

RELACIONES DE CRECIMIENTO ENTRE EL TRONCO Y LA BAYA EN *Vitis vinifera* CON USO DE SENSORES DE DESPLAZAMIENTO VARIABLE

GROWTH RELATIONSHIPS BETWEEN TRUNK AND GRAPE BERRY USING LINEAR VARIABLE DIFFERENTIAL SENSORS IN *Vitis vinifera*

Claudio Silva-Contreras¹, Herman Silva-Robledo^{1*}, Gabriel Sellés-Von Schouwen², Raúl Ferreyra-Espada²

¹ Departamento de Producción Agrícola, Laboratorio Relación Suelo Agua Planta, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile; Santa Rosa 11315, Santiago. (hsilva@uchile.cl) ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigación La Platina; Santa Rosa 11610, Santiago, Chile.

RESUMEN

El transporte de agua en tronco y bayas en vides se ha estudiado con diversos métodos; sin embargo, no hay estudios que evalúen simultáneamente el transporte hídrico en ambos órganos. Este trabajo se realizó en el valle del Aconcagua (Chile) en el cultivar Crimson Seedless utilizando dendrómetros electrónicos. Se observó que el crecimiento del tronco se detuvo al inicio de pinta. Al inicio de la etapa II de desarrollo de la baya aumentó la resistencia al flujo de agua, atribuida a un cambio en la descarga floemática en la baya desde el simplasto a una vía apoplástica. Entonces hay interacciones de crecimiento entre órganos, contribuyendo a la hipótesis de interacciones fisiológicas entre el xilema y el floema durante el desarrollo del fruto. Además no habría disfunción xilemática mientras predomine un flujo de agua gobernado por un gradiente osmótico que permita mantener el gradiente de potencial hídrico entre la baya y la planta hasta la cosecha.

Palabras clave: Fenología, potencial hídrico, sensores LVDT.

INTRODUCCIÓN

En la vid, el transporte de agua en la baya se ha estudiado usando metodologías destructivas y en condiciones controladas, que pretenden demostrar la disfuncionalidad del xilema entre el fruto y la planta. Los métodos más utilizados se basan en la tinción apoplástica y la observación microscópica (Creasy *et al.*, 1993; Ollat *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2006), uso de sonda a presión y presurización a nivel de la planta (Bondada *et al.*, 2005) o balance hídrico (Greenspan *et al.*, 1994). Según Keller *et al.* (2006), existiría conectividad hídrica entre el tallo y el fruto y el flujo de agua hacia el fruto sería simplástico gobernado por un gradiente osmótico.

ABSTRACT

Water transport in grape trunk and berries has been studied with several methods. However, there are no studies that simultaneously evaluate water transport in both organs. This study was conducted in the Aconcagua Valley (Chile) with the cultivar Crimson Seedless using electronic dendrometers. It was observed that trunk growth ceased at the beginning of berry coloring. At the beginning of berry growth stage II resistance to water flow increased; this was attributed to a change in the phloematic discharge in the berry from a symplastic to an apoplastic via. Thus, there are growth interactions among organs, contributing to the hypothesis of physiological interactions between the xylem and phloem during berry development. Also, there would be no xylem dysfunction while a flow of water predominates; this flow is governed by an osmotic gradient that maintains the water potential gradient between the berry and plant until harvest.

Key words: Phenology, water potential, LVDT sensors.

INTRODUCTION

Water transport in grape berries has been studied using destructive methods under controlled conditions. These studies attempt to demonstrate dysfunction of the xylem between the fruit and the rest of the plant. The most used methods are apoplast staining and microscopic observation (Creasy *et al.*, 1993; Ollat *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2006), use of a pressure probe and pressurization at the plant level (Bondada *et al.*, 2005), or water balance (Greenspan *et al.*, 1994). According to Keller *et al.* (2006), water connectivity would exist between the stem and the fruit, and water flow toward the fruit would be symplastic, governed an osmotic gradient.

The relative change in water content in the berry (dWb/dt) is given by the following equation (Steppe *et al.*, 2006):

El cambio relativo en el contenido de agua en la baya (dW_b/dt), está dado por la ecuación (Steppe *et al.*, 2006):

$$dW_b/dt = (\Psi_x - \Psi_b)/R_{(t-b)} - E_b \quad (1)$$

donde, $(\Psi_x - \Psi_b)$ es el gradiente de potencial hídrico entre el tallo de la planta y el fruto; $R_{(t-b)}$ es la resistencia a la entrada de agua hacia la baya; E_b es su transpiración.

La variación de volumen de la baya está dada por la ecuación:

$$dV_b/V_b = d\Psi_{Tb} / \xi_b + \Phi_b (\Psi_{pb} - \gamma) \quad (2)$$

donde, dV_b/V_b es el cambio relativo del volumen de la baya; $d\Psi_{Tb}$ es el cambio de turgencia celular dentro de la baya; ξ_b y Φ_b son el módulo de elasticidad (Nobel, 1999) y la extensibilidad de las paredes celulares del tejido de la baya; γ es el umbral de turgencia necesario para el crecimiento de la baya (Lockhart, 1965).

La variación de diámetro de la baya está en función de la turgencia celular la cual, de acuerdo con la ecuación (1), depende directamente del estado hídrico del tallo (Genard *et al.*, 2001; Steppe *et al.*, 2006).

En este trabajo se analizaron algunos parámetros señalados en las ecuaciones (1) y (2), en función de la medición continua de los cambios de peso, de volumen y del diámetro de la baya y del tallo. Por tanto, el objetivo fue analizar el transporte de agua a la baya en plantas de uva de mesa y su relación con el crecimiento del tronco, usando los transductores lineales de desplazamiento variable (sensores LVDT)

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia vegetal

Este estudio fue realizado de 2004 a 2005 en una plantación comercial de uva variedad Crimson Seedless establecida en 1997 en el valle del Aconcagua, Chile, en las coordenadas 30° 44' 19" S y 70° 39' 17" O. Cada planta, formada en parrón español, cubría una superficie de 12.25 m². Las plantas recibieron riego equivalente al 100% de la evapotranspiración máxima del cultivo durante toda la temporada.

Crecimiento de tronco y bayas

Para evaluar el crecimiento en troncos y bayas durante el experimento desde brotación (septiembre, 2004) a cosecha (marzo, 2005) dos plantas fueron seleccionadas al azar de la zona central de la parcela y un dendrómetro electrónico fue instalado en cada planta (Phytech, modelo DE-1M, Israel) a una altura de 1.3 m. El ritidoma en la zona de contacto entre el sensor y la planta fue eliminado cada

$$dW_b/dt = (\Psi_x - \Psi_b)/R_{(t-b)} - E_b \quad (1)$$

where $(\Psi_x - \Psi_b)$ is the gradient of water potential between the plant stem and the fruit; $R_{(t-b)}$ is the resistance to entry of water toward the berry; E_b is transpiration.

Variation in berry volume is given by the equation:

$$dV_b/V_b = d\Psi_{Tb} / \xi_b + \Phi_b (\Psi_{pb} - \gamma) \quad (2)$$

where dV_b/V_b is the relative change in berry volume; $d\Psi_{Tb}$ is the change in cell turgidity within the berry; ξ_b and Φ_b are the elasticity module (Nobel, 1999) and extensibility of berry tissue cell walls; \bar{a} is the threshold of turgor necessary for berry growth (Lockhart, 1965).

Variation in berry diameter is in function of cell turgor which, according to equation (1), depends directly on the water state of stem (Genard *et al.*, 2001; Steppe *et al.*, 2006).

In our study, we analyze some of the parameters used in equations (1) and (2), in function of the continuous measurement of changes in berry and stem weight, volume and diameter. The objective therefore was to analyze water transport to the berry in table grape vines and its relationship to trunk growth, using linear transducers of variable displacement (LVDT sensors).

MATERIALS AND METHODS

Plant material

For the analyses conducted from 2004 to 2005, we used Crimson Seedless variety grapevines from a commercial grape plantation established in 1997 in the Aconcagua Valley, Chile, at the coordinates 30° 44' 19" S and 70° 39' 17" W. Each vine formed on a Spanish trellis, covered an area of 12.25 m². The plants were irrigated at a rate equivalent to 100% of the maximum crop evapotranspiration during the entire season.

Trunk and berry growth

To assess trunk and berry growth during the experiment as of budding (September, 2004) to harvest (March, 2005), two plants were selected at random from the central part of the plot and an electronic dendrometer (Phytech, model DE-1M, Israel) was installed on each plant at a height of 1.3 m. Every three weeks, bark was removed where the sensor made contact with the plant. From the same plants, similar-sized clusters of berries were selected from a northern branch of the vine. From each plant, among these clusters, the first cluster of the shoot was selected, and of this cluster, the first berry of the tertiary scape, on which a berry dendrometer (Phytech, Model FI-SM, Israel) was installed. The four dendrometers

tres semanas. En las mismas plantas fueron seleccionados racimos de similar tamaño, orientados en brazo norte de la parra. En cada planta, dentro de estos racimos, se escogió el primer racimo del brote y dentro del racimo fue seleccionada la primera baya del escape terciario, en la cual fue instalado un dendrómetro de baya (Phytech, Modelo FI-SM, Israel). Los cuatro dendrómetros (dos de tronco y dos de baya) fueron conectados a una central de adquisición de datos (Phytech) y las microvariaciones de contracción y dilatación fueron registrados continuamente (en mm), con salida de datos cada 30 min, y almacenados en una central de adquisición de datos.

Transpiración y potencial hídrico

En los días 104 (23/12/2004), 119(07/01/2005) y 137(25/01/2005) después de brotación (DDB), la transpiración por pérdida de peso de las bayas fue medida en las plantas con los dendrómetros. Para ello, fueron separadas 20 bayas de un racimo ubicado en la misma orientación de uno con dendrómetro, se selló el escape terciario con cera (Figura anexa), y quedaron colgando en el mismo racimo. Estas bayas fueron pesadas en una balanza electrónica de precisión, a las 09:00 y 17:00 h; el agua perdida fue la diferencia de peso entre ambas horas. En los días 76 (25/11/2004), 104, 119 y 145 (03/02/2005) después de brotación, fue medido el potencial hídrico del racimo al mediodía solar (Ψ_r), entre las 13:00 y 14:00 h, usando una cámara de presión (Greenspan *et al.*, 1996), en escapes terciarios de entre 6 y 11 bayas en ambas plantas. Simultáneamente fue medido el potencial hídrico xilemático Ψ_x (Jones, 2004) en una hoja de la misma rama portadora del racimo, usando cuatro racimos por cada planta, con sus respectivas hojas para la medición.

Los datos de potencial hídrico y pérdida de peso se analizaron usando el promedio y el error estándar de las mediciones (n=4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo un flujo reverso de agua desde las bayas a la planta porque se mantuvo el gradiente de potencial hídrico ($\Delta\psi$) favorable hacia la baya; el Ψ_r fue menor que el Ψ_x (Cuadro 1). Van Zyl (1987) y Lang y Thorpe (1989) propusieron la existencia de un flujo de agua, desde la baya hacia el tallo, que causaría esta contracción. Según Tyerman *et al.* (2004), la pérdida de peso que experimenta la baya durante el día podría atribuirse a este flujo reverso. Sin embargo, en las diferentes etapas de crecimiento de la baya en Crimson Seedless se mantuvo el $\Delta\psi$ entre -0.3 a -0.4 MPa.

Para el crecimiento en fruto fresco y en bayas se han descrito tres fases: I, inicia en la anthesis con activa división celular donde queda definido el número de células del fruto (Matthews y Schackel, 2005); II, asociada a lento crecimiento y controlado por factores genéticos y ambientales (Coombe, 1992); III, definida por activo crecimiento debido a la expansión de las células, aumento en la concentración de solutos y disminución del potencial de solutos (Matthews y Anderson, 1988).

(two on trunk and two on berries) were connected to a central data logger (Phytech) and the microvariations in contraction and dilation were recorded continuously (in mm); data output was every 30 min and was saved in the data logger.

Transpiration and water potential

On days 104 (23/12/2004), 119 (07/01/2005) and 137 (25/01/2005) after budding (DDB), transpiration was measured, as berry weight loss, on those plants with dendrometers. To this end, 20 berries were separated from a cluster located on the same side as the cluster with the dendrometer. The tertiary scape was sealed with wax (Attached Figure) and left on the same cluster. These berries were weighed on an electronic precision scale at 09:00 h and 17:00 h; water loss was the difference in weight between the two times. On days 76 (25/11/2004), 104, 119, and 145 (03/02/2005), after budding, water potential was measured in the cluster at midday (Ψ_r), between 13:00 and 14:00 h, using a pressure chamber (Greenspan *et al.*, 1996), in tertiary scapes of 6 to 11 berries in both plants. Simultaneously, xylem water potential Ψ_x was measured (Jones, 2004) in a leaf of the branch bearing the cluster, using four clusters per plant with their respective leaves for measurement.

The water potential and weight loss data were analyzed using the average and standard error of the measurements (n=4).

RESULTS AND DISCUSSION

There was no reverse water flow from the berries to the plant, because a water potential gradient ($\Delta\psi$) favoring the berry was maintained; Ψ_r was lower than Ψ_x (Table 1). Van Zyl (1987), and Lang and Thorpe (1989) have proposed the existence of a flow of water from the berry to the stem, which would cause a contraction. According to Tyerman *et al.* (2004), the weight loss that the berry undergoes during the day could be attributed to this reverse flow. However, in the different growth stages of the Crimson Seedless berry, $\Delta\psi$ remained between -0.3 and -0.4 MPa.

For fresh fruit and berry growth, three phases have been described. In phase I, anthesis begins with active cell division, and the number of cells in the fruit is defined (Matthews and Shackel, 2005). Phase II is associated with slow growth and is controlled by genetic and environmental factors (Coombe, 1992). Phase III is defined by active growth due to expansion of the cells, an increase in solute concentration and a reduction in solute potential (Matthews and Anderson, 1988).

Variations in berry diameter and weight confirm this. Average weight increased at a rate of 43.77 mg d⁻¹ and average diameter at a rate of 0.37 mm d⁻¹ (Table 1).

Variation in daily weight recorded between 09:00 and 17:00 h also show that berries lost weight. Berries lose water during contraction is via the epidermal cuticle

Cuadro 1. Potencial hídrico xilemático (Ψ_x), de racimo (Ψ_r) y gradiente de potencial (n=4) en relación con la variación de peso y de diámetros polar y ecuatorial de la baya de uva Crimson Seedless(n=20) medidos a medio día solar (DDB: días después de brotación).

Table 1. Water potential of xylem (Ψ_x), cluster (Ψ_r), and potential gradient (n=4) relative to the variation in weight and polar and equatorial diameters of the Crimson Seedless grape berry (n=20) measured at midday (DDB: days after budding).

| DDB | Ψ_x | Ψ_r MPa | $\Delta\Psi$ | Peso de bayas (g) | Diámetro de bayas (mm) | |
|-----|----------|-----------------|--------------|----------------------|---------------------------|------------|
| | | | | | Polar | Ecuatorial |
| 76 | -0.83 | -1.31 | -0.48 | 2.17 | - | - |
| 104 | -0.73 | -0.99 | -0.26 | 2.04 | 3.12 | 1.53 |
| 119 | -0.80 | -1.08 | -0.28 | 4.48 | 22.60 | 17.40 |
| 145 | -0.91 | -1.36 | -0.45 | 5.19 | 22.91 | 16.90 |

Las variaciones de diámetro y los cambios de peso en bayas confirman lo señalado. El peso promedio aumentó a una tasa de 43.77 mg d⁻¹ y el diámetro ecuatorial a 0.37 mm d⁻¹ por baya (Cuadro 1).

El registro de la variación de peso diario entre las 09.00 y 17.00 h también muestra la pérdida de peso de las bayas; la de pérdida de agua de las bayas durante su contracción es vía epidermal-cuticular del fruto. Esto confirma lo propuesto por Berger y Sellés (1993) para durazneros y Greespan *et al.* (1994) en vid (Cuadro 2).

Las variaciones diurnas en tamaño (contracción y dilatación) expresadas como cambios de volumen y de peso en Crimson Seedless, son atribuidas a cambios en la hidratación. Según Matthews y Schackel (2005), son respuestas a cambios en el turgor de las células del mesocarpo y, por tanto, es difícil separar el crecimiento de la baya de los cambios reversibles en volumen. Estos valores coinciden con las fases de inicio de envero hasta envero máximo con tasas equivalentes a 17.2, 19.1 y 11.2 mg de agua perdida por hora y los cambios de volumen asociados a esas pérdidas fueron 2.3, 2.4 y 1.4 mm³ h⁻¹. Por tanto, el máximo crecimiento coincide con las tasas máximas de pérdida de agua y cambio de volumen.

Las bayas en Crimson Seedless presentaron las tres fases de desarrollo descritas para la especie. La primera corresponde al crecimiento activo de la fruta y coincide con el período de crecimiento vegetativo, lo que provoca que sea una fase muy sensible al déficit hídrico para el rendimiento y la calidad de la fruta cosechada. En la segunda fase (entre los días 107 y 117 DDB) aumentó su peso hasta 121% (de 2.04 a 4.48 g) y alrededor de siete veces las dimensiones del diámetro polar y ecuatorial (Cuadro 1). Este crecimiento de bayas coincide con la detención del crecimiento radial del tronco (Figura 1). En la tercera fase (fase III: desde plena pinta a cosecha) el tronco no crece debido a la

Cuadro 2. Variación de peso y de volumen en bayas de uva Crimson Seedless (n=20) evaluados entre 09:00 y 17:00 h en tres fechas del experimento.

Table 2. Variation in weight and volume of Crimson Seedless grapes (n=20) measured between 09:00 h and 17:00 h on three dates of the experiment.

| DDB | Δ Peso (mg) | Δ Volumen (mm ³) | Tasa de variación mg h ⁻¹ | mm ³ h ⁻¹ |
|-----|-----------------------|--|---|---------------------------------|
| 104 | 137.6±15.9 | 18.39 | 17.2 | 2.3 |
| 119 | 152.7±12.8 | 38.19 | 19.1 | 2.4 |
| 137 | 89.3±14.2 | 18.28 | 11.2 | 1.4 |

of the fruit. This confirms the proposals of Berger and Sellés (1993) for peach and Greenspan *et al.* (1994) in grape (Table 2).

Daytime variations in size (contraction and dilation), expressed as changes in volume and weight in Crimson Seedless, is attributed to changes in hydration. According to Matthews and Schackel (2005), this variation is in response to changes in mesocarp cell turgor and, therefore, it is difficult to separate berry growth from reversible changes in volume. These values coincide with the onset of veraison to maximum veraison phases, with rates equivalent to 17.2, 19.1, and 11.2 mg water lost per hour; changes in volume associated with these losses were 2.3, 2.4, and 1.4 mm³ h⁻¹. Therefore, maximum growth coincides with maximum water losses and volume change.

Crimson Seedless grape berries had three development phases described for the species. The first corresponds to active fruit growth and coincides with the period of vegetative growth, making it a phase in which the plant is very sensitive to water deficit for yield and harvested fruit quality. In the second phase (between days 107 and 117 (DDB) weight increased up to 121% (from 2.04 to 4.48 g) and the polar and equatorial diameters were approximately seven times

alta demanda por azúcares por la fruta (Coombe, 1992), lo que determina una redistribución de los productos de la fotosíntesis inhibiendo el crecimiento de la parte vegetativa de la planta (Matthews y Anderson, 1988). Estos resultados muestran la interacción entre el crecimiento de los órganos.

Tanto el tronco como la baya presentaron un ciclo diario en la variación de su diámetro en función de la demanda hídrica atmosférica, con contracciones y dilataciones cuando la transpiración supera o está por debajo, de la absorción de agua desde el suelo, o con el flujo de agua del tallo a la baya.

El crecimiento radial del tronco ocurrió entre el inicio de floración y el inicio del envero (Figura 1), a una tasa de 14.3 a 7.7 mm h⁻¹ entre 18:00 y 06:00 h. Asociados directamente a la recuperación de la turgencia y al aumento en volumen celular que ocurre en la noche, observaciones similares han sido señaladas para vides por Myburg (1996), Sellés *et al.* (2004) y Ton *et al.* (2004).

Sin embargo, la contracción de la baya comenzó 1 a 3 h más tarde que la del tronco (Figuras 2, 3 y 4). En el tronco, la contracción comenzó cuando el déficit de presión de vapor alcanzó alrededor de 1 kPa, entre 06:30 y 07:30 h. En cambio, la baya inició su contracción entre 09:00 y 11:00 h, es decir, cuando el déficit de presión de vapor supera los 2 kPa. Esto ocurre debido a que la pérdida de agua desde el tronco se produce por la transpiración de las hojas y, en mucha menor medida, desde las bayas. Mediciones simultáneas usando porómetro de flujo difusivo (valores no mostrados) muestran que la conductancia cuticular de la baya es sólo 0.08 cm s⁻¹ en comparación a la conductancia foliar que alcanza 0.44 cm s⁻¹.

El desfase temporal en la respuesta de crecimiento entre las bayas en relación con el tronco podría explicarse por su menor densidad estomática, 1.33 mm⁻² por baya (Pallioti y Cartechini, 2001; Rogiers *et al.*, 2006). No aumenta en número y van perdiendo funcionalidad con el desarrollo del fruto; además, son de un cuarto del tamaño del poro estomático foliar (Pallioti y Cartechini, 2001).

La cutícula del fruto es más resistente a la salida de agua que la cutícula de las hojas (Riederer y Schreiber, 2001). El grosor promedio de la capa cuticular en Crimson Seedless es promedio 4.25 mm, aproximadamente el doble del grosor de paredes celulares de células epidérmicas.

Antes del período de envero, es decir, en la primera fase de crecimiento activo de la baya debido a la multiplicación celular (Matthews y Shackel, 2005), la recuperación del diámetro de las bayas por la rehidratación de sus células y el crecimiento, ocurrió unas 6 a 7 h más tarde que en el tronco (Figura 2). El

larger (Table 1). This berry growth coincides with a pause in trunk root growth (Figure 1). In the third phase (phase III: from full coloring to harvest) the trunk does not grow because of a high demand for sugars by the fruit (Coombe, 1992); this determines a redistribution of photosynthetic products, which inhibits growth of the vegetative part of the plant (Matthews and Anderson, 1988). These results reveal growth interaction among the organs.

Both trunk and berry had a daily cycle of diameter variation in function of atmospheric water demand, with contractions and dilations when transpiration was above or below the soil water absorption rate or water flow from stem to berry.

Trunk root growth occurred between the onsets of flowering and veraison (Figure 1) at a rate from 14.3 to 7.7 mm h⁻¹ between 18:00 and 06:00 h. This has been associated directly with recovery of turgor and with the increase in cell volume that occurs at night. Similar observations have been reported for grape by Myburg (1996), Sellés *et al.* (2004) and Ton *et al.* (2004).

Contraction of the berry, however, began 1 to 3 h later than that of the trunk (Figures 2, 3, and 4). In the trunk, contraction commenced when vapor pressure deficit reached approximately 1 kPa between 06:30 h and 07:30 h. In contrast, the berry began contraction between 09:00 h and 11:00 h, when vapor pressure deficit was above 2 kPa. This occurs because water from the trunk is lost through transpiration by leaves and, to a much lower degree, by berries. Simultaneous measurements using a diffusive flow porometer (values not shown) reveal that cuticular conductance of the berry is only 0.08 cm s⁻¹ compared with leaf conductance, which reaches 0.44 cm s⁻¹.

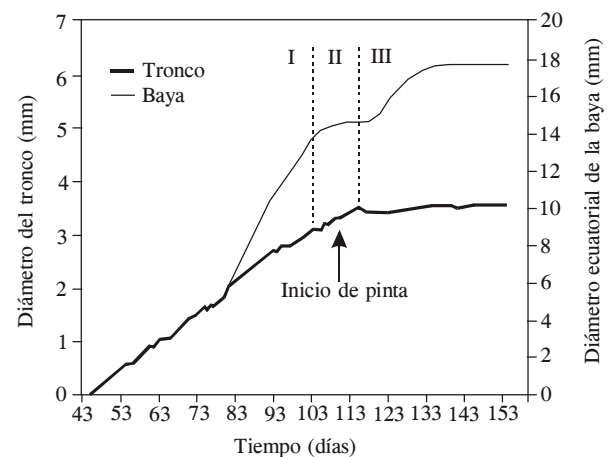


Figura 1. Variación del diámetro del tronco y fases I, II y III del crecimiento de la baya (2004 a 2005).

Figure 1. Variation in trunk diameter and berry growth phases I, II, and III (2004 to 2005).

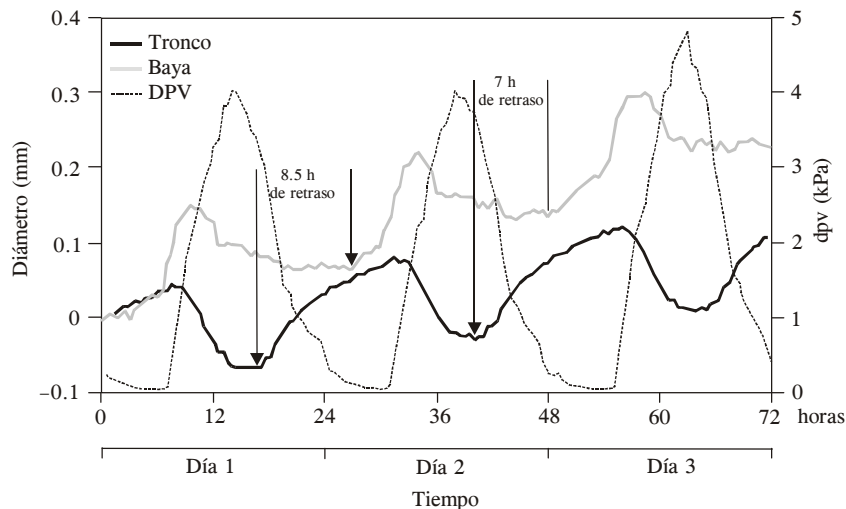


Figura 2. Variación del diámetro del tronco y de la baya, y déficit de presión de vapor (DPV) del día 101 al 103 DDB. Se indica la hora de inicio del período de recuperación del tronco y de la baya. El eje de las abscisas representa al tiempo (h) desde la medianoche del día 101 DDB.

Figure 2. Variation in trunk and berry diameter and vapor pressure deficit (DPV) from day 101 to 103 DDB. The time of onset of recovery period of given for trunk and berry. The abscissas axis represent time (h) from midnight of day 101 DDB.

retraso en el inicio del período de recuperación de la baya respecto del tronco se puede deber a que el tallo es la fuente de abastecimiento hídrico de la baya.

Durante la etapa II de desarrollo de la baya (107 a 117 DDB), correspondiente a la embriogénesis, la recuperación ocurre en dos períodos: el primero comienza simultáneamente con la recuperación del diámetro del tronco hasta la noche, durante el cual ocurre el crecimiento del tronco; la baya no tuvo cambios en su diámetro debido a la interacción de crecimientos.

El segundo aumento radial de la baya ocurre desde el amanecer del día siguiente hasta el mediodía (Figura 3), lo que estaría asociado con su tasa de crecimiento (9.1 mm h^{-1}). El hecho de que en la etapa II se inicie la recuperación del diámetro de la baya al mismo tiempo que el tronco, indicó que la resistencia al flujo de agua hacia el fruto disminuyó considerablemente.

La resistencia al flujo de agua de los tejidos vasculares está dada por sus características hidráulicas

The time difference between berry and trunk growth response could be explained by the berry's lower stomata density, 1.33 mm^{-2} per berry (Pallioti and Cartechini, 2001; Rogiers *et al.*, 2006). The stomata do not increase in number, and they cease functioning during fruit development; moreover, their size is one fourth that of a leaf stomatal pore (Pallioti and Cartechini, 2001).

Fruit cuticle is more resistant to exit of water than leaf cuticle (Riederer and Schreiber, 2001). Average thickness of the cuticle layer in Crimson Seedless is 4.25 μm , approximately double that of the cell walls of the epidermal cells.

Before veraison, that is, during the first active berry growth phase due to cell multiplication (Matthews and Shackel, 2005), recovery of berry diameter by cell rehydration and growth occurred 6 to 7 h later than in the trunk (Figure 2). Delay in the onset of the berry recovery period relative to the trunk may be explained by the fact that the stem is the berry's source of water supply.

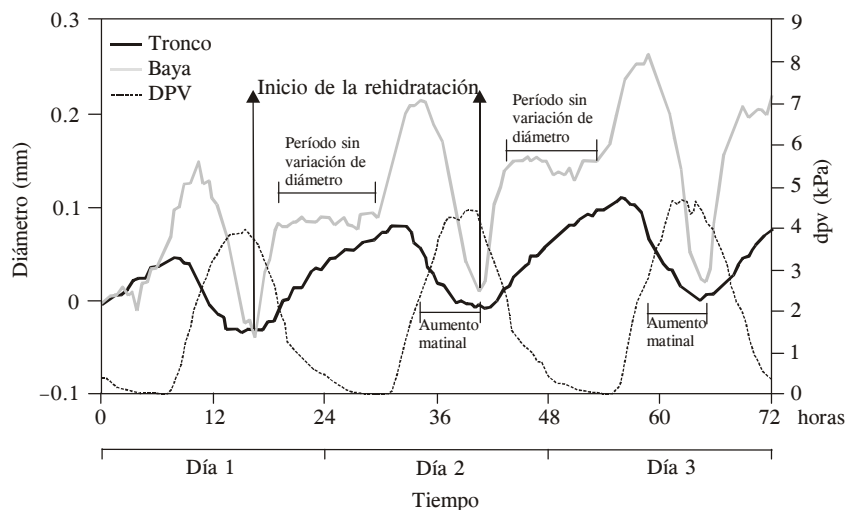


Figura 3. Variación del diámetro del tronco y de la baya, y déficit de presión de vapor (DPV) del día 110 al 112 DDB (29 al 31 de diciembre 2004). Se indica la diferencia temporal en el inicio del período de recuperación del tronco y de la baya. El eje de las abscisas representa al tiempo (h) transcurrido desde la medianoche del día 110 DDB.

Figure 3. Variation in trunk and berry diameter and vapor pressure deficit (DPV) from day 110 to 112 DDB (December 29 to 31, 2004). The time difference is indicated at the onset of trunk and berry recovery period. The abscissas axis represent time (h) elapsed from midnight of day 110 DDB.

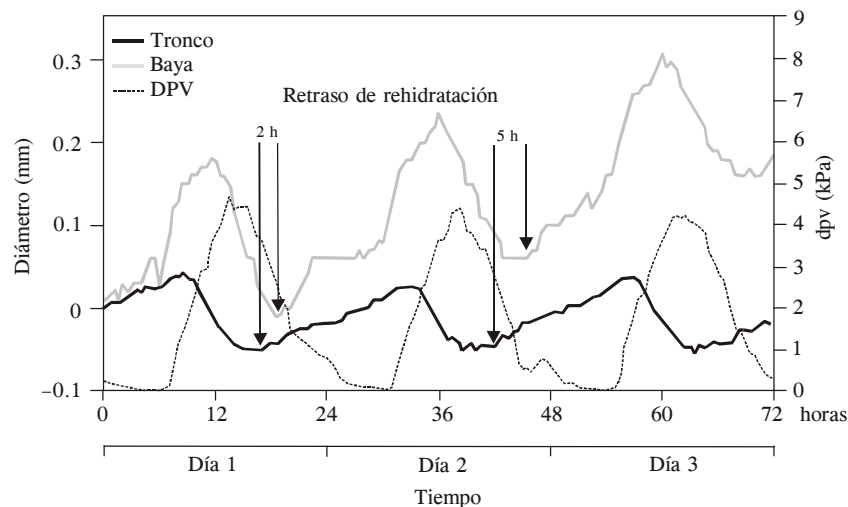


Figura 4. Variación del diámetro del tronco y de la baya, y déficit de presión de vapor entre 118 y 120 DDB. Se indica la hora de inicio del período de recuperación del tronco y de la baya. El eje de las abscisas representa las horas transcurridas desde la medianoche del día 118 DDB.

Figure 4. Variation in trunk and berry diameter and vapor pressure deficit from 118 to 120 DDB. The time of onset of the period of trunk and berry recovery. The abscissas axis represent the hours elapsed from midnight of day 118 DDB.

(Schultz y Matthews, 1988; Schultz, 2003; Keller, 2005), y disminuye con el aumento de la temperatura y el transporte de solutos (Zwienieky *et al.*, 2004).

Con el inicio del período de envero aumenta de manera importante el transporte de azúcar hacia la baya (Matthews y Anderson, 1988; Coombe, 1992), y hay pérdida de funcionalidad del xilema (Greenspan *et al.*, 1994; Coombe y Mc Carthy, 2000; Rogiers *et al.*, 2006). Entonces, los resultados apoyan la idea de un cambio en la descarga floemática a nivel de baya, desde una vía simplástica a una vía apoplástica (Xia y Zhang, 2000; Zhang *et al.*, 2006). Este desfase temporal podría estar asociado con la menor velocidad de transporte a través del floema (1.5 m h^{-1}) en comparación con el transporte de agua por el xilema (15 m h^{-1}). Por tanto, no habría una disfuncionalidad del xilema sino una interacción hídrica entre los tejidos conductores. Mientras el movimiento de agua, sales minerales y algunos nutrientes orgánicos (Kher *et al.*, 2005) es generado por un gradiente de presión negativa, tensión o gradiente de potencial hídrico, el movimiento a través del floema es generado por un gradiente de presión hidrostática positiva. Esto confirmaría la propuesta de Tyerman *et al.* (2004), de que el transporte floemático durante el envero está asociado con altos valores de presión osmótica lo cual, al momento de la descarga floemática en la baya, provoca un flujo de agua hacia las células del mesocarpo. En las plantas estudiadas, esta pérdida de agua no causó una contracción nocturna debido a la entrada de azúcares. Para confirmar esta hipótesis se debe medir el potencial hídrico y sus componentes durante la noche y la madrugada. Se ha desarrollado una metodología de medición de potencial de presión *in situ* en bayas (Thomas *et al.*, 2006), por lo que ya es posible realizar estas mediciones. Sin embargo, el uso simultáneo de sensores de

During stage II of berry development (107 to 117 DAB), corresponding to embryogenesis, recovery occurs in two periods. The first begins simultaneously with recovery of trunk diameter at nightfall, during which the trunk grows. The berry did not undergo changes in diameter because of growth interactions. The second radial increase of the berry occurs from dawn the following day until midday (Figure 3); this would be associated with its growth rate (9.1 mm h^{-1}). The fact that in stage II recovery of berry diameter began at the same time as that of the trunk indicated that resistance to water flow toward the fruit decreased considerably. Resistance to water flow in vascular tissues is given by their hydraulic characteristics (Schultz and Matthews, 1988; Schultz, 2003; Keller, 2005), and decreases with increasing temperatures and solute transport (Zwienieky *et al.*, 2004).

With onset of the veraison period, a major increase in transport of sugars toward the berry occurs (Matthews and Anderson, 1988; Coombe, 1992), and the xylem ceases to be functional (Greenspan *et al.*, 1994; Coombe and McCarthy, 2000; Rogiers *et al.*, 2006). Thus, the results support the idea of a change in phloem discharge at the berry level, from a symplastic via to an apoplasic via (Xia and Zhang, 2000; Zhang *et al.*, 2006). This difference in time could be associated with slower transport through the phloem (1.5 m h^{-1}) compared with water transport by the xylem (15 m h^{-1}). Therefore, the xylem would not be dysfunctional, but rather there is an interaction of water between the conduit tissues. While movement of water, mineral salts and some organic nutrients (Kher *et al.*, 2005) is generated by a gradient of negative pressure, tension or water potential gradient, movement through the phloem is generated by a positive gradient of hydrostatic pressure. This would confirm the proposal of Tyerman

desplazamiento variable como los usados en este trabajo, proporciona información confiable para mostrar la interacción de crecimiento entre los órganos de la planta.

Al comenzar la etapa III de crecimiento de la baya por elongación celular (Figura 4), el período sin variación de diámetro de la baya se hace gradualmente menos notorio, y no hay a los 117 DDB. El inicio del período de recuperación de la baya en este día se retrasó 2 h respecto a la recuperación del tronco. Este retraso aumenta gradualmente hasta 13-14 h, días antes de la cosecha (181 DDB, inicio marzo 2005), debido a que la resistencia a la entrada de agua a la baya aumenta paulatinamente. Esta disminución estaría asociada al aumento de la concentración de solutos y, por tanto, el movimiento hídrico es controlado por el gradiente osmótico.

Bondada *et al.* (2005) propusieron que una disminución de $-3,0$ MPa en el valor de potencial de solutos contribuye a una inactivación de las acuaporinas, proteínas estructurales que facilitan el transporte de agua en membranas (Tyerman *et al.*, 2004). Lo anterior también podría explicarse por la pérdida de funcionalidad de los vasos del xilema (Zhang *et al.*, 2006; Keller *et al.*, 2006), ya que a mayor contenido de agua en la baya mayor es el número de haces vasculares no funcionales. Según Pinto³ (comunicación personal), en el cv Sultanina con una disminución de haces funcionales, aumento del contenido relativo de agua y una disminución del potencial osmótico que en estas bayas fue $-4,0$ MPa, se sustenta la inactivación de acuaporinas propuesta por Bondada *et al.* (2005). Durante la maduración del fruto el floema es la principal fuente de agua para la baya (Greenspan *et al.*, 1994 y 1996), teniendo el xilema mucho menor importancia. Así, durante todo el desarrollo de las bayas de vid, ésta permanece hidráulicamente conectada a la planta, como ha sido observado por Keller *et al.* (2006). Estos resultados confirman la hipótesis de un cambio en la compartimentación del flujo de agua entre xilema y floema, predominando el flujo osmótico simplástico del agua desde el floema porque se mantiene el gradiente de potencial hídrico hasta la cosecha.

CONCLUSIONES

Hubo evidencia funcional de las interacciones hidráulicas entre el tallo y la baya y cómo el crecimiento de la baya depende del gradiente de potencial hídrico. Estos cambios en la resistencia al flujo de agua entre la baya y el tallo de la planta de vid se explicarían por el cambio en la vía de descarga floemática hacia el fruto,

et al. (2004), that phloem transport during veraison is associated with high osmotic pressure, which causes water to flow toward the mesocarp cells when there is a discharge from the phloem to the berry. In the plants studied, this water loss did not cause nocturnal contraction because of the entry of sugars. To confirm this hypothesis, water potential and its components should be measured during the night and early morning. This is now possible since a method has been developed for measuring berry pressure potential *in situ* (Thomas *et al.*, 2006). However, the simultaneous use of variable displacement sensors, such as those used in our study, provides reliable information to demonstrate growth interactions among plant organs.

At the onset of berry growth stage III, cell elongation (Figure 4), the period in which berry diameter varies, becomes gradually less notable and stops on 117 DAB. The onset of the berry recovery period on that day is delayed 2 h relative to trunk recovery. This delay increases gradually until 13 or 14 h, a few days before the harvest (181 DAB, early March 2005), because resistance to entry of water into the berry increases gradually. This decrease would be associated to an increase in solute concentration and, therefore, water movement is controlled by the osmotic gradient.

Bondada *et al.* (2005) proposed that a decrease of $-3,0$ MPa in the value of solute potential contributes to inactivate aquaporins, structural proteins that facilitate water transport in membranes (Tyerman *et al.*, 2004). This could also be explained by functional loss of the xylem vessels (Zhang *et al.*, 2006; Keller *et al.*, 2006) since the higher the berry water content, the larger the number of non-functional vascular bundles. According to Pinto³ (Personal communication), in cv Sultanina with a decrease in functional bundles, an increase in the relative water content and a decrease in osmotic potential, which was $-4,0$ MPa in these berries, thus supports aquaporin inactivation proposed by Bondada *et al.* (2005). During fruit ripening, the phloem is the main source of water for the berry (Greenspan *et al.*, 1994 and 1996) and the xylem is of much less importance. Thus, during the entire development process of grape berry development, the fruit remains hydraulically connected to the plant, as observed by Keller *et al.* (2006). These results confirm the hypothesis of a change in water flow compartmentalization between the xylem and phloem, in which symplastic osmotic water flow from the phloem predominates because the water potential gradient is maintained until harvest.

³ Manuel Pinto Contreras, Laboratorio de Bioquímica, Centro Regional de Investigación INIA, Chile.

y no habría una disfunción del xilema en racimo, sino también una compartimentación del flujo hídrico del xilema y el floema hacia la baya. En función de estos resultados no existiría flujo reverso de agua desde la baya a la planta.

Además, son útiles los sistemas de medición continua del crecimiento de los órganos vegetales en el estudio del transporte de agua de órganos hidráulicamente conectados, y se propone la necesidad de estudiar las relaciones hídricas de los componentes del potencial hídrico de la planta durante la noche. En ese período la planta recupera la turgencia celular y aumenta su volumen.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (FONDECYT, Chile), que financió este estudio a través del proyecto 1020837.

LITERATURA CITADA

- Berger A., and G. Sellés. 1993. Diurnal fruit shrinkage: a model. *In: Borghetti M, J. Grace, and A. Raschi (eds). Water Transport in Plants under Climatic Stress. Cambridge University Press. Cambridge. pp: 261-269.*
- Bondada, B., M. Matthews, and K. Shackel. 2005. Functional xylem in the post-veraison grape berry. *J. Exp. Bot. 56:2949-2957.*
- Coombe, B. 1992. Research on development and ripening of grape berry. *Am. J. Enol. Vitic. 43: 101-111.*
- Coombe B., and M. Mc Carthy. 2000. Dynamics of berry growth and physiology of ripening. *Aust. J. Grape Wine Res. 6:131-135.*
- Creasy, G., S. Price, and P. Lombard. 1993. Evidence for xylem discontinuity in Pinot Noir an Merlot: Die uptake and mineral composition during berry maturation. *Am. J. Enol. Vitic. 44:187-142.*
- Düring, H., A. Lang, and F. Oggioni. 1987. Patterns of water flow in Riesling berries in relation to developmental changes in their xylem morphology. *Vitis 26:123-131.*
- Genard, M., S. Fishman, G. Vecambre, J. Huguet, and C. Bussi, J. 2001. A biophysical analysis of stem and root diameter variation in woody plants. *Plant Physiol. 126:188-202.*
- Greenspan, M., K. Shackel, and M. Matthews. 1994. Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficit. *Plant, Cell Environ. 17:811-820.*
- Greenspan, M., H. Schultz, and M. Matthews. 1996. Field evaluation of water transport in grape berry during water deficits. *Physiol. Plant. 97:55-62.*
- Jones, H. 2004. Irrigation scheduling: Advantages and pitfalls of plant-based methods. *J. Exp. Bot. 55:2427-2436.*
- Kher, J., P., Giavalisco, and A. Buhtz. 2005. Analysis of xylem sap proteins from *Brassica napus*. *BMC Plant Biol. 5:11-16.*
- Keller, M. 2005. Deficit irrigation and vine mineral nutrition. *Am. J. Enol. Vitic. 56:267-283.*
- Keller, M., J. Smith, and B. Bondada. 2006. Ripening grape berry remain hydraulically connected to the shoot. *J. Exp. Bot. 57:2577-2587.*
- Lang, A. and M. Thorpe. 1989. Xylem, phloem and transpiration flows in a grape: application of a technique for measuring the volume of attached fruits to high resolution using Archimedes principle. *J. Exp. Bot. 40:1069-1078.*

CONCLUSIONS

There was functional evidence of hydraulic interactions between stem and berry, and of how berry growth depends on the water potential gradient. These changes in resistance to water flow between berry and grapevine stem would be explained by the change in the phloematic discharge to the fruit, and there would be no xylem dysfunction in the cluster but rather a compartmentalization of water flow of the xylem and phloem toward the berry. In function of these results, there would not be a reverse flow of water from the berry to the plant.

Also, the systems of continuous growth measurement of plant organs are useful in the study of water transport through organs that are hydraulically connected, posing the need to study water relationships of water potential components during the night. It is during this period that the plant recovers cell turgidity and increases in volume.



- Lokhart, A. 1965. An analysis of irreversible plant cell elongation. *J. Theor. Biol. 8:264-275.*
- Matthews, M. and K. Shackel. 2005. Growth and water transport in fleshy fruit. *In: Holbrook, N., and M. Zwieniecki (eds). Vascular Transport in Plants. Elsevier co-Imprint Academic Press. Oxford, U.K. pp: 181-197.*
- Matthews, M. and M. Anderson. 1988. Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: Responses to seasonal water deficits. *Am. J. Enol. Vitic. 39:313-320.*
- Myburg, P. 1996. Response of *Vitis vinifera* L. cv. Barlika/Ramsey to soil water depletion levels with particular reference to trunk growth parameters. *South Afr. J. Enol. Vitic. 17:3-14.*
- Nobel, P. 1999. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology.* Academic Press, San Diego. 474 p.
- Ollat, N., P. Diakou-Verdin, J. Carde, Barrieu, F. Gaudillere, P., and A. Moing 2002. Grape berry development: A review. *J. Int. Sci. Vigne Vin. 36:109-131.*
- Pallioti, A., and A. Cartechini. 2001. Developmental changes in gas exchange activity in flowers, berries and tendrils of field-grown Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic. 52:317-323.*
- Riederer, M., and L. Schreiber. 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *J. Exp. Bot. 52:2023-2032.*
- Rogiers, S., D. Greer, J. Hatfield, A. Beverley, and M. Keller. 2006. Solute transport into Shiraz berries during development and late-ripening shrinkage. *Am. J. Enol. Vitic. 57:73-80.*
- Schultz, H., 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant Cell Environ. 26:1393-1405*
- Schultz, H. and M. Matthews. 1988. Resistance to water transport in shoots of *Vitis vinifera* L. *Plant Physiol. 88:718-724.*
- Sellés, G., R. Ferreyra, I. Muñoz, and H. Silva. 2004. Physiological indicators of plant water status as criteria for irrigation scheduling in table grapes cv. Crimson Seedless, irrigated by drip. *Acta Hort. 664: 599-605.*

- Steppe, K., D. de Pauw, R. Lemeur, and A. Vanrollegem. 2006. A mathematical model linking tree sap flow dynamics to daily stem diameter fluctuations and radial stem growth. *Tree Physiol.* 26:257-273.
- Thomas, T., M. Matthews, and K. Shackel. 2006. Direct in situ measurement of cell turgor in grape (*Vitis vinifera* L.) berries during development and in response to water deficits. *Plant Cell and Environ.* 29:993-1001.
- Ton, Y., I. Kopit, and N. Nilov. 2004. Phytomonitoring technique for tuning irrigation of vineyards. *Acta Hort.* 646:133-139.
- Tyerman, S., J. Tilbrook, C. Pardo, L. Kotula, W. Sullivan, and E. Steudle. 2004. Direct measurement of hydraulic properties in developing berries of *Vitis vinifera* L. cvs. Shiraz and Chardonnay. *Aust. J. Grape Wine Res.* 10:170-181.
- Van Zyl, J. 1987. Diurnal variation in grapevine water stress as a function of changing soil water status and meteorological conditions. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 8:45-52.
- Xia, G., and D. Zhang. 2000. Intercellular symplastic connection and isolation of the unloading zone in flesh of the developing grape berry. *J. Integrative Plant Biol. Acta Bot. Sin.* 42:898-904.
- Zhang, X., X. Wang, F. Wang, G. Xia, G. Pan, Q. Fan, R. Wu, F. Yu, X., and D. Zhang. 2006. A shift of phloem unloading to symplastic to apoplasmic pathway is involved in developmental onset of ripening in grape berry. *Plant Physiology.* 142:220-232.
- Zwienieky, M., P. Melcher, T. Field, and N. Holbrook. 2004. A potential role for xylem-phloem interactions in the hydraulic architecture of trees: effects of phloem girdling on xylem hydraulic conductance. *Tree Physiol.* 24:911-917.

Figura anexa

