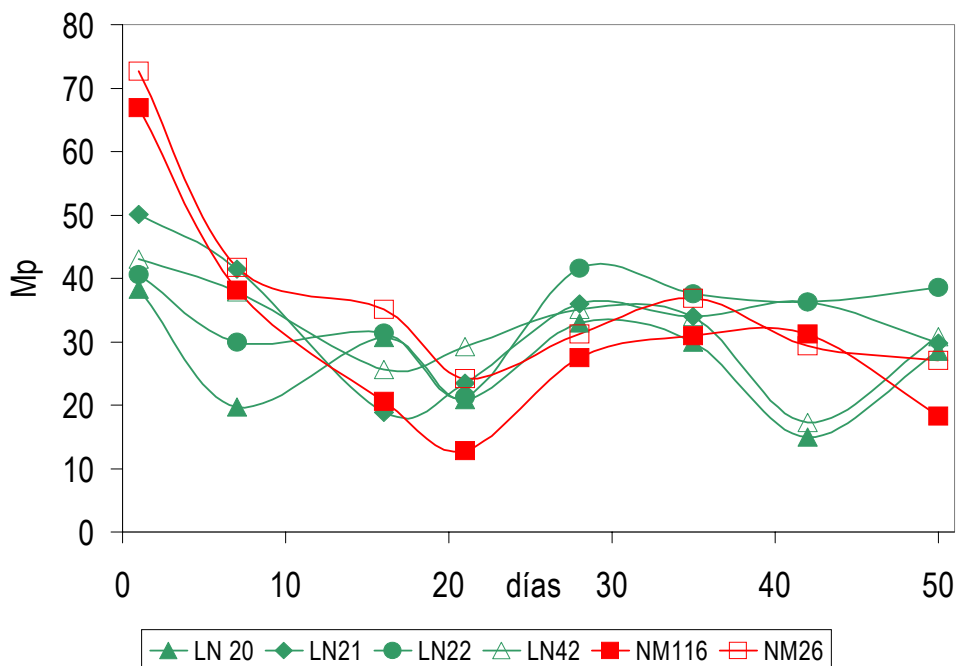
**Figura 8.** Evolución del índice de madurez celular desde el envero hasta la vendimia de los clones de dos variedades de uva.



**Figura 9.** Evolución del índice de polifenoles totales a pH 3.2 desde el envero hasta la vendimia de los clones de dos variedades de uva.

Mp representa el porcentaje de contribución de los taninos de pepitas, considerados como astrigentes, al contenido fenólico total de la uva. Se observa un Mp similar en las dos variedades de uva, con una tendencia descendente a lo largo de la maduración (figura 10). En general todas se agrupan formando un bloque que oscila en vendimia entre 20 y 40. En cuanto a la influencia del virus, no existen diferencias significativas entre los clones.

Saint-Cricq et al (1998), muestra una evolución descendente en la Mp. Encontraron para la variedad Merlot en Burdeos valores que oscilaban entre 14.5- 48.5, y para la variedad Tempranillo en la Rioja entre 37 y 50.



**Figura 10.** Evolución de la maduración fenólica de las pepitas (Mp) desde el enero hasta la vendimia de los clones de dos variedades de uva.

Como se observa en las tablas 4 y 5 sólo existen diferencias significativas entre clones libre de virus y viróticos en el contenido en antocianos totales de la uva y en su extractabilidad celular en el momento de la vendimia. Para la planta sin virus, la variedad Listán Negro muestra una cantidad superior de antocianos a pH 1 pero con mayor dificultad en su extracción durante la vinificación, mientras que la variedad Negramoll presenta un comportamiento inverso.

Igualmente, podemos observar aquí la heterogeneidad entre clones de una misma variedad.

**Tabla 4.** Estudio estadístico (test de Duncan) de los parámetros estudiados para los clones de la variedad de uva Listán Negro en la vendimia, atendiendo a la presencia-ausencia de virus.

	LN 2.0	LN 2.1	LN 2.2	LN 4.2	F	Sig.
Antocianos 3.2	638.540c	574.224b	490.213a	569.564b	81.346	0.000
Antocianos 1	960.877bc	887.921b	794.351a	977.801c	11.65	0.003
Ea	33.48a	35.29a	38.27bc	41.72b	5.186	0.028
IPT 3.2	40.821c	37.324b	36.370a	37.580b	95.766	0.000
IPT 1	46.162c	41.681a	40.269a	44.066b	28.249	0.000
Mp	28.50a	29.81a	38.50b	30.73a	26.806	0.000

**Tabla 5.** Estudio estadístico (test de Duncan) de los parámetros estudiados para los clones de la variedad de uva Negramoll en la vendimia, atendiendo a la presencia-ausencia de virus.

	NM 1.16	NM 2.6	F	Sig
Antocianos 3.2	423.214b	335.047a	190.244	0.000
Antocianos 1	825.336b	618.625a	95.467	0.001
Ea	48.71a	45.81a	4.210	0.109
IPT 3.2	23.780b	20.965a	157.896	0.000
IPT 1	34.081b	29.072a	96.217	0.001
Mp	18.23a	27.01b	108.842	0.000

## **CONCLUSIONES**

La influencia de la virosis en el momento de la vendimia se expresa principalmente en la producción media por planta, de manera que existe un rendimiento superior en las plantas libres de virus frente a las viróticas, con mayor repercusión en la variedad Listán Negro que en Negramoll.

La presencia de virus afecta negativamente a la acidez de las uvas con mayores valores de pH durante la maduración, siendo más susceptible la variedad Listán Negro que la Negramoll.

Listán Negro presenta, durante todo el periodo de maduración de la uva, mayor contenido en antocianos y polifenoles, totales y extraíbles en uva, con una membrana celular más degradada en el momento de la vendimia, que permite un paso más fácil de los compuestos colorantes al vino durante la vinificación. Sin embargo, para Negramoll se observa una menor madurez fenólica lo que obligaría para la extracción de los compuestos fenólicos en el vino, a una mayor intensidad de remontados en la primera parte de la

fermentación alcohólica respecto a Listán Negro, que necesitaría remontados más moderados con un máximo en mitad de fermentación.

Las dos variedades presentan una tasa de taninos de pepitas extraíbles medio-baja (Mp), por lo que sería aconsejable realizar remontados al final de la fermentación para aportar suficiente estructura y cuerpo al vino.

La presencia de virus en las plantas parece afectar de forma diferente a las dos variedades, incidiendo principalmente en el contenido de antocianos de las uvas y en su facilidad de extracción en el momento de la vendimia.

Un buen conocimiento de la madurez fenólica de la uva conduce a un buen control de la vinificación. La frecuencia de remontados, su intensidad, la temperatura y la duración de la fermentación son factores que se deben adaptar cada año a las uvas consideradas respetando su potencial fenólico.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Amrani Joutei K. y Glories Y. (1995), "*Tanins et anthocyanes: localisation dans la baie de raisin et mode d'extraction*", Revue Française d'Oenologie nº153, págs. 28-32.
- Armas Benítez, R., et al. (2002). "Varietales tintos minoritarios en la Denominación de Origen Tacoronte-Acentejo. Isla de Tenerife". Viticultura y Enología Profesional. Aceptado para publicación.
- Barrera González, R.(2001) "*Estudio del potencial enológico de las variedades tintas Tintilla y Castellana en la D.O. Tacoronte- Acentejo*", Trabajo de fin de carrera, Universidad de la Laguna.
- Francki, R.I.B. et al. (1991): "Fifth report of the International Committee of Taxonomy of Viruses", 62.
- Fresno. J. y López-Pérez. A. (1996). "*Virosis de la Vid. Valores de diagnóstico control*", Seminario de Fitopatología, Universidad de la Laguna.
- García Fernández, M.J.; Pomar García, M.; González Mendoza, L.A. y González-Monje, F. (1998): "Estudio de la evolución temporal de los caracteres madurativos de las cepas Listán Negro, Listán Blanco y Negramoll", Alimentaria Noviembre 98, 135-139.
- González González, J. L. "Evolución de los caracteres madurativos de las variedades tintas Listán negro y Negramolle". Viticultura y Enología Profesional. Octubre 2001.
- González González J.L. (2000), "*Comportamiento agronómico de la variedad Negramoll vs Listán Negro*", Trabajo de fin de carrera, Universidad de la Laguna.
- Hontoria Fernández, M.; Rodríguez de Acuña y Pego, F.; González Lorente, J.A. (1998):

"Selección clonal y sanitaria de las principales variedades locales de viña en la isla de Tenerife", II Jornadas Técnicas Vitivinícolas Canarias, Tenerife.

- Peña Iglesias A. (1988): "Virus and transmissible diseases of the grapevine", In: *Plant Protection problems and prospects of integrated control in viticulture*. Joint Research Centre, Ispra, 459-472.
- Saint-Cricq de Gaulejac, N., Vivas N. y Glories Y. (1998), "*Maturité phénolique: définition et contrôle*", *Revue Française d'Oenologie*, N°173, págs.22-25.
- Saint-Cricq N., Vivas N. y Glories Y. (1998), "*Apports récents a l'interprétation des critères de la qualité des vins rouges*", *Revue Française d'Oenologie* n°169, págs. 19-25.
- Zoecklein, B.W.; Fugelsang, K.C.; Gump, B.H. y Nury, F.S. (1994): "Wine Analysis and Production" Aspen Publishers, Inc. Maryland.