



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO PROTECTOR DE EXTRACTO DE ALGA COMERCIAL
SOBRE *Vitis vinífera* (L.) BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS
HÍDRICO**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magíster en Ciencias Agropecuarias

TOMÁS FELIPE VEGA CÓRDOVA

Guía de Tesis

Claudio Pastenes Villarreal

**SANTIAGO- CHILE
2022**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

EFEECTO PROTECTOR DE EXTRACTO DE ALGA COMERCIAL SOBRE
***Vitis vinífera* (L.) BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
 Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias.

TOMÁS FELIPE VEGA CÓRDOVA

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTOR DE TESIS/AFE		
Claudio Pastenes Villarreal	6,6	6,6
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.		
Marco Garrido	6,2	6,2
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.		
Rodrigo Callejas	6,1	6,1
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.		

Santiago, Chile
 2022

En agradecimiento a mis padres quienes se han sacrificado en sobremanera por entregarme una buena educación y formación. También a mi hermana Valeria y a mi primo Mauricio, por ayudarme a crecer enormemente como persona y por ser el apoyo emocional y motivacional que necesité para concluir esta etapa.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	8
Hipótesis.....	11
Objetivo.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS	12
Lugar de estudio.....	12
Material biológico	12
Tratamientos y diseño de experimentos.....	12
Manejo del experimento.....	13
Análisis estadístico.....	15
RESULTADOS.....	16
Potenciales hídricos.....	16
Variedad Cabernet Sauvignon.....	16
Variedad Chardonnay.....	18
Fotosíntesis neta.....	21
Variedad Cabernet Sauvignon.....	21
Variedad Chardonnay.....	22
Transpiración.....	24
Variedad Cabernet Sauvignon.....	24
Variedad Chardonnay.....	25
Conductancia estomática.....	26
variedad Cabernet Sauvignon	26
Conductancia estomática en la variedad Chardonnay.....	28
Parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila	30
Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm) en la variedad Cabernet Sauvignon.....	30
Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm) en la variedad Chardonnay. ..	30
Quenching fotoquímico (qP) en la variedad Cabernet Sauvignon.....	31
Quenching fotoquímico (qP) en la variedad Chardonnay.....	32
Quenching no fotoquímico (NPQ) en la variedad Cabernet Sauvignon	32

Quenching no fotoquímico (NPQ) en la variedad Chardonnay	33
Contenido de clorofila.....	34
Variedad Cabernet Sauvignon.....	34
Variedad Chardonnay.....	35
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES	42
LITERATURA CITADA.....	43
ANEXOS Y APÉNDICES.....	48

Índice de figuras

Figura 1 Potencial hídrico de pre-alba Cabernet Sauvignon.....	14
Figura 2 Potencial hídrico de tallo Cabernet Sauvignon.....	15
Figura 3 Potencial hídrico de hoja Cabernet Sauvignon.....	15
Figura 4 Potencial hídrico de pre-alba Cabernet Sauvignon.....	16
Figura 5 Potencial hídrico de tallo Chardonnay.....	17
Figura 6 Potencial hídrico de hoja Chardonnay.....	18
Figura 7 Asimilación neta de CO ₂ Cabernet Sauvignon.....	19
Figura 8 Asimilación neta de CO ₂ Chardonnay.....	20
Figura 9 Tasa de transpiración Cabernet Sauvignon.....	21
Figura 10 Tasa de transpiración Chardonnay.....	23
Figura 11 Conductancia estomática Cabernet Sauvignon.....	24
Figura 12 Conductancia estomática Chardonnay.....	26
Figura 13 Rendimiento cuántico del fotosistema II Cabernet Sauvignon.....	27
Figura 14 Rendimiento cuántico del fotosistema II Chardonnay.....	28
Figura 15 Quenching o apagamiento fotoquímico Cabernet Sauvignon.....	28
Figura 16 Quenching o apagamiento fotoquímico Chardonnay.....	29
Figura 17 Quenching no fotoquímico o NPQ Cabernet Sauvignon.....	30
Figura 18 Quenching no fotoquímico o NPQ Chardonnay.....	30
Figura 19 Contenido de clorofila Cabernet Sauvignon.....	31
Figura 20 Contenido de clorofila Chardonnay.....	32

RESUMEN

La forma de acción y efectos que tienen los extractos de algas hechos a base de *Ascophyllum nodosum* (ANE) sobre la resistencia al estrés hídrico en plantas de vid vinífera, no han sido claramente dilucidados. En este estudio se determinó el efecto de aplicaciones de ANE sobre dos variedades de vid vinífera, con diferente sensibilidad estomática, Sauvignon (isohídrico) y Chardonnay (anisohídrico), sometidos a estrés hídrico. Los potenciales hídricos (Ψ), la asimilación neta de CO₂ (AN), el apagamiento no fotoquímico (NPQ) y el rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (Fv/Fm) fueron evaluados para determinar fotosíntesis y fotoinhibición, más no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros, demostrando un efecto insuficiente del extracto aplicado sobre las plantas sometidas a un estrés hídrico severo.

Palabras clave: *Ascophyllum nodosum*, fotosíntesis, fluorescencia de clorofila, sensibilidad estomática, vid vinífera,

ABSTRACT

It has not been clearly elucidated yet the form of action and effects that the *Ascophyllum nodosum* extracts (ANE) got on water stress of grapevine. This study determined the effect of ANE applications on two grapevines cultivars, with different stomatal sensitivity, Cabernet Sauvignon (isohydric) and Chardonnay (anisohydric), subjected to water stress. Water potentials (Ψ), net CO₂ assimilation (AN), non-photochemical quenching (NPQ), and photosystem II maximum quantum yield (Fv/Fm) were evaluated for photosynthesis and photoinhibition, but no significant differences were found. Demonstrating an insufficient effect of the extractor applied on plants subjected to severe water stress.

Keywords: *Ascophyllum nodosum*, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, stomatal sensitivity, grapevine,

INTRODUCCIÓN

La vitivinicultura es una industria de importancia económica y cultural tanto a nivel nacional como mundial. En Chile la superficie total destinada a producción de vid, (*Vitis vinifera L.*) con fines vitivinícolas, es de aproximadamente 137.375 ha y se registra un volumen exportado de 456.634.097 L durante el año 2018 (ODEPA, 2019). Esta industria se ha visto enfrentada a un nuevo contexto de cambio climático y a un mercado con mayor conciencia medioambiental, cuyo sector de producción orientado hacia una agricultura más orgánica y amigable con el medio ambiente ha crecido los últimos años (Macarena y Recabarren, 2018).

El cambio climático y el ser humano como principal causante de los aumentos de los gases de efecto invernadero ya son un hecho (IPCC, 2021). Según estudios realizados en la universidad de Cambridge, para finales del siglo es probable que algunas regiones áridas y semiáridas de latitudes medias experimenten sequedad (IPCC, 2014). La disminución del recurso hídrico genera una fuerte necesidad a nivel mundial por gestar nuevas estrategias y tecnologías que ayuden a sobrellevar estas limitantes de producción agrícola (IPCC, 2014).

Además, el uso de la técnica de riego deficitario controlado (RDC) es una práctica habitual en el campo de la vitivinicultura, que tiene como fin generar un aumento en la concentración de una serie de compuestos relacionados con la organoléptica y la calidad del vino (Romero y Martínez-Cutillas, 2012). Sin embargo, tanto el estrés hídrico, por temperatura y salinidad, pueden ocasionar una disminución en el rendimiento de plantaciones con fines productivos (Khan *et al.*, 2009).

Por otro lado, las algas forman una parte importante de los ecosistemas formados en las costas marinas y han destacado en diversos usos como fuentes de alimento, materias primas industriales y aplicaciones terapéuticas y botánicas durante siglos (Khan *et al.*, 2009). Se ha informado que los extractos de algas, específicamente procedentes de *Ascophyllum nodosum*, promueven el crecimiento, el rendimiento y aumentan la calidad en muchos cultivos, siendo capaces de desencadenar rutas metabólicas específicas en plantas tratadas y proporcionar compuestos orgánicos, que tienen diversos efectos en el metabolismo de las plantas (Frioni *et al.*, 2018). Se ha sugerido que la aplicación de este producto en determinadas especies vegetales puede ser utilizada con diversos fines, tales como; la germinación y el establecimiento temprano de las semillas, el aumento en el rendimiento de los cultivos, elevar la resistencia al estrés biótico y abiótico, y aumentar la vida útil en postcosecha de productos perecederos (Khan *et al.*, 2009). Si bien los efectos de estos productos han sido

estudiados, el método de acción bioquímico de estos y su efectividad en distintos campos es aún desconocido en varias especies (Khan *et al.*, 2009).

Un estudio realizado en la Universidad de Florida, sobre aplicaciones de extractos de algas vía foliar, en naranjos con estrés hídrico, mostraron que aquellas plantas a las cuales se les aplicó el extracto de algas tuvieron un crecimiento total significativamente mayor a aquellas plantas sin aplicaciones (Spann y Little, 2011). Otro estudio realizado en Canadá, con aplicaciones de extractos de algas en cultivos de soja vía riego, señalan que existe un incremento significativo de la tolerancia al estrés hídrico en aquellas plantas tratadas con la aplicación, con respecto a aquellas que no fueron tratadas (Shukla *et al.*, 2018).

Santaniello *et al.* (2017), en un estudio que se realizó sobre aplicaciones de extracto de *Ascophyllum Nodosum* o ANE por sus siglas en inglés, en *Arabidopsis*, señalaron que, posterior a la aplicación foliar de un extracto de algas, se indujo un cierre parcial de estomas, lo cual estuvo vinculado a cambios en los niveles de expresión de genes asociados a las vías de respuesta del ácido abscísico (ABA) y de sistemas antioxidantes. Las plantas tratadas con el extracto fueron capaces de mantener un fuerte control estomático, manteniendo valores altos tanto en la eficiencia de uso del agua, como de la conductancia del mesófilo. Todo lo anterior sumado a una preactivación del sistema de defensa antioxidante y un mecanismo de disipación de energía más eficiente, que aparentemente resulta en menores daños irreversibles al aparato fotosintético. De esta forma, el extracto podría ser capaz de aclimatar las plantas al estrés entrante, promoviendo una mayor tolerancia a la deshidratación y una mejor eficiencia de uso del agua.

En cuanto a aplicaciones de ANE en vid vinífera, se ha observado en diversos estudios que estas han generado efectos sobre diversas características de la planta y la baya, tales como; el rendimiento del cultivo (Taskos *et al.*, 2019), cambios en su composición fenólica, contenido de aminoácidos (el cual es un factor importante para la nutrición de levaduras durante la fermentación) (Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2020), además de resistencia a estrés biótico y abiótico (Frioni *et al.*, 2019; Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2020; Salvi *et al.*, 2019).

Por un lado, Salvi *et al.* (2019) señalaron que tratamientos de vid con aplicaciones de ANE tuvieron efectos significativos sobre el intercambio de gases de las hojas, la máxima eficiencia del fotosistema II y el equilibrio de la madurez de la uva. Además, señalaron que, por primera vez, se evidenció un efecto potencial de los extractos de alga para promover una mayor tolerancia al estrés en vides.

Por otra parte, Taskos *et al.* (2019) señalan que la interacción entre la aplicación del extracto de algas AZAL5 y la fertilización con nitrógeno (N), incrementó; el número de bayas en un 35%, el rendimiento en un 26%, la clorofila del dosel y los contenidos de N en la baya, en plantas de vid del cv. Merlot, en contraste con las plantas control. Además, Frioni *et al.* (2019) indicaron que las concentraciones de antocianinas y fenoles aumentaron un 10,4% y 24,5% respectivamente en las bayas de plantas de vid del cv. Sangiovese, tratadas con un extracto a base de *A. nodosum*, en contraste con las plantas control. En adición, Frioni *et al.* (2019) advirtieron el efecto protector contra el ataque de *Botritis cinerea* en las bayas de las plantas tratadas con ANE, similar a lo que observaron posteriormente Gutierrez-Gamboa *et al.* (2020) y Salvi *et al.* (2019). A su vez, Gutierrez-Gamboa *et al.* (2020), sugirió que los contenidos de aminoácidos, presentes en el mosto, procedente de vides del cv. Tempranillo, incrementaron a causa de la aplicación foliar de ANE en las plantas. En general, todas estas evaluaciones convienen en que los efectos ocasionados por las aplicaciones de este bioestimulante están relacionados con una modulación de metabolismos específicos de las plantas tratadas y no en el simple aporte de nutrientes y compuestos químicos. Esta idea ha sido respaldada por distintos análisis transcriptómicos relacionados con estos efectos fenológicos (Frioni *et al.*, 2019; Gutierrez-Gamboa *et al.*, 2020; Santanirillo *et al.*, 2017; Shukla *et al.*, 2018)

Hipótesis

Plantas de vid, bajo condiciones de estrés hídrico, sometidas a aplicaciones de un extracto de alga comercial, tendrán un mejor desempeño fisiológico comparado con aquellas plantas sin aplicación, independiente de la sensibilidad estomática de la variedad.

Objetivo

Determinar el efecto de aplicaciones de extractos de alga, en variedades de vid iso- y anisohídricas bajo estrés hídrico sobre la fotosíntesis, conductancia estomática, transpiración, clorofilas y daño del fotosistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El ensayo se llevó a cabo en las dependencias del Estación Experimental Campus Antumapu en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la comuna de La Pintana, Provincia de Santiago, Región Metropolitana, Chile (33°34'5.99"S, 70°38'12.43"O). Este ensayo se realizó desde el mes de diciembre de 2018 hasta el mes de febrero del 2019. La zona se caracteriza por poseer un clima mediterráneo, con una marcada concentración de las precipitaciones en invierno y veranos cálidos y secos.

Las determinaciones y estudios se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fisiología del Estrés en Plantas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Material biológico

Se trabajó con treinta plantas francas de 20 años, plantadas en campo con un marco de plantación de 1,5 x 2,0 m y conducidas por espaldera, con orientación este-oeste de las variedades Cabernet Sauvignon (isohídrica) y Chardonnay (anisohídrica) (Hochberg *et al.*, 2013; Pou *et al.*, 2012). Las vides crecieron sobre suelo de la Serie Santiago, Familia Franca gruesa, sobre arenosa esqueletal (CIREN, 1996), tuvieron el mismo manejo agronómico y fueron regadas por goteo (4 L hr⁻¹). A un grupo de plantas de cada variedad le fue aplicado un extracto de algas comercial, en base a *Ascophyllum nodosum*.

Tratamientos y diseño de experimentos

Se realizaron dos ensayos independientes, con un diseño en bloques completamente aleatorizado (DBCA), el cual se bloqueó de acuerdo con las diferencias de vigor entre las plantas, ya que estas eran uniformes a causa de una probable diferencia en la física del suelo. Para cada variedad (Cabernet Sauvignon y Chardonnay) se establecieron bloques con tres tratamientos cada uno y con cinco repeticiones, de tal forma que cada bloque correspondió a una repetición, siendo una planta una unidad experimental.

Los tratamientos consistieron en: plantas bien regadas como tratamiento control (C), con una reposición cercana a la ETc, de tal manera que mantuvieron potenciales de tallo promedio mayores a -0.9 MPa; plantas con déficit hídrico, con suspensión del riego en estado fenológico aproximado a envero (WS); plantas con déficit hídrico y aplicación de extracto de algas (WS+St), para ambas variedades.

Manejo del experimento

En el ensayo, correspondiente a las plantas de Cabernet Sauvignon, el riego se mantuvo en las plantas control (C) durante 8 horas al día, 3 días a la semana, con goteros de 4 L h⁻¹, con un total de 160 m³ dia⁻¹ ha⁻¹. A aquellas plantas que fueron sometidas a estrés hídrico (WS y WS+St) se les suspendió el riego una semana después de haber comenzado el ensayo, el día 18 de enero, durante el envero, a través de la aplicación de tapagoteros, manteniéndose en esa condición hasta que las plantas alcanzaron valores de potencial de tallo de aproximadamente -1,2 MPa, el 27 de febrero, día en que se recuperó el riego a frecuencia y tiempo similares al control. Con respecto al ensayo realizado en las plantas de la variedad Chardonnay la metodología fue similar a la llevada a cabo en el ensayo descrito anteriormente, restituyendo el riego a las plantas con estrés cuando alcanzaron potenciales de tallo cercanos a los -1,2 MPa. A causa de que esta variedad alcanzó potenciales de tallo muy negativos en apenas una semana (lo cual generó una senescencia temprana en las plantas y una reducción de los días de medición) se decidió repetir los tratamientos WS y WS+St con otro grupo de plantas y con las mismas condiciones, el día 13 de febrero sin realizar una restitución del riego ni mediciones después de haber alcanzado los -1,2 MPa.

Desde una semana previa al inicio del estrés, se aplicó extracto de algas Stimplex a las plantas del tratamiento WS+St en ambos cultivares, esto cada 7 días hasta terminado el periodo de estrés hídrico. Este fue aplicado vía foliar con una bomba de espalda, diluido en agua a una concentración del 0,5% v/v de acuerdo con lo indicado en las instrucciones de uso del extracto. Las plantas del tratamiento C y WS se mantuvieron sin aplicaciones de ningún tipo.

Las mediciones se llevaron a cabo una vez a la semana, a partir del 28 de enero. Se realizaron mediciones de potencial hídrico de pre-alba (Ψ_{pd}), entre las 5:00 y las 6:00 de la mañana, en completa oscuridad, en hojas no dañadas ni senescentes y procedentes de los mismos brotes en los que se realizó el resto de las mediciones. Los potenciales hídricos de tallo (Ψ_{stem}) y hoja (Ψ_{leaf}) se realizaron a medio día solar, entre 14:00 y 15:00. Estas mediciones se llevaron a cabo por medio de una cámara de presión de acuerdo con Scholande *et al.* (1965) y Turner (1988). Para las mediciones de Ψ_{stem} ,

las hojas fueron cubiertas con bolsas plásticas aluminizadas (PSM Instrument, USA) una hora antes de la medición con el fin de evitar la transpiración y así equilibrar los potenciales con los potenciales hídricos del tallo. Para los potenciales de hoja, se determinó el potencial hídrico inmediatamente después de haber retirado las hojas.

También se realizaron ciclos de medición de fotosíntesis neta (AN), conductancia estomática (g_s) y transpiración (E) cada dos horas, las 9:00, 11:00, y 13:00 horas, sobre brotes completamente extendidos posicionados en la cara norte de la hilera, en hojas bien expuestas y se llevaron a cabo durante todo el ensayo, desde previo al estrés hasta recuperación del riego, a través de un analizador infrarrojo de gases, IRGA (ADC, UK).

Se estimó fotoinhibición, quenching fotoquímico y no fotoquímico de la fluorescencia de clorofilas por medio de un fluorómetro de pulso modulado (Hansatech, FMS1, UK), a las 7:00 y a las 14:00 horas. La fotoinhibición se estimó a través del parámetro F_v/F_m , por medio de las variables de fluorescencia mínima (F_0), máxima (F_m) y variable (F_v). Para esto las hojas fueron previamente adaptadas a la oscuridad, durante una hora, a través de pinzas especialmente diseñadas por el fabricante del equipo. Al abrir las pinzas fueron sometidas a un haz de luz inicial de muy baja intensidad ($0,1 \mu\text{mol de fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$) obteniendo F_0 . Inmediatamente después, se expuso el tejido foliar adaptado a la oscuridad a un destello de luz de saturación (longitud de onda de 650 nm, intensidad $> 3000 \mu\text{mol (m}^{-2}\text{s}^{-1})$), momento en que el instrumento proporcionó la relación F_v/F_m , un indicador de la eficiencia máxima del PSII, donde F_m = máximo de fluorescencia sobre la curva de inducción; F_v = diferencia entre F_m y F_0 , donde F_0 es la fluorescencia medida en la hoja en pre alba (Srivastava y Strasser, 1995). Esta medición se realizó a las 7:00 horas.

Posteriormente las hojas en que se realizaron las mediciones de F_v/F_m fueron sometidas a un destello de luz actínica ($680 \mu\text{mol de fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$) obteniendo así el valor de F_s y de forma inmediata se sometieron a una luz de saturación ($3000 \mu\text{mol de fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$) adquiriendo el valor de F_m' . Finalmente, después de haber oscurecido nuevamente la muestra de hoja durante 30 segundos, esta se sometió a un haz de luz roja lejana de baja intensidad ($0,1 \mu\text{mol de fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$) obteniendo F_0' . Estas mediciones se efectuaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas. Con estos datos se pudieron determinar ΦPSII , qP, qN y NPQ a través de las siguientes ecuaciones:

$$\Phi\text{PSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$$

$$qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_0')$$

$$qN = 1 - (F_m' - F_0') / (F_m - F_0)$$

$$\text{NPQ} = (F_m - F_m') / F_m$$

Asimismo, cada semana se recolectaron hojas de cada unidad experimental y se congelaron para posteriormente determinar contenido de clorofila de los tratamientos. Para realizar la extracción de clorofila se pesaron 0,1 g de hoja fresca, la cual se molió en un mortero con 5 mL de acetona fría al 80%. Luego se procedió a centrifugar la muestra y leer la absorbancia de los pigmentos en un espectrofotómetro (SHIMADZU, UV-1601). Las concentraciones de clorofila se calcularon a partir de las siguientes fórmulas de acuerdo con Lichtenthaler y Buschmann (2001):

$$Ca (\mu\text{g/ml}) = 12,25 (A663) - 2,79 (A646)$$

$$Cb (\mu\text{g/ml}) = 21,50 (A646) - 5,10 (A663)$$

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados de acuerdo con un diseño en bloque completamente aleatorizado (DBCA), mediante análisis de varianza (ANDEVA), previa verificación de supuestos de independencia, homogeneidad de varianza y distribución normal. Los análisis fueron hechos para cada fecha de medición de manera independiente.

En caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher, con un nivel de significancia del 5%.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico InfoStat (InfoStat, 2008).

RESULTADOS

Potenciales hídricos.

Variedad Cabernet Sauvignon.

El riego fue suspendido durante 10 días previo a realizar las mediciones. Posteriormente a la suspensión del riego, se observaron valores de potencial de pre-alba significativamente menores en los tratamientos WS y WS+St comparado con el tratamiento C en todos los días (Figura 1). En el tratamiento C los valores promedio mínimos de pre alba observados fueron de -0,18 MPa, durante el primer día de medición.

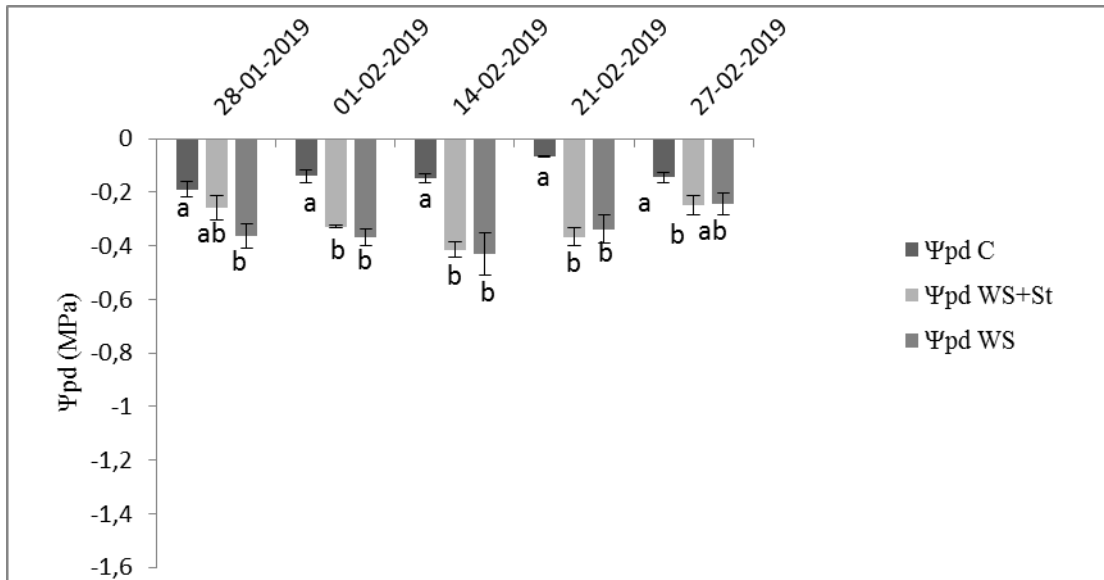


Figura 1. Potencial hídrico de pre-alba de las plantas Cabernet Sauvignon en las distintas fechas del ensayo. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos dentro de cada día de medición, no entre fechas, según prueba LSD Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Con respecto al Ψ_{steam} (Figura 2), se observaron valores significativamente menores en los tratamientos WS y WS+St en comparación al tratamiento C, a excepción del primer día de medición, alcanzando valores de hasta -1,2 MPa y -1,3 MPa el día 14 de febrero en WS y WS+St respectivamente. Los valores mínimos de Ψ_{steam} observados en el

tratamiento C fueron de -1,2 MPa, durante el primer día de medición, aumentando hasta un valor promedio de -0,6 MPa, el día 21 de febrero. Cabe destacar que los valores de Ψ_{steam} se mantienen relativamente constantes a lo largo de todo el ensayo, excepto en el tratamiento control, en el que se aprecia un aumento a lo largo del tiempo.

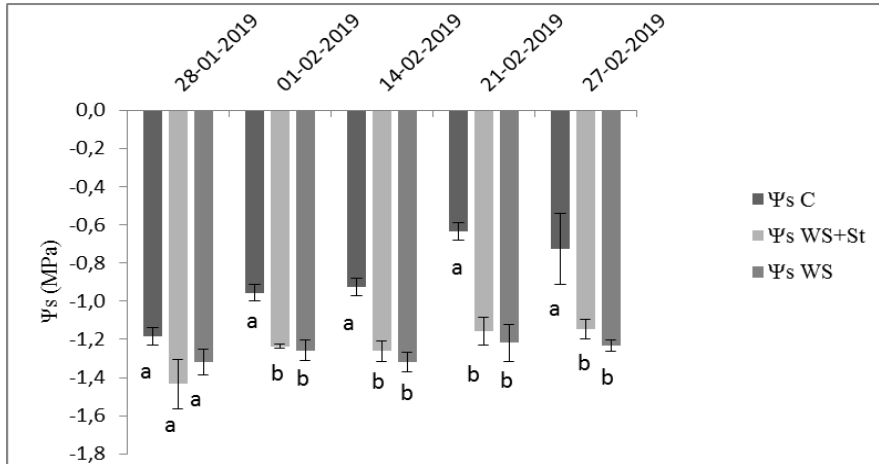


Figura 2. Potencial hídrico de tallo en las plantas Cabernet Sauvignon en las distintas fechas del ensayo. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos dentro de cada día de medición y no entre fechas según prueba LSD Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

En cuanto al Ψ_{leaf} (Figura 3), se encontraron valores significativamente más negativos en WS y WS+St con respecto al tratamiento C, en todos los días de medición, a excepción del día 14 de febrero, donde no hubo diferencias significativas, y el día 27 de febrero, el cual correspondió a la medición posterior a la restitución del riego. Aquí, solo se encontró diferencia significativa entre los tratamientos C y WS. Los tratamientos WS y WS+St alcanzaron valores promedio mínimos de -1,3 MPa, los que ocurrieron durante el primer día de medición, mientras que los valores mínimos observados en el tratamiento C fueron de -1 MPa y con valores máximos de -0,85 MPa.

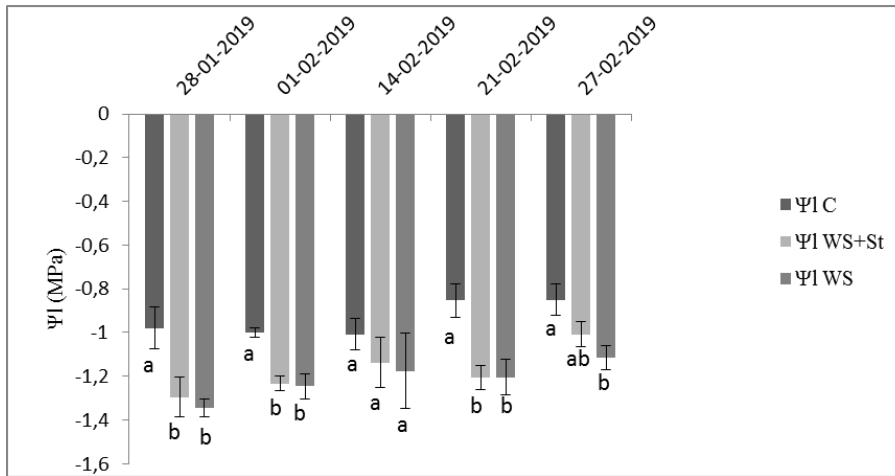


Figura 3. Potencial hídrico de hoja en las plantas Cabernet Sauvignon en las distintas fechas del ensayo. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos dentro de cada día de medición y no entre fechas según prueba LSD Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Variedad Chardonnay.

En el primer ensayo realizado en la variedad Chardonnay, después de los días de suspensión de riego se observaron valores de Ψ_{pd} significativamente menores en WS y WS+St en comparación al tratamiento C, alcanzando valores de hasta $-0,8$ MPa en WS y $-0,76$ MPa en WS+St, mientras que los valores mínimos alcanzados por el tratamiento control fueron de $-0,3$ MPa (Figura 4). No se observaron diferencias significativas el día 13 de febrero, el cual corresponde a la medición realizada una semana después de restablecer el riego (Figura 4).

Por otro lado, en el segundo ensayo realizado en esta variedad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas y los valores promedio mínimos de Ψ_{pd} alcanzados fueron de $-0,26$ Mpa (Figura 4).

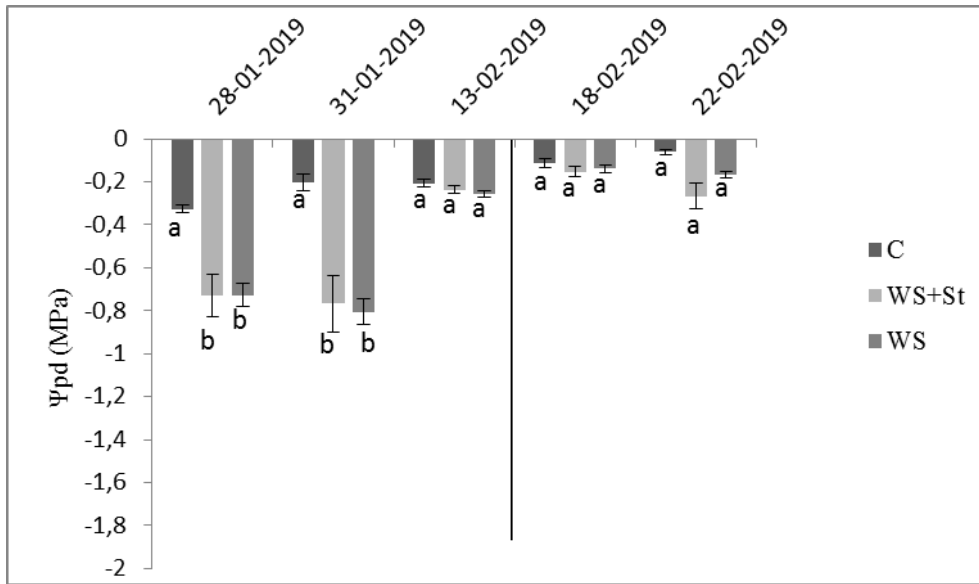


Figura 4. Potencial hídrico de pre-alba de las plantas Chardonnay en las distintas fechas del ensayo. Línea vertical en el grafico indica la finalización de las mediciones en el primer ensayo y el inicio en el segundo ensayo realizados en la variedad. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos dentro de cada día de medición y no entre fechas según prueba LSD Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Por otra parte, durante el primer ensayo, se observaron valores de Ψ_{steam} significativamente menores en WS y WS+St en comparación al tratamiento C, pero solamente en el segundo día de medición, con valores promedio aproximados de Ψ_{steam} de -1,6 Mpa y -1,7 MPa en los tratamientos WS+St y WS respectivamente, mientras que, en el tratamiento C, los valores mínimos observados fueron de -1,2 Mpa aproximadamente (Figura 5). No se observaron diferencias significativas el día 13 de febrero, el cual corresponde a la medición realizada una semana después de restablecer el riego (Figura 5).

Lo mismo que para el caso de Ψ_{pd} , durante el segundo ensayo no se encontraron diferencias significativas en ninguna fecha de medición para Ψ_{steam} , observándose valores mínimos de -1 Mpa (Figura 5).

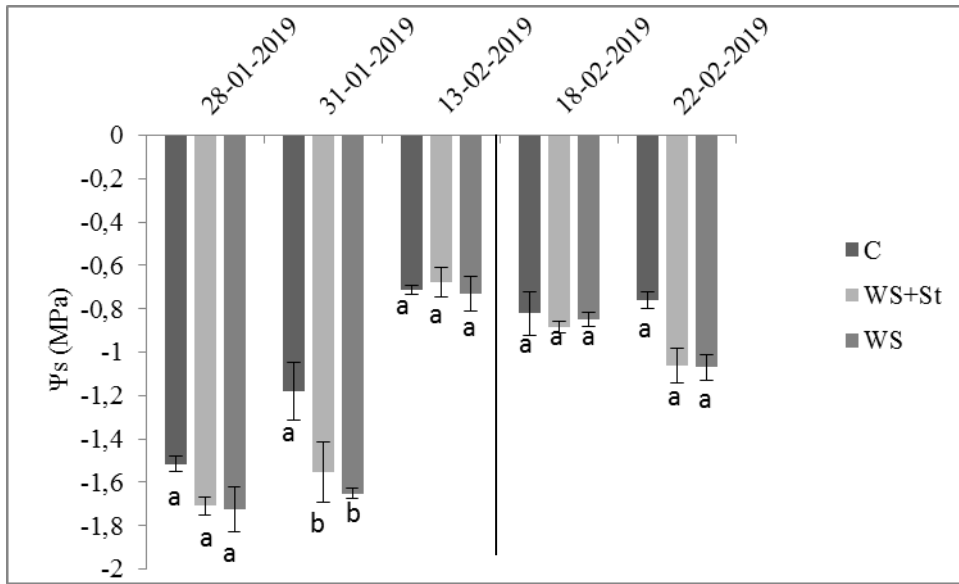


Figura 5. Potencial hídrico de tallo de las plantas Chardonnay en las distintas fechas del ensayo. Línea vertical en el grafico indica la finalización de las mediciones en el primer ensayo y el inicio en el segundo ensayo realizados en la variedad. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos dentro de cada día de medición y no entre fechas según prueba LSD Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

En cuanto a los Ψ_{leaf} del primer ensayo, se observaron valores significativamente más bajos en WS en contraste con C en los primeros dos días de medición, observándose valores promedio mínimos de -1,6 MPa y -1,2 MPa en los tratamientos WS y C, respectivamente (Figura 6). No se observaron diferencias significativas el día 13 de febrero, el cual corresponde a la medición realizada una semana después de restablecer el riego (Figura 6).

En el segundo ensayo, por otra parte, se observaron valores de Ψ_{leaf} significativamente menores en WS y WS+St en comparación con el tratamiento C, con valores promedios de -1 MPa en el tratamiento WS, -0,9 MPa en el tratamiento WS+St y -0,63MPa en C, esto durante las mediciones del 18 de febrero (Figura 6). En las mediciones del 22 de febrero se observaron valores promedio de -1,2 MPa en el tratamiento WS, -0,93 MPa en el tratamiento WS+St y -0,79 MPa en el tratamiento C, nuevamente con diferencias significativas entre los tratamientos de estrés hídrico y el control (Figura 6).

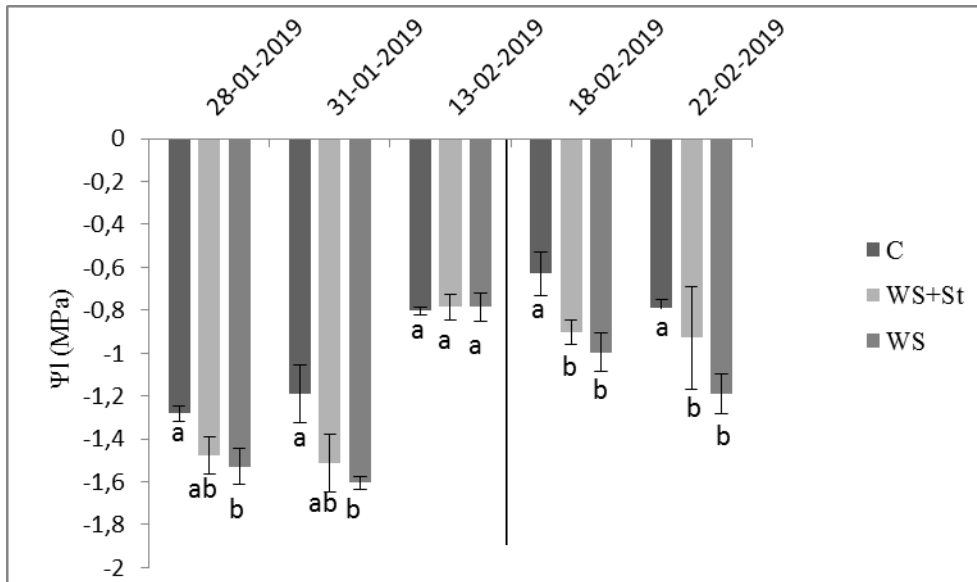


Figura 6. Potencial hídrico de hoja de las plantas Chardonnay en las distintas fechas del ensayo. Línea vertical en el gráfico indica la finalización de las mediciones en el primer ensayo y el inicio en el segundo ensayo realizados en la variedad. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos dentro de cada día de medición y no entre fechas según prueba LSD Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Fotosíntesis neta

Variedad Cabernet Sauvignon

En cuanto a la tasa de asimilación neta de CO_2 (AN) en las plantas de Cabernet Sauvignon, se encontraron diferencias significativas durante los primeros 2 días posteriores a la restricción de riego (28 de enero y 1 de febrero), a las 11:00 y 13:00 horas (Figura 7). Se observaron valores de AN significativamente menores en WS y WS+St en comparación al tratamiento C, a excepción de la medición hecha a las 11:00 horas del día 1 de febrero, en donde AN es significativamente menor en WS en contraste con el tratamiento C (Figura 7).

Los valores AN promedio del tratamiento C, durante el día 28 de enero, no disminuyeron de los $7,4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mientras que los tratamientos WS+St y WS alcanzaron valores de $3,24 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $2,38 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente

(Figura 7). En cuanto a los valores de AN del 1 de febrero, el tratamiento C no disminuyó de los $8,4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mientras que los tratamientos WS+St y WS alcanzaron valores de $4,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $4,7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente (Figura7).

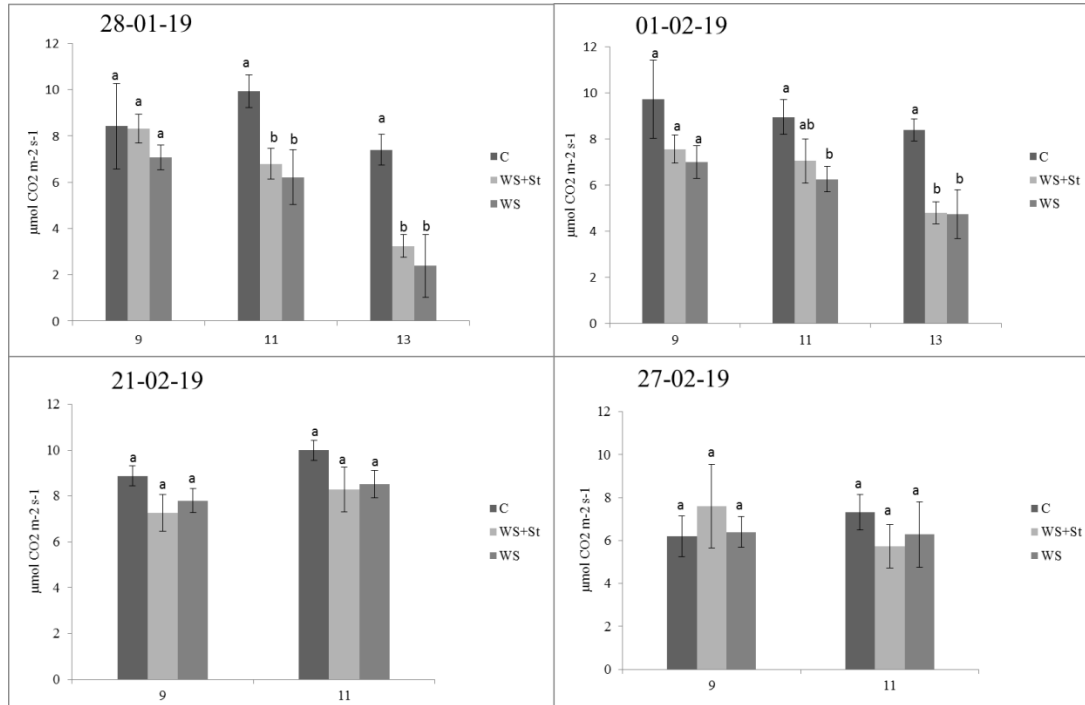


Figura 7. AN en la variedad Cabernet Sauvignon, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas en los dos primeros días (28 de enero y 1 de febrero), mientras que los últimos dos días (21 y 27 de febrero) las mediciones se realizaron a las 9:00 y 11:00 horas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Variedad Chardonnay.

En cuanto a la AN en las plantas de Chardonnay se encontraron diferencias significativas durante los primeros 2 días posteriores a haber restringido el riego (28 y 31 de enero) y no se encontraron diferencias el día 13 de febrero, después de haber recuperado el riego en el ensayo (Figura 8). Se observaron valores de AN significativamente menores en los tratamientos WS y WS+St en contraste a C, durante todas las horas de medición de los días 28 y 31 de enero, a excepción de las 11:00 horas del primer día de medición (Figura 8). En esa oportunidad se encontraron diferencias

significativas entre los tres tratamientos, siendo WS el tratamiento con valores más bajos, con $-0.25 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, y C el tratamiento con valores más altos de $5.32 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, siendo los valores del tratamiento WS+St superior a WS y menores a C ($1.62 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Figura 8). Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas el día 31 de enero a las 13:00 horas (Figura 8).

Por otro lado, durante el segundo ensayo, realizado en esta variedad y medido el día 18 de febrero, se observaron diferencias significativas a las 13:00 horas en donde el tratamiento C fue significativamente mayor al tratamiento WS (Figura 8).

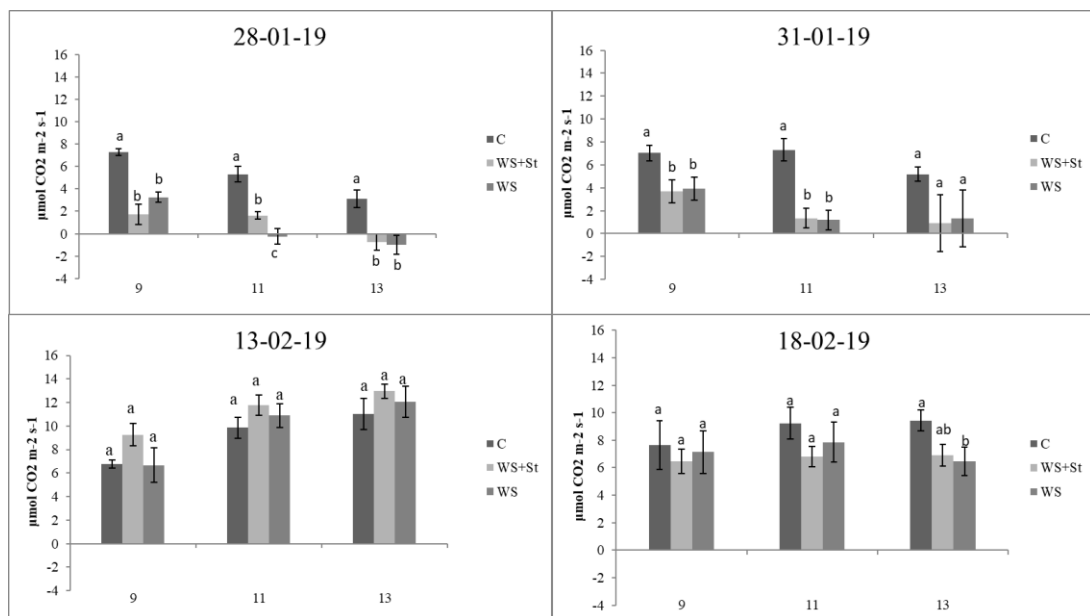


Figura 8. AN en la variedad Chardonnay, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas, en cuatro fechas distintas. La última fecha (18-02-19) corresponde a una medición del segundo ensayo que se realizó en esta variedad. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Transpiración

Variedad Cabernet Sauvignon.

En cuanto a la transpiración en Cabernet Sauvignon, se encontraron diferencias estadísticamente significativas los días 28 de enero y 1 de febrero, mientras que en los días 21 de febrero y el día 27 de febrero (día posterior a la restitución del riego) no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 9). El día 28 de enero se observó que WS fue significativamente menor al tratamiento C solamente a las 11:00 horas, con valores promedios de aproximadamente $4,5 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $3,1 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en los tratamientos extremos C y WS, respectivamente (Figura 9). Cabe hacer notar que el tratamiento WS+St, eso sí, no alcanzó una diferencia significativa con C. Por otro lado, el día 1 de febrero se observó que los tratamientos WS y WS+St fueron significativamente menores al tratamiento C a las 13:00 horas, con valores promedios de $4,9 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para el tratamiento C y de $3,1 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ aproximadamente para los tratamientos WS y WS+ST, sin encontrar otra diferencia significativa durante ese día (Figura 9).

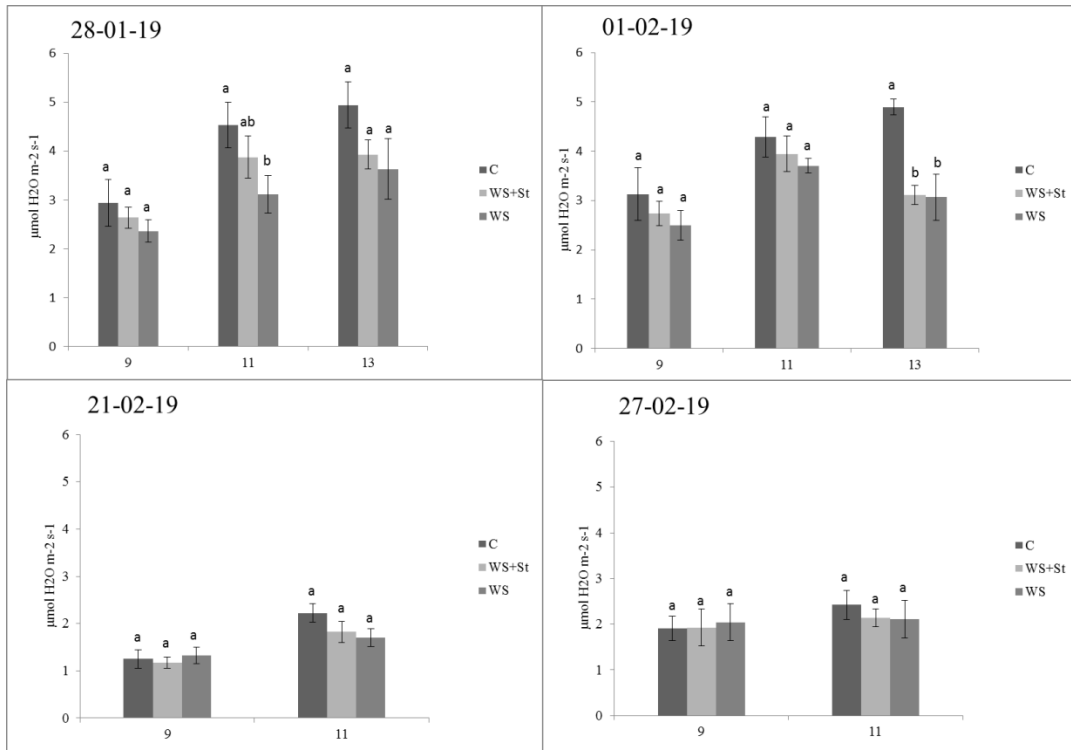


Figura 9. Tasa de transpiración (E), en la variedad Cabernet Sauvignon, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas en los dos primeros días

(28 de enero y 1 de febrero), mientras que los últimos dos días (21 y 27 de febrero) las mediciones se realizaron a las 9:00 y 11:00 horas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Variedad Chardonnay

Con respecto a la E en la variedad Chardonnay, se encontraron diferencias estadísticamente significativas los días 28 y 31 de enero, mientras que en el día 13 de febrero, día posterior a la restitución del riego, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 10).

El día 28 de enero se observaron valores significativamente menores en los tratamientos WS y WS+St en comparación al tratamiento C a las 9:00 y 11:00 horas, sin encontrar diferencias significativas entre los tratamientos WS y WS+St (Figura 10). Los valores promedios aproximados correspondieron a $3,6 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en las plantas del tratamiento C y $1,6 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para el tratamiento WS, a las 9:00 horas, y de $5,4 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $2,3 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$, a las 11:00 horas, para los tratamientos C y WS respectivamente. A las 13:00 horas de ese día, por otra parte, no se observaron diferencias entre los tratamientos (Figura 10).

El día 31 de enero se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en todas las horas de medición, observándose valores significativamente mayores en el tratamiento C con respecto a los tratamientos WS, a las 9:00 y 13:00 horas, sin diferencias significativas entre el tratamiento C y WS+St (Figura 10). Los valores promedio observados en el tratamiento C durante esta fecha, fueron de $3,1 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a las 9:00 horas y de $5 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ aproximadamente a las 13:00 horas (Figura 10). Mientras que a las 11:00 horas, los valores de transpiración del tratamiento C fueron estadísticamente mayores a los de los tratamientos WS y WS+St, observándose valores promedio de $4,3 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en el tratamiento C y de $2 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en los tratamientos WS y WS+St (Figura 10).

En cuanto al segundo ensayo, realizado en esta variedad y que fue medido el día 18 de febrero, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 10).

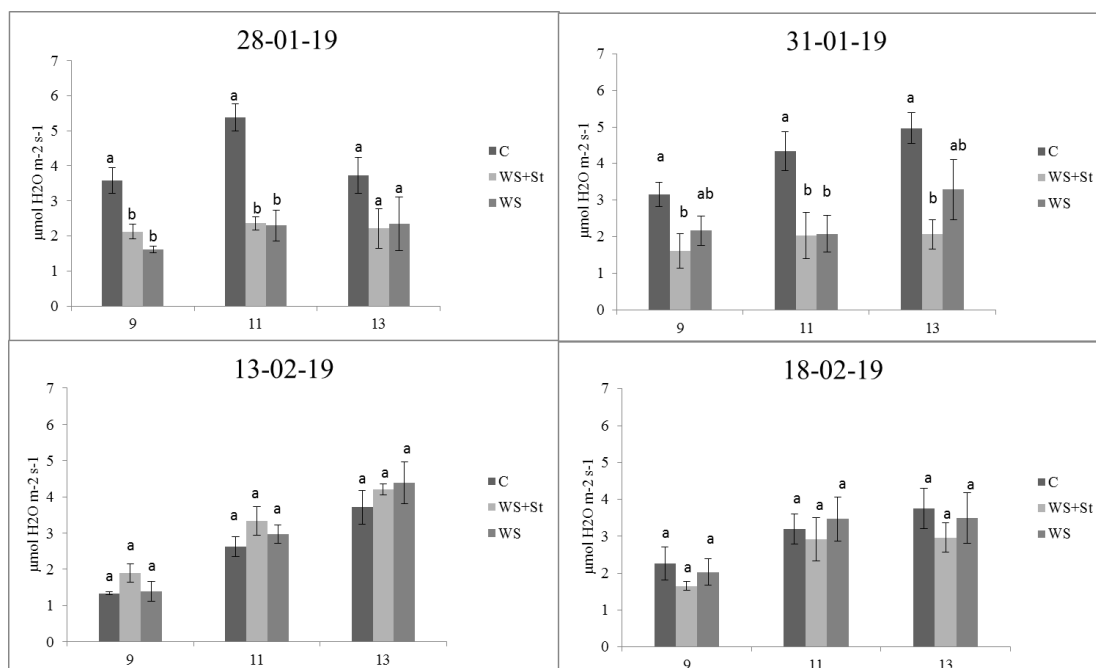


Figura 10. Tasa de transpiración (E), en la variedad Chardonnay, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas, en cuatro fechas distintas. La última fecha (18-02-19) corresponde a una medición del segundo ensayo que se realizó en esta variedad. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Conductancia estomática

Variedad Cabernet Sauvignon

En cuanto a la g_s medida en Cabernet Sauvignon, se encontraron diferencias estadísticamente significativas los días 28 de enero, 1 y 21 de febrero (Figura 11). No se encontraron diferencias significativas el día 27 de febrero, el cual corresponde a la medición posterior a la restitución del riego (Figura 11). El día 28 de enero se observó que el tratamiento WS presentó valores de g_s significativamente menores al tratamiento C a las 11:00 horas, sin encontrar diferencias significativas en los otros horarios, con valores promedio de $154 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $86 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en los tratamientos extremos C y WS, respectivamente (Figura 11).

El día 1 de febrero, por otra parte, se observaron valores de g_s significativamente más bajos en los tratamientos WS y WS+St en comparación al tratamiento C, a las 13:00 horas, con valores promedio de $120 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en el tratamiento C, mientras que en los tratamientos WS y WS+St los valores promedio fueron de $67 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $63 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente (Figura 11). Por último, no se encontraron diferencias significativas en los otros horarios (Figura 11).

Además, el día 21 de febrero, se observaron diferencias significativamente menores en los tratamientos WS y WS+St, en contraste al tratamiento C, a las 11:00 horas, con valores promedio de aproximadamente $147 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en el tratamiento C, y de $104 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $98 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en los tratamientos WS+St y WS, respectivamente (Figura 11). Mientras que a las 9:00 horas no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 11).

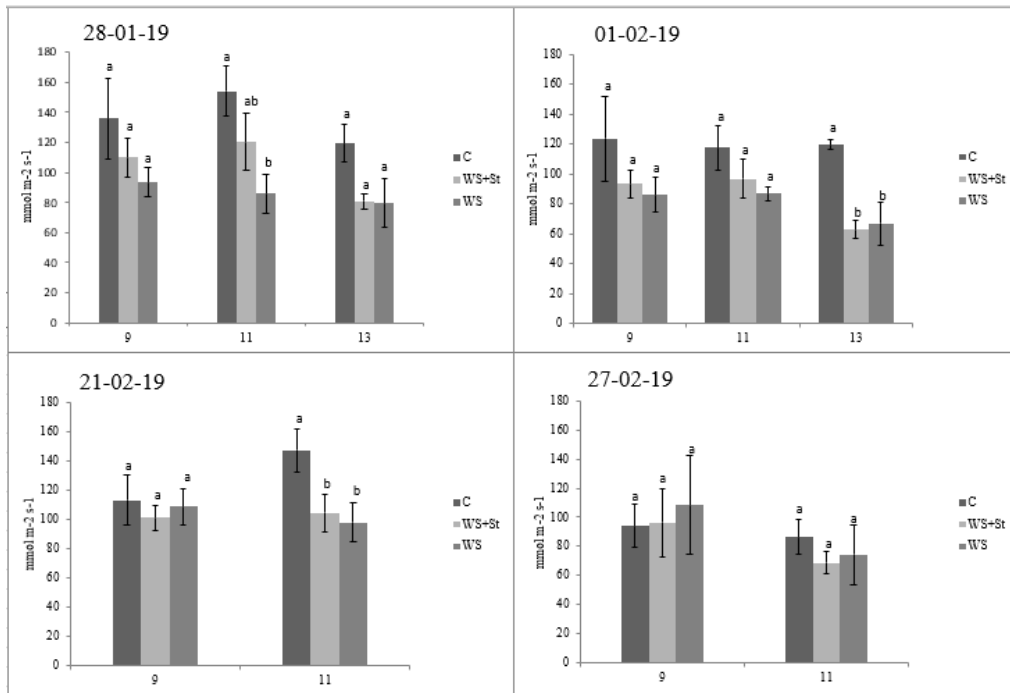


Figura 11. Conductancia estomática (g_s), en la variedad Cabernet Sauvignon, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas en los dos primeros días (28 de enero y 1 de febrero), mientras que los últimos dos días (21 y 27 de febrero) las mediciones se realizaron a las 9:00 y 11:00 horas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Variedad Chardonnay.

Con respecto a la g_s en la variedad Chardonnay, se encontraron diferencias significativas los días 28 y 31 de enero, sin encontrar diferencias entre los tratamientos el día 13 de febrero, el cual correspondió al día posterior al restablecimiento del riego.

El día 28 de enero se observó que los tratamientos WS y WS+St tuvieron valores significativamente menores al tratamiento C durante las mediciones, a excepción de la medición realizada a las 13:00 horas, en donde no se encontraron diferencias entre los tratamientos. A las 9:00 horas se estimaron valores promedios de $126 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en las plantas del tratamiento C, por otro lado, en las plantas de los tratamientos WS+St y WS se hallaron valores promedio de $68 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $46 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente.

El día 31 de febrero se observó que los tratamientos WS y WS+St tuvieron valores significativamente menores al tratamiento C a las 11:00 horas y que WS tuvo valores significativamente menores que C a las 13:00 horas, sin existir diferencias significativas entre los tratamientos a las 9:00 horas (Figura 12). Cabe destacar que a las 13:00 horas no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos WS+St y C. A las 11:00 horas, en tanto, se observaron valores promedios de $127 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en tratamiento C, y de $52 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $59 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en los tratamientos WS+St y WS, respectivamente. Mientras que, a las 13:00 horas, se hallaron valores de $117 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $40 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en los tratamientos C y WS+St, respectivamente (Figura 12).

En cuanto al segundo ensayo, realizado en esta variedad y llevado a cabo el día 28 de febrero, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos a ningún horario de medición (Figura 12).

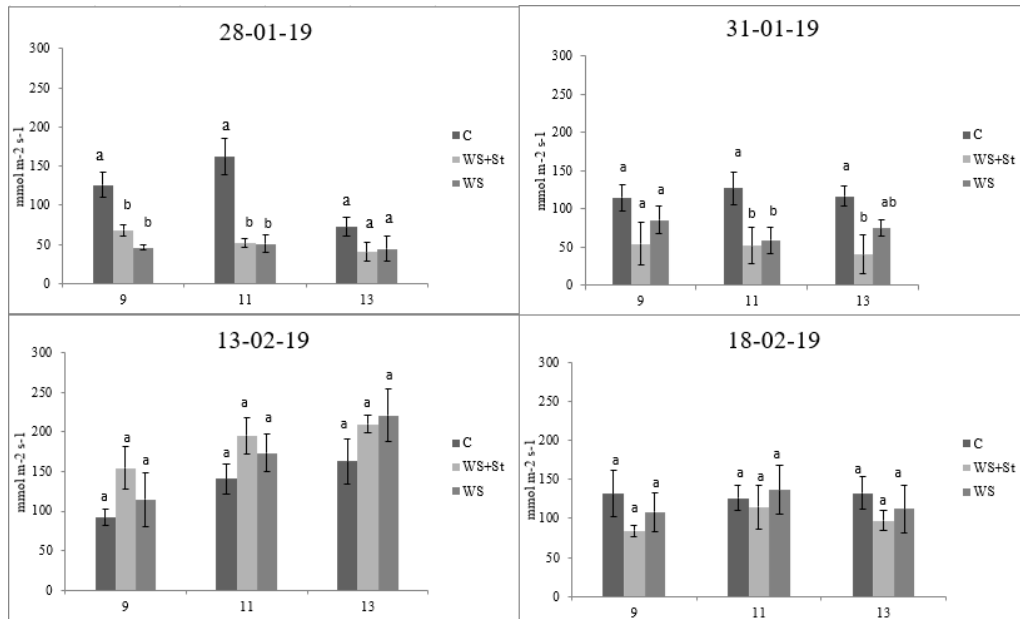


Figura 12. Conductancia estomática (g_s), en la variedad Chardonnay, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas, en cuatro fechas distintas. La última fecha (18-02-19) corresponde a una medición del segundo ensayo que se realizó en esta variedad. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila

Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm) en la variedad Cabernet Sauvignon.

Con respecto a la estimación del parámetro Fv/Fm, en la variedad Cabernet Sauvignon, no se encontraron diferencias significativas, en ninguna fecha de medición, entre los tratamientos. Los valores del parámetro Fv/Fm en esta variedad se encontraron entre 0,82 y 0,86 (Figura 13).

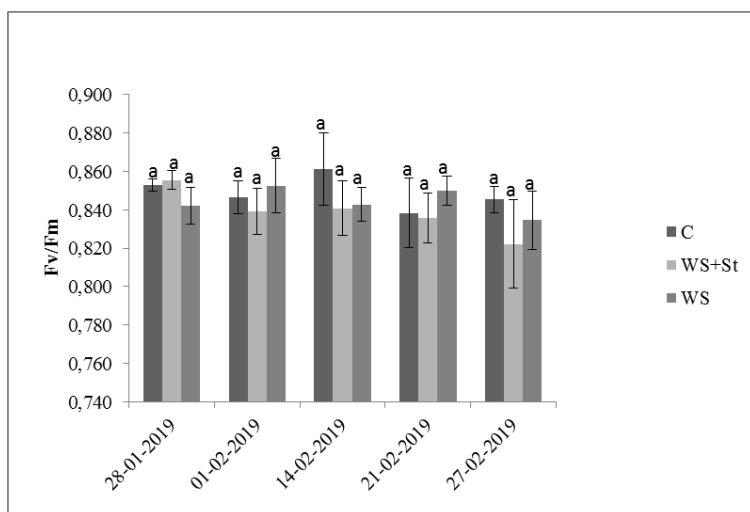


Figura 13. Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (Fv/Fm), del ensayo de Cabernet Sauvignon, en los distintos días de medición. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm) en la variedad Chardonnay.

Con respecto a Fv/Fm, en la variedad Chardonnay, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguna fecha de medición, en ninguno de los dos ensayos. Los valores del parámetro Fv/Fm se encontraron entre 0,8 y 0,86 (Figura 14).

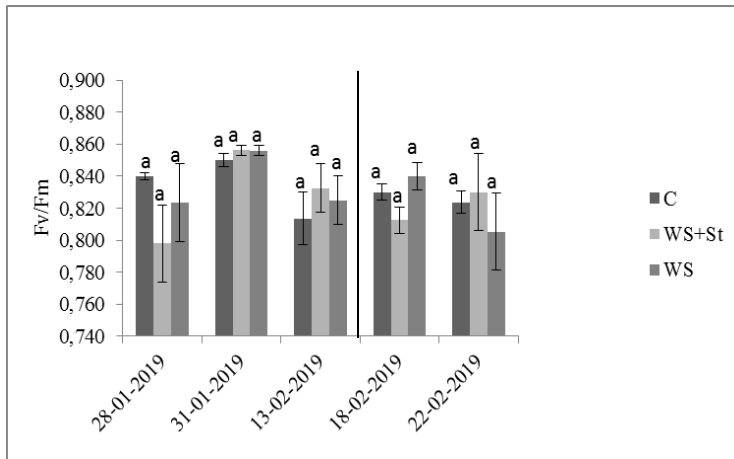


Figura 14. Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (F_v/F_m), del ensayo de Chardonnay, en los distintos días de medición. Línea vertical en el gráfico indica el fin del primer ensayo y el inicio del segundo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Quenching fotoquímico (qP) en la variedad Cabernet Sauvignon.

En cuanto a la estimación del parámetro qP, en la variedad Cabernet Sauvignon, solo se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos el día 1 de febrero a las 13:00 horas, en que el valor de qP resultó significativamente mayor en el tratamiento C en contraste al tratamiento WS, con valores promedios de aproximadamente 0,84 y 0,42 en los tratamientos extremos de C y WS respectivamente. Cabe destacar que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos WS+St y C (Figura 15).

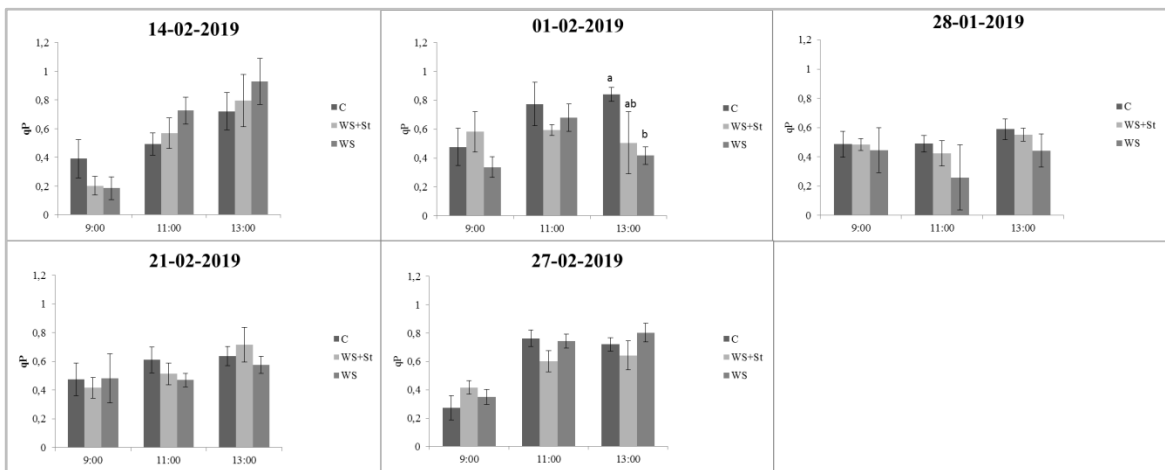


Figura 15. Quenching fotoquímico, en la variedad Cabernet Sauvignon, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas, en cinco fechas distintas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Quenching fotoquímico (qP) en la variedad Chardonnay.

Con respecto a qP, en la variedad Chardonnay, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguna fecha de medición, en ninguno de los dos ensayos. Los valores promedio del parámetro qP se encontraron entre 0,21 y 0,79 (Figura 16).

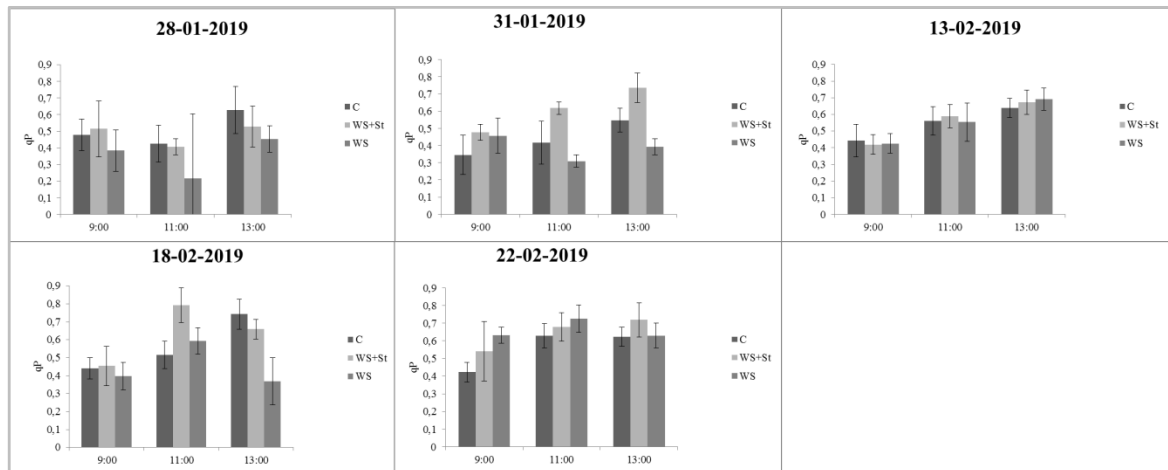


Figura 16. Quenching fotoquímico en la variedad Chardonnay, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas, en cinco fechas distintas. Las últimas fechas (18-02-19 y 22-02-19) corresponden a las mediciones del segundo ensayo que se realizó en esta variedad. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Quenching no fotoquímico (NPQ) en la variedad Cabernet Sauvignon

Con respecto a la estimación del parámetro NPQ, en la variedad Cabernet Sauvignon, no se encontraron diferencias significativas, en ninguna fecha de medición, entre los tratamientos. Los valores promedio de NPQ estuvieron entre 2,69 y 8,07 (Figura 17).

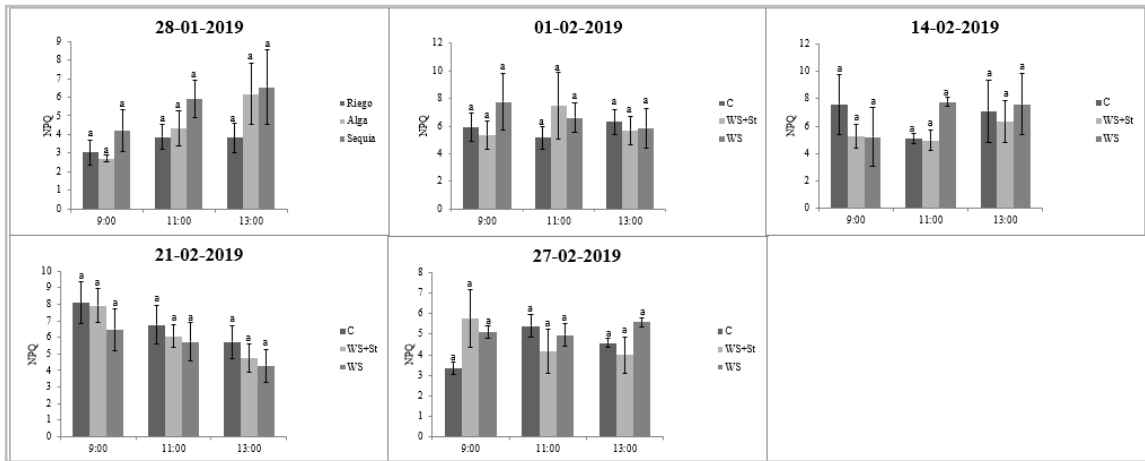


Figura 17. Quenching no fotoquímico, en la variedad Cabernet Sauvignon, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas, en cinco fechas distintas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n = 5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Quenching no fotoquímico (NPQ) en la variedad Chardonnay

Con respecto a NPQ, en la variedad Chardonnay, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguna fecha de medición, en ninguno de los dos ensayos. Los valores promedio del parámetro NPQ se encontraron entre 3,25 y 10,32 (Figura 18).

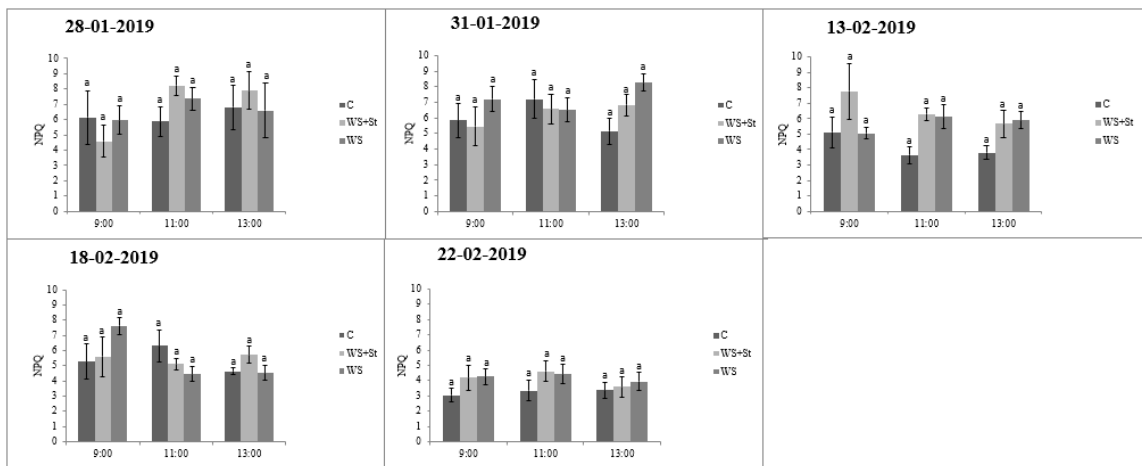


Figura 18. Quenching no fotoquímico en la variedad Chardonnay, a través del día. Mediciones se realizaron a las 9:00, 11:00 y 13:00 horas, en cinco fechas distintas. Las últimas fechas (18-02-19 y 22-02-19) corresponden a las mediciones del segundo ensayo que se realizó en esta variedad. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día y hora en particular, no entre fechas ni horas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Contenido de clorofila

Variedad Cabernet Sauvignon.

En cuanto al contenido de clorofila en la variedad Cabernet Sauvignon, se observó que los valores del tratamiento WS+St fueron estadísticamente menores en comparación a los tratamientos WS y C en los días 28 de enero y 14 de febrero, observándose valores promedio de aproximadamente $0,77 \text{ mg g}^{-1}$ en el tratamiento WS+St, $1,79 \text{ mg g}^{-1}$ en el tratamiento WS y $1,74 \text{ mg g}^{-1}$ en el tratamiento C, esto el día 28 de enero (Figura 19). También, durante el día de medición posterior a restituir el riego (21 de febrero) se observaron valores de WS+St significativamente menores al tratamiento C, con valores promedio de $0,71 \text{ mg g}^{-1}$ y $1,54 \text{ mg g}^{-1}$ en los tratamientos WS+St y C respectivamente (Figura 19)

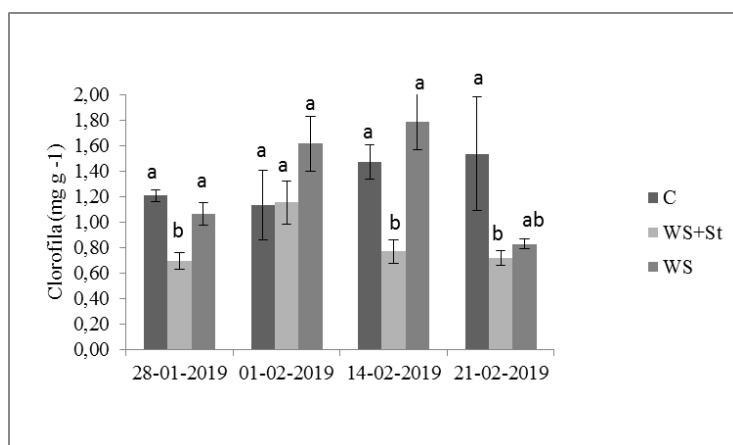


Figura 19. Contenido de clorofila (mg g^{-1}), del ensayo de Cabernet Sauvignon, en los distintos días de medición. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día, no entre fechas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un con un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

Variedad Chardonnay.

En la variedad Chardonnay, los contenidos de clorofila fueron significativamente menores en el tratamiento WS+St con respecto al tratamiento C el día 28 de enero, con valores promedios de $0,71 \text{ mg g}^{-1}$ y $1,06 \text{ mg g}^{-1}$ en los tratamientos WS+St y C respectivamente (Figura 20). Mientras que el 13 de febrero los tratamientos WS+St y WS fueron significativamente menores al tratamiento C, con valores promedios de $0,67 \text{ mg g}^{-1}$ en el tratamiento WS+St, $0,94 \text{ mg g}^{-1}$ en el tratamiento WS y $1,59 \text{ mg g}^{-1}$ en el tratamiento C (Figura 20).

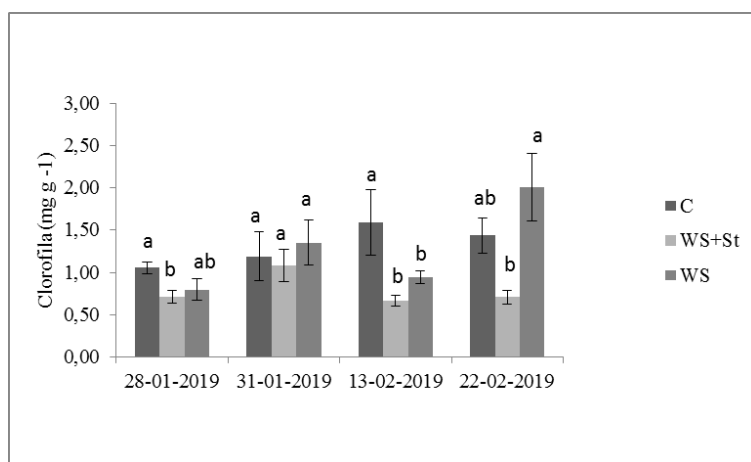


Figura 20. Contenido de clorofila (mg g^{-1}), del ensayo de Chardonnay, en los distintos días de medición. Línea vertical en el gráfico indica el fin del primer ensayo y el inicio del segundo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de cada día, no entre fechas de medición, según el test de Fisher. Cada media tiene un $n=5$. Barras verticales representan el Error Estándar.

DISCUSIÓN

Los extractos de algas son compuestos naturales descritos como uno de los principales grupos de bioestimulantes (du Jardin, 2015), los cuales fueron desarrollados durante la década de 1950 y son fabricados a través de diversos métodos de extracción, tales como, extracción a base de agua, hidrólisis ácida y alcalina, extracción asistida por microondas, ultrasonido o enzimas, extracción de fluidos supercríticos y extracción de líquido presurizado, entre otros (Renaut *et al.*, 2019; Shukla *et al.*, 2019). Las algas pardas son las más usadas en la agricultura, de las cuales *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia máxima* o *Laminaria* spp. son las especies más frecuentadas en el mercado, siendo *Ascophyllum nodosum* la más investigada dada su amplia aplicación en la agricultura (Khan *et al.*, 2009; Renaut *et al.*, 2019).

Se ha reconocido en recientes estudios que los efectos de los extractos de algas en los cultivos se basan en la modulación de metabolismos específicos de las plantas y no solo en la contribución de nutrientes y compuestos químicos (Frioni *et al.*, 2019). Aun así, la forma de acción de los extractos de algas y los compuestos bioactivos involucrados son aún desconocidos. Se han identificado como componentes claves dentro de los extractos de algas alginato, fucoïdan, laminaran, manitol y polifenoles, además de esteroides, minerales y derivados inducidos por la extracción, como los ácidos mono y dicarboxílicos (Goñi *et al.*, 2016; Hines *et al.*, 2021). La evidencia actual apunta a los carbohidratos de algas marinas como componentes esenciales para provocar la actividad estimulante en las plantas (Carmody *et al.*, 2020), los cuales se ha especulado que podrían penetrar la cutícula y la pared celular de la hoja (Pellegrini *et al.*, 1987). En base a la caracterización química de *A. nodosum*, también se ha propuesto como hipótesis que el aumento de los parámetros fisiológicos a causa de la aplicación de *A. nodosum* en plantas de vid puede estar relacionado a la presencia de aminoácidos y fenoles, en particular la presencia de prolina, que ofrece protección contra el estrés osmótico extremo, actuando tanto como osmolito citoplasmático y como compuesto eliminador de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Salvi *et al.*, 2019), moléculas que, en exceso, inducen daños oxidativos generando degradación de biomoléculas como pigmentos, proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN, que finalmente se amalgaman en la muerte celular de la planta (Das y Roychoudhury, 2014).

Distintos extractos de alga han demostrado su efectividad sobre la tolerancia a distintos estreses bióticos y abióticos en diferentes estudios, entre los cuales podemos encontrar estrés salino, por congelamiento, por sequía, entre otros (Frioni *et al.*, 2018; Goñi *et al.*, 2016; Renaut *et al.*, 2019; Tombesi *et al.*, 2021). El estrés por sequía, ocasionado

por una disminución en el potencial hídrico de la planta a causa de un aumento en la demanda de la evapotranspiración y/o la reducción en la disponibilidad de agua en el suelo, se caracteriza por inducir el cierre de estomas, lo cual genera un aumento de la temperatura del dosel a causa de la disminución en la transpiración y de una reducción de la disponibilidad de CO₂, restringiendo así la tasa fotosintética y generando en última instancia un aumento de ROS (Jithesh *et al.*, 2019; Shukla *et al.*, 2019).

Tombesi *et al.* (2021) indicó que la aplicación de un extracto de algas sobre vid vinífera generó un ajuste en la sensibilidad estomática de plantas bien regadas y sometidas a diferentes niveles de estrés, provocando una disminución en la conductancia estomática y por ende una menor transpiración y capacidad de enfriamiento de las hojas. Eso sí, las distintas especies vegetales difieren en la sensibilidad estomática en respuesta a la sequía (Levin *et al.*, 2019). Justamente, en el presente estudio hemos trabajado con dos variedades de comportamiento contrastante. Un primer ensayo con plantas del cultivar Cabernet Sauvignon, variedad en el cual se ha advertido previamente un comportamiento cercano a isohídrico, donde se observa un cierre rápido de sus estomas frente a una disminución en el potencial hídrico del suelo, manteniendo un Ψ_{steam} relativamente constante en el tiempo (Hochberg *et al.*, 2013). El segundo ensayo se realizó con plantas del cultivar Chardonnay, variedad en que se ha observado con anticipación un comportamiento cercano a anisohídrico, exhibiendo una depresión sustancial en el Ψ_{steam} (Pou *et al.*, 2012), comportamiento similar al observado durante este ensayo, como se puede apreciar en la Figura 5, en donde el tratamiento sequía alcanzó valores promedio de 1,7 MPa en el Ψ_{steam} durante el primer día de medición, en contraste con Cabernet Sauvignon que no bajó de los -1,4 MPa.

Es sabido que aquellas plantas más cercanas a un comportamiento anisohídrico mantienen tasas de g_s y fotosintéticas más altas en condiciones de agua abundante y de estrés moderado en contraste a aquellas plantas con comportamientos cercanos a isohídricos, por otro lado, estas últimas se ven beneficiadas con una mayor eficiencia del uso del agua y un consumo de agua del suelo significativamente más lento (Sade *et al.*, 2012). Durante este ensayo se observó que los valores de conductancia estomática de la variedad Cabernet Sauvignon fueron superiores a los Chardonnay, contrario a lo esperado. Esta diferencia se debió a que las plantas de la variedad Chardonnay agotaron rápidamente el suministro de agua del suelo, alcanzando valores promedio de -0,8 MPa en el Ψ_{pd} , descrito como indicador de un estrés hídrico severo (Leeuwen *et al.*, 2009), y observándose una senescencia temprana de las hojas a las dos semanas después de iniciado el ensayo (datos no cuantificados), en contraste con Cabernet Sauvignon, cuyo Ψ_{pd} promedio no bajó de los -0,4 MPa.

Se han encontrado diferencias significativas en aplicaciones de ANE realizados sobre cv. Niágara rosado en una zona con clima tropical, en donde se realizaron dos temporadas de evaluación y en la cual, tanto la fotosíntesis neta como la conductancia estomática se vieron afectadas en ambas temporadas (de Carvalho *et al.*, 2019). También Salvi *et al.* (2019) observó que las aplicaciones de ANE sobre plantas de vid cv. Sangiovese, afectan positivamente la fotosíntesis neta, la conductancia estomática y Fv/Fm, en una zona con clima templado. Esto también concuerda con los resultados obtenidos por Spinelli *et al.* (2009), en donde se observaron aumentos en la fotosíntesis a causa de la aplicación de *A. nodosum* sobre manzanos de la variedad Fuji.

Durante este ensayo se pudo observar una significativa reducción de la conductancia estomática de aquellos tratamientos con restricción de riego (WS y WS+St), en comparación a aquellos tratamientos sin restricción (C), en ambas variedades, disminuyendo o asimismo la transpiración y la fotosíntesis neta en un 20% y un 24% en el cv. Cabernet Sauvignon y un 23% y 27% en el cv. Chardonnay, respectivamente. Más no se encontró un impacto significativo de ANE sobre la fotosíntesis neta, la conductancia estomática, la transpiración ni el Fv/Fm de las plantas, en contraste con las plantas del tratamiento WS. Sin embargo, en el ensayo realizado en el cv. Cabernet Sauvignon, las plantas tratadas con aplicaciones de ANE mostraron valores intermedios en la conductancia estomática y la transpiración, en contraste con los otros dos tratamientos, durante el primer día de medición. Además de valores intermedios de fotosíntesis durante la mañana del segundo día de medición. Igualmente, durante la mañana del primer día de medición de las plantas del cv. Chardonnay, aquellas plantas tratadas con aplicaciones de ANE mostraron valores significativamente mayores de fotosíntesis en contraste con el tratamiento WS. Finalmente, ANE tuvo efectos más bien menores en las características fisiológicas de la vid frente al estrés hídrico, similar a lo reportado anteriormente por diversos autores (Frioni *et al.*, 2018; Spann y Little, 2011; Xu y Leskovar, 2015).

La fotoinhibición como fenómeno asociado al estrés hídrico y la sensibilidad estomática ha sido relativamente poco estudiado en vid. Es bien sabido que la exposición de la hoja a un exceso de luz puede causar la fotoinhibición de la fotosíntesis, lo que se manifiesta comúnmente con disminuciones sostenidas del rendimiento cuántico de la fotoquímica del fotosistema II (Ögren, 1991). Frente a esto, las plantas han desarrollado distintos mecanismos para deshacerse de la luz absorbida, una rama de ellos son los procesos de extinción no fotoquímica o NPQ por sus siglas en inglés, los cuales disipan la energía en forma de calor (Müller *et al.*, 2001). Los valores de Fv/Fm adaptados a la oscuridad reflejan la eficiencia cuántica potencial del PSII y se utilizan como un indicador sensible del rendimiento fotosintético de las plantas y de fotoinhibición, con valores óptimos de alrededor de 0,83 medidos para la

mayoría de las especies de plantas. Se observan valores inferiores a éste cuando la planta ha estado expuesta a estrés, indicando en particular el fenómeno de fotoinhibición (Maxwell y Johnson, 2000). En este estudio no se encontraron diferencias entre ninguno de los tratamientos para estos parámetros. Aun habiendo sometido las plantas a un estrés muy agudo, los valores promedios diarios de F_v/F_m no bajaron de los 0.80 para ningún tratamiento, en ninguno de los dos ensayos. Esto es similar a lo descrito por Mirás-Avalos *et al.* (2016), en donde no se encontraron diferencias significativas del parámetro F_v/F_m entre tratamientos de plantas de vid ‘Albariño’ bien regadas y plantas sometidas a estrés hídrico, acercándose al valor umbral 0,8 para plantas terrestres sanas. Flexas *et al.* (2006) sugirieron que el aparato fotoquímico de la vid es altamente resistente al estrés hídrico y que las diferencias en las tasas de asimilación neta entre las variedades no se atribuyen a la fotoinhibición sino a las limitaciones difusivas, en particular a la limitación estomática.

En lo que respecta al contenido de clorofila, este fue significativamente menor en las plantas tratadas con ANE en comparación a las no tratadas (C y WS), en ambos ensayos. Lo contrario fue observado en plantas del cv. Niágara rosado tratadas con ANE, las cuales mostraron mayores contenidos de clorofila con respecto a las no tratadas, y que fueron parte de un ensayo llevado a cabo en una zona con clima tropical, cuyo contenido de clorofila fue medido con un sistema SPAD (de Carvalho *et al.*, 2019). Se ha descrito anteriormente, en plantas superiores, la disminución del contenido de clorofila en hojas de plantas estresadas, como mecanismo para reducir la absorción de luz y evitar el daño en el fotosistema (Galmés *et al.*, 2007), lo cual podría ser una razón tentativa para explicar las diferencias en los contenidos de clorofila de este ensayo.

Actualmente se han realizado distintos estudios sobre el posible efecto protector de los extractos de algas frente al estrés por sequía. De esta manera se han encontrado diferencias entre los métodos de extracción utilizados en la producción de estos insumos y los distintos efectos que estos generan sobre los parámetros fisiológicos de las plantas tratadas. Por un lado, se ha observado que extractos de algas producidos con procesos de extracción alcalina son capaces de aumentar la turgencia, la conductancia estomática, la actividad de eliminación de radicales libres y la expresión de genes de respuesta al estrés en plantas de soya sometidas a condiciones de sequía severa (Shukla *et al.*, 2018). Por otro lado, aplicaciones de extractos producidos a partir de soluciones ácidas han resultado en una reducción de la conductancia estomática (a través de la regulación de la expresión de genes involucrados en la biosíntesis de ABA) la tasa de transpiración, el NPQ y los ROS, además de aumentar la turgencia de las hojas, la asimilación de CO_2 , el rendimiento cuántico, el quenching fotoquímico y la eficiencia del uso de agua en *Arabidopsis thaliana*, sometida a estrés (Santiniello *et al.*, 2017).

Finalmente, extractos de algas producidos a partir de una solución neutra han mejorado el ajuste osmótico de plantas de tomate, a través de una mayor acumulación de antioxidantes, prolina y azúcares solubles (Goni *et al.*, 2018).

Sin embargo, durante este estudio, no se encontraron efectos significativos de la aplicación de extracto de *A. nodosum* sobre los parámetros fisiológicos de la vida de los cv. Chardonnay y Cabernet Sauvignon. Se especula que la ausencia de respuestas observadas durante este ensayo podría ser debido tanto a causas relacionadas con el producto en sí como por el fuerte estrés hídrico al que fueron sometidas las plantas. Durante el ensayo las plantas sometidas a estrés alcanzaron Ψ_{steam} promedios mínimos de -1,2 MPa y -1,7 MPa, en Cabernet Sauvignon y Chardonnay respectivamente, lo cual está descrito por Leeuwen *et al.* (2009) como niveles de estrés moderado a severo y severo. Además, estos niveles fueron alcanzados durante la primera semana después de iniciado el ensayo, en la cual se observaron temperaturas promedio superiores a los 39°C (INIA, 2020). Por lo cual, los mecanismos de reacción al estrés de las plantas podrían haber sido superados por la fuerte demanda hídrica y las altas temperaturas de la temporada, habiendo limitado así la observación de algún efecto protector del extracto de algas sobre las plantas, si es que este hubiera existido.

Es necesario tener en cuenta que los bioestimulantes a base de extractos de algas no son una categoría homogénea de productos. Se sabe que la composición y bioactividad de los bioestimulantes a base de alga podría variar según el tipo de alga marina utilizada para su fabricación, la ubicación geográfica, la temporada de cosecha, el entorno de la materia prima y la técnica de procesamiento utilizada (Carmody *et al.*, 2020; Goñi *et al.*, 2016; Shukla *et al.*, 2019). Esto genera un sesgo importante al momento de interpretar los resultados obtenidos en este estudio, a causa del desconocimiento de la procedencia de la materia prima y métodos de extracción utilizados en el producto, ya que, como se comentó anteriormente, dependiendo del método de extracción del producto se pueden generar efectos opuestos como la apertura o cierre de estomas.

El hecho de que este tipo de insumo no tenga estandarización podría llegar a ser una razón por la cual se han podido observar distintos tipos y niveles de respuestas de los cultivos a la exposición de distintos productos a base de algas.

Si bien se ha observado que los productos a base de extracto de algas tienen una influencia sobre el crecimiento de las plantas, la calidad de los cultivos y la respuesta al estrés, la variación de la respuesta de los cultivos frente a la exposición de distintos productos bioestimulantes formulados a base de *Ascophyllum nodosum* (L.) han puesto en juego la credibilidad de estos insumos, tal como ha mencionado Goñi *et al.* (2016).

A pesar de que el efecto protector contra el estrés por sequía de esta gama de productos en cultivos de vid vinífera es incierta, numerosos estudios han señalado un efecto significativo sobre los compuestos fenólicos de la baya, aumentando la concentración de flavonoles y antocianos. Gutiérrez *et al.* (2020) concluyó que, aplicaciones de extracto de *A. nodosum*, sobre vides de cv. Tempranillo Blanco, pueden actuar como inductores bióticos para desencadenar la acumulación de compuestos fenólicos, principalmente de catequina y flavonoles. Además, Salvi *et al.* (2019) señala que las aplicaciones de *A. nodosum* tuvieron efectos significativos sobre la biosíntesis de fenilpropanoides, tanto en la piel de las bayas como en las hojas, por otro lado, los análisis bioquímicos realizados revelaron que el extracto de algas probablemente actuó selectivamente en la ruta del fenilpropanoide, influyendo en el reparto de antocianinas y disminuyendo la biosíntesis de compuestos metoxilados. Si bien estos parámetros no fueron cuantificados durante este estudio, se hace necesario mencionarlos para lograr emitir un juicio respecto a la utilidad de estos productos en cultivares de vid.

Si bien en este ensayo no se observó una actividad evidente del extracto de algas en la fisiología de las plantas tratadas, existe gran evidencia de la actividad de productos similares sobre esta, por lo que se debe considerar los aspectos de procedencia de la materia prima y fabricación del producto para emitir un juicio acerca de la efectividad de este tipo de bioestimulante

CONCLUSIONES

De acuerdo con las condiciones en que se realizó el estudio se concluye que:

Las plantas del cv. Cabernet Sauvignon y Chardonnay demostraron un comportamiento estomático contrastante, siendo la segunda variedad más susceptible frente a un estrés hídrico severo.

Los resultados permiten concluir que el extracto de algas comercial Stimplex utilizado en este ensayo no provocó un efecto significativo en el desempeño fisiológico de la vid durante un periodo de estrés severo, ni de recuperación, en ninguna de las dos variedades con comportamiento estomático contrastante.

LITERATURA CITADA

- Anasac. 2012. Stimplex, bioestimulante a base de algas marinas. Anasac. Santiago, Chile. Disponible en <https://www.anasac.cl/agropecuario/wp-content/uploads/Etiqueta-Stimplex.pdf> (Consultado en enero de 2019).
- Carmody, N., O. Goñi, L. Łangowski and S. O’Connell. 2020. Ascophyllum nodosum Extract Biostimulant Processing and Its Impact on Enhancing Heat Stress Tolerance During Tomato Fruit Set. *Frontiers in Plant Science* 11:807.
- Carvalho, R. P., M. Pasqual, H. R. de Oliveira Silveira, P. C. de Melo, D. F. A. Bispo, R. R. Laredo and L. de Aguiar Saldanha Lima. 2019. “Niágara Rosada” table grape cultivated with seaweed extracts: physiological, nutritional, and yielding behavior. *Journal of Applied Phycology* 31(3):2053–2064.
- Das, K. and A. Roychoudhury. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science* 2:53.
- du Jardin, P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* 196:3–14.
- Flexas, J., J. Bota, J. Galmé, H. Lito Medrano and M. Ribas-Carbó. 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* 127:343–352.
- Frioni, T., P. Sabbatini, S. Tombesi, J. Norrie, S. Poni, M. Gatti and A. Palliotti. 2018. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. *Scientia Horticulturae* 232:97–106.
- Frioni, T., S. Tombesi, M. Quaglia, O. Calderini, C. Moretti, S. Poni and A. Palliotti. 2019. Metabolic and transcriptional changes associated with the use of *Ascophyllum nodosum* extracts as tools to improve the quality of wine grapes (*Vitis vinifera* cv. Sangiovese) and their tolerance to biotic stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99(14):6350–6363.
- Goñi, O, A. Fort, P. Quille, P. C. McKeown, C. Spillane and S. O’Connell. 2016. Comparative Transcriptome Analysis of Two *Ascophyllum nodosum* Extract Biostimulants: Same Seaweed but Different. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64(14):2980–2989

Gutiérrez-Gamboa, G., T. Garde-Cerdán, P. Rubio-Bretón and E. P. Pérez-Álvarez. 2020. Study of must and wine amino acids composition after seaweed applications to Tempranillo blanco grapevines. *Food Chemistry* 308:125605.

Hines, S., T. van der Zwan, K. Shiell, K. Shotton and B. Prithiviraj. 2021. Alkaline extract of the seaweed *Ascophyllum nodosum* stimulates arbuscular mycorrhizal fungi and their endomycorrhization of plant roots. *Scientific Reports* 11(1):1-12.

Hochberg, U., A. Degu, A. Fait and S. Rachmilevitch. 2013. Near isohydric grapevine cultivar displays higher photosynthetic efficiency and photorespiration rates under drought stress as compared with near anisohydric grapevine cultivar. *Physiologia Plantarum* 147(4): 443–452.

INIA. 2020. INIA Agrometeorología. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) de Chile, Rm, Santiago. Disponible en <https://agrometeorologia.cl/> (Consultado en enero de 2019).

IPCC. 2014. AR5 Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Disponible en <https://www.ipcc.ch/report/ar5/wg2/> (Consultado en enero de 2019).

IPCC. 2021. AR6 Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Disponible en <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/> (Consultado en julio de 2021).

Jithesh, M. N., P. S. Shukla, P. Kant, J. Joshi, A. T. Critchley and B. Prithiviraj. 2019. Physiological and Transcriptomics Analyses Reveal that *Ascophyllum nodosum* Extracts Induce Salinity Tolerance in *Arabidopsis* by Regulating the Expression of Stress Responsive Genes. *Journal of Plant Growth Regulation* 38(2):463–478.

Khan, W., U. P. Rayirath, S. Subramanian, M. N. Jithesh, P. Rayorath, D. M. Hodge and B. Prithiviraj. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation* 28(4):386-399.

Levin, A. D., L. E. Williams and M. A. Matthews. 2019. A continuum of stomatal responses to water deficits among 17 wine grape cultivars (*Vitis vinifera*). *Functional Plant Biology* 47(1):11–25

Lichtenthaler, H. K. and C. Buschmann. 2001. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* 1(1):4-3.

- Manavalan, L. P., S. K. Guttikonda, L. S. Phan Tran and H. T. Nguyen. 2009. Physiological and Molecular Approaches to Improve Drought Resistance in Soybean. *Plant and Cell Physiology* 50(7):1260–1276.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345):659-668.
- Mirás-Avalos, J. M., E. Trigo-Córdoba, Y. Bouzas-Cid and I. Orriols-Fernández. 2016. Irrigation effects on the performance of grapevine (*vitis vinifera* L.) CV. “albarino” under the humid climate of galicia. *Oeno One* 50(4):183–194.
- Müller P.; X.P. Li, y K.K. Niyogi. 2001. Non-photochemical quenching: a response to excess light energy. *Plant Physiology*, 125: 1558-1566.
- ODEPA. 2019. Boletín del vino: producción, precios y comercio exterior. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA), Santiago, Chile. Disponible en <https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2019/02/Bvino022019.pdf> (Consultado en febrero de 2019).
- ODEPA. 2018. Agricultura orgánica: oportunidades y desafíos. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Disponible en <https://www.odepa.gob.cl/> (Consultado en marzo 2019).
- Ögren, E. 1991. Prediction of photoinhibition of photosynthesis from measurements of fluorescence quenching components. *Planta* 1991 184(4):538–544.
- Pellegrini, M., L. Pellegrini, R. Chabot, S. Percehais and J. C. Yvin. 1987. Effects of a Liquid Extract Derived from *Ascophyllum nodosum* on the Ultrastructure of *Vitis vinifera* Leaf Tissue. (30):437-446.
- Pou, A., H. Medrano, M. Tomàs, S. Martorell, M. Ribas-Carbó and J. Flexas. 2012. Anisohydric behaviour in grapevines results in better performance under moderate water stress and recovery than isohydric behaviour. *Plant and Soil* 359(1–2):335–349.
- Renaut, S., J. Masse, J. P. Norrie, B. Blal, and M. Hijri. 2019. A commercial seaweed extract structured microbial communities associated with tomato and pepper roots and significantly increased crop yield. *Microbial Biotechnology* 12(6):1346–1358.
- Romero, P. and A. Martínez-Cutillas. 2012. The effects of partial root-zone irrigation and regulated deficit irrigation on the vegetative and reproductive development of field-grown Monastrell grapevines. *Irrigation Science* 30(5):377–396.

- Sade, N., A. Gebremedhin and M. Moshelion. 2012. Risk-taking plants: anisohydric behavior as a stress-resistance trait. *Plant signaling & behavior* 7(7):767-770.
- Salvi, L., C. Brunetti, E. Cataldo, A. Niccolai, M. Centritto, F. Ferrini and G. B. Mattii. 2019. Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on *Vitis vinifera*: Consequences on plant physiology, grape quality and secondary metabolism. *Plant Physiology and Biochemistry* 139:21–32.
- Santaniello, A., A. Scartazza, F. Gresta, E. Loreti, A. Biasone, D. di Tommaso and P. Perata. 2017. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in *Arabidopsis* by affecting photosynthetic performance and related gene expression. *Frontiers in Plant Science* 8:1362.
- Scholander, P. F., H. T. Hammel, E. D. Bradstreet and E. A. Hemmingen. 1965. Sap Pressure in Vascular Plants. *Science* 148(3668):339–346.
- Shukla P. S., K. Shotton, E. Norman, W. Neily, A. T. Critchley and B. Prithiviraj. 2018. Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. *AoB PLANTS* 10(1).
- Shukla, P. S., E. G. Mantin, M. Adil, S. Bajpai, A. T. Critchley and B. Prithiviraj. 2019. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science* 10:655.
- Spann, T. M. and H. A. Little. 2011. Applications of a Commercial Extract of the Brown Seaweed *Ascophyllum nodosum* Increases Drought Tolerance in Container-grown ‘Hamlin’ Sweet Orange Nursery Trees. *HortScience* 46(4):577–582.
- Spinelli, F., G. Fiori, M. Noferini, M. Sprocatti and G. Costa. 2009. Perspectives on the use of a seaweed extract to moderate the negative effects of alternate bearing in apple trees. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 84(6): 131–137.
- Srivastava, A. and R. J. Strasser. 1995. Differential effects of dimethylbenzoquinone and dichlorobenzoquinone on chlorophyll fluorescence transient in spinach thylakoids. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 31(3):163-169
- Taskos, D., S. Stamatiadis, J. C. Yvin and F. Jamois. 2019. Effects of an *Ascophyllum nodosum* (*L.*) Le Jol. extract on grapevine yield and berry composition of a Merlot vineyard. *Scientia Horticulturae* 250:27–32.

Tombesi, S., T. Frioni, P. Sabbatini, S. Poni and A. Palliotti. 2021. Ascophyllum nodosum extract improves leaf thermoregulation by reducing stomatal sensitivity to VPD in *Vitis vinifera* (L). *Journal of Applied Phycology* 33(2):1293–1304.

Turner, N. C. 1988. Irrigation cence Measurement of Plant Water Status by the Pressure Chamber Technique. *Irrigation science* 9(4):289-308.

van Leeuwen, C, O. Tregoat, X. Choné, B. Bois, D. Pernet, and J. P. Gaudillère. 2009. Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? *Oeno one* 43:121–134.

Xu, C. and D. I. Leskovar. 2015. Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 183:39–47.

ANEXOS Y APÉNDICES

Metales Pesados	Concentración (mg·kg ⁻¹)	Ingredientes Activos	% en p/v
Plomo (Pb)	< 1 mg/kg	Nitrógeno total (N)	≥ 0,1 %
Cadmio (Cd)	< 1 mg/kg	Ácido Fosfórico Disponible (P ₂ O ₅)	≥ 0,0 %
Arsénico (As)	< 1 mg/kg	Potasio Soluble (K ₂ O)	≥ 3,0 %
Mercurio (Hg)	< 1 mg/kg		

Anexo 1. Composición nutricional del Extracto de algas Stimplex (Anasac, 2012)