



# UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

## **EFFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO PROGRESIVO SOBRE LA FOTOSÍNTESIS, CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA, FOTOINHIBICIÓN Y SENESCENCIA EN *Vitis vinifera* L. CULTIVAR CHARDONNAY**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Producción Frutícola

**RENÉ TOMÁS SANZ PIZARRO**

Director de Tesis  
Claudio Pastenes Villarreal

Profesores consejeros  
Marcos Garrido Salinas  
Álvaro Peña Neira

SANTIAGO - CHILE  
2021

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

EFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO PROGRESIVO SOBRE LA FOTOSÍNTESIS,  
CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA, FOTOINHIBICIÓN Y SENESCENCIA EN  
*Vitis vinifera* L. CULTIVAR CHARDONNAY

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

**RENÉ TOMÁS SANZ PIZARRO**

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
<b>DIRECTOR DE TESIS/AFE</b>		
Claudio Pastenes Villarreal Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	7,0	7,0
<b>PROFESORES CONSEJEROS</b>		
Marcos Garrido Salinas Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,1	6,1
Álvaro Peña Neira Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0	7,0

Santiago,  
Chile  
2021

## Agradecimientos

Agradecimientos al proyecto Fondecyt Regular 1190792, “Dissecting the photosynthetic (gas exchange, photoinhibition and photoprotection) and senescence responses as well as the carbon costs involved under controlled water deficit in grapevines with contrasting stomatal sensitivities”, que financió la realización de la investigación, y a Viña Matetic, por permitir realizar las mediciones en su viña.

Agradezco a mi familia y por sobre todo a mis abuelos Nancy y Patricio por su incondicional apoyo en todo el proceso universitario y a lo largo de toda mi vida; a mis amigos de universidad que estuvieron presente en cada momento; a mis profesores que entregaron sus conocimientos, y sobre todo al profesor Claudio Pastenes Villarreal por todo su apoyo, tiempo y por la hermosa experiencia de haber sido parte del Laboratorio de Fisiología de Estrés Vegetal de la Universidad de Chile. Agradezco también a Bárbara, Alen y Javier, grandes compañeros y amigos que fueron parte de esta gran aventura, y a Luís Villalobos González, quien compartió sus conocimientos y su valioso tiempo. Sin ustedes, nada de esto hubiera sido posible.

*“El pájaro rompe el cascarón.  
El huevo es el mundo. El que  
quiere nacer tiene que romper  
un mundo”*

Hermann Hesse

## Índice de Contenidos

INTRODUCCIÓN .....	1
HIPÓTESIS .....	3
OBJETIVO.....	3
Objetivo general .....	3
MATERIALES Y MÉTODOS .....	4
Sitio de estudio .....	4
Material biológico .....	4
Tratamiento y diseño experimental .....	4
Manejo del experimento .....	5
Determinaciones .....	5
Variables meteorológicas .....	5
Potencial hídrico.....	5
Curvas presión – volumen.....	5
Intercambio gaseoso .....	6
Conductividad hidráulica de la planta .....	6
Fluorescencia de clorofilas .....	7
Concentración de clorofilas.....	7
Contenido de sólidos solubles en las bayas.....	8
Análisis estadístico .....	8
RESULTADOS.....	9
Condiciones ambientales .....	9
Radiación fotosintéticamente activa .....	9
Déficit de presión de vapor .....	9
Temperatura media del aire .....	9
Estatus hídrico .....	10
Potencial hídrico de prealba ( $\Psi_{pd}$ ) .....	10
Potencial hídrico de medio día ( $\Psi_{md}$ ).....	10
Conductividad hidráulica ( $K_h$ ) .....	11
Potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xilema}$ ).....	11
Curva presión volumen.....	11
Intercambio gaseoso .....	14
Conductancia estomática ( $g_s$ ).....	14
Asimilación neta ( $A_N$ ) .....	14
Transpiración de la hoja ( $E$ ).....	15

Temperatura de hoja .....	15
Eficiencia del uso del agua intrínseca ( $A_N/g_s$ ).....	15
Eficiencia del uso del agua instantánea ( $A_N/E$ ).....	16
Fluorescencia de clorofilas .....	19
Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm).....	19
Extinción no fotoquímica de las clorofilas (NPQ).....	19
Extinción fotoquímica de las clorofilas (qP) .....	19
Concentración de clorofilas en las hojas .....	22
Concentración de clorofilas .....	22
Contenido de sólidos solubles en la baya.....	22
Contenido de sólidos solubles.....	22
DISCUSIÓN .....	24
CONCLUSIONES .....	29
LITERATURA CITADA.....	30

### Índice de Cuadros

Cuadro 1. Rasgos hidráulicos derivados de la curva presión volumen en Chardonnay. 13
--

### Índice de Figuras

Figura 1. Variación de la radiación fotosintéticamente activa (PAR), déficit de presión de vapor (DPV) y temperatura media del aire ( $T^\circ$ ) a lo largo del día y del experimento .....	10
Figura 2. (A) Potencial hídrico de prealba ( $\Psi_{pd}$ ), (B) potencial hídrico de mediodía ( $\Psi_{md}$ ) y (C) conductividad hidráulica ( $K_h$ ) a lo largo del experimento.....	12
Figura 3. Relación lineal entre el potencial hídrico de mediodía ( $\Psi_{md}$ ) y potencial hídrico de pre alba ( $\Psi_{pd}$ ).....	13
Figura 4. Potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xilema}$ ) a lo largo del día y a lo largo del experimento.....	13
Figura 5. Conductancia estomática ( $g_s$ ), Asimilación neta ( $A_N$ ) y transpiración ( $E$ ) a lo largo del día y a lo largo del experimento.....	16
Figura 6. Temperatura de hoja ( $^\circ\text{C}$ ) a lo largo del día y a lo largo del experimento .....	17
Figura 7. Asimilación neta diaria ( $A_{Nd}$ ) y Transpiración diaria ( $E_d$ ) a lo largo del experimento.....	17
Figura 8. Eficiencia del uso del agua intrínseca ( $A_N/g_s$ ) e instantánea ( $A_N/E$ ) a lo largo del día y del experimento. ....	18
Figura 9. Relación entre asimilación neta ( $A_N$ ) y conductancia estomática ( $g_s$ ). ....	18
Figura 10. Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm) durante el experimento....	20

Figura 11. Extinción no fotoquímica (NPQ) y fotoquímica (qP) de clorofilas a lo largo del día y a lo largo del experimento .....	21
Figura 12. Concentración de clorofilas en hojas de ‘Chardonnay’ .....	23
Figura 13. Contenido de sólidos solubles (°Brix) en bayas de ‘Chardonnay’ .....	23

## RESUMEN

Los cultivares de vid (*Vitis vinifera* L.) presentan distintos grados de sensibilidad estomática frente a eventos de déficit hídrico, por lo que han sido clasificadas dentro de un continuo entre plantas isohídricas y anisohídricas. Sin embargo, existe poca información que relacione la respuesta estomática al déficit hídrico con eventuales procesos de fotoinhibición y mecanismos fotoprotectores, como disipación de energía en forma de calor o la concentración de clorofilas en las hojas. El objetivo de esta investigación fue determinar la respuesta hidráulica, estomática, fotosintética, transpiración, fotoinhibición y mecanismos de fotoprotección en el cultivar 'Chardonnay' frente a un déficit hídrico progresivo. La investigación consistió en someter a un estrés hídrico a plantas de 'Chardonnay' durante 26 días, analizando su estatus hídrico, intercambio gaseoso, fluorescencia de clorofilas, concentración de clorofilas y contenido de sólidos solubles en las bayas. En respuesta al déficit hídrico, 'Chardonnay' presentó un comportamiento anisohídrico, reduciendo su potencial hídrico de xilema, gracias a una baja sensibilidad estomática, y disminuyendo en menor grado la tasa de transpiración y fotosíntesis neta a lo largo del día, al igual que la transpiración y asimilación neta diaria, sin presentar fotoinhibición en todo el experimento, ni aumentos en la disipación de energía en forma de calor ni cambios en la concentración de clorofilas en las hojas. Lo anterior estaría asociado a rasgos hidráulicos más negativos, como punto de pérdida de turgencia y potencial osmótico a plena hidratación, que permitieron mantener estable la fotosíntesis durante el estrés hídrico.

Palabras claves: anisohídrico, fotoprotección, punto de pérdida de turgencia, sensibilidad estomática.

## ABSTRACT

Grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars have different degree of stomatal sensibility in response to water deficit events, for which they have been classified within a continuum between isohydric and anisohydric plants. However, there is little information that relates the stomatal response to water deficit with eventual photoinhibition processes and photoprotection mechanism, like energy dissipation in the form of heat or chlorophyll concentration. The aims of this research was to determine the hydraulic, stomatal, photosynthetic, transpiration, photoinhibition and photoprotection mechanism of 'Chardonnay' in response to progressive water deficit. The research consisted of subjecting plants of 'Chardonnay' to water stress during 26 days, analyzing water status, gas exchange, chlorophyll fluorescence, chlorophyll concentration and soluble solids content in berries. 'Chardonnay' displayed anisohydric behaviour in response to water deficit, reducing the xylem hydraulic potential, due to low stomatal sensitivity, decreasing to a lesser degree the transpiration and photosynthetic rate along the day, like daily transpiration and daily photosynthesis, without presenting photoinhibition or increases in the energy dissipation in the form of heat or changes in the chlorophyll concentration. The above would be associated to a more negative hydraulic traits, like turgor loss point and osmotic potential at full rehydration, that hold stable the photosynthesis during water stress.

Key words: anisohydric, photoprotection, stomatal sensitivity, turgor loss point.

## INTRODUCCIÓN

El déficit hídrico controlado ha sido utilizado como manejo cultural en la vitivinicultura con el objetivo de mejorar la calidad de las bayas utilizadas en el proceso de vinificación. Esta práctica se basa en mantener el estatus hídrico de las vides (*Vitis vinifera* L.) dentro de límites definidos (Van Leeuwen *et al.*, 2009; Basile *et al.*, 2012; Balint y Reynolds, 2016) entre cuaja y envero, cuando el crecimiento de las bayas es sensible al déficit hídrico, limitando el crecimiento vegetativo, mejorando el microclima para los racimos; ajustando el crecimiento de las bayas, aumentando la relación piel:pulpa; y promoviendo cambios en el metabolismo de las bayas; aunque también induce múltiples respuestas a nivel de intercambio gaseoso (Jackson, 2014). En el corto plazo, las vides responden al déficit hídrico reduciendo la pérdida de agua por transpiración mediante el cierre de estomas, evitando así que se alcancen valores críticos de potenciales hídricos ( $\Psi$ ) en la planta capaces de provocar fallas hidráulicas en los vasos xilemáticos por cavitación (Gambetta *et al.*, 2020). Lo anterior impacta negativamente sobre la fotosíntesis, producto de la reducción de la conductancia estomática ( $g_s$ ) y del mesófilo al  $\text{CO}_2$  ( $g_m$ ) (Flexas *et al.*, 2008), y por daños en el metabolismo fotosintético (Medrano *et al.*, 2002). A largo plazo, el déficit hídrico disminuye la tasa de división y expansión celular, el crecimiento de tallos y hojas (Farooq *et al.*, 2012), y puede inducir la senescencia prematura de éstas (Tombesi *et al.*, 2015).

La reducción de la tasa fotosintética inducida por el déficit hídrico aumenta la ocurrencia de fotoinhibición, debido a una mayor absorción de luz en exceso por las clorofilas, lo que satura los sistemas fotosintéticos a menores intensidades de luz (Murata *et al.*, 2007). El aumento de energía de excitación absorbida puede provocar desbalances entre el fotodaño y mecanismos de reparación de los sistemas fotosintéticos, lo cual está asociado al aumento de la síntesis de especies reactivas de oxígeno (ERO) en las membranas tilacoidales de los cloroplastos, como superóxido, peróxido de hidrógeno y oxígeno singlete, que, en altas concentraciones, inhiben la síntesis de proteínas relacionadas a mecanismos de reparación del fotosistema II (PSII), estimulando la fotoinhibición de los centros de reacción del PSII (CRII) (Guidi *et al.*, 2019), llevando a una reducción de la eficiencia cuántica del PSII y la tasa de transporte de la cadena de electrones (Foyer *et al.*, 2017).

Para evitar la ocurrencia de fotoinhibición en las hojas, las plantas cuentan con mecanismos capaces de reducir los excesos de luz en el PSII, mediante la disipación de energía en forma de calor (Foyer, 2018), cambios en la concentración de clorofilas de las hojas, aumentos de la síntesis de antioxidantes, y movimientos de hojas o paraheliotropismo (Pastenes *et al.*, 2005). Las vides, en particular, han sido consideradas como especies resistentes a la fotoinhibición (Medrano *et al.*, 2002), gracias a que presentan principalmente mecanismos de protección como la fotorrespiración y la disipación de excesos de energía en forma de calor (Hochberg *et al.*, 2012).

Si bien las vides han sido consideradas como una especie de uso agrícola tolerante a la sequía, se ha mencionado la existencia de variabilidad en cuanto al grado de sensibilidad estomática a un déficit hídrico entre cultivares (Shultz *et al.*, 2003). Por esta razón, durante los últimos años, se ha clasificado el comportamiento de los cultivares de vid dentro de un continuo entre plantas isohídricas y anisohídricas (Hochberg *et al.*, 2018).

Los cultivares de comportamiento isohídrico se caracterizan por mantener un potencial hídrico foliar ( $\Psi_{\text{hoja}}$ ) casi constante durante un déficit hídrico, gracias a una mayor sensibilidad estomática, mientras que los cultivares anisohídricos reducen progresivamente su  $\Psi_{\text{hoja}}$  a medida que disminuye el agua disponible en el suelo, asociado a una menor sensibilidad estomática (Tardieu y Simonneau, 1998). Debido a esta variabilidad de sensibilidades estomáticas ante un déficit hídrico entre los distintos cultivares de vid, se ha pensado que, en teoría, los cultivares anisohídricos, como ‘Chardonnay’ (Alsina *et al.*, 2007; Vandeleur *et al.*, 2009; Pou *et al.*, 2012), serían más tolerantes a la fotoinhibición que cultivares isohídricos, debido a que cierran sus estomas a potenciales hídricos de suelo más negativos, lo que les permite mantener mayores tasas fotosintéticas (Pou *et al.*, 2012). Sin embargo, a pesar del interés entorno a la respuesta de las vides frente al déficit hídrico, son pocos los estudios que han relacionado el comportamiento estomático con eventuales respuestas fisiológicas, fotoinhibición y fotoprotección para un mismo cultivar, y no existe información que relacione su estrategia hidráulica frente al déficit hídrico con respuestas a nivel fotosintético en condiciones de campo.

## **HIPÓTESIS**

Ante un déficit hídrico progresivo, *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay presentará una baja sensibilidad estomática, manteniendo altos niveles de conductancia estomática y fotosíntesis, baja actividad fotoprotectora, sin presentar fotoinhibición.

## **OBJETIVO**

### **Objetivo general:**

Determinar la respuesta hidráulica, estomática, fotosintética, transpiración, fotoinhibición y fotoprotección en el cultivar Chardonnay, ante un déficit hídrico progresivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio de estudio

El experimento se realizó en la Viña comercial 'Matetic', ubicada en la comuna de Casablanca, Provincia de San Antonio, Región de Valparaíso (33°28'39.8"S, 71°28'37.1"O). El estudio se llevó a cabo entre el 31 de enero y 25 de febrero, durante la temporada 2019 – 20.

Las determinaciones y estudios se realizaron en el Laboratorio de Fisiología del Estrés en Plantas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, comuna de La Pintana, provincia de Santiago, Región Metropolitana (33°34'5.99"S, 70°38'12.43"O).

### Material biológico

En el ensayo se utilizaron vides (*Vitis vinifera* L.) del cultivar Chardonnay de 10 años, injertadas sobre portainjerto 1103 Paulsen, conducidas en espaldera con orientación Norte-Sur. Las vides son regadas mediante sistema de riego por goteo línea simple, con rendimiento de 10 Ton ha<sup>-1</sup>.

### Tratamiento y diseño experimental

El experimento consistió en un ensayo con dos tratamientos, cada uno con un nivel de riego diferente, con plantas sometidas a riego y plantas sometidas a déficit hídrico progresivo, mediante el corte de riego. Antes de realizar la diferenciación de riego, todas las plantas utilizadas para el estudio recibieron el mismo riego. La diferenciación de los niveles de riego se realizó el 31 de enero del 2020, cercano a envero, y se mantuvo hasta el 25 de febrero del 2020.

El ensayo consistió en un diseño en bloques completamente aleatorizados (DBCA), siendo la pendiente el factor de bloqueo. En cada bloque se establecieron los 2 tratamientos, donde cada tratamiento presentó 3 plantas consecutivas de vigor similar, y las determinaciones se realizaron en la planta central de cada tratamiento. El ensayo contó con cinco repeticiones por tratamiento.

El tiempo fue considerado como un factor de interés en este estudio, ya que las variables analizadas fueron evaluadas en la misma unidad experimental a través del tiempo, lo cual implica que la estructura de parcelas corresponde al de una parcela dividida.

## Manejo del experimento

La duración total del experimento fue de 26 días. Para diferenciar las plantas según tratamiento, se marcaron con cintas identificando el número de la repetición y tratamiento de riego. Para inducir la sequía progresiva se instalaron tapa goteros en las líneas de riego. Las determinaciones se realizaron a los 5, 15, 21 y 26 días después de la diferenciación de riego (DDDR). Al final del experimento, se repuso el agua de riego en las plantas sujetas a déficit hídrico.

## Determinaciones

Durante el experimento se midieron las respuestas fisiológicas de plantas del cv. 'Chardonnay' al déficit hídrico, mediante variables relacionados a potenciales hídricos de la planta, intercambio gaseoso de la hoja, fluorescencia de clorofilas, contenido de clorofilas en las hojas y contenido de sólidos solubles en las bayas. Se seleccionaron hojas representativas, completamente expandidas, sanas y sin daños mecánicos en cada orientación de la espaldera, para cada unidad experimental. Se utilizaron hojas distintas para las mediciones de intercambio gaseoso y de fluorescencia de clorofilas para medir a lo largo del tiempo. Las mediciones de potenciales hídricos, intercambio gaseoso y fluorescencia de clorofilas se realizaron simultáneamente.

## Variabes meteorológicas

Durante el experimento se recolectaron datos relacionados a las variables meteorológicas de radiación fotosintéticamente activa (PAR), déficit de presión de vapor del aire (DPV) y temperatura media del aire (T°C) en cada momento en que se realizaron las mediciones. Los datos fueron obtenidos de la estación meteorológica de la Viña Matetic.

## Potencial hídrico

Los estatus hídricos de las plantas se midieron utilizando una cámara de presión tipo Scholander (Scholander *et al.*, 1965) (PMS Instrument, 600D, USA). Las mediciones de potencial hídrico de pre alba ( $\Psi_{pd}$ ) fueron realizados en la madrugada, mientras que las de potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xilema}$ ) se midieron 5 a 6 veces durante el día, a las 10:00; 11:00; 13:00; 16:00, 17:00 y 18:00 horas. Las mediciones realizadas entre las 10:00 y 13:00 horas se realizaron en la orientación este de la espaldera, mientras que las mediciones realizadas entre las 16:00 y 18:00 horas se realizaron en la cara oeste. Para las mediciones de  $\Psi_{xilema}$ , las hojas se cubrieron con toallas de papel húmedas y luego con bolsas plásticas aluminizadas (PSM Instrument, USA) una hora antes de las mediciones. Estas determinaciones siempre se realizaron por el lado de la espaldera expuesto a la luz del sol.

## Curvas presión – volumen

Las curvas presión vs volumen se realizaron según Lawren y Pasquet-Kok (2010). Al final del experimento se escogieron 9 plantas al azar pertenecientes al mismo cuartel,

independientes a las utilizadas en los tratamientos, y se recolectó 1 brote por cada planta. Los brotes fueron sumergidos en agua limpia por 20 minutos y luego se escogió una hoja ubicada en la parte central de cada brote, entre el 5° y 12° nudo, cortándola con una cuchilla y dejándole un peciolo de 6 – 8 cm de longitud desde la lámina. Posteriormente, el extremo distal del peciolo fue sumergido en una solución, filtrada (0,22  $\mu\text{m}$ ) y desgasificada, de KCl 10 mM y CaCl<sub>2</sub>, para rehidratar la hoja durante toda la noche. El potencial hídrico de pérdida de turgor ( $\Psi_{\text{TLP}}$ ), potencial osmótico a plena turgencia ( $\pi_0$ ) y la capacitancia de la hoja ( $C_{\text{hoja}}$ ) se determinó en las hojas de cada brote mediante la técnica de secado en mesón. Las hojas se secaron lentamente en el mesón a baja intensidad luminosa ( $\text{PAR} < 50 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), registrándose el potencial hídrico de la hoja ( $\Psi_{\text{hoja}}$ ) y el peso de esta, hasta alcanzar un  $\Psi_{\text{hoja}}$  menor de -2,5 MPa. En ese momento se escanearon las hojas y se secaron en horno a 70°C durante 72 horas para obtener el área y peso seco de cada una de ellas.

Para cada hoja se determinó el contenido relativo de agua (CRA) y los cambios de los valores de  $\Psi_{\text{hoja}}^{-1}$  se graficaron versus 1-CRA. El  $\Psi_{\text{TLP}}$  se determinó como el punto de inflexión entre la porción lineal y no-lineal del gráfico, el  $\pi_0$  se obtuvo mediante la extrapolación de la relación lineal de la curva después del punto de pérdida de turgor de la curva en  $\text{CRA} = 1$  (Tyree y Hammel, 1972). Finalmente, la capacitancia absoluta por área foliar de la hoja a plena turgencia ( $C_{\text{hoja}}$ ) se calculó a partir de la pendiente de la porción lineal de  $\Psi_{\text{hoja}}$  y CRA antes de  $\Psi_{\text{TLP}}$ , normalizado por el contenido de agua a saturación y el área foliar.

### **Intercambio gaseoso**

Las mediciones de intercambio gaseoso se realizaron siempre en la misma hoja durante el experimento, 6 veces al día, a las 10:00; 11:00; 13:00; 16:00, 17:00 y 18:00 horas, utilizando un equipo IRGA (PPSystems, CIRAS-II, USA). Las primeras tres mediciones, entre las 10:00 – 13:00 horas, se realizaron en hojas expuestas al este de la espaldera, mientras que las últimas tres mediciones, entre las 15:00 – 18:00 horas, se realizaron en las hojas expuestas en la cara oeste. Los parámetros medidos fueron la asimilación neta de CO<sub>2</sub> ( $A_N$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ) y transpiración ( $E$ ). La eficiencia del uso del agua intrínseca se estimó mediante la división de  $A_N$  por  $g_s$ , mientras que la eficiencia del uso del agua instantánea se estimó mediante la división de  $A_N$  por  $E$ .

El total diario de asimilación neta y transpiración de la hoja se obtuvo mediante la integración de la curva descrita por la variación diaria de  $A_N$  y  $E$  por cada repetición usando el método del trapecio (Rogers *et al.*, 2004).

### **Conductividad hidráulica de la planta**

La conductividad hidráulica de la planta ( $K_h$ ) se estimó a partir de la relación entre la tasa de transpiración de la hoja y el diferencial entre el potencial hídrico de pre alba – xilemático a medio día (Sperry y Pockman, 1993):

$$K_h = \frac{E}{\Delta(\Psi_{pd} - \Psi_{md})}$$

Donde  $K_h$  representa la conductividad hidráulica de la planta,  $E$  representa la transpiración de la hoja de mediodía, representando de esta forma la transpiración de toda la planta,

mientras que  $\Psi_{pd}$  y  $\Psi_{md}$  representan el potencial el potencial hídrico de pre-alba y xilemático al mediodía, respectivamente.

### Fluorescencia de clorofilas

Las mediciones de fluorescencia de clorofilas fueron realizadas con un fluorómetro de pulso modulado (Hansatech, PMS2, UK). Estas se realizaron durante el día, a las 06:00, 10:00; 11:00; 13:00; 16:00, 17:00 y 18:00 horas, donde las mediciones realizadas entre las 10:00 - 13:00 horas se ejecutaron en la orientación este de la espaldera, mientras que las mediciones entre las 15:00 - 18:00 horas se realizaron en la cara oeste. Los parámetros obtenidos mediante las mediciones fueron la eficiencia cuántica máxima del PSII ( $F_v/F_m$ ), disipación de energía no fotoquímica (NPQ) y disipación de energía fotoquímica (qP).

La eficiencia cuántica máxima del PSII ( $F_v/F_m$ ) se midió a las 06:00 am. Para obtener los parámetros de fluorescencia mínima ( $F_o$ ) y fluorescencia máxima ( $F_m$ ), se realizaron mediciones en hojas previamente adaptadas a la oscuridad con pinzas durante una hora. Posteriormente, las hojas fueron sometidas a un haz de luz de baja intensidad ( $0,1 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), con lo cual se obtuvo  $F_o$ . Luego, se sometieron a las hojas a un pulso de luz saturante de  $3.000 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , obteniéndose  $F_m$ . La variable  $F_v$  se obtuvo de la diferencia entre  $F_m$  y  $F_o$ . La relación  $F_v/F_m$  se utilizó para determinar el grado de fotoinhibición del PSII en las hojas que fueron medidas (Baker, 2008).

Tras las mediciones realizadas en oscuridad, estas se adaptaron a la luz mediante luz actínica ( $680 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), con lo cual se obtuvo  $F_s$ . Luego, las hojas se sometieron a un pulso de luz saturante de  $3.000 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para obtener  $F_m'$ . Finalmente, las hojas se taparon para dejarlas en oscuridad y se sometieron a un haz de luz rojo lejano de baja intensidad ( $0,1$  de  $3.000 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) durante 30 segundos para obtener  $F_o'$ . Estas mediciones se realizaron 6 veces durante el día, a las 10:00, 11:00, 13:00, 16:00, 17:00 y 18:00 horas. Para obtener NPQ y qP se realizaron los siguientes cálculos descritos por Maxwell y Johnson (2000):

$$NPQ = \frac{(F_m - F_m')}{F_m}$$

$$qP = \frac{(F_m' - F_s)}{(F_m' - F_o')}$$

### Concentración de clorofilas

La concentración de clorofilas se evaluó indirectamente, una vez en el día, mediante un sensor SPAD (Minolta SPAD 502, Osaka, Japón) en hojas pertenecientes al mismo brote en que se realizaron las mediciones de intercambio gaseoso. Se escogieron hojas localizadas en la parte inferior, media y superior de cada brote. En cada hoja se realizaron tres mediciones, en dos lóbulos laterales y en la parte central de la hoja, evitando las nervaduras, y se registró el promedio de las tres evaluaciones para el contenido de clorofilas en las hojas.

## Contenido de sólidos solubles en las bayas

El contenido de sólidos solubles de las bayas se midió utilizando un refractómetro termocompensado portátil. Para realizar las mediciones se seleccionó un racimo por planta, de las que se utilizaron tres bayas al azar. Luego, se exprimieron las bayas para obtener el líquido.

## Análisis estadístico

En el estudio, el tiempo fue considerado como un factor de interés, ya que las variables analizadas fueron evaluadas en la misma unidad experimental a través del tiempo, desde el inicio de los tratamientos, lo cual implica que la estructura de parcelas corresponde al de una parcela dividida, por lo que los datos fueron analizados mediante modelos lineales mixtos:

$$y_{ijk} = \mu + R_i + T_j + (RT)_{ij} + B_k + PP_{i(k)} + \varepsilon_{ijk}$$

Con  $Y_{ijk}$  representado el valor de la observación de la unidad experimental;  $\mu$  representó la media general del ensayo;  $R_i$  es el efecto asociado al tratamiento de riego (parcela principal);  $T_j$  como factor Tiempo (sub-parcela);  $(RT)_{ij}$  correspondió a la interacción del factor Riego y Tiempo;  $B_k$  como el efecto bloque; y  $PP_{i(k)}$  como el error de la parcela principal;  $\varepsilon_{ijk}$  es el error de la sub-parcela.

Al encontrar diferencias significativas en la interacción, o en los factores actuando de manera independiente, se realizaron pruebas de comparaciones múltiple de Fisher (p-valor  $< 0,05$ ).

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el software estadístico INFOSTAT y para el diseño de gráficos se utilizó el software RStudio.

## RESULTADOS

### Condiciones ambientales

#### Radiación fotosintéticamente activa

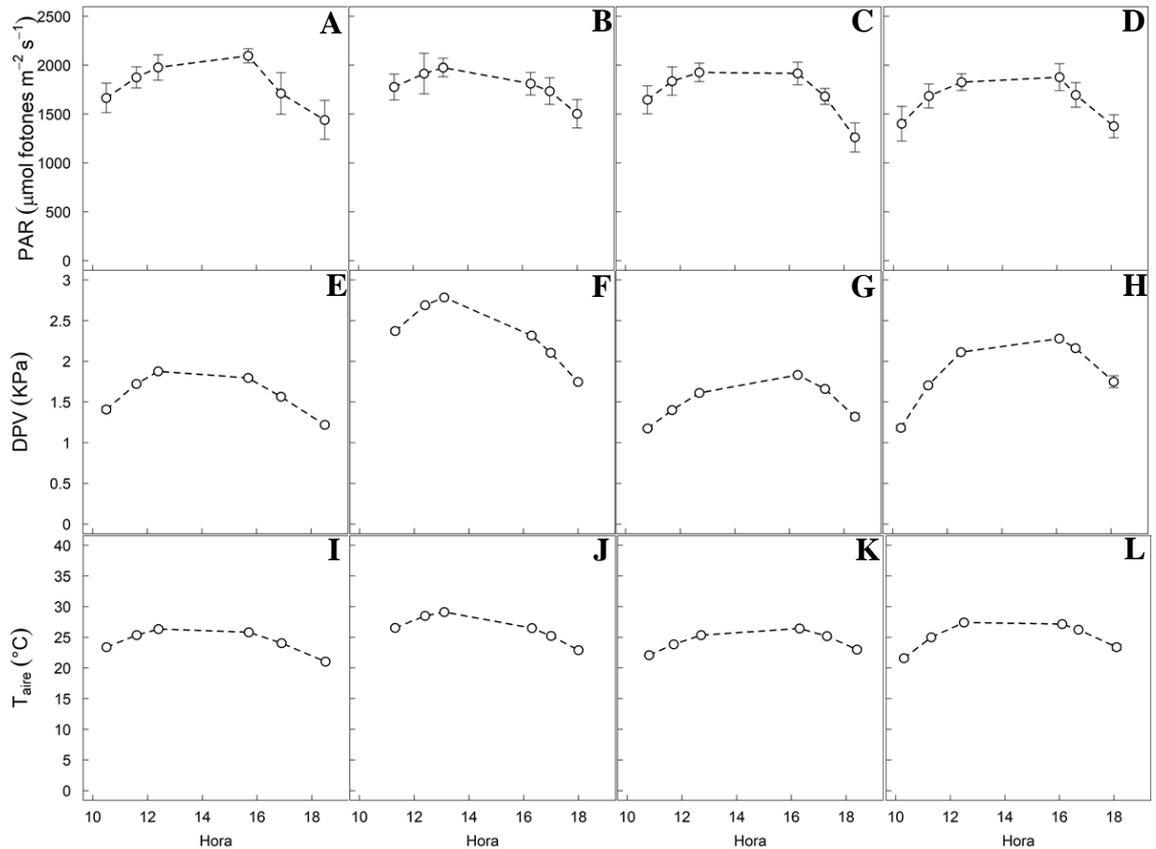
Durante el experimento los promedios de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en las mañanas correspondió a 1.724,9, al mediodía a 1.922,3 y en las tardes a 1.550,3  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 1 A - D). Durante las mediciones realizadas en el este de la espaldera, las hojas estuvieron expuestas a 1.630 y 1.889  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , mientras que las hojas de la cara oeste estuvieron sometidas entre 1.610 y 1.750  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

#### Déficit de presión de vapor

El déficit de presión de vapor del aire (DPV) fue, en las mañanas, 1,7 KPa, al mediodía de 2,0 KPa y en las tardes de 1,7 KPa (Figura 1 E - H). A los 15 y 26 días desde la diferenciación de riego (DDDR) se registraron los valores más altos de DPV, mientras que a los 5 y 21 DDDR, el DPV fue más bajo. En las primeras dos jornadas de medición, el DPV fue mayor cuando se realizaron las mediciones en las hojas expuestas al este de la espaldera, mientras que, en las últimas dos jornadas, el DPV fue mayor cuando se realizaron las mediciones en la cara oeste.

#### Temperatura media del aire

La temperatura media del aire fue similar durante todas las jornadas de medición ( $T_{\text{aire}}$ , Figura 1 I - L). La temperatura media del aire durante el experimento en las mañanas fue 24,5°C. La temperatura máxima fue, en promedio, 26,7°C y se registró al mediodía. Durante la tarde, la temperatura promedio fue de 23,8°C. Al igual que con el déficit de presión de vapor, en las primeras dos jornadas, los mayores niveles de  $T_{\text{aire}}$  ocurrieron entre la mañana y el mediodía, cuando se realizaron en las hojas expuestas al este de la espaldera, mientras que, en las últimas dos jornadas, la  $T_{\text{aire}}$  fue mayor durante la tarde, cuando se evaluaron las respuestas de las hojas expuestas al oeste.



**Figura 1.** Variación de la radiación fotosintéticamente activa (PAR, A - D), déficit de presión de vapor (DPV, E - H) y temperatura media del aire ( $T^{\circ}$ , I - L) a lo largo del día y del experimento. Las columnas del panel de izquierda a derecha representan 5, 15, 21 y 26 días desde la diferenciación de riego (DDDR). Cada punto representa la media de cada momento de medición. Barras de error indican error estándar (EE).

## Estatus hídrico

### Potencial hídrico de prealba ( $\Psi_{pd}$ )

El déficit hídrico progresivo disminuyó el potencial hídrico de prealba ( $\Psi_{pd}$ ) de las plantas del tratamiento sin riego (SR), siendo significativamente menores que las plantas del tratamiento con riego (CR) durante todo el ensayo (Figura 2 A). Los  $\Psi_{pd}$  de las plantas del tratamiento SR presentaron valores de -0,40 MPa durante la primera jornada de medición, y alcanzaron los -0,49 MPa a los 26 DDDR, siendo el valor más negativo de todo el ensayo; mientras que los  $\Psi_{pd}$  de las plantas del tratamiento CR se mantuvieron entre -0,21 y -0,29 MPa durante todo el experimento.

### Potencial hídrico de medio día ( $\Psi_{md}$ )

Al igual que el  $\Psi_{pd}$ , el potencial hídrico de xilema de medio día ( $\Psi_{md}$ ) de las plantas SR fue significativamente menor que las plantas CR durante todo el ensayo, presentando

valores de -0,96 MPa en la primera jornada de medición, y alcanzó los -1,11 MPa a los 26 DDDR, sin encontrarse diferencias significativas en el tiempo en dicho tratamiento (Figura 2 B). Las plantas CR, en tanto, mantuvieron valores de  $\Psi_{md}$  entre -0,63 y -0,85 MPa en todo el experimento.

En la figura 3 se presenta la relación lineal entre el  $\Psi_{md}$  versus  $\Psi_{pd}$  de las plantas del cultivar Chardonnay durante todo el ensayo, considerando ambos tratamientos de riego. A medida que el  $\Psi_{pd}$  se hacía más negativo, el  $\Psi_{md}$  disminuyó progresivamente a una relación ( $\sigma$ ) de 1,30 MPa MPa<sup>-1</sup>, lo cual, bajo el modelo de Martínez-Vilalta *et al.* (2014), corresponde a un comportamiento anisohídrico extremo en respuesta al déficit hídrico progresivo al que estuvo sometido durante el experimento.

### **Conductividad hidráulica ( $K_h$ )**

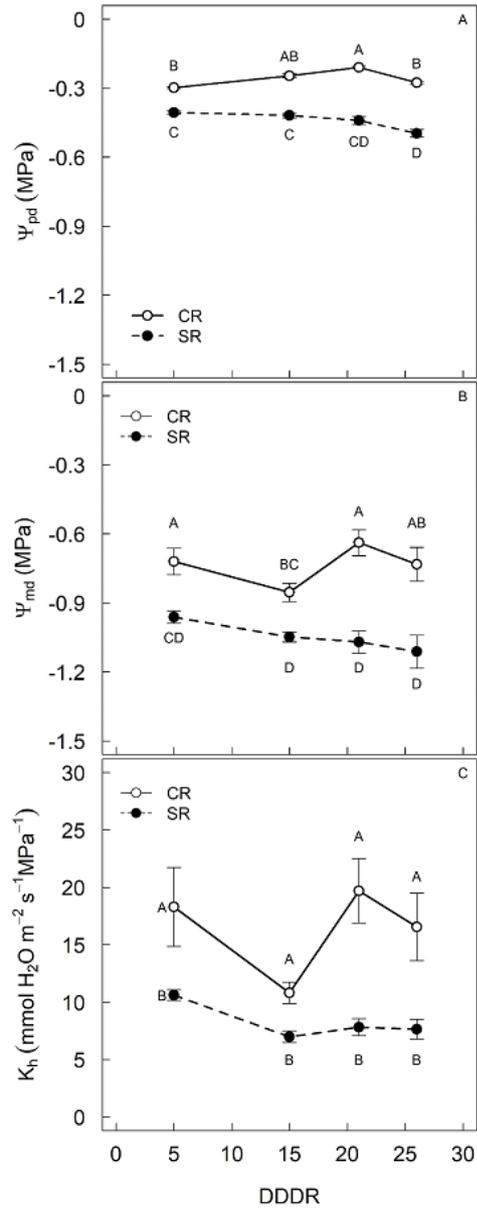
Durante el experimento, el déficit hídrico progresivo redujo la conductividad hidráulica de ‘Chardonnay’ ( $K_h$ , Figura 2 C), donde las plantas SR presentaron valores significativamente menores a las plantas CR en todo el ensayo. En el día 5 DDR, la  $K_h$  de las plantas SR fue de 10,6 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>, manteniéndose entre 7,0 y 7,8 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> durante las siguientes jornadas, sin encontrarse diferencias significativas en este tratamiento a lo largo del tiempo. Las plantas CR, por su parte, presentaron valores entre 10 y 19 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> durante todo el ensayo.

### **Potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xilema}$ )**

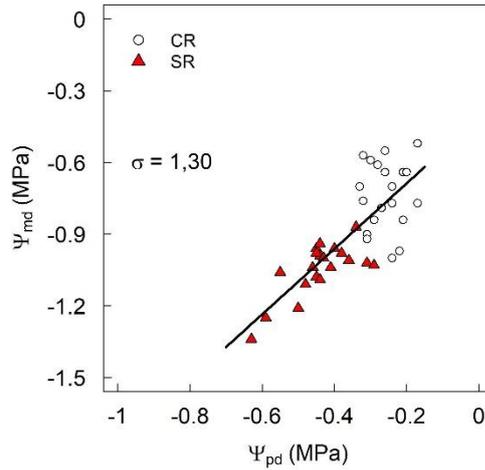
El potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xilema}$ ) disminuyó a lo largo del día en cada jornada de evaluación en respuesta al déficit hídrico progresivo (Figura 4). El  $\Psi_{xilema}$  de las plantas CR se mantuvo entre los -0,52 y -0,85 MPa en todo el experimento, mientras que las plantas SR presentaron valores de  $\Psi_{xilema}$  entre -0,83 y -1,15 MPa durante todo el ensayo. A los 5 DDDR, el  $\Psi_{xilema}$  fue significativamente mayor en las plantas SR durante la mañana y mediodía, en las mediciones realizadas en hojas expuestas al este de la espaldera, mientras que en la tarde sólo hubo diferencias significativas a las 15:00 horas, en las hojas expuestas hacia el oeste (Figura 4 A). A partir de la jornada 2 en adelante, el  $\Psi_{xilema}$  de las plantas SR fue significativamente mayor que las plantas CR, independiente de la hora del día, en ambas caras de las espalderas (Figura 4 B-D).

### **Curva presión volumen**

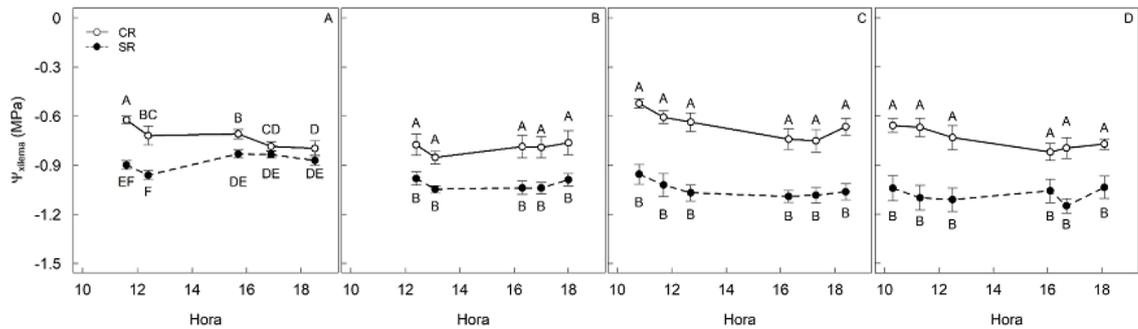
El cv. Chardonnay presentó valores promedios de potencial hídrico de punto de turgencia ( $\pi_{TLP}$ ), potencial osmótico a plena hidratación ( $\pi_0$ ) y módulo de elasticidad de la pared celular ( $\epsilon$ ) de -2,18, -1,82 y 16,05 MPa, respectivamente (Cuadro 1). A pesar de que  $\Psi_{xilema}$  disminuyó en respuesta al déficit hídrico, las plantas SR no alcanzaron valores de  $\Psi_{xilema}$  cercanos a  $\pi_{TLP}$  que hubieran inducido marchitez en las hojas.



**Figura 2.** (A) Potencial hídrico de prealba ( $\Psi_{pd}$ ), (B) potencial hídrico de mediodía ( $\Psi_{md}$ ) y (C) conductividad hidráulica ( $K_h$ ) a lo largo del experimento en plantas con riego (CR) y sin riego (SR). Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).



**Figura 3.** Relación lineal entre el potencial hídrico de mediodía ( $\Psi_{md}$ ) y potencial hídrico de pre alba ( $\Psi_{pd}$ ) durante el experimento. Círculos representan las mediciones realizadas en las plantas con riego (CR) y triángulos las mediciones realizadas en las plantas sin riego (SR). Símbolo  $\sigma$  representa la pendiente de la relación entre  $\Psi_{md}$  y  $\Psi_{pd}$ .



**Figura 4.** Potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xilema}$ ) a lo largo del día en cada jornada de medición en plantas con riego (CR) y sin riego (SR). Las columnas del panel de izquierda a derecha representan 5, 15, 21 y 26 días desde la diferenciación de riego (DDDR). Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo para cada jornada de medición ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).

**Cuadro 1.** Rasgos hidráulicos derivados de la curva presión volumen en plantas del Cv. Chardonnay expuestas a riego. Los símbolos  $\pi_0$ ,  $\pi_{TLP}$  y  $\varepsilon$  representan el potencial osmótico a plena hidratación, punto de pérdida de turgencia y módulo de elasticidad, respectivamente. Cada valor representa la media y su error estándar ( $n = 9$ ).

$\pi_0$ MPa	$\pi_{TLP}$ MPa	$\varepsilon$ MPa
$-1,82 \pm 0,04$	$-2,18 \pm 0,06$	$16,04 \pm 0,67$

## Intercambio gaseoso

### Conductancia estomática ( $g_s$ )

La conductancia estomática ( $g_s$ ) disminuyó en respuesta al déficit hídrico (Figura 5 A - D). Durante todo el experimento, las plantas CR presentaron valores promedio de  $g_s$  entre 164 y 373  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , mientras que las plantas SR presentaron valores entre 112 y 301  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A los 5 DDDR no hubo diferencias significativas en  $g_s$  entre los tratamientos en ningún momento del día (Figura 5 A), y a partir de la segunda jornada en adelante, la  $g_s$  de las plantas SR fue significativamente menor que las plantas CR. A los 15 DDDR, independiente de la hora del día, la  $g_s$  del tratamiento SR fue significativamente menor presentando valores entre 112 y 178, y 136 y 140  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , mientras que las plantas CR presentaron valores entre 223 y 258  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y 204 y 222  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , en las mediciones de la mañana y de la tarde, respectivamente (Figura 5 B). A los 21 DDDR, las plantas SR fueron significativamente menores a las plantas CR durante todo el día, a excepción de la medición de las 16:00 horas, sin encontrarse diferencias significativas en  $g_s$  en el tratamiento SR a lo largo del día (Figura 5 C), mientras que a los 26 DDDR, las plantas SR presentaron valores de  $g_s$  significativamente más bajos que las plantas CR en todo el día, a excepción de las 18:00 horas (Figura 5 D).

### Asimilación neta ( $A_N$ )

En respuesta al déficit hídrico, la asimilación neta ( $A_N$ ) disminuyó (Figura 5 F - H). Durante todo el ensayo, las plantas CR presentaron valores  $A_N$  entre 12,6 y 19,9  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , mientras que las plantas SR presentaron valores entre 10,0 y 21,5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Al igual que ocurrió con  $g_s$ , no hubo diferencias significativas entre los tratamientos a los 5 DDDR, y a partir de la jornada 2 en adelante, la  $A_N$  de las plantas SR fue significativamente menor, presentando valores entre 10,0 y 14,3, y 11,5 y 13,7  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , durante la mañana y tarde, respectivamente. Durante la jornada 2 y 3, hubo diferencias significativas entre los tratamientos en la cara este, en las mediciones realizadas entre las 09:00 y 13:00 horas, mientras que en la tarde sólo hubo diferencias significativas a las 17:00 horas, donde las plantas SR presentaron valores inferiores a las plantas CR, A los 26 DDDR, la  $A_N$  de las plantas del tratamiento SR fueron significativamente menores a las plantas CR durante toda la jornada, independiente de la hora de medición.

La asimilación neta diaria ( $A_{Nd}$ ) disminuyó en respuesta al déficit hídrico en ambas orientaciones (Figura 7 A, B). En la orientación este, las plantas CR presentaron valores de  $A_{Nd}$  entre 30,7 y 38,5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$ , mientras que las plantas SR presentaron valores entre 20 y 34  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$ . En la cara oeste, por su parte, las plantas CR presentaron valores entre 27,2 y 38,7  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$ , y las plantas SR entre 21,4 y 41,3  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$ . En ambas orientaciones hubo diferencias significativas entre los tratamientos a partir de los 15 DDDR, donde las plantas SR presentaron valores significativamente menores a las plantas CR. En la cara este, los valores de  $A_{Nd}$  de ambos tratamientos fueron más bajos en la segunda jornada de medición, mientras que, en la cara oeste, los valores más bajos se presentaron a los 15 y 26 DDDR, coincidiendo con los días en que hubo mayor DPV.

### Transpiración de la hoja ( $E$ )

La transpiración de la hoja ( $E$ ), al igual que  $A_N$  y  $g_s$ , disminuyó en respuesta al déficit hídrico en las plantas del tratamiento SR (Figura 5 I - L). En todo el ensayo, las plantas CR presentaron valores de  $E$  entre 3,2 y 7,8 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, mientras que las plantas SR presentaron valores entre 3,0 y 5,9 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. A los 5 DDDR, no hubo diferencias significativas entre la  $E$  de las hojas del tratamiento CR y SR en ninguna hora del día (Figura 5 I). A partir de la jornada dos en adelante, la  $E$  de las plantas SR fue significativamente menor, presentando valores entre 4,41 y 5,06 y 3,01 y 5,49 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> en las mañanas y en las tardes, respectivamente (Figura 5 J - L). Al igual que con  $A_N$ , la  $E$  de las plantas SR durante la segunda jornada de medición fue significativamente menor a las plantas CR en las mediciones realizadas entre la mañana y mediodía, mientras que en la tarde sólo hubo diferencias significativas a las 17:00 horas. A los 21 DDDR hubo diferencias significativas entre los tratamientos, a excepción de la medición realizada a las 16:00 horas, mientras que a los 26 DDDR hubo diferencias significativas durante casi toda la jornada, a excepción de la medición realizada a las 18:00 horas.

La transpiración diaria ( $E_d$ ), al igual que  $A_{Nd}$ , disminuyó en respuesta al déficit hídrico en ambas orientaciones (Figura 7 B y C). En la cara este, las plantas CR presentaron valores de  $E_d$  entre 11,5 y 14,6 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> durante todo el ensayo, mientras que las plantas SR presentaron valores entre 8,4 y 10,6 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. En la cara oeste, por su parte, las plantas CR presentaron valores entre 9,1 y 12,2 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, y las plantas SR entre 7,1 y 12,5 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. En la orientación este la  $E_d$  fue significativamente menor en las plantas SR durante todo el ensayo, mientras que, en la orientación oeste, hubo diferencias significativas entre los tratamientos a partir de la segunda jornada en adelante.

### Temperatura de hoja

Durante el experimento, la temperatura de las hojas se mantuvo, en promedio, entre 25 y 36°C en ambos tratamientos (Figura 6). A los 5 DDDR no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que a los 15 DDDR, la temperatura de las hojas del tratamiento SR fueron significativamente mayores que las plantas CR durante gran parte del día, entre las 12:00 y 17:00 horas, presentando temperaturas de 30 a 34°C, mientras que las plantas CR presentaron 29 a 33°C. A los 21 DDDR no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, y a los 26 DDDR la temperatura de las hojas del tratamiento SR fueron significativamente mayores que las plantas CR a las 09:00 y 12:00 horas.

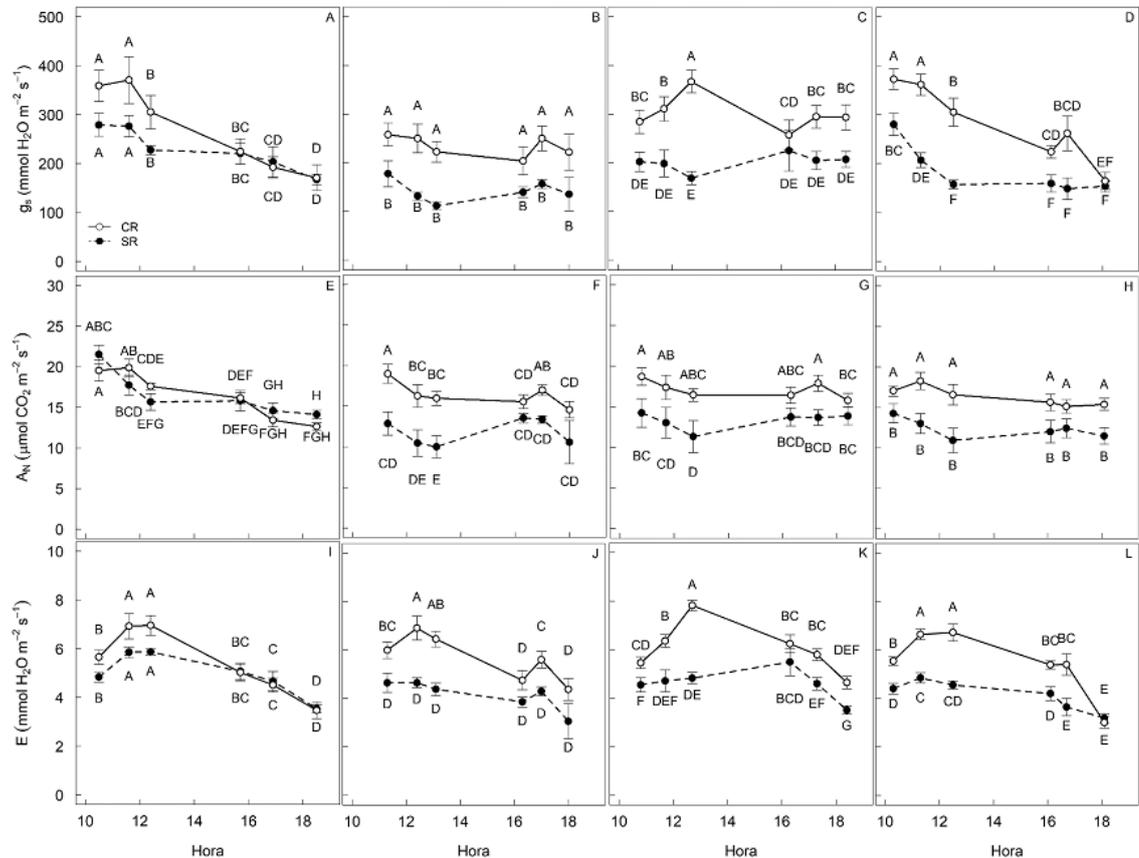
### Eficiencia del uso del agua intrínseca ( $A_N/g_s$ )

Durante el experimento, la eficiencia del uso del agua intrínseca ( $A_N/g_s$ ) de las plantas CR presentaron valores entre 0,045 y 0,097  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ , mientras que las plantas SR presentaron entre 0,051 y 0,098  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$  (Figura 8 A - D). Durante las primeras dos jornadas no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en ninguna hora del día. A los 21 DDDR la  $A_N/g_s$  de las plantas SR sólo fue significativamente mayor a las plantas CR durante el mediodía y a las 17:00 horas, mientras que a los 26 DDDR las plantas SR fueron mayores durante las 11:00 y 17:00 horas, y durante las 18:00 horas la  $A_N/g_s$  de las plantas CR fue significativamente mayor que las plantas SR.

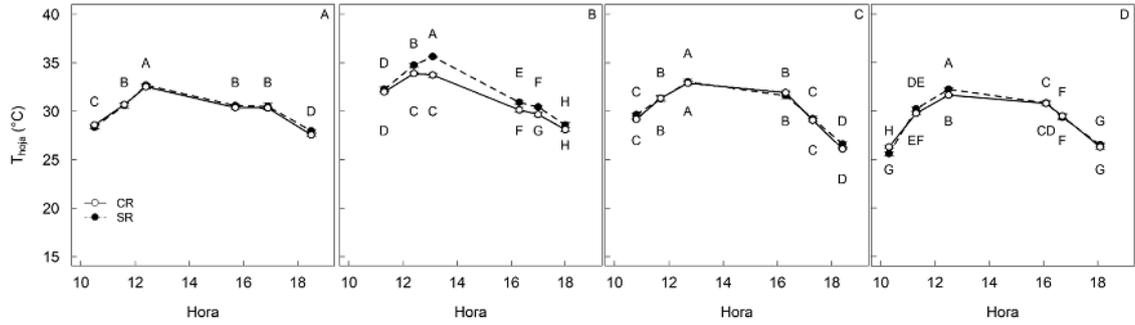
La figura 9 representa la relación entre la asimilación neta ( $A_N$ ) versus la conductancia estomática ( $g_s$ ) en ambas caras de la espaldera. La  $A_N$  disminuyó en respuesta a la reducción de  $g_s$ . La pendiente de esta relación fue, en general, más marcada a valores de  $g_s$  más bajos que a valores más altos. En las hojas expuestas al este, la pendiente de esta relación fue significativamente mayor que en las hojas expuestas en la cara oeste.

### Eficiencia del uso del agua instantánea ( $A_N/E$ )

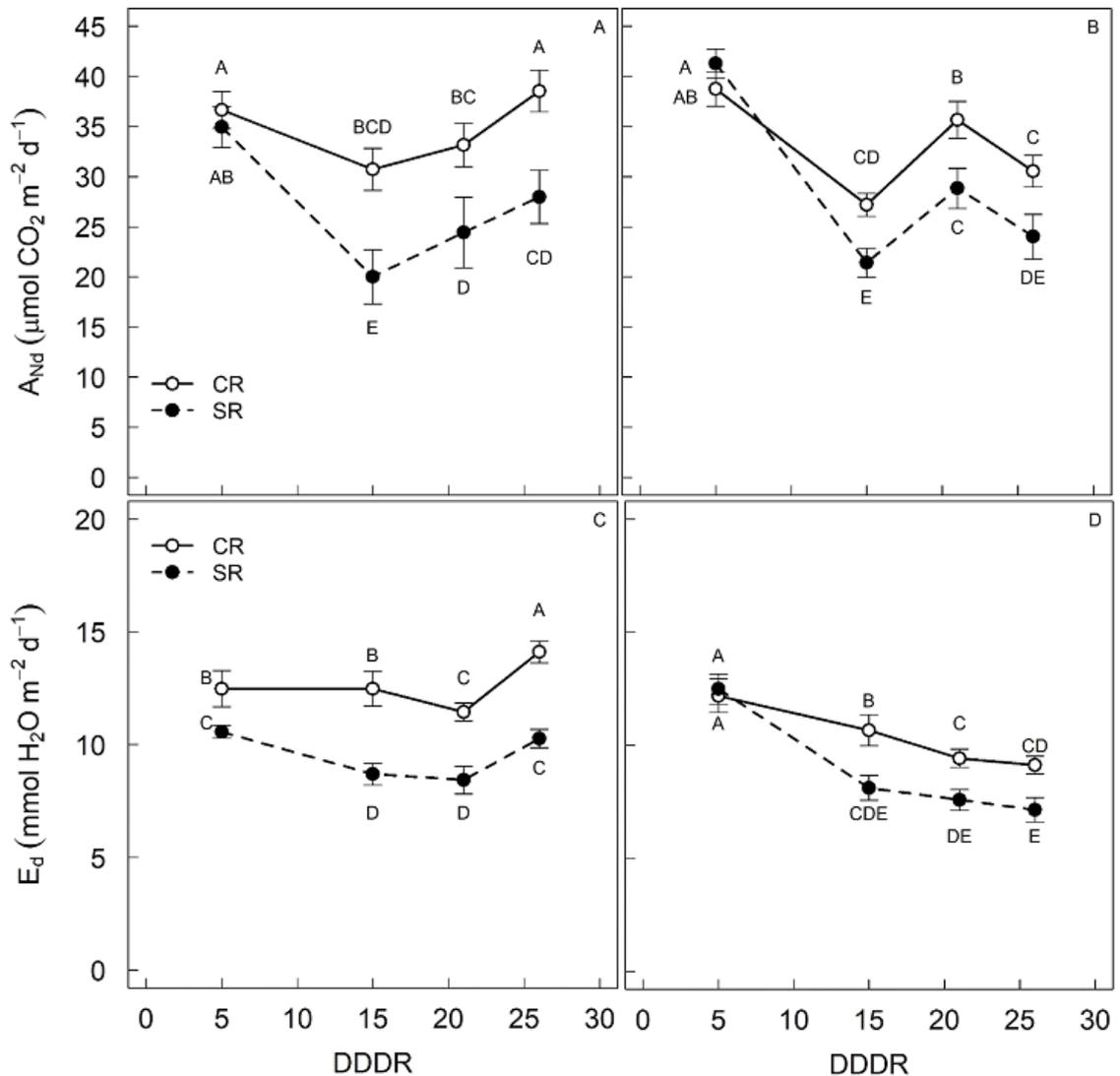
Al igual que  $A_N/g_s$ , el déficit hídrico no afectó la eficiencia del uso del agua instantánea ( $A_N/E$ ) durante el experimento (Figura 8 E - H). En todo el ensayo, las plantas CR presentaron valores entre 2,1 y 5,2  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ , mientras que las plantas SR presentaron valores entre 2,5 y 4,5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ , y sólo hubo diferencias significativas en la jornada 1, a las 09:00 horas, en la jornada 3, a las 18:00 horas, y en la jornada 4, a las 17:00 horas, donde la  $A_N/E$  fue mayor en las plantas SR; mientras que, en la última jornada, a las 18:00 horas, la  $A_N/E$  de las plantas CR fue significativamente mayor que las plantas SR.



**Figura 5.** Conductancia estomática ( $g_s$ ), asimilación neta ( $A_N$ ) y transpiración ( $E$ ) a lo largo del día y a lo largo del experimento. Las columnas del panel de izquierda a derecha representan 5, 15, 21 y 26 días desde la diferenciación de riego (DDDR). Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo para cada jornada de medición ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).

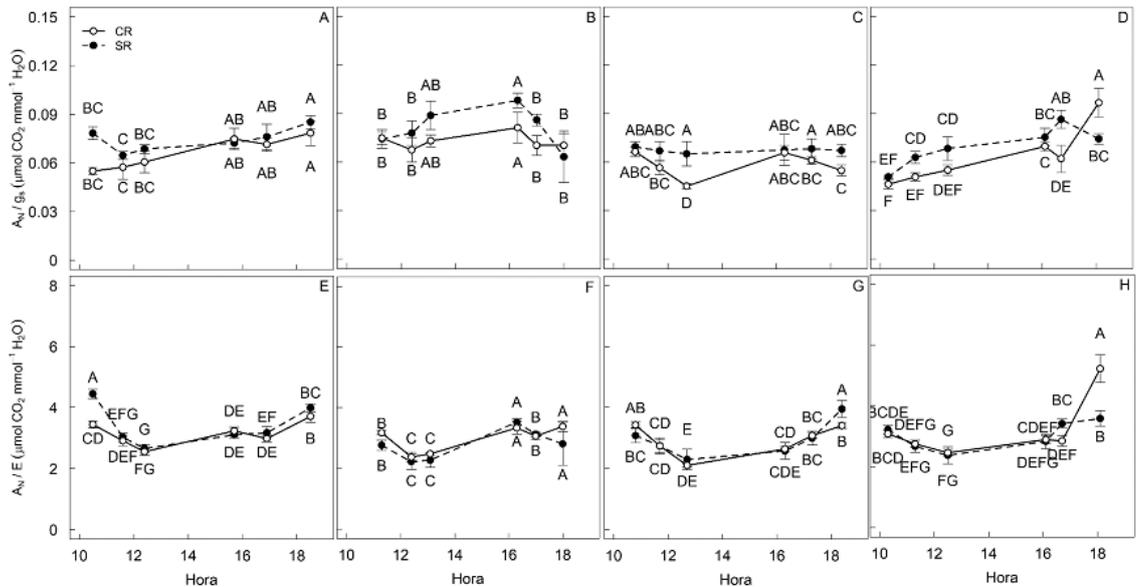


**Figura 6.** Temperatura de hoja ( $^{\circ}\text{C}$ ) a lo largo del día y a lo largo del experimento en plantas con riego (CR) y sin riego (SR). Las columnas del panel de izquierda a derecha representan 5, 15, 21 y 26 días desde la diferenciación de riego (DDDR). Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).

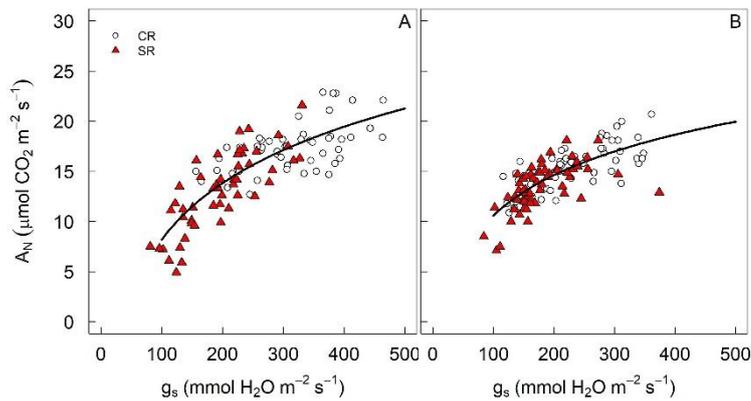


**Figura 7.** Asimilación neta diaria ( $A_{Nd}$ ) y Transpiración diaria ( $E_d$ ) a lo largo del experimento. (A,C) orientación este, (B,D) orientación oeste. Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias

significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).



**Figura 8.** Eficiencia del uso del agua intrínseca ( $A_N/g_s$ ) e instantánea ( $A_N/E$ ) a lo largo del día y del experimento. Las columnas del panel de izquierda a derecha representan 5, 15, 21 y 26 días desde la diferenciación de riego (DDDR). Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo para cada jornada de medición ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).



**Figura 9.** Relación entre asimilación neta ( $A_N$ ) y conductancia estomática ( $g_s$ ). Círculos blancos representan las mediciones realizadas en las plantas con riego (CR) y triángulos rojos las mediciones realizadas en las plantas sin riego (SR). (A) representa hojas orientadas al este de la espaldera y (B) representa hojas orientadas al oeste de la espaldera.

## Fluorescencia de clorofilas

### Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm)

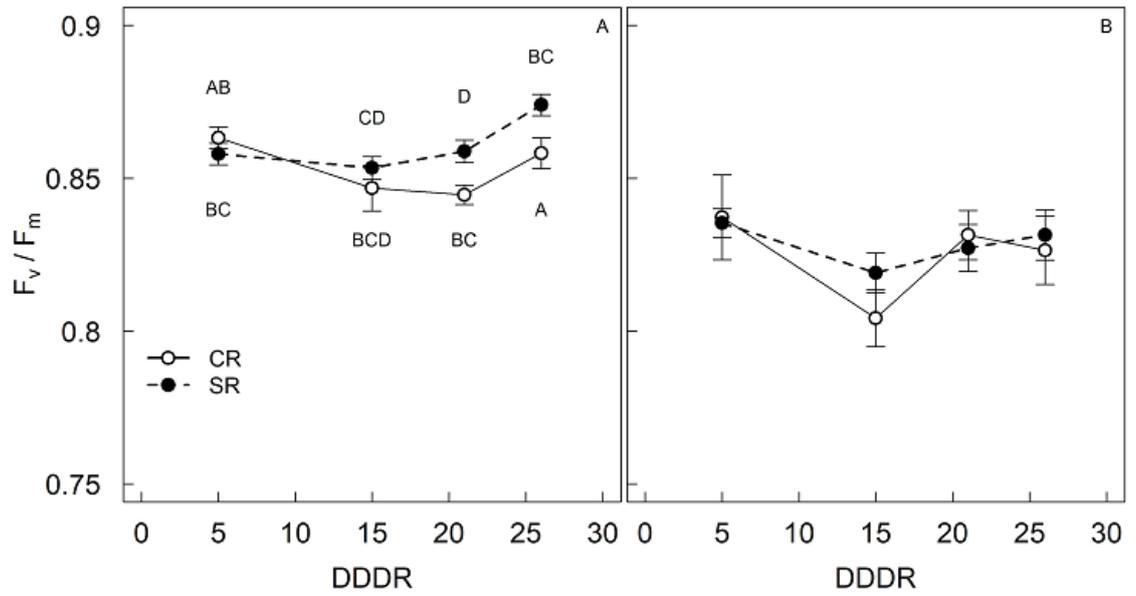
El rendimiento cuántico del fotosistema II (PSII) durante prealba (Fv/Fm) se utilizó para determinar el grado de fotoinhibición en el PSII). En la cara este, las plantas CR presentaron valores de Fv/Fm entre 0,84 y 0,86, mientras que las plantas SR presentaron valores entre 0,85 y 0,86, siendo significativamente mayor a los 21 DDDR (Figura 10 A). En el oeste, por su parte, las plantas CR presentaron valores de Fv/Fm entre 0,80 y 0,83, mientras que las plantas SR presentaron valores entre 0,81 y 0,83 (Figura 10 B). En la orientación este de la espaldera, el Fv/Fm de las plantas SR fue significativamente mayor a las plantas CR durante los días 21 y 26 DDR, mientras que, en la cara oeste, no hubo diferencias entre los tratamientos en ninguna de las jornadas (Figura 10 A y B

### Extinción no fotoquímica de las clorofilas (NPQ)

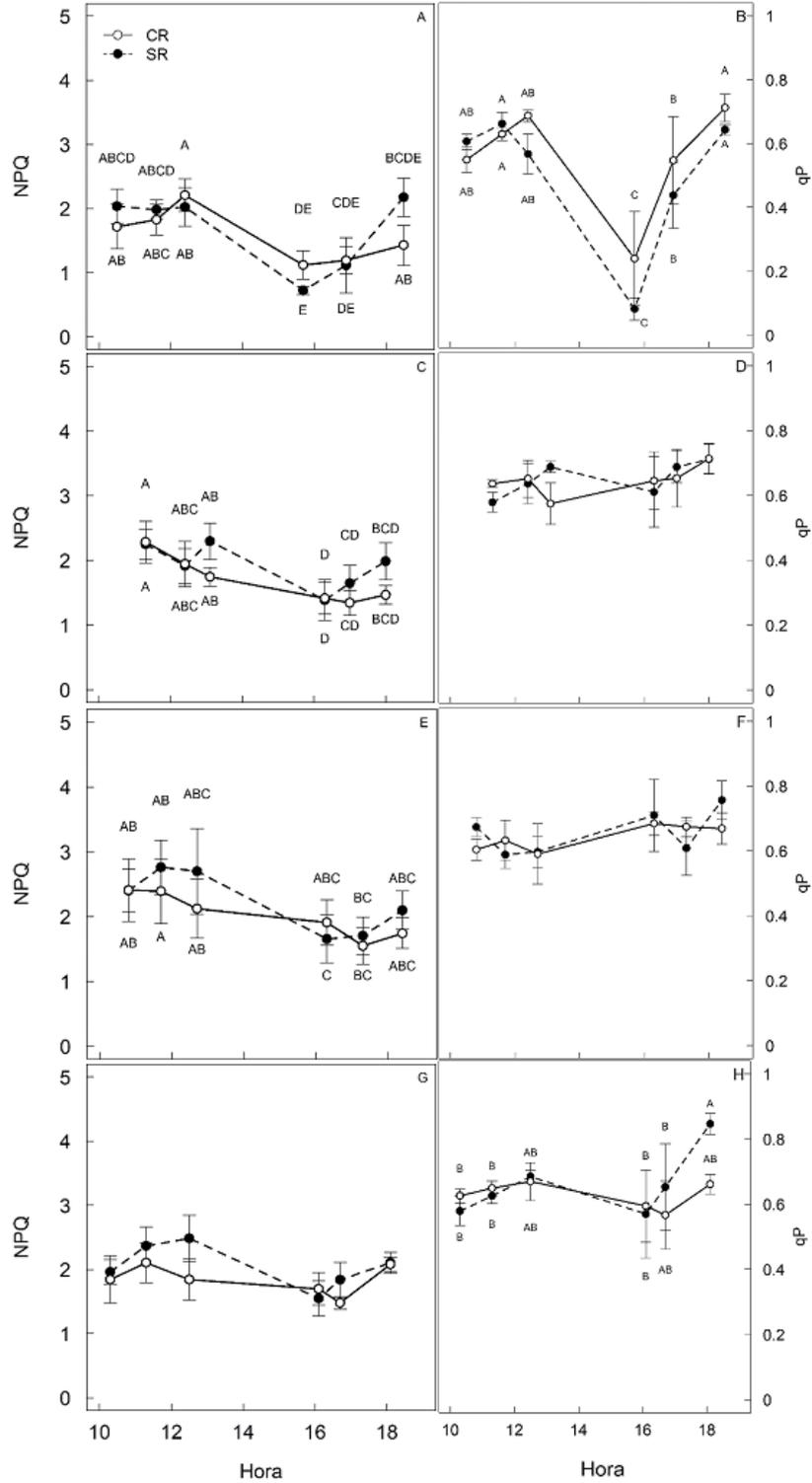
Durante el ensayo, a medida que el déficit hídrico se intensificaba, las plantas SR presentaron aumentos en la extinción no fotoquímica de las clorofilas (NPQ), principalmente en las mediciones realizadas entre la mañana y mediodía, en las hojas orientadas al este de la espaldera, mientras que, en las tardes, la NPQ aumento levemente en las mediciones realizadas cercanas al atardecer, no obstante, estas diferencias no fueron significativas en ningún momento del experimento (Figura 11 A, C, E, G). En todo el ensayo, las plantas CR presentaron valores de NPQ entre 1,12 y 2,41, mientras que las plantas SR presentaron valores entre 0,72 y 2,76.

### Extinción fotoquímica de las clorofilas (qP)

Al igual que NPQ, la extinción fotoquímica de las clorofilas (qP) no fue afectado por el déficit hídrico en todo el ensayo (Figura 11 B, D, F, H), donde no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos en ningún momento. Durante el experimento, las plantas CR presentaron valores de qP entre 0,24 y 0,71, mientras que las plantas SR presentaron valores entre 0,08 y 0,85.



**Figura 10.** Rendimiento cuántico máximo del PSII ( $F_v/F_m$ ) durante el experimento. (A)  $F_v/F_m$  en la orientación este, (B)  $F_v/F_m$  en la orientación oeste. Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).



**Figura 11.** Extinción no fotoquímica (NPQ) y fotoquímica (qP) de clorofilas a lo largo del día y a lo largo del experimento. Las columnas del panel de izquierda a derecha representan 5, 15, 21 y 26 días desde la diferenciación de riego (DDDR). Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo para cada jornada de medición ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).

## **Concentración de clorofilas en las hojas**

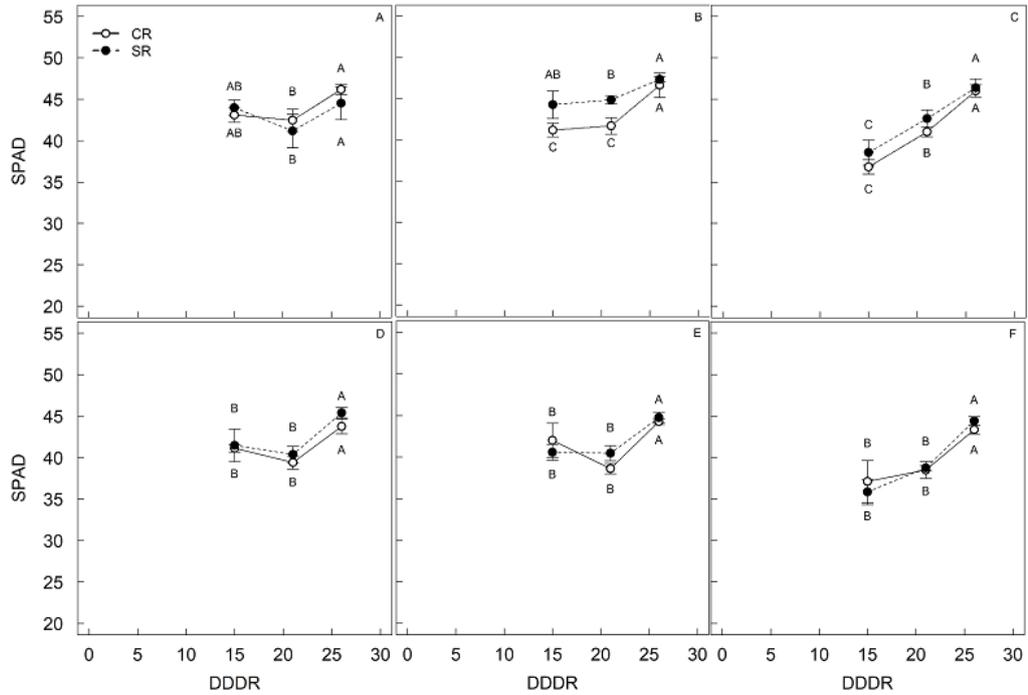
### **Concentración de clorofilas**

La figura 12 contiene la evolución de la concentración de clorofilas, estimadas indirectamente por medio de un SPAD, en hojas distribuidas en la parte inferior, media y superior del follaje para ambas caras de la espaldera. En la cara este, las hojas inferiores fueron similares durante todo el experimento, donde las plantas CR y SR presentaron valores entre 42,5 y 46,2 y 41,2 y 44,5, respectivamente. Las hojas de la parte media fueron levemente mayores en las plantas SR, presentando valores entre 44,3 y 47,4, mientras que las plantas CR presentaron entre 41,2 y 46,7, siendo estadísticamente diferentes a los 15 y 21 DDDR. En las hojas superiores, las plantas CR presentaron valores entre 36,8 y 46,0, mientras que las plantas SR presentaron entre 38,6 y 46,4, sin presentar diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 12 A – C). En la cara oeste, por su parte, la concentración de clorofilas en las hojas inferiores fue similar entre los tratamientos, donde las plantas CR presentaron entre 39,4 y 43,8, mientras que las plantas SR presentaron valores entre 40,4 y 45,4. En las hojas del medio, la concentración de clorofilas de las plantas CR fue entre 38,6 y 44,3, mientras que las plantas SR presentaron entre 40,5 y 44,8, sin diferencias entre los tratamientos, al igual que en las hojas superiores, donde las plantas CR presentaron una concentración de clorofilas entre 37,1 y 43,4, mientras que las plantas SR presentaron entre 35,8 y 44,4 (Figura 12 D – F).

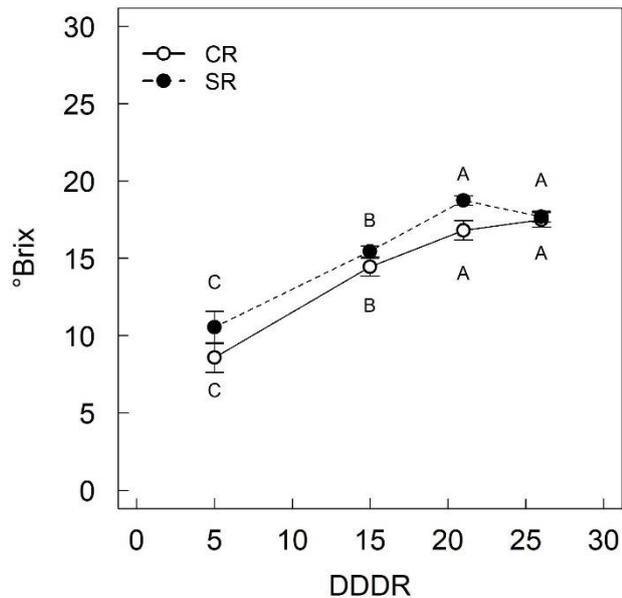
## **Contenido de sólidos solubles en la baya**

### **Contenido de sólidos solubles**

El contenido de sólidos solubles en las bayas de las plantas SR fue levemente mayor durante el experimento, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 13). En ambos tratamientos, el contenido de sólidos solubles de las bayas aumentó progresivamente desde el inicio del experimento hasta el final, donde las plantas CR presentaron valores de 8,6 y 17,5 °Brix, mientras que las plantas SR presentaron valores de 10,5 y 17,7 °Brix, al inicio y al final del experimento, respectivamente.



**Figura 12.** Concentración de clorofilas en hojas de ‘Chardonnay’ a lo largo del experimento, en hojas basales (A,D), hoja del medio (B,E) y hoja superior (C,F). Cada punto representa las mediciones realizadas en la orientación oeste. Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).



**Figura 13.** Contenido de sólidos solubles (°Brix) en bayas de ‘Chardonnay’ a lo largo del experimento. Cada punto representa la media de 5 plantas. Medias con letras mayúsculas diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del tiempo ( $p < 0,05$ ). Barras de error indican error estándar (EE).

## DISCUSIÓN

Las vides presentan comportamientos hidráulicos y fotosintéticos contrastantes en respuesta a un déficit hídrico. Durante 26 días se sometió a vides del cv. ‘Chardonnay’ a un déficit hídrico progresivo en condiciones de campo para inducir respuestas a nivel fisiológico como fluorescencia de clorofilas, senescencia y metabolismo de las bayas, estando expuestas, en promedio, a déficit de presión de vapor en el aire (DPV) de 1,82 KPa, temperaturas medias del aire ( $T^\circ$ ) de 25,05 °C, y a 1732,49  $\mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de radiación fotosintéticamente activa (PAR) (Figura 1).

Durante el experimento, el déficit hídrico provocó la reducción de los potenciales hídricos de pre alba ( $\Psi_{\text{pd}}$ ) y de mediodía ( $\Psi_{\text{md}}$ ) (Figura 2). En vides, tanto el  $\Psi_{\text{pd}}$  como  $\Psi_{\text{md}}$  han sido utilizados como indicadores del estatus hídrico (Van Leeuwen *et al.*, 2009; Basile *et al.*, 2012). El  $\Psi_{\text{pd}}$  se considera una aproximación del estatus hídrico del suelo, pues, en teoría, los potenciales hídricos de las plantas se igualan a la del suelo debido a la ausencia de transpiración, mientras que el  $\Psi_{\text{md}}$  considera el contenido de agua en el suelo y la transpiración de la hoja. El  $\Psi_{\text{pd}}$  del tratamiento sin riego (SR) disminuyó desde -0,40 a -0,49 MPa, mientras que el  $\Psi_{\text{md}}$  disminuyó desde -0,96 a -1,11 MPa, indicando que ‘Chardonnay’ estuvo sometido a un estrés hídrico leve durante la primera jornada de medición, y a un estrés hídrico moderado desde la segunda hasta la última jornada, a los 26 DDDR.

Aunque las vides han sido consideradas como especies resistentes al déficit hídrico, no todos los cultivares responden de la misma forma, pues se ha reportado que algunas de estas presentan un fuerte control del potencial hídrico foliar, mientras otras presentan un control menos intenso, lo cual ha llevado a clasificar a las vides dentro de un continuo entre plantas isohídricas y anisohídricas (Schultz, 2003). Durante el experimento, el valor  $\sigma$  de ‘Chardonnay’, que representa la pendiente de la relación entre el  $\Psi_{\text{md}}$  versus el  $\Psi_{\text{pd}}$  (Martínez-Vilalta *et al.*, 2014), fue de 1,30 MPa MPa<sup>-1</sup>, que puede interpretarse como un comportamiento anisohídrico extremo (Figura 3), coincidiendo con resultados obtenidos en otras investigaciones realizadas sobre el mismo cultivar (Pou *et al.*, 2012; Vandeleur *et al.*, 2009). Los cultivares con comportamiento anisohídrico se caracterizan por disminuir progresivamente su  $\Psi_{\text{md}}$  en respuesta a la disminución del contenido de agua en el suelo, asociado a una baja sensibilidad estomática al déficit hídrico. No obstante, cabe señalar que el grado de isohidricidad de un cultivar no sería un rasgo intrínseco, sino más bien podría estar influenciado por el ambiente y portainjertos (Villalobos-González *et al.*, 2019).

En el ensayo, el déficit hídrico indujo la disminución de la conductividad hidráulica ( $K_h$ , Figura 2 C), potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{\text{xilema}}$ , Figura 4), conductancia estomática ( $g_s$ ), transpiración ( $E$ ) y asimilación neta ( $A_N$ ) (Figura 5). La reducción del  $\Psi_{\text{xilema}}$  les permitiría a las plantas sometidas a déficit hídrico mejorar su capacidad de extraer agua desde el suelo, aunque también aumenta el riesgo de alcanzar valores de  $\Psi_{\text{xilema}}$  capaces de inducir, en casos extremos, fallas hidráulicas por cavitación (Tombesi *et al.*, 2015). En respuesta a esto, las vides cierran parcial o totalmente sus estomas para regular la pérdida de agua por transpiración y evitar que ocurran fallas hidráulicas en los vasos xilemáticos, aunque también limita la asimilación neta (Gambetta *et al.*, 2020). La regulación estomática responde a señales hidráulicas y químicas (Buckley, 2019), sin embargo, serían las señales hidráulicas las que inducen el cierre estomático en respuesta a un déficit hídrico,

mientras que las señales químicas, como el ácido abscísico (ABA), serían las responsables de mantener cerrado los estomas en las vides (Tombesi *et al.*, 2015).

A pesar de que la transpiración diaria de ‘Chardonnay’ ( $E_d$ , Figura 6) disminuyó significativamente en las plantas del tratamiento SR, esta se mantuvo constante a lo largo del experimento, lo que pudo estar relacionado a la mantención de la conductividad hidráulica ( $K_h$ ). La mantención de  $E_d$  durante el experimento pudo contribuir a que el  $\Psi_{pd}$  fuera significativamente menor, concordando con Pou *et al.* (2012), quienes señalan que ‘Chardonnay’, comparado con otros cultivares, disminuyó con mayor rapidez el contenido de agua del suelo debido a una menor reducción de  $K_h$  y  $g_s$ , lo que serían características varietales (Bota *et al.*, 2016). La asimilación neta diaria ( $A_{Nd}$ ), por su parte, también disminuyó significativamente en las plantas sometidas a déficit hídrico, donde, al igual que  $E_d$ , sólo disminuyó entre 20 – 30%, con relación a las plantas CR en todo el experimento, lo cual podría estaría vinculado a un ajuste osmótico, permitiendo que los estomas se encuentren abiertos a potenciales hídricos más negativos, ayudando a mantener la turgencia en las hojas durante eventos de sequía (Pou *et al.*, 2012); o a rasgos hidráulicos como potencial hídrico de pérdida de turgencia ( $\pi_{TLP}$ ), potencial osmótico a plena turgencia ( $\pi_0$ ) y módulo de elasticidad ( $\epsilon$ ). El  $\pi_{TLP}$  ha sido reconocido como un rasgo hidráulico vinculado a la tolerancia a un déficit hídrico que representa el potencial hídrico en que las hojas empiezan a marchitarse, así como también el potencial hídrico del suelo en que la planta no es capaz de recuperarse del marchitamiento (Barlett *et al.*, 2012). Tombesi *et al.* (2014) encontraron que el cultivar anisohídrico ‘Sangiovese’ presentó mayores valores de potencial hídrico de pérdida de turgencia ( $\pi_{TLP}$ ) y potencial osmótico a plena turgencia ( $\pi_0$ ) que el cultivar isohídrico ‘Montepulciano’. Además, se ha mostrado que cultivares de vid con valores más negativos de  $\pi_{TLP}$  y  $\pi_0$ , están relacionados a mayores valores de conductividad hidráulica ( $K_h$ ) y transpiración ( $E$ ) (Dayer *et al.*, 2020). En este experimento, ‘Chardonnay’ presentó valores  $\pi_{TLP}$ ,  $\pi_0$  y  $\epsilon$  de -2,18 MPa, -1,82 MPa y 16,05 MPa, respectivamente, siendo valores más negativos a los reportados en otros cultivares de *Vitis vinifera* L. (Tombesi *et al.*, 2014; Dayer *et al.*, 2020), lo que permitiría explicar la mantención de  $K_h$ ,  $E_d$  y  $A_{Nd}$  a lo largo del tiempo.

La eficiencia del uso del agua intrínseca ( $A_N/g_s$ ) fue levemente mayor en las plantas sometidas a déficit hídrico, aunque no hubo diferencias significativas con las plantas del tratamiento CR (Figura 7). En respuesta a un estrés hídrico moderado, las vides reducen la asimilación neta ( $A_N$ ) en menor grado que la conductancia estomática ( $g_s$ ) y, como consecuencia, la eficiencia del uso del agua intrínseca es mayor que en condiciones de riego (Chaves *et al.*, 2010). Estos resultados en ‘Chardonnay’ coinciden con Pou *et al.* (2012), quienes asocian esta respuesta a que, durante un déficit hídrico moderado, este cultivar reduce levemente su conductancia estomática y en menor grado su asimilación neta, lo cual ocurre incluso en condiciones de riego (Bota *et al.*, 2016). En cuanto a la eficiencia del uso del agua instantánea ( $A_N/E$ ), a pesar de que la transpiración ( $E$ ) disminuyó en respuesta al déficit hídrico,  $A_N/E$  no presentó diferencias en relación a las plantas CR. La eficiencia del uso del agua instantánea presenta una relación inversamente proporcional al déficit de presión de vapor entre la hoja y el aire ( $DPV_{hoja-aire}$ ), y en vides sometidas a estrés hídrico moderado,  $A_N/E$  puede ser igual al de plantas regadas (Schultz y Stoll, 2010; Zufferey *et al.*, 2017), debido a que la temperatura de las hojas de las plantas estresadas incrementa producto de la reducción de  $g_s$ , aumentando  $DPV_{hoja-aire}$ , provocando mayores valores de  $DPV_{hoja-aire}$  (Schultz y Stoll, 2010; Zufferey *et al.*, 2017). En ‘Chardonnay’, estos resultados podrían deberse a que tanto  $E$  como  $A_N$  disminuyeron en proporciones similares, y a que este cultivar presentaría la capacidad de mantener su

temperatura de hoja y déficit de presión de vapor hoja cercano a la del aire durante un estrés hídrico moderado (Pou *et al.*, 2012).

La conductancia estomática ha sido utilizada como un indicador de referencia para analizar los efectos de la sequía sobre la actividad fotosintética, debido a que muchos parámetros relacionados a la fotosíntesis dependen más de la conductancia estomática que de indicadores de estatus hídrico, como potenciales hídricos de la planta (Cifre *et al.*, 2005). Utilizando la conductancia estomática como parámetro integrativo del grado de déficit hídrico, Medrano *et al.* (2002) establecieron 3 fases de respuesta de la fotosíntesis que pueden ser diferenciados en un gradiente de estrés hídrico en vides: estrés hídrico leve, definido por la reducción de  $g_s$  de valores cercanos a 500 hasta los 150  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; estrés hídrico moderado, cuando la  $g_s$  presenta valores entre 150 y 50  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; y estrés hídrico severo, cuando  $g_s$  alcanza valores inferiores a 50  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Durante el ensayo las plantas de ‘Chardonnay’ sometidas a déficit hídrico presentaron, en promedio, valores de conductancia estomática cercanos a 228  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  durante la primera jornada de medición, y entre 150 y 100  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , en el resto de las jornadas de mediciones. Estos valores indican que, durante la primera jornada, las plantas SR estuvieron sometidas a estrés hídrico leve, donde la reducción de la fotosíntesis neta se debe principalmente al cierre estomático, y se caracteriza por la disminución relativamente pequeña de  $A_N$  y la reducción de la concentración de  $\text{CO}_2$  subestomática ( $C_i$ ); mientras que, en las siguientes jornadas, estuvieron sometidas a estrés moderado, y se caracteriza por una reducción más marcada de  $A_N$  y  $C_i$ , acompañado por la disminución de la tasa de transporte de electrones (ETR), lo cual se debe aún a limitaciones estomáticas, no obstante, las limitaciones no estomáticas, como la disminución de la actividad de la enzima Rubisco, o la regeneración de ribulosa-1,5-bifosfato (RuBP), empiezan a desarrollarse.

En condiciones de campo, rara vez las plantas están sometidas a una sola condición de estrés y, generalmente, los eventos de déficit hídrico suelen estar acompañados por altas temperaturas e intensidades lumínicas (Mittler, 2006). En vides, la fotosíntesis alcanza el punto de saturación lumínica entre los 900 y 1200  $\mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Palliotti *et al.*, 2014), y durante todo el ensayo, la radiación PAR fue superior a los 1.200  $\mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , ante lo cual puede considerarse que las plantas estuvieron sometidas a excesos de luz. Bajo estas condiciones, un déficit hídrico puede aumentar los riesgos de que las plantas sufran fotoinhibición (Gambetta *et al.*, 2020). Lo anterior, debido a que la disminución de  $A_N$  asociado al cierre estomático puede provocar desbalances entre la energía absorbida y la energía utilizada para procesos fotoquímicas (Urban *et al.*, 2017), induciendo aumentos en la producción de especies reactivas de oxígeno que, eventualmente, pueden llevar a fotoinhibición del fotosistema II (PSII).

Si bien las vides han sido caracterizadas como especies resistentes a la fotoinhibición, gracias a que presentan mecanismos de fotoprotección, como la disipación de energía absorbida lumínica en exceso en forma de calor (NPQ) y fotorrespiración, principalmente (Hochberg *et al.*, 2012), se ha propuesto también que la variabilidad en la sensibilidad estomática al déficit hídrico podría influir en la susceptibilidad a la fotoinhibición en vides (Medrano *et al.*, 2002), donde los cultivares anisohídricos, en teoría, serían más tolerantes a la fotoinhibición, comparados con cultivares isohídricos, debido a un menor control estomático, que conlleva a una menor reducción en la tasa de asimilación neta y tasa de transporte de electrones. En este sentido, Pou *et al.* (2012) destacan que ‘Chardonnay’, durante un estrés hídrico moderado exhibió un comportamiento cercano a anisohídrico, y

presentó una mayor  $A_N$  y tasa de transporte de electrones ( $J_{flu}$ ) comparado con cultivares isohídricos, lo que le permitió ser más tolerante a la fotoinhibición durante un estrés hídrico moderado.

La ocurrencia de fotoinhibición del PSII en ‘Chardonnay’ durante el experimento se evaluó mediante el rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm). En general, valores de Fv/Fm sobre 0,83 son considerados óptimos para la mayoría de las plantas (Maxwell y Johnson, 2000), y valores inferiores a 0,75 son indicadores de fotoinhibición (Guidi *et al.*, 2019). En base a lo anterior, ‘Chardonnay’ no presentó fotoinhibición durante el experimento, pues Fv/Fm se mantuvo constante con valores entre 0,85 – 0,87 y 0,81 – 0,83 en la cara este y oeste, respectivamente (Figura 9). La extinción fotoquímica de las clorofilas (qP), que refleja el estado redox del aceptor primario del PSII, quinona A ( $Q_A$ ), y que permite cuantificar la proporción de centros de reacción del PSII abiertos (Kalaji *et al.*, 2016), puede disminuir como resultado de la saturación de la fotosíntesis por exceso de energía absorbida (Maxwell y Johnson, 2000), no disminuyó en respuesta al déficit hídrico en las plantas de ‘Chardonnay’ al estar expuestas a estrés hídrico moderado (Figura 10). Estos resultados apoyan la idea de que las vides, bajo estrés hídrico moderado, no presentan fotoinhibición (Pou *et al.*, 2012), y que este proceso ocurriría cuando las plantas están sometidas a estrés hídrico severo (Hochberg *et al.*, 2012).

En el ensayo, aunque hubo leves aumentos en la disipación de energía en forma de calor (NPQ) de las plantas SR a medida que el déficit hídrico se intensificaba, no hubo significativas en cuanto a NPQ entre los tratamientos (Figura 10), por lo que este mecanismo no contribuyó a disipar energía en exceso durante un estrés hídrico moderado. Medrano *et al.* (2002) mencionan que aumentos importantes en NPQ ocurrirían a valores de conductancia estomática inferiores a  $150 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , donde la asimilación neta y la tasa de transporte de electrones (ETR) disminuyen, siendo un mecanismo de disipación de energía que compensa tales reducciones. Flexas *et al.* (2002), por otra parte, señala que la conductancia estomática debe reducirse entre 60 y 70% antes de observar cambios en ETR y aumentos en NPQ, mientras que, en este ensayo, las plantas de ‘Chardonnay’ sometidas a déficit hídrico solo presentaron reducciones de la fotosíntesis entre 30 y 40% con respecto a las plantas CR. En paralelo al aumento de NPQ, es probable que haya ocurrido un aumento de xantofilas de-epoxidadas en hojas de ‘Chardonnay’ expuestas a déficit hídrico, debido a que la disipación de energía en forma de calor se encuentra directamente relacionado al ciclo de las xantofilas (Takahashi *et al.*, 2011), donde se ha observado que plantas sometidas a déficit hídrico aumentan los contenidos de xantofilas de-epoxidadas, principalmente zeaxantina, jugando un rol clave en reducir o evitar la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), potenciando la capacidad de disipar los excesos energía en forma de calor, y preservando así la membrana tilacoidal de los cloroplastos de la oxidación. En vides se ha reportado que el pool de xantofilas y el ciclo de de-epoxidación aumentan cuando se enfrentan a déficit hídrico severo, en paralelo con incrementos en los valores de NPQ (Palliotti *et al.*, 2015), por lo que es probable que ‘Chardonnay’ haya aumentado su contenido de xantofilas de-epoxidadas.

El déficit hídrico no indujo reducción en la concentración de clorofilas en las hojas, a excepción de las hojas ubicadas en la parte media del follaje, donde el tratamiento SR fue mayor, en hojas expuestas al este de la espaldera (Figura 11), según el índice de concentración de clorofilas, que se correlaciona con el contenido de clorofilas en las hojas (Richardson *et al.*, 2002). Los pigmentos de las hojas, como las clorofilas, son sensibles al estrés hídrico, y eventos de déficit hídrico podrían inducir la degradación de estas

(Trigo-Córdoba *et al.*, 2015). Esto ha sido interpretado como un mecanismo de protección que evita daños en el sistema fotosintético por altas exposiciones a la luz, mediante la reducción de la absorbancia de las hojas para prevenir procesos de fotoinhibición y, además, se considera como un mecanismo de aclimatación de la vid (Palliotti *et al.*, 2015). Por otra parte, la disminución en la concentración de clorofilas durante un déficit hídrico también puede estar asociado a procesos de senescencia prematura, especialmente en hojas de mayor edad. La senescencia de hojas es un proceso de muerte celular programada que permite la movilización de nutrientes hacia tejidos en activo crecimiento, como hojas nuevas, flores o frutos (Schippers, 2015). En respuesta a un déficit hídrico, las plantas aumentan la concentración de ABA en las hojas y esto puede desencadenar la senescencia prematura en hojas maduras, mediante la inducción de la expresión de genes *respiratory burst oxidase homologue (RbOH)* que codifican NADPH oxidasas, por medio del factor de transcripción NAC WITH TRANSMEMBRANE MOTIF 1-LIKE 4 (NTL4), el cual es inducido por ABA, contribuyendo al aumento en la concentración de EROs, encargadas de promover la senescencia (Lee *et al.*, 2012). Tombesi *et al.* (2015) plantean que vides con comportamientos cercanos a anisohídrico inducirían senescencia más temprano que cultivares isohídricos, debido a una mayor acumulación de ABA en las hojas, sin embargo, este proceso ocurriría cuando las vides están sometidas a estrés hídrico severo.

Finalmente, se ha reportado que el déficit hídrico puede afectar el metabolismo de las bayas. Las bayas, al igual que las hojas, también acumulan osmolitos en respuesta al déficit hídrico (Gambetta *et al.*, 2020), sin embargo, esta respuesta puede variar entre cultivares (Deluc *et al.*, 2009), lo cual podría tener relación con la variabilidad en la sensibilidad estomática al déficit hídrico en las vides (Chaves *et al.*, 2010; Hochberg *et al.*, 2015). Aunque el contenido de sólidos solubles en las bayas de ‘Chardonnay’ sometidas a estrés hídrico fue levemente mayor durante el experimento, no hubo diferencias significativas con el tratamiento con riego (Figura 13), concordando con los resultados de Deluc *et al.* (2009), quienes asociaron esta respuesta a que ‘Chardonnay’ presentaron una baja concentración de ABA en las bayas, señal que induce aumentos en el consumo de hexosas. Por otra parte, también se ha mencionado que, el déficit hídrico tendría un mayor efecto en la acumulación de azúcares en la baya cuando se realiza antes de envero (Chaves *et al.*, 2010), aunque una eventual diferencia en concentración de sólidos solubles también puede ocurrir por efecto del menor volumen de las bayas, sin afectar la cantidad de azúcares descargados en el fruto (Pastenes *et al.*, 2014).

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en el ensayo, se aprueba la hipótesis, ya que, ante un déficit hídrico progresivo que estrese moderadamente a *Vitis vinifera* L. cv 'Chardonnay', esta disminuye significativamente su potencial hídrico xilemático, exhibiendo un comportamiento anisohídrico, manteniendo sus estomas parcialmente abiertos. Lo anterior se asocia a rasgos hidráulicos como el punto de pérdida de turgencia y potencial osmótico a plena hidratación más negativos, lo que le permite operar a potenciales hídricos de suelo más negativos.

Paralelo al cierre parcial de estomas, la asimilación neta y la transpiración de 'Chardonnay' disminuye significativamente, y a similar magnitud, pero en menor grado que la reducción de la conductancia estomática.

Al mantener relativamente constante la tasa de asimilación neta, la disipación de energía en forma de calor (NPQ) de 'Chardonnay' no aumenta significativamente, lo cual también le permite evitar la fotoinhibición durante un estrés hídrico moderado.

Finalmente, la concentración de clorofilas de 'Chardonnay' no disminuye significativamente durante en estrés hídrico moderado, lo cual implica que este no es un mecanismo de fotoprotección importante en estas condiciones, y que tampoco ocurren procesos asociados a la senescencia de hojas.

## LITERATURA CITADA

- Alsina, M.M., F. de Herralde, X. Aranda, R. Save and C. Biel. 2007. Water relations and vulnerability to embolism are not related: experiment with eight grapevine cultivars. *Vitis* 46: 1 – 6.
- Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology* 59: 89 – 113.
- Balint, G. and G. Reynolds. 2016. Abscisic Acid and Its Catabolites in Leaves and Berries of Chardonnay are Affected by Water Status. *Journal of Plant Growth Regulation* 35: 1126 – 1140.
- Barlett, M.K., C. Scoffoni and L. Sack. 2012. The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. *Ecology Letters* 15: 393 – 405.
- Basile, B., J. Girona, M.H. Behboudian, M. Mata, J. Rosello, M. Ferré and J. Marsal. 2012. Responses of “Chardonnay” to deficit irrigation applied at different phenological stages: vine growth, must composition, and wine quality. *Irrigation Science* 30: 397 – 406.
- Bota, J., M. Tomás, J. Flexas, H. Medrano and J.M. Escalona. 2016. Differences among grapevines cultivars in their stomatal behaviour and water use efficiency under progressive water stress. *Agricultural Water Management* 164: 91 – 99.
- Buckley, T. 2017. Modeling stomatal conductance. *Plant Physiology* 174: 572 – 582.
- Chaves, M M., O. Zarrouk, R. Francisco, J.M. Costa, T. Santos, A.P. Regalado, M.L. Rodrigues and C.M. Lopes. 2010. Grapevine under Deficit Irrigation : Hints from Physiological and Molecular Data. *Annals of Botany* 105: 661 – 676.
- Cifre, J., J. Bota, J.M. Escalona, H. Medrano and J. Flexas. 2005. Physiological tools for irrigation in grapevine (*Vitis vinifera* L.) An open gate to improve water-use efficiency? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106: 159 – 170.
- Dayer, S., J.C. Herrera, Z. Dai, R. Burlett, L.J. Lamarqué, S. Delzón, G. Bortolami, H. Cochard and G.A. Gambetta. 2020. The sequence and thresholds of leaf hydraulics traits underlying grapevine varietal differences in drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* 71: 4333 – 4344.
- Deluc, L., D. Quilici, A. Decendit, j. Grimplet, M. Wheathley, K. Schlauch, J.M. Mérrillon, J. Cushman and G. Cramer. 2009. Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *BMC Genomics* 10:212.
- Farooq, J., M. Hussain, A. Wahid and K.H.M. Saddique. 2012. Drought stress in plants: an overview. p. 1-37. *In: Aroca, R. (ed.) Plant responses to drought stress. From morphological to molecular features. Springer, Berlin, Germany.*

- Flexas, J. and H. Medrano. 2002. Drought-inhibition of Photosynthesis in C3 Plants: Stomatal and Non-stomatal Limitation Revisited. *Annals of Botany* 89: 183 – 189.
- Flexas, J., J. Bota, J. Escalona, B. Sampol and H. Medrano. 2002. Effects of Drought on Photosynthesis in Grapevines under Field Conditions: An Evaluation of Stomatal and Mesophyll Limitations. *Funct. Plant Biol.* 29: 461 – 471.
- Flexas, J., M. Ribas-Carbó, A. Diaz-Espejo, and J. Galmés. 2008. Mesophyll Conductance to CO<sub>2</sub>: Current Knowledge and Future Prospects. *Plant Cell and Environment* 31: 602 – 621.
- Foyer, C., A. Ruban and G. Noctor. 2017. Viewing oxidative stress through the lens of oxidative signalling rather than damage. *Biochemical Journal* 474: 877-883.
- Foyer, C. 2018. Reactive oxygen species, oxidative signaling and the regulation of photosynthesis. *Environmental and Experimental Botany* 154: 134-142.
- Gambetta, G., J.C. Herrera, S. Dayer, Q. Feng, U. Hochberg and S.D. Castellarin. 2020. The physiology of drought stress in grapevine: towards an integrative definition of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*: 1 – 19.
- Guidi, L., E. Lo Piccolo and M. Landi. 2019. Chlorophyll Fluorescence, Photoinhibition and Abiotic Stress: Does it Make Any Difference the Fact to be a C3 or C4 Species? *Frontier in Plant Science* 10: 1-11.
- Hochberg, U., A. Degu, A. Fait and S. Rachmilevitch. 2012. Near isohydric grapevine cultivar displays higher photosynthetic efficiency and photorespiration rates under drought stress as compared with near anisohydric grapevine cultivar. *Physiologia Plantarum* 147: 443 - 452.
- Hochberg, U., A. Degu, G.R. Cramer, S. Rachmilevitich and A. Fait. 2015. Cultivar specific metabolic changes in grapevines betty skins in relation to deficit irrigation and hydraulic behaviour. *Plant Physiology and Biochemistry* 88: 42 – 52.
- Hochberg, U., F. E. Rockwell, N.M. Holbrook and H. Cochard. 2018. Iso/Anisohydry: A Plant-Environment Interaction Rather Than a Simple Hydraulic Trait. *Trends in Plant Science* 23: 112 – 120.
- Jackson, R. 2014. Vineyard Practice. p. 143 - 306. *In*: Jackson, R (ed.) *Wine Science*. Elsevier.
- Kalaji, H.M., G. Schansker, M. Brestic, F. Bussotti, A. Calatayud, L. Ferroni, V. Goltsev, L. Guidi, A. Jajoo, P. Li, P. Losciale, V.K. Mishra, A.N. Misra, S.G. Nebauer, S. Pancaldi, C. Penella, M. Pollastrini, K. Suresh, E. Tambussi, M. Yannicari, M. Zivcak, M.D. Cetner, I.A. Samborska, A. Stirbet, K. Olsovska, K. Kunderlikova, H. Shelonzek, S. Rusinowski and W. Baba. 2016. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynthesis Research* 132: 13 – 66.
- Lawren, S. and J. Pasquet-Kok. 2010. Leaf pressure-volume curve parameters.

- PrometheusWiki. Available at: <http://prometheuswiki.org/tiki-pagehistory.php?page=Leafpressure-volumecurveparameters&preview=16>. Consultado en Abril, 2021).
- Lee, S., P.J. Seo, H. Lee and C. Park. 2012. A NAC transcription factor NTL4 promotes reactive oxygen species production during drought-induced leaf senescence in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 70: 831 – 844.
- Maxwell, K. and G. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Martínez-Vilalta, J., R. Poyatos, D. Aguadé, J. Retana and M. Menucuccini. 2014. A new look at water transport regulation in plants. *New Phytologist* 204: 105 – 115.
- Medrano, H., J.M. Escalona, J. Bota, J. Gulías and J. Flexas. 2002. Regulation of Photosynthesis of C3 Plants in Response to Progressive Drought: Stomatal Conductance as a Reference Parameter. *Annals of Botany* 89: 895 – 905.
- Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11: 15 – 19.
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, S., and Allakhverdiev, S. I. (2007). Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim. Biophys. Acta* 1767: 414–421.
- Palliotti, A., S. Tombesi, T. Frioni, O. Silvestroni, V. Lanari, C. D’Onofrio, F. Matarese, A. Bellincontro and S. Poni. 2015. Physiological parameters and protective energy dissipation mechanism expressed in the leaves of two *Vitis vinifera* L. genotypes under multiple summer stress. *Journal of Plant Physiology* 185: 84 – 92.
- Pastenes, C., P. Pimentel and J. Lillo. 2004. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. *Journal of Experimental Botany* 56: 425 – 433.
- Pastenes, C., L. Villalobos, N. Ríos, F. Reyes, R. Turgeon and N. Franck. 2014. Carbon partitioning to berries in water stressed grapevines: The role of active transport in leaves and fruits. *Environmental and Experimental Botany* 107: 154 – 166.
- 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.
- Rogers, A., D.J. Allen, P.A. Davey, P.B. Morgan, E.A. Ainsworth, C.J. Bernacchi, G. Cornic, O. Dermody, F.G. Dohleman, E.A. Heaton, J. Mahoney, X.G. Zhu, E.H. Delucia, D.R. Ort and S.P. Long. 2004. Leaf photosynthesis and carbohydrate dynamics of soybeans grown throughout their life-cycle under free-air carbon dioxide enrichment. *Plant, Cell & Environment* 27: 449 – 458.
- Schippers, J. 2015. Transcriptional networks in leaf senescence. *Current Opinion in Plant*

Biology 27: 77 – 83.

- Schultz, H. R. 2003. Differences in Hydraulic Architecture Account for Near- Isohydic and Anisohydic Behaviour of Two Eld-Grown. *Plant, Cell and Environment* 26 (1980): 1393–1406.
- Schultz, H.R. and M. Stoll. 2010. Some critical issues in environmental physiology in grapevines: future challenges and current limitations. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16: 4 – 24.
- Scholander, P. F., E. D. Bradstreet, E. A. Hemmingsen and H. T. Hammel. 1965. Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148(3668): 339–346.
- Sperry, J. and W. Pockman. 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell & Environment* 16: 279 – 287.
- Tardieu, F. and T. Simonneau. 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydic and anisohydic behaviours. *Journal of Experimental Botany* 49: 419-432.
- Tombesi, S., A. Nardini, D. Farinelli and A. Palliotti. 2012. Relationships between stomatal behaviour, xylem vulnerability to cavitation and leaf water relations in two cultivars of *Vitis vinifera*. *Physiologia Plantarum* 152: 453 – 464.
- Tombesi, S., A. Nardini, T. Frioni, M. Soccolini, C. Zadra, D. Farinelli, S. Poni and A. Palliotti. 2015. Stomatal closure is induced by hydraulic signals and maintained by ABA in drought-stressed grapevine. *Scientific Reports* 5, 125449.
- Trigo-Córdoba, E., Y. Bouzas-Cid, I. Orriols-Fernández and J.M. Mirás-Avalos. 2015. Effects of deficit irrigation on the performance of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. ‘Godello’ and ‘Treixadura’ in Ribeiro, NW Spain. *Agricultural Water Management* 161: 20 – 30.
- Tyree, M.T. and H.T. Hammel. 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *Journal of Experimental Botany* 23: 267 – 282.
- Urban, L., J. Aarouf and L. Bidel. 2017. Assessing the Effects of Water Deficit on Photosynthesis Using Parameters Derived from Measurements of Leaf Gas Exchange and of Chlorophyll *a* Fluorescence. *Frontiers in Plant Science* 8.
- Vandeleur R.K., G. Mayo, M.C. Shelden, M. Gilliamn, B.N. Kaiser and S.D. Tyerman. 2009. The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydic and anisohydic cultivars of grapevine. *Plant Physiology* 149: 445–460.
- Van Leeuwen, C., O. Tregoat, X. Choné, B. Bois, D. Pernet and J.P. Gaudillère. 2009.

Vine water status is a key factor in grapevine ripening and vintage quality for red bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? *Journal International Science Vigne Vin* 43: 121 – 134.

Villaobos-González, L., M. Muñoz-Araya, N. Franck and C. Pastenes. 2019. Controversies in Midday Water Potential Regulation and Stomatal Behaviour Might Result From The Environment, Genotype, and/or Rootstock: Evidence From Carménère and Syrah Grapevine Varieties. *Frontiers in Plants Science* 10:1522.

Zufferey, V., J. Spring, T. Verdenal, A. Dienes, S. Belcher, F. Lorenzini, C. Koestel, J. Rösti, K. Gindro, J. Spangenberg and O. Viret. 2017. Influence of water stress on plant hydraulics, gas exchange, berry composition and quality of Pinot noir wines in Switzerland. *Oeno one* 51: 17 – 27.