



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

**EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA  
FOTOINHIBICIÓN Y FOTOSÍNTESIS EN *Vitis vinifera* L. CV. CARMÉNÈRE.**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster  
en Enología y Vitivinicultura

**FELIPE ANDRES REYES PEÑAILILLO**

Directores de Tesis

CLAUDIO PASTENES VILLARREAL  
NICOLÁS FRANCK BERGER

Profesores consejeros

REMIGIO LÓPEZ SOLÍS  
JOSÉ IGNACIO COVARRUBIAS PEÑA

SANTIAGO - CHILE  
2016

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

**EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA  
FOTOINHIBICIÓN Y FOTOSÍNTESIS EN *Vitis vinifera* L. CV. CARMÈNÈRE.**

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

**FELIPE ANDRES REYES PEÑAILILLO**

Calificaciones  
(Memoria de Título)

Calificaciones  
(Tesis de Grado)

**DIRECTORES DE TESIS**

Claudio Pastenes Villarreal  
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.

Nicolás Franck Berger  
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.

**PROFESORES CONSEJEROS**

Remigio López Solís  
Bioquímico

José Ignacio Covarrubias Peña  
Ingeniero Agrónomo, Dr.

Santiago, Chile  
2016



## **AGRADECIMIENTOS**

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO I: MONOGRAFÍA. EFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA FOTOINHIBICIÓN Y FOTOSÍNTESIS EN <i>Vitis vinifera</i> L. CV. CARMÉNÈRE.</b>	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
LITERATURA CITADA	10
<b>CAPÍTULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO. EFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA FOTOINHIBICIÓN Y FOTOSÍNTESIS EN <i>Vitis vinifera</i> L. CV. CARMÉNÈRE.</b>	21
RESUMEN	21
ABSTRACT	22
INTRODUCCION	23
HIPOTESIS	25
OBJETIVO	25
MATERIALES Y METODOS	26
Sitio de estudio	26
Material biológico	26
Tratamientos y Diseño experimental	26
Procedimiento	27
Evaluaciones	27
Radiación, temperatura y humedad relativa	27
Potencial hídrico xilemático de mediodía	27
Asimilación neta de CO <sub>2</sub> , conductancia estomática, transpiración de la hoja y contenido interno de CO <sub>2</sub>	28
Parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila	28
Fotoinhibición ( $F_v/F_m$ )	28
Rendimiento operacional del fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ )	28
Apagamiento fotoquímico ( $qP$ )	28
Apagamiento no fotoquímico ( $NPQ$ )	28
Contenido de clorofilas	29
Análisis estadístico	29
RESULTADOS	30
Contexto climático de la temporada verano-otoño 2012	30
Temperatura, humedad relativa ambiental y radiación solar	30

Parámetros fisiológicos de la planta	32
Potencial hídrico xilemático de mediodía	32
Asimilación neta de CO <sub>2</sub>	33
Conductancia estomática	33
Relación entre la asimilación neta y la conductancia estomática	37
Transpiración de la hoja	37
Contenido interno de CO <sub>2</sub>	38
Eficiencia del uso del agua de la hoja	38
Parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila	44
Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II	44
Rendimiento operacional del fotosistema II	44
Apagamiento fotoquímico	44
Apagamiento no fotoquímico	44
Concentración de clorofilas foliares	45
Rendimiento de peso de poda	45
DISCUSIÓN	52
CONCLUSIÓN	57
LITERATURA CITADA	58

### Índice de figuras

Figura 1	Modelo diseñado por Butler (1978)	3
Figura 2	Gráfica fluorescencia modulada	4
Figura 3	Curva de crecimiento de la baya de la vid	6
Figura 4	Parámetros climáticos	31
Figura 5	Potenciales hídricos xilemáticos y aportes hídricos acumulados	32
Figura 6	Asimilación neta de CO <sub>2</sub> ( $A_N$ )	34
Figura 7	Asimilación neta de CO <sub>2</sub> diaria ( $A_{Nd}$ )	35
Figura 8	Conductancia estomática ( $g_S$ )	36
Figura 9	Relación entre la $A_N$ y la $g_S$	37
Figura 10	Transpiración de la hoja ( $E$ )	39
Figura 11	Transpiración de la hoja diaria ( $E_d$ )	40
Figura 12	Contenido interno de CO <sub>2</sub> ( $C_i$ )	41
Figura 13	Eficiencia del uso del agua de la hoja ( $EUA$ )	42
Figura 14	Eficiencia del uso del agua diaria de la hoja ( $EUA_d$ )	43
Figura 15	Rendimiento cuántico máximo del PSII ( $F_v/F_m$ )	46
Figura 16	Rendimiento operacional del PSII ( $\Phi_{PSII}$ )	47
Figura 17	Apagamiento fotoquímico ( $qP$ )	48

Figura 18	Apagamiento no fotoquímico ( <i>NPQ</i> )	49
Figura 19	Contenido de clorofila total	50
Figura 20	Rendimiento peso de poda	51

## CAPÍTULO I: MONOGRAFÍA

### EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA FOTOINHIBICIÓN Y FOTOSÍNTESIS EN *Vitis vinifera* L. CV. CARMÉNÈRE.

#### REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

La luz es esencial para la fotosíntesis pero también puede generar daño en el aparato fotosintético, fenómeno conocido como fotoinhibición. La fotoinhibición es la reducción de la tasa fotosintética en respuesta a una condición de exposición, ya sea prolongada o excesiva, de alta intensidad lumínica (Takahashi y Badger, 2011). Se ha determinado que el fotodaño ocurre principalmente a nivel de la proteína D1 del centro de reacción del fotosistema II (*PSII*), como una consecuencia de la luz absorbida por las clorofilas, y del “*cluster*” de manganeso, por acción directa de la luz ultra violeta y luz azul, al tener un espectro de absorción similar al del fotodaño del *PSII* (Andersson y Aro, 2001; Ohnishi *et al.*, 2005; Hakala *et al.*, 2006; Murata *et al.*, 2007; Nishiyama *et al.*, 2011). Además, este proceso conlleva fotoinactivación de los centros de reacción del *PSII* y una interrupción en la transferencia de electrones entre los fotosistemas (Palliotti *et al.*, 2009; Goh *et al.*, 2012).

Cuando la maquinaria fotosintética es expuesta a una alta intensidad lumínica, se estimula la producción de especies reactivas de oxígeno (*ROS*, “*Reactive Oxygen Species*”). Se ha propuesto que estos compuestos son la principal causa del fotodaño al *PSII*, inhibiendo la síntesis de proteínas involucradas en la reparación de este fotosistema, específicamente la proteína D1, aumentando el grado de fotoinhibición (Nishiyama *et al.*, 2004; Krieger-Liszkay *et al.*, 2008; Vass *et al.*, 2007; Vass y Cser, 2009; Roach y Krieger-Liszkay, 2014).

Aun cuando es prácticamente imposible evitar el fotodaño al *PSII* bajo cualquier intensidad de luz, los organismos fotosintéticos son capaces de superar este daño con una rápida y eficiente reparación del *PSII*. Por lo tanto, la actividad del *PSII* va a depender del balance entre la tasa del fotodaño y la tasa de reparación. Si el primer factor excede al segundo se hace evidente la fotoinhibición del *PSII* (Andersson y Aro, 2001; Anderson y Chow, 2002; Nishiyama *et al.*, 2006, Takahashi y Murata 2008; Raven, 2011). Pese a esto, una planta sometida a un fenómeno de fotoinhibición debe asumir ciertos costos energéticos, considerando lo que se invierte en los procesos de reparación, y lo que se pierde al no realizar fotosíntesis (Raven, 2011). El costo energético de reparación del fotodaño en el *PSII*, es menor que la energía no ganada al no realizar fotosíntesis por dicho daño (Raven, 2011).



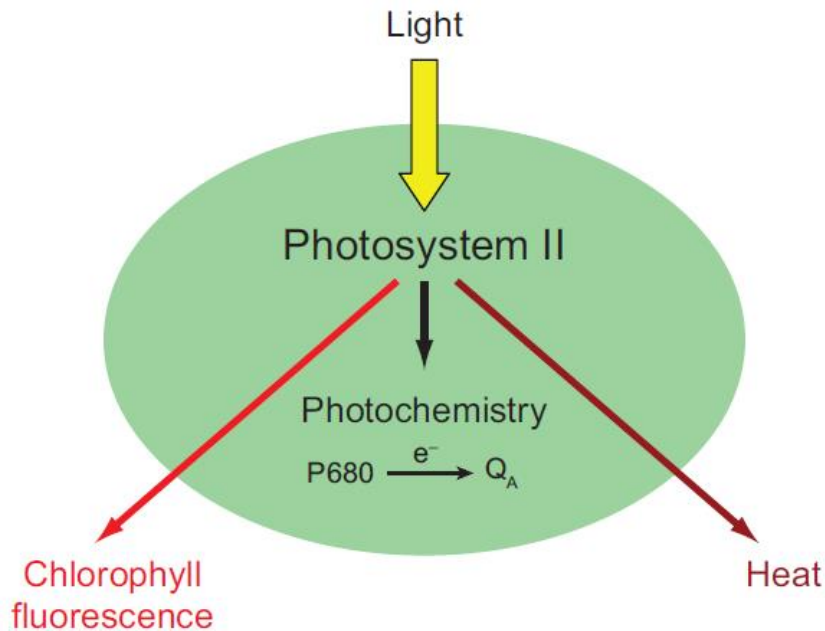
Diferentes estreses ambientales, como baja y alta temperatura, alta salinidad y déficit hídrico, fuertes limitantes de la fijación de CO<sub>2</sub>, han mostrado ser aceleradores del proceso de fotoinhibición a través de la supresión de la reparación del fotodaño en el *PSII*, específicamente de la proteína D1 (Nishiyama *et al.*, 2005; 2006; Murata *et al.*, 2007; Takahashi y Murata, 2008). El estrés lumínico puede ocurrir de manera simultánea con el estrés hídrico, potenciando la generación de un estrés oxidativo debido a la formación de *ROS* (Takahashi y Murata, 2008). Bajo una restricción hídrica, los estomas de la hoja se cierran para evitar la pérdida de agua, limitando el intercambio gaseoso y la tasa de fijación de CO<sub>2</sub>. Como consecuencia de lo anterior, se induce una sobre-excitación del aparato fotosintético, al no consumir el *NADPH* y *ATP* de forma eficiente, promoviendo la formación de radicales libres (Farrant, 2000; Tambussi *et al.*, 2000; Takahashi y Murata, 2008).

En el género *Vitis*, existe una diversidad de respuestas a la fotoinhibición frente a condiciones de estrés tanto en ambientes controlados en invernaderos como también en condiciones de campo. Ahora bien, *Vitis vinifera* L., ha sido reconocida como una especie resistente al daño por fotoinhibición del *PSII*, incluso frente a condiciones de estrés hídricos severos (Bertamini *et al.*, 2003, 2004, 2005, 2007; Bertamini y Nedunchezian 2004; de Souza *et al.*, 2005; Zulini *et al.*, 2008; Guan y Gu, 2009; Palliotti *et al.*, 2009; Hochberg *et al.*, 2012; Islam y Berrios, 2012). Esto no siempre ocurre en otras especies de vid, o incluso híbridos, en los cuales la tasa de recuperabilidad máxima del *PSII*, se ven mermados y en ciertos casos no logran llegar cerca de los rendimientos fotoquímicos de una planta no estresada (Bertamini y Nedunchezian, 2002; Guan *et al.*, 2004; Flexas *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012).

*Vitis vinifera* L., al igual que el resto de las plantas, presenta diversos mecanismos de fotoprotección para poder mitigar los efectos nocivos de una sobre excitación por el exceso de energía absorbida (Takahashi y Badger, 2011). Entre estos se encuentran el movimiento de hojas y la reubicación de cloroplastos (lo cual permite minimizar la absorción de exceso de luz), *ROS* 'scavenging' por medios enzimáticos y no enzimáticos, liberación del exceso de energía por medio de la disipación térmica (*NPQ*, 'non photochemical quenching'), transporte cíclico de electrones alrededor del fotosistema I (*PSI*) lo que ayuda a generar un gradiente protónico a través de la membrana del tilacoide ( $\Delta pH$ ) (Müller *et al.*, 2001; Pastenes *et al.*, 2005; Shikanai, 2007; Baker *et al.*, 2008; Flexas *et al.*, 2009; Kramer y Evans, 2011). Finalmente, propio de las plantas C3, se encuentra la fotorespiración, la cual es una ruta fotoquímica alternativa, donde la *RUBISCO* (enzima Rubilosa bifosfato carboxilaza-oxigenasa) utiliza el O<sub>2</sub> para la generación del poder reductor *NADPH* y la energía *ATP* (Medrano *et al.*, 2002; Guan *et al.*, 2004; Jiang *et al.*, 2006; Guan y Gu, 2009; Flexas *et al.*, 2009; Lovisolo *et al.*, 2010; Takahashi y Badger, 2011; Hochber *et al.*, 2012; Turan, 2012).

El análisis de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del *PSII*, permite caracterizar los efectos y modos de acción de diferentes tipos de estrés ambiental, entre ellos el déficit hídrico y alta intensidad lumínica (Gonzales *et al.*, 2008). Un modelo simple para entender lo que sucede con la energía absorbida por los pigmentos de la planta es el presentado por Butler (1978), el cual es aún vigente (Figura 1). Este modelo propone que la energía fotoquímica compite con los procesos de fluorescencia y pérdida de la energía de excitación en los pigmentos de la antena del *PSII* en forma de calor (Baker, 2008). Por lo tanto la energía absorbida por las moléculas de clorofila puede seguir tres rutas principales: (i) ser usada en procesos fotoquímicos donde se

transfiere un electrón desde el centro de reacción del *PSII*, P680, hasta el primer aceptor del *PSII* la quinona A ( $Q_A$ ), (ii) disipada como calor o (iii) puede ser reemitida como luz fluorescente de clorofila, estos dos últimos denominados como procesos no fotoquímicos. Estas tres rutas ocurren en competencia, por lo que el incremento en la eficiencia de uno de ellos resultará en la disminución de los otros dos (Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008; Murchie y Lawson, 2013). Según lo descrito por Baker (2008), la fluorescencia de una hoja está definida por la incidencia de la densidad del flujo de fotones fotosintéticos (*PPFD*, “*Photosynthetic Photon Flux Density*”), por la proporción de *PPFD* incidente que es absorbida por la hoja, la fracción de *PPFD* que es absorbida y que es recibida por el centro de reacción del *PSII*, el apagamiento de la energía de excitación del *PSII* por fluorescencia, pérdida de calor y energía fotoquímica, y por último la fracción de los centros de reacción del *PSII* abiertos u oxidados.

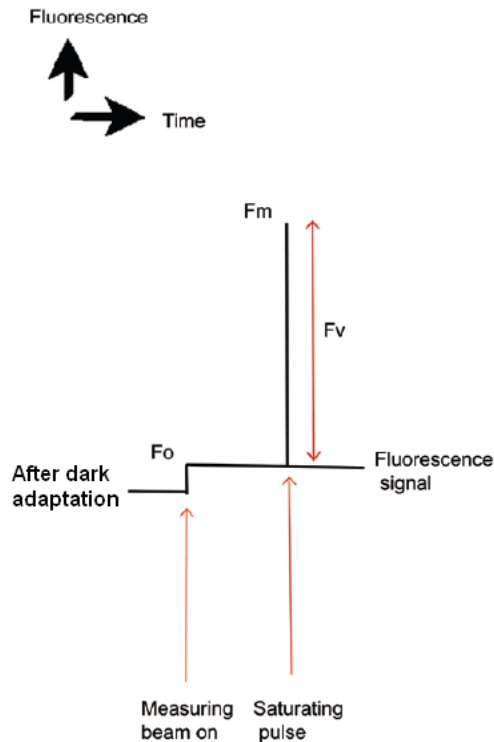


**Figura 1.** Modelo diseñado por Butler (1978). Muestra los destinos posibles que puede tener la energía absorbida en el *PSII*. Esta puede ser usada para conducir energía fotoquímica por medio de la transferencia de un electrón ( $e^-$ ) desde el centro de reacción P680 al aceptor primario del *PSII*, la quinona A ( $Q_A$ ). Alternativamente, la energía puede ser liberada desde el *PSII* como energía calórica o como energía fluorescente de la clorofila (Baker, 2008).

Por medio de la fluorescencia podemos obtener información acerca del estado y funcionalidad del *PSII*, determinando el rendimiento cuántico máximo de éste,  $F_v/F_m$ , el cual se obtiene de la siguiente ecuación:

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

$F_o$  es la fluorescencia mínima que se logra al someter a una hoja, previamente adaptada a la oscuridad para lograr la oxidación completa del *PSII*, a un haz de luz de baja intensidad que no es capaz de generar un transporte de electrones en el *PSII* ( $0,1 \mu\text{mol fotones m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) y  $F_m$  corresponde a la fluorescencia máxima bajo un pulso de luz de alta intensidad ( $3000 \mu\text{mol fotones m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) (Baker, 2008; Gonzales *et al.*, 2008).  $F_v$  es la diferencia que se obtiene entre la



**Figura 2.** Grafica fluorescencia modulada. Rastro típico de la fluorescencia de la clorofila en una hoja previamente adaptada a la oscuridad que muestra cómo se origina la fluorescencia mínima ( $F_o$ ), máxima ( $F_m$ ) y variable ( $F_v$ ) en el tiempo. (Murchie y Lawson, 2013).

fluorescencia máxima y mínima tal como se observa en la figura 2 (Baker, 2008; Murchie y Lawson, 2013). Se ha establecido que el valor de  $F_v/F_m$  se encuentra entre 0 y 1, donde hojas de plantas no estresadas alcanza valores sobre 0.83 y hojas de plantas estresadas, valores inferiores a éste, indicando algún grado de fotoinhibición (Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008).

Otro parámetro derivado de la fluorescencia relacionado con el apagamiento fotoquímico de la clorofila es  $qP$ , “*photochemical quenching*”, el cual indica la proporción de centros de reacción del *PSII* que se encuentran abiertos (oxidados) y son, por lo tanto, capaces de transportar electrones. Junto a este indicador, se encuentra otro también importante y utilizados en muchos estudios de la vid: el rendimiento operacional del *PSII* ( $\Phi_{PSII}$ ). Este entrega información con respecto a la proporción de la energía que es absorbida por parte de los pigmentos fotosintéticos y que está siendo utilizada en los diferentes procesos fotoquímicos (Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008).

Los procesos no fotoquímicos también pueden ser conocidos y analizados a partir de la información entregada por la fluorescencia de la clorofila. El apagamiento no fotoquímico de la clorofila,  $NPQ$ , está relacionado linealmente con la disipación de calor y mide sus cambios en relación a la adaptación de las hojas a la oscuridad (Müller *et al.*, 2001). Además, este parámetro

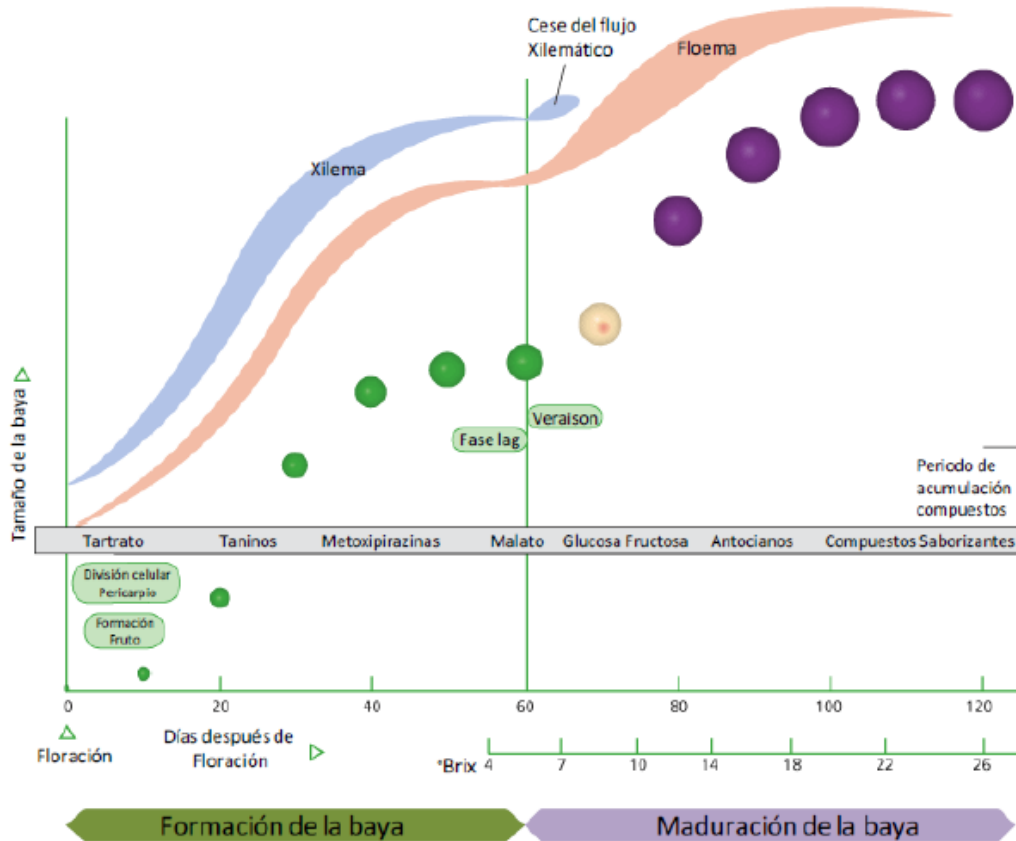
está relacionado con los cambios en el gradiente  $\Delta pH$ , la inactivación de centros de reacción (fotoinhibición) y cambios conformacionales dentro de los complejos de pigmentos en la membrana de los tilacoides, desconexión de complejos cosechadores móviles de luz del *PSII* y formación de zeaxantina (Baker, 2008; Maxwell y Johnson, 2000; Gonzáles *et al.*, 2008; Nilkens *et al.*, 2010). En resumen *NPQ* consta de tres componentes: i) el apagamiento dependiente de la energía, ii) el apagamiento fotoinhibitorio y iii) el apagamiento del estado de transición (Li *et al.*, 2000, 2004; Krause y Jahns, 2004; Horton y Ruban, 2005; Pascal *et al.*, 2005; Roach y Krieger-Liszkay, 2014).

El estudio de la actividad del *PSII*, por medio de la fluorescencia modulada, ha permitido observar, en diversos experimentos, el comportamiento de *Vitis vinifera* L. frente a condiciones ambientales adversas, como lo es una alta intensidad lumínica junto a un estrés hídrico impuesto (Bertamini *et al.*, 2007; Zulini *et al.*, 2008; Flexas *et al.*, 2009; Palliotti *et al.*, 2009; Hochber *et al.*, 2012; Islam y Berrios, 2012). Generalmente los parámetros  $qP$ ,  $\Phi PSII$  y  $Fv/Fm$  (descritos anteriormente), disminuyen a medida que incrementa la intensidad lumínica, y aún más cuando el déficit hídrico se intensifica, sin embargo hay ocasiones en las cuales no ocurre tal diferenciación o su recuperabilidad es muy eficiente (Maroco *et al.*, 2002; Guan *et al.*, 2004; de Souza *et al.*, 2005; Guan y Gu, 2009). Por otro lado, *NPQ*, aumenta paulatinamente a medida que los factores estresantes son más severos y, a pesar de que la vid sea nuevamente sometida a condiciones favorables, este parámetro toma un poco más de tiempo en recuperarse (During, 1998; Flexas *et al.*, 1999a; Flexas *et al.*, 2002; Flexas *et al.*, 2009; Guan y Gu, 2009).

El estrés hídrico es uno de los factores más importantes como limitante del crecimiento y la productividad en la vid en zonas de clima mediterráneo (Bertamini *et al.*, 2006; dos Santos *et al.*, 2007; Poni *et al.*, 2007; Du *et al.*, 2008; Pou *et al.*, 2008; Chaves *et al.*, 2002, 2010). Aun así, en la vitivinicultura, esta práctica de someter a un estrés hídrico a la planta a través de un déficit hídrico controlado es altamente utilizada ya que promueve la partición de fotoasimilados a las bayas y la síntesis de metabolitos secundarios en éstas, incrementando así la calidad del fruto y el vino a producir (Intrigliolo y Castel, 2010; Santesteban *et al.*, 2011; Romero *et al.*, 2013). Sin embargo es importante tener en consideración en qué etapa fisiológica de la vid aplicar el déficit hídrico controlado para promover un estrés (McCarthy *et al.*, 2002; Girona *et al.*, 2009).

La baya de la vid sigue un crecimiento según una curva doble sigmoidea que se puede dividir en tres etapas bien marcadas, tal como se describe teóricamente en la figura 3 y prácticamente en Shellie (2006). La primera etapa se caracteriza por una división celular sucesiva, se forma la baya y se produce el embrión de la semilla, se incrementa la acidez por los ácidos tartárico y málico (principalmente), así como también la producción los taninos de piel y semilla, y la incorporación de micronutrientes (Conde *et al.*, 2007; Kennedy *et al.*, 2001). En muchos cultivares después de la fase de crecimiento sigue una fase de latencia cuya duración varía en función de la cepa (Conde *et al.*, 2007). Durante esta segunda etapa se desarrolla el embrión (Combe, 1992; Adams, 2006). Luego, en la tercera etapa, se produce una segunda fase de crecimiento que coincide con el inicio de la maduración, también denominado envero, y donde ocurre la entrada de azúcares a la baya, un cambio de color en esta, dado por la síntesis de antocianos, síntesis de compuestos aromáticos, flavonoles, la elongación de la célula, un ablandamiento de la piel de la baya, entre otros (Adams, 2006; Conde *et al.*, 2007; Wada *et al.*, 2009). Varios estudios han mostrado que el estrés hídrico no genera un beneficio en la calidad de la baya en etapas de pre-envero, a pesar de

afectar en el tamaño de la baya concentrando los compuestos sintetizados. Sin embargo, sí se aumenta la calidad de esta desde envero en adelante incluso con un estrés hídrico moderado y severo en algunos casos (Ojeda *et al.*, 2001; Girona *et al.*, 2009; Romero *et al.*, 2010; Basile *et al.*, 2011). Por lo tanto un estrés hídrico controlado aplicado desde envero en adelante logra los objetivos enológicos que se buscan.



**Figura 3.** Curva de crecimiento de la baya de la vid. Representación diagramática del tamaño relativo, el color de la baya de vid y la acumulación de los compuestos desde la floración hasta 120 días después de pintar (Coombe, 2001).

La reducción del crecimiento de la planta de vid, bajo condiciones de déficit hídrico, es el resultado de una disminución de la asimilación neta de  $\text{CO}_2$  ( $A_N$ ) afectada por una menor entrada de  $\text{CO}_2$  a la cavidad sub-estomática debido a una disminución de la conductancia estomática ( $g_s$ ), mermando el contenido de carbono interno ( $C_i$ ) y además disminuyendo la transpiración de la hoja ( $E$ ) (Flexas y Medrano, 2002; Medrano *et al.*, 2002; Flexas *et al.*, 2004, 2009; Cifre *et al.*, 2005; Ghaderi *et al.*, 2007; Chaves *et al.*, 2008; Flexas *et al.*, 2009; Chaves *et al.*, 2010). Si bien la limitación de la capacidad fotosintética, en muchas situaciones de estrés hídrico, es explicada perfectamente por una disminución en la  $g_s$ , lo cual se define en varias investigaciones como una limitación estomática, existen otras restricciones que también afectan esta actividad y que son reconocidas como limitaciones no estomáticas (Flexas *et al.*, 2002; Medrano *et al.*, 2002; Cifre *et*

*al.*, 2005; Wang *et al.*, 2012). Dentro de estas limitaciones no estomáticas están consideradas la resistencia de la conductancia del mesofilo, disminución de la eficiencia de carboxilación asociada a la inhibición de la actividad enzimática en el ciclo de Calvin y la inhibición de la actividad del *PSII* por algún tipo de fotodaño originado en este (Flexas *et al.*, 2002,2009, 2010; Maroco *et al.*, 2002; Medrano *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2003; Doring, 2003; Bota *et al.*, 2004; de Souza *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2009).

Medrano *et al.* (2002) utilizó la  $g_s$  para categorizar el nivel del estrés hídrico y su impacto en los distintos procesos fisiológicos, y enmarcar las limitaciones estomáticas y no estomáticas que puedan estar ocurriendo. Tres regiones fueron diferenciadas: i) en un descenso desde 0,40 a 0,15 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (correspondiente a un estrés hídrico leve), disminuye levemente la  $A_N$  y la concentración subestomática de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ), se incrementa la  $A_N/g_s$  y hay un aumento de la fotorespiración, todo aquello sugiere una dominante limitación estomática de la capacidad fotosintética; ii) entre 0,15 a 0,05 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (estrés hídrico moderado), la  $A_N$  decae y la  $A_N/g_s$  usualmente aumenta, pero disminuye en algunos casos,  $C_i$  disminuye, pero la tasa de transporte de electrones (*ETR*) y la eficiencia de carboxilación también lo hacen, y *NPQ* incrementa, por lo tanto las limitaciones estomáticas y no estomáticas son importantes; iii) una  $g_s < 0,05$  mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (estrés hídrico severo), conduce a un fuerte descenso de la  $A_N$ , de la  $A_N/g_s$ , de la *ETR*, de la eficiencia de carboxilación, de la fotorespiración y un descenso ocasional en *Fv/Fm*, un incremento marcado de *NPQ* y muy importante de  $C_i$ , indicando que las limitaciones no estomáticas de la fotosíntesis son dominantes (Flexas *et al.*, 2002; Cifre *et al.*, 2005).

Lo anteriormente señalado, también está determinado por la sensibilidad en la respuesta del cierre estomático frente a un evento de estrés hídrico en cada cultivar de la especie *Vitis vinifera* L., ósea ser cercanamente isohídrica (alta sensibilidad) o cercanamente anisohídrica (baja sensibilidad) (Chaves *et al.*, 2010; Tomas *et al.*, 2014). Se ha investigado ampliamente las distintas cepas, en diferentes condiciones de ensayo, y se sugiere que este comportamiento va a estar condicionado según el portainjerto que se utilice, las condiciones ambientales a la que esté expuesta la planta y a la intensidad y duración del estrés hídrico impuesto (Chaves *et al.*, 2010; Lovisolo *et al.*, 2010). Cultivares como Lambrusco, Soultanina, Tempranillo, Viognier, Falanghina y Granache son categorizados como cercanamente isohídrico (Medrano *et al.*, 2003; Shultz *et al.*, 2003; Paranychianakis *et al.*, 2004; Intrigliolo *et al.*, 2005; Antolín *et al.*, 2006; Giorio *et al.*, 2007; Shellie y Glenn, 2008; Poni *et al.*, 2009; Santesteban *et al.*, 2009). Por otro lado cepas como Chardonnay, Moltepulciano, Merlot y Syrah tienen un comportamiento cercanamente anisohídrico (Shultz, 2003; Silvestroni *et al.*, 2005; William y Baeza, 2007; Rogiers *et al.*, 2009; Santesteban *et al.*, 2009; Vandeleur *et al.*, 2009). Sin embargo hay otros cultivares que se han comportado tanto como iso y anisohídrico bajo distintas condiciones de ensayo, tales como Cabernet Sauvignon, Manto Negro, Sangiovese y Tempranillo (Antolín *et al.*, 2006; Medrano *et al.*, 2003; Chalmers, 2007; Poni *et al.*, 2007; William y Baeza, 2007; Santesteban *et al.*, 2009; Lovisolo *et al.*, 2010).

Un parámetro importante en la mayoría de los cultivos, y obviamente en la vitivinicultura, es la eficiencia del uso del agua (*EUA*) (Flexas *et al.*, 2010; Tomas *et al.*, 2012). La *EUA* puede ser definida como el balance entre la biomasa ganada (kg de biomasa producida o mol de CO<sub>2</sub> asimilados) y la pérdida de agua (m<sup>3</sup> de agua usada o mol de agua transpirada (Morison *et al.*, 2008)). Este término puede ser usado para diferentes niveles (cultivo, planta u hoja) y para

diferentes escalas (desde meses a minutos) (Hong-Xing *et al.*, 2007; Ali y Talukder, 2008; Flexas *et al.*, 2010; Medrano *et al.*, 2010).

La eficiencia del uso del agua a nivel de la hoja puede ser estimada por medio de una relación entre  $A_N/E$ , (*EUA* instantánea), o también por  $A_N/g_S$  (*EUA* intrínseca), y su diferencia radica en que la primera se ve fuertemente influenciada por el déficit de presión de vapor, mientras que la segunda permite una comparación de las propiedades fotosintéticas para una demanda evaporativa común (Flexas *et al.*, 2010; Tomas *et al.*, 2014; Medrano *et al.*, 2015). Además, por medio de esta última, se pueden realizar comparaciones genotípicas con otros cultivares (Chaves *et al.*, 2010; Tomas *et al.*, 2012; Tomas *et al.*, 2014). Bota *et al.* (2001) encontraron que, al comparar 20 cultivares mediterráneos, la  $A_N/g_S$  se movía en un rango entre 38 y 64 mmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O. Sin embargo se han descrito cultivares como Granache, Syrah o la especie *Vitis riparia* con valores mucho más altos, o incluso más bajos como Rosaki (Rodrigues *et al.*, 1993; Flexas *et al.*, 1999b; Shultz 2003).

Se ha visto, en muchos estudios en *Vitis vinifera* L., que, bajo condiciones de estrés hídrico, la *EUA* de la hoja incrementa por sobre una planta que tiene su demanda hídrica completamente suplida o incluso a medida que incrementa el déficit hídrico (Cifre *et al.*, 2005; de Souza *et al.*, 2005; Chaves *et al.*, 2007; De la Hera *et al.*, 2007; dos Santos *et al.*, 2007; Chaves *et al.*, 2010). Sin embargo esto último no siempre ocurre y se ha visto que un estrés hídrico severo puede disminuir la *EUA* de la hoja, ya que una limitación no estomática podría estar mermando fuertemente la relación  $A_N/g_S$  o  $A_N/E$  en la hoja (Medrano *et al.*, 2002; Pou *et al.*, 2008; Zsófi *et al.*, 2008; Guan y Gu, 2009; Martim *et al.*, 2009; Palliotti *et al.*, 2009; Lovisolo *et al.*, 2010; Schultz y Stoll, 2010; Hochberg *et al.*, 2012; Tomas *et al.*, 2014).

El uso del potencial hídrico de la hoja ha sido extensamente utilizado en muchos estudios para monitorear la condición hídrica de la planta, y además ha permitido generar umbrales para poder categorizar cada situación hídrica, específicamente para la vid vinifera, con un determinado nivel de estrés (Van Leeuwen *et al.*, 2009; Acevedo-Opazo *et al.*, 2010). Diferentes tipos de monitoreo en base a los potenciales hídricos se han utilizado en distintos ensayos, tales como el potencial hídrico de pre-alba, el potencial hídrico de la hoja y el potencial hídrico xilemático del mediodía ( $\Psi_X$ ) (Maroco *et al.*, 2002; Medrano *et al.*, 2002; Padgett-Johnson *et al.*, 2003; de Souza *et al.*, 2005a, 2005b; Smart *et al.*, 2006; Bertamini *et al.*, 2007; De la Hera *et al.*, 2007; Poni *et al.*, 2007; Zsófi *et al.*, 2008; Zulini *et al.*, 2008; Santesteban *et al.*, 2009, 2011; Bondana y Shutthanandan, 2012; Hochberg *et al.*, 2012; Islam y Berrios, 2012; Romero *et al.*, 2013). Este último permite, por medio de la cámara de presión del tipo Scholander y con una muestra de hoja recolectada al mediodía solar, determinar la condición hídrica completa de la planta, al igualar el potencial hídrico foliar con el potencial hídrico del xilema restringiendo la transpiración de la hoja (Van Leeuwen *et al.*, 2009). Por lo tanto lo que se conoce es el estado hídrico completo de la planta (Acevedo-Opazo *et al.*, 2010)

Se ha determinado que con un  $\Psi_X$  igual o menor a -0,9 MPa la vid estaría enfrentando un estrés hídrico (Van Leeuwen *et al.*, 2009). Incluso otros autores mencionan que esta especie al estar con el 100% de su demanda hídrica suplida su  $\Psi_X$  estaría entre el rango de los -0,4 y -0,8 MPa, por lo que valores inferiores a -0,8 Mpa, es decir más negativos, estarían representando una situación de

estrés hídrico en la planta (Ferreyra *et al.*, 2003). Van Leeuwen *et al.* (2009), clasifico distintos nivel del estrés hídrico según el potencial hídrico xilemático del mediodía: i) leve, entre -0,9 y -1,1 MPa; moderado, entre -1,1 y -1,3 MPa y severo, mayor a -1,4 MPa.

Contrario a esto, hay autores que mencionan que el monitoreo por medio del potencial hídrico de la hoja, no sería lo más correcto ya que, como se mencionó anteriormente, hay ciertos cultivares de vid que son muy sensibles al déficit hídrico y por lo tanto cierran rápidamente sus estomas para evitar la pérdida de agua (respuesta cercanamente isohídrica), y por lo tanto no estarían reflejando la real condición hídrica del suelo ni de la planta (Flexas *et al.*, 2002, 2009; Hochberg *et al.*, 2012).

La práctica de un déficit hídrico en la planta de vid con fines enológicos no siempre cumple los objetivos, ya que esta puede estar siendo mal monitoreada, y se pueden llegar a potenciales hídricos xilemáticos que merman la productividad del viñedo sin lograr mejoras en las características organolépticas de las bayas, incluso llegando a limitar la vida útil de las plantas al tener una mayor vulnerabilidad a enfermedades (Chaves *et al.*, 2010).

En la especie *Vitis vinifera* L. se ha estudiado vastamente, en muchos de sus cultivares, sobre el efecto del estrés hídrico sobre los distintos parámetros fisiológicos. Sin embargo en el cultivar Carménère, cepa emblemática de Chile, la información científica es prácticamente nula.

El cv. Carménère es originario de Medoc, Francia y se perdió su rastro después del ataque de filoxera que aconteció fuertemente en los viñedos de este país. Fue redescubierto en Chile y, actualmente, tiene una importante participación en la producción de vinos en nuestro país. (Pszczółkowski, 2004). Sus principales características morfológicas son ser una variedad vigorosa, de escasa fertilidad de yemas basales, sensible a las correduras, de brotación tardía y su periodo de maduración puede extenderse en el tiempo. Si su madurez es precoz, aromáticamente se incrementan las notas herbáceas debido a la mayor cantidad de piracinas (Pszczółkowski, 1997). Es sensible a plagas como margarodes (*Margarodes vitis*) o nemátodos (*Meloidogyne sp.*) (Pszczółkowski, 2004).



**LITERATURA CITADA**

Acevedo-Opazo, C.; S. Ortega-Farias and S. Fuentes. 2010. Effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: An irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 97(7): 956-964.

Adams, D. O. 2006. Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 249-256.

Ali, M.H. and M.S.U. Talukder. 2008. Increasing water productivity in crop production—a synthesis. *Agricultural water management*, 95(11): 1201-1213.

Andersson, B. and E-M. Aro. 2001. Photodamage and D1 protein turnover in Photosystem II. (cap 8, pp.107-123). In: Demmig-Adams, B. W.W. Adams and A. K. Mattoo (eds.). Photoprotection, photoinhibition, gene regulation, and environment. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 380p. (Advances in Photosynthesis and Respiration, Vol. 11).

Anderson, J.M. and W.S. Chow. 2002. Structural and functional dynamics of plant photosystem II. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 357(1426): 1421-1430.

Antolín M.C, M. Ayari and M. Sánchez-Díaz. 2006. Effects of partial rootzone drying on yield, ripening and berry ABA in potted Tempranillo grapevines with split roots. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12: 13–20.

Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 89-113.

Basile, B.; J. Marsal; M. Mata; X. Vallverdú; J. Bellvert and J. Girona. 2011. Phenological sensitivity of Cabernet Sauvignon to water stress: Vine physiology and berry composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62: 452-461

Bertamini, M.; K. Muthuchelian; M. Rubinigg; R. Zorer and N. Nedunchezian. 2005. Photoinhibition of photosynthesis in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling). Effect of chilling nights. *Photosynthetica*, 43(4): 551-557.

Bertamini, M.; L. Zulini; K. Muthuchelian and N. Nedunchezian. 2006. Effect of water deficit on photosynthetic and other physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) plants. *Photosynthetica*, 44(1): 151-154.

- Bertamini, M.; K. Muthuchelian and N. Nedunchezian. 2004. Photoinhibition of photosynthesis in sun and shade grown leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Photosynthetica*, 42(1): 7-14.
- Bertamini, M. and N. Nedunchezian. 2002. Photoinhibition of photosynthesis in *Vitis berlandieri* and *Vitis rupestris* leaves under field conditions. *Photosynthetica*, 40(4): 597-603.
- Bertamini, M. and N. Nedunchezian. 2003. Photoinhibition and recovery of photosystem 2 in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves grown under field conditions. *Photosynthetica*, 41(4): 611-617.
- Bertamini, M.; L. Zulini; R. Zorer; K. Muthuchelian, and N. Nedunchezian. 2007. Photoinhibition of photosynthesis in water deficit leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants. *Photosynthetica*, 45(3): 426-432.
- Bondada, B. and J. Shutthanandan. 2012. Understanding differential responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf and fruit to water stress and recovery following re-watering. *American Journal of Plant Sciences*, 3(9): 1232-1240
- Bota, B.J.; J. Flexas and H. Medrano. 2001. Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Annals of Applied Biology*, 138(3): 353-361.
- Bota, J.; O. Stasyk; J. Flexas and H. Medrano. 2004. Effect of water stress on partitioning of <sup>14</sup>C-labelled photosynthates in *Vitis vinifera*. *Functional plant biology*, 31(7): 697-708.
- Butler, W.L. 1978. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 29: 345-78
- Chalmers, Y.M. 2007. Influence of sustained deficit irrigation on physiology and phenolic compounds in winegrapes and wine. PhD thesis. Adelaide, Australia: The University Adelaide. Recuperado en: <http://digital.library.adelaide.edu.au/dspace/bitstream/2440/50101/1/02whole.pdf> Consultado el: 12 de Abril del 2015.
- Chaves, M.M.; J.P. Maroco and J.S. Pereira. 2003. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. *Functional plant biology*, 30(3): 239-264.
- Chaves, M.M.; J.S. Pereira; J. Maroco; M.L. Rodrigues; C.P.P. Ricardo; M.L. Osorio *et al.* 2002. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89(7): 907-916.
- Chaves, M.M.; O. Zarrouk; R. Francisco; J.M. Costa; T. Santos; A.P. Regalado *et al.* 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*, 105(5): 661-676.

- Chaves, M.M.; T.P. Santos; C.R.D. Souza; M.F. Ortuño; M.L. Rodrigues; M.C. Lopes *et al.* 2007. Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology*, 150(2): 237-252.
- Cifre, J.; J. Bota; J.M. Escalona; H. Medrano and J. Flexas. 2005. Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.): an open gate to improve water-use efficiency? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 106(2): 159-170.
- Conde, C.; P. Silva; N. Fontes; A.C.P. Dias; R.M. Tavares; M.J. Sousa *et al.* 2007. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food*, 1: 1-22.
- Coombe, B.G. 1992 Research on development and ripening of the grape berry. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43: 101-110.
- Coombe, B.G. 2001. Ripening berries - a critical issue. *Australian Viticulture*, 5: 28-34.
- De la Hera, M.L.; P. Romero; E. Gomez-Plaza and A. Martinez. 2007. Is partial root-zone drying an effective irrigation technique to improve water use efficiency and fruit quality in field-grown wine grapes under semiarid conditions? *Agricultural Water Management*, 87(3): 261-274.
- de Souza, C.R.; J.P. Maroco; T.P. dos Santos; M. Rodrigues; C. Lopes; J.S. Pereira *et al.* 2005b. Control of stomatal aperture and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars. *Agriculture, ecosystems & environment*, 106(2): 261-274.
- de Souza, C.R.; J.P. Maroco; T.P. dos Santos; M.L. Rodrigues; C.M. Lopes; J.S. Pereira; *et al.* 2005a. Impact of deficit irrigation on water use efficiency and carbon isotope composition ( $\delta^{13}C$ ) of field-grown grapevines under Mediterranean climate. *Journal of Experimental Botany*, 56(418): 2163-2172.
- dos Santos, T.P.; C.M. Lopes; M.L. Rodrigues; C.R. de Souza; J.M. Ricardo-da-Silva; J.P. Maroco; *et al.* 2007. Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines. *Scientia Horticulturae*, 112(3): 321-330.
- Du, T.; S. Kang; J. Zhang; F. Li and B. Yan. 2008. Water use efficiency and fruit quality of table grape under alternate partial root-zone drip irrigation. *Agricultural water management*, 95(6), 659-668.
- Düring, H. 2003. Stomatal and mesophyll conductances control CO<sub>2</sub> transfer to chloroplasts in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis-Journal of Grapevine Research*, 42(2): 65-68.
- Farrant, J.M. 2000. A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. *Plant Ecology*, 151(1): 29-39.

Ferreira, R.; G. Sellés; R. Ruiz y I. Sellés. 2003. Efecto del estrés hídrico aplicado en distintos periodos de desarrollo de la vid cv. Chardonnay en la producción y calidad del vino. *Agricultura Técnica*, 63(3): 277-286.

Flexas, J. and H. Medrano. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*, 89(2): 183-189.

Flexas, J.; J. Bota; F. Loreto; G. Cornic and T. D. Sharkey. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6(3): 269-279.

Flexas, J.; M. Badger; W.S. Chow; H. Medrano and C.B. Osmond. 1999b. Analysis of the relative increase in photosynthetic O<sub>2</sub> uptake when photosynthesis in grapevine leaves is inhibited following low night temperatures and/or water stress. *Plant Physiology*, 121(2): 675-684.

Flexas, J.; J.M. Escalona and H. Medrano. 1999a Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevines. *Plant, Cell & Environment*, 22(1): 39-48.

Flexas, J.; J. Galmés; A. Gallé; J. Gulias; A. Pou; M. Ribas-Carbo *et al.* 2010. Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1): 106-121.

Flexas, J.; M. Barón; J. Bota; J. M. Ducruet; A. Gallé; J. Galmés *et al.* 2009. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). *Journal of Experimental Botany*, 60(8): 2361-2377.

Ghaderi, N.; A. Siosemardeh and S. Shahoei. 2007. The effect of water stress on some physiological characteristics in “Rashe” and “Khoshnave” grape cultivars. In International Workshop on Advances in Grapevine and Wine Research. *Acta Horticulturae*, 754: 317-322.

Giorio P.; A. Basile; G. Sorrentino and R. Albrizio. 2007. Physiological responses of Falanghina grapevines in soils with different water availability in Southern Italy. *Acta Horticulturae* 754: 235-240.

Girona, J.; J. Marsal; M. Mata; J. del Campo and B. Basile. (2009). Phenological sensitivity of berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15(3): 268-277.

Goh, C.H.; S.M. Ko; S. Koh; Y.J. Kim and H.J. Bae. 2012. Photosynthesis and environments: photoinhibition and repair mechanisms in plants. *Journal of Plant Biology*, 55(2): 93-101.

Gonzales, S.; H. Perales y M.O. Salcedo. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(4): 119-129.

Guan, X.Q.; S.J. Zhao; D.Q. Li and H.R. Shu. 2004. Photoprotective function of photorespiration in several grapevine cultivars under drought stress. *Photosynthetica*, 42(1): 31-36.

Guan, X.; and S. Gu. 2009. Photorespiration and photoprotection of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) under water stress. *Photosynthetica*, 47(3): 437-444.

Hakala, M.; S. Rantamäki.; E.M. Puputti; T. Tyystjärvi and E. Tyystjärvi. 2006. Photoinhibition of manganese enzymes: insights into the mechanism of photosystem II photoinhibition. *Journal of experimental botany*, 57(8): 1809-1816.

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

Cao, H.X.; Z.B. Zhang; P. Xu; L.Y. Chu; H.B. Shao; Z.H. Lu; *et al.* 2007. Mutual physiological genetic mechanism of plant high water use efficiency and nutrition use efficiency. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57(1): 1-7.

Horton, P. and A. Ruban. 2005. Molecular design of the photosystem II light-harvesting antenna: photosynthesis and photoprotection. *Journal of Experimental Botany*, 56(411): 365-373.

Islam, M.T. and J.G. Berrios. 2012. Physiological behaviors and recovery responses of four galician grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars under water stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8(4): 302-321.

Intrigliolo D.S; D. Perez and J.R. Castel. 2005. Water relations of field grown drip irrigated 'Tempranillo' grapevine. *Acta Horticulturae*, 689: 317-323.

Intrigliolo, D.S. and J.R. Castel. 2010. Response of grapevine cv. "Tempranillo" to timing and amount of irrigation: water relations, vine growth, yield and berry and wine composition. *Irrigation Science*, 28(2): 113-125.

Jiang, C.D.; H.Y. Gao; Q. Zou; G.M. Jiang and L.H. Li. 2006 Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1): 87-96.

Kennedy J.A; Y. Hayasaka; S. Vidal; E.J. Waters and G.P. Jones. 2001. Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5348-5355.

Krause, G.H. and P. Jahns. 2004. Non-photochemical energy dissipation determined by chlorophyll fluorescence quenching: characterization and function. (cap. 18, pp. 463-495). In: Papageorgiou, G. C. and Govindjee (eds.). Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Netherlands: Springer.820p. (Advances in Photosynthesis and Respiration, Vol. 19).

- Kramer D.M. and J.R. Evans. 2011. The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity. *Plant Physiology*, 155: 70-78
- Krieger-Liszkay, A.; C. Fufezan and A. Trebst. 2008. Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. *Photosynthesis Research*, 98(3): 551-564.
- Li, X. P.; O. Björkman; C. Shih; A. R. Grossman; M. Rosenquist; S. Jansson *et al.* 2000. A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. *Nature*, 403(6768): 391-395.
- Li, X. P.; A. M. Gilmore; S. Caffarri; R. Bassi; T. Golan; D. Kramer *et al.* 2004. Regulation of photosynthetic light harvesting involves intrathylakoid lumen pH sensing by the PsbS protein. *Journal of Biological Chemistry*, 279(22): 22866-22874.
- Lovisolò, C.; I. Perrone; A. Carra; A. Ferrandino; J. Flexas; H. Medrano; *et al.* 2010. Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update. *Functional plant biology*, 37(2): 98-116.
- Maroco, J.P.; M.L. Rodrigues; C. Lopes and M.M. Chaves. 2002. Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought-metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Biology*, 29: 451-459.
- Martim, S.A.; M.P. Santos; A.L. Peçanha; C. Pommer; E. Campostrini; A.P. Viana, *et al.* 2009. Photosynthesis and cell respiration modulated by water deficit in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 21(2): 95-102.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345): 659-668.
- McCarthy, M.G.; B.R. Loveys; P.R. Dry and M. Stoll. 2002. Regulated deficit irrigation and partial root zone drying as irrigation management techniques for grapevines. *Deficit irrigation practices*, FAO Water Reports No. 22. Rome, Italy.
- 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(7): 895-905.
- Medrano, H.; J.M. Escalona; J. Cifre; J. Bota and J. Flexas. 2003. A ten-year study on the physiology of two Spanish grapevine cultivars under field conditions: effects of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. *Functional Plant Biology*, 30: 607-619.
- Medrano, H.; J. Flexas; M. Ribas-Carbó and J. Gulías. 2010. Measuring water use efficiency in grapevines. In: Delrot, S.; H. Medrano; E. Or; L. Bavaresco and S. Grando (Eds.), *Methodologies and Results in Grapevine Research*. Springer, Berlin, pp.57-70.

Medrano, H.; M. Tomás; S. Martorell; J. Flexas; E. Hernández; J. Rosselló *et al.* 2015. From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *The Crop Journal*, 3: 220-228

Morison, J.I.L.; N.R. Baker; P.M. Mullineaux and W.J. Davies. 2008. Improving water use in crop production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1491): 639-658.

Müller P.; X.P. Li and K.K. Niyogi. 2001. Non-photochemical quenching: a response to excess light energy. *Plant Physiology*, 125: 1558-1566

Murata, N.; S. Takahashi; Y. Nishiyama and S.I. Allakhverdiev. 2007. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(6): 414-421.

Murchie, E.H.; and T. Lawson. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of experimental botany*, 64: 3983-3998

Nilkens M.; E. Kress; P. Lambrev; Y. Miloslavina; M. Müller; A.R. Holzwarth and P. Jahns. 2010. Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*. *Biochim Biophys Acta*, 1797: 466-475

Nishiyama, Y.; S.I. Allakhverdiev; H. Yamamoto; H. Hayashi and N. Murata. 2004. Singlet oxygen inhibits the repair of photosystem II by suppressing the translation elongation of the D1 protein in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry*, 43(35): 11321-11330.

Nishiyama, Y.; S.I. Allakhverdiev and N. Murata. 2005. Inhibition of the repair of photosystem II by oxidative stress in cyanobacteria. *Photosynthesis Research*, 84(3): 1-7.

Nishiyama, Y.; S.I. Allakhverdiev and N. Murata. 2006. A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1757(7): 742-749.

Nishiyama, Y.; S.I. Allakhverdiev and N. Murata. 2011. Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiologia plantarum*, 142(1): 35-46.

Ohnishi, N.; S.I. Allakhverdiev; S. Takahashi; S. Higashi; M. Watanabe; Y. Nishiyama *et al.* 2005. Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry*, 44(23): 8494-8499.

Ojeda, H.; A. Deloire and A. Carbonneau. 2001. Influence of water deficits on grape berry growth. *Vitis-Geilweilerhof*, 40(3): 141-146.

- Palliotti, A.; O Silvestroni and D. Petoumenou. 2009. Photosynthetic and photoinhibition behavior of two field-grown grapevine cultivars under multiple summer stresses. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(2):189-198.
- Paranychianakis, N.V.; K.S. Chartzoulakis and A.N. Angelakis. 2004. Influence of rootstock, irrigation level and recycled water on water relations and leaf gas exchange of Soultanina grapevines. *Environmental and experimental botany*, 52(2): 185-198.
- Pascal, A.A.; Z. Liu; K. Broess; B. van Oort; H. van Amerongen; C. Wang *et al.* 2005. Molecular basis of photoprotection and control of photosynthetic light-harvesting. *Nature*, 436(7047): 134-137.
- Pastenes, C.; P. Pimentel and J. Lillo. 2005. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. *Journal of Experimental Botany*, 56(411): 425-433.
- Padgett-Johnson, M.; L.E. Williams and M.A. Walker. 2003. Vine water relations, gas exchange, and vegetative growth of seventeen *Vitis* species grown under irrigated and nonirrigated conditions in California. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(2): 269-276.
- Poni, S.; F. Bernizzoni and S. Civardi. 2007. Response of “Sangiovese” grapevines to partial root-zone drying: gas-exchange, growth and grape composition. *Scientia Horticulturae*, 114(2): 96-103.
- Poni S.; F. Bernizzonia; S. Civardia; M. Gattia; D. Porro and F. Caminc. 2009. Performance and water-use efficiency (single-leaf vs. whole-canopy) of well-watered and half-stressed split-root Lambrusco grapevines grown in Po Valley (Italy). *Agriculture, Ecosystems & Environment* 129: 97-106.
- 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.
- Pszczółkowski, P. 1997. El cv Carménère (*Vitis vinifera* L.), variedad peculiar del viñedo chileno. *Revista Frutícola*, 18(1): 27-30.
- Pszczółkowski, T.P. 2004. La invención del cv. Carménère (*Vitis vinifera* L.) en Chile, desde la mirada de uno de sus actores. *Universum*, 19(2): 150-165.
- Raven, J.A. 2011. The cost of photoinhibition. *Physiologia Plantarum*, 142(1): 87-104.
- Roach, T.; and A.K. Krieger-Liszkay. 2014. Regulation of photosynthetic electron transport and photoinhibition. *Current protein & peptide science*, 15(4): 351-362



- Rodrigues, M.L.; M.M. Chaves; R. Wendler; M.M. David; W.P. Quick; R.C. Leegood *et al.* 1993. Osmotic adjustment in water stressed grapevine leaves in relation to carbon assimilation. *Functional Plant Biology*, 20(3): 309-321.
- Rogiers, S.Y.; D.H. Greer; R.J. Hutton and J.J. Landsberg. 2009. Does night-time transpiration contribute to anisohydric behaviour in a *Vitis vinifera* cultivar? *Journal Experimental Botany*, 60: 3751-3763.
- Romero, P.; J.I. Fernández-Fernández and A. Martínez-Cutillas. 2010. Physiological thresholds for efficient regulated deficit-irrigation management in winegrapes grown under semiarid conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(3): 300-312.
- Romero, P.; R. Gil-Muñoz; F.M. del Amor; E. Valdés; J.I. Fernández and A. Martínez-Cutillas. 2013. Regulated deficit irrigation based upon optimum water status improves phenolic composition in Monastrell grapes and wines. *Agricultural water management*, 121: 85-101.
- Santesteban, L.G.; C. Miranda and J.B. Royo. 2009. Effect of water deficit and rewatering on leaf gas exchange and transpiration decline of excised leaves of four grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 121(4): 434-439.
- Santesteban, L.G.; C. Miranda and J.B. Royo. 2011. Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo'. *Agricultural Water Management*, 98(7): 1171-1179.
- Shellie, K.C. 2006. Vine and berry response of Merlot (*Vitis vinifera* L.) to differential water stress. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(4): 514-518.
- Shellie K and D.M. Glenn. 2008. Wine grape response to kaolin particle film under deficit and well-watered conditions. *Acta Horticulturae*, 792: 587-591.
- Shikanai T (2007) Cyclic electron transport around photosystem I: genetic approaches. *Annual Review of Plant Physiology*, 58: 199-217
- Schultz, H.R. 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell and Environment*, 26(8): 1393-1405.
- Schultz, H.R. and M. Stoll. 2010. Some critical issues in environmental physiology of grapevines: future challenges and current limitations. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1): 4-24.
- Silvestroni O.; S. Mattioli; D. Neri; A. Palliotti and A. Cartechini. 2005. Down-regulation of photosynthetic activity for field-grown grapevines. *Acta Horticulturae*, 689: 285-291.

Smart, D.R.; A. Breazeale and V. Zufferey. 2006. Physiological changes in plant hydraulics induced by partial root removal of irrigated grapevine (*Vitis vinifera* cv. Syrah). *American journal of enology and viticulture*, 57(2): 201-209.

Takahashi, S. and M.R. Badger. 2011. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in plant science*, 16(1), 53-60.

Takahashi, S. and N. Murata. 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition?. *Trends in Plant Science*, 13(4): 178-182.

Tambussi, E.A.; C.G. Bartoli; J. Beltrano; J.J. Guiamet and J.L. Araus. 2000. Oxidative damage to thylakoid proteins in water-stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum*). *Physiologia Plantarum*, 108(4): 398-404.

Tomas, M.; H. Medrano; A. Pou; J.M. Escalona; S. Martorell; M. Ribas-Carbó and J. Flexas. 2012. Water-use efficiency in grapevine cultivar grown under controlled condition: effects of water stress at the leaf and whole-plant level. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18: 1664-172.

Tomás, M.; H. Medrano; J.M. Escalona; S. Martorell; A. Pou; M. Ribas-Carbó and J. Flexas. 2014. Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental and Experimental Botany*, 103: 148-157.

Turan, S. 2012. Light Acclimation in Plants: Photoinhibition and Photoprotection. *Advances in Bioresearch*, 3(1): 90-94.

Vandeleur, R.K.; G. Mayo; M.C. Sheldon; M. Gilliam; 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 isohydric and anisohydric cultivars of grapevine. *Plant Physiology*, 149(1): 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 grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 43(3): 121-134.

Vass, I. and K. Cser. 2009. Janus-faced charge recombinations in photosystem II photoinhibition. *Trends in Plant Science*, 14(4): 200-205.

Vass, I.; K. Cser and O. Cheregi. 2007. Molecular mechanisms of light stress of photosynthesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1113(1): 114-122.

Wada, H.; M.A. Matthews and K.A. Shackel. 2009. Seasonal pattern of apoplastic solute accumulation and loss of cell turgor during ripening of *Vitis vinifera* fruit under field conditions. *Journal of experimental botany*, 60(6): 1773-1781.

- Wang, Z.X.; L. Chen; J. Ai; H.Y. Qin; Y.X. Liu; P.L. Xu; *et al.* 2012. Photosynthesis and activity of photosystem II in response to drought stress in Amur Grape (*Vitis amurensis* Rupr.). *Photosynthetica*, 50(2): 189-196.
- Williams, L.E. and P. Baeza. 2007. Relationships among ambient temperature and vapor pressure deficit and leaf and stem water potentials of fully irrigated, field-grown grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(2): 173-181.
- Yu, D.J.; S.J. Kim and H.J. Lee. 2009. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in field-grown grapevine cultivars. *Biologia Plantarum*, 53(1): 133-137.
- Zsófi, Z; E. Tóth; G. Váradi; D. Rusjan and B. Bálo. 2008. The effect of progressive drought on water relations and photosynthetic performance of two grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Acta Biologica Szegediensis*, 52(2): 321-322.
- Zulini, L.; M. Rubinigg; R. Zorer and M. Bertamini. 2005. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv.'White Riesling'). In International Workshop on Advances in Grapevine and Wine Research. *Acta Horticulturae*, 754: 289-294.

## CAPÍTULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO

### EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA FOTONHIBICIÓN Y FOTOSÍNTESIS EN *Vitis vinifera* L. CV. CARMÉNÈRE.

#### RESUMEN

La investigación realizada en este trabajo, del efecto de los distintos niveles de déficit hídrico en condiciones de campo sobre la fotoinhibición y fotosíntesis neta en *Vitis vinifera* L. cv Carménère, amplía la información para entender las bases de la resistencia de esta especie al estrés hídrico. Los déficits hídricos impuestos fueron: (T1) 1 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; (T2) 2 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; (T3) 4 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; (T4) 6 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, monitoreados por los potenciales hídricos xilemáticos ( $\Psi_X$ ). Estos en promedio a lo largo de la temporada fueron -1,1MPa (T1), -1,0 MPa (T2), -0,9MPa (T3) y -0,83MPa (T4), desde envero a cosecha. A lo largo del día, la conductancia estomática ( $g_s$ ), la asimilación neta de CO<sub>2</sub> ( $A_N$ ), la transpiración de la hoja ( $E$ ), el rendimiento operacional del fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ ), el apagamiento fotoquímico ( $qP$ ), así como a lo largo de la temporada, la asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> ( $A_{Nd}$ ) y la transpiración diaria de la hoja ( $E_d$ ), y el contenido total de clorofilas, fueron alteradas negativamente con un mayor déficit hídrico. El apagamiento no fotoquímico ( $NPQ$ ) fue más alto al intensificar el déficit hídrico. El contenido interno de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ), la eficiencia del uso del agua en la hoja ( $EUA$ ) y el rendimiento cuántico máximo del fotosistema II ( $F_v/F_m$ ), no fueron alterados significativamente. El déficit hídrico afectó negativamente la asimilación neta de CO<sub>2</sub> pero no inducido por una fotoinhibición del fotosistema II ( $PSII$ ).

Palabras claves: conductancia estomática, rendimiento cuántico máximo del PSII, apagamiento no fotoquímico.

**ABSTRACT**

Research in this work, the effect of different levels of water deficit under field conditions on photoinhibition and net photosynthesis in *Vitis vinifera* L. cv Carménère, expands the information to understand the basis of the resistance of this species to water stress. Water deficits are applied: (T1) 1 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; (T2) 2 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; (T3) 4 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; (T4) 6 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, monitored by leaf water potential midday ( $\Psi_X$ ). These average throughout the season were -1,1MPa (T1), -1,0 MPa (T2), -0,9MPa (T3) y -0,83MPa (T4), between veraison and harvest. Throughout the day, stomatal conductance ( $g_s$ ), net CO<sub>2</sub> assimilation ( $A_N$ ), leaf transpiration ( $E_H$ ), operational efficiency of photosystem II ( $\Phi_{PSII}$ ), quenching photochemical ( $qP$ ), and throughout the season, both daily net CO<sub>2</sub> assimilation ( $A_{Nd}$ ) and daily leaf transpiration ( $E_d$ ) and total chlorophyll content, they were adversely affected by increased water deficit, The quenching non-photochemical ( $NPQ$ ) was higher by intensifying drought stress. The internal content of CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ), leaf water use efficiency (EUA) and maximum quantum yield of photosystem II ( $F_v/F_m$ ) these were not altered. The water deficit negatively affect the net assimilation CO<sub>2</sub>, but not induced by a photoinhibition of photosystem II ( $PSII$ ).

Keyword: leaf water potential midday, stomatal conductance, maximum quantum yield of  $PSII$ , quenching non-photochemical.

## INTRODUCCIÓN

El déficit hídrico, el cual puede generar un estrés hídrico en la planta, es masivamente utilizado en la vitivinicultura mundial por el aumento en la calidad de las bayas de *Vitis vinifera* L (de Souza *et al.*, 2005b; Shellie y Glenn, 2008; Chaves *et al.*, 2010). Esto asociado a la promoción de la síntesis de los diferentes metabolitos secundarios en el desarrollo y maduración de la baya y que definen, de cierta forma, una determinada calidad de vino (Medrano *et al.*, 2002; dos Santos *et al.*, 2007; Girona *et al.*, 2009). Ahora, si bien el fin de esta técnica tiene un fin positivo, a su vez existen respuestas negativas en la planta misma. Los que se pueden apreciar visualmente son la reducción del crecimiento total de la planta, dado por una menor área foliar, y la disminución del rendimiento, que puede ser visto por la biomasa total de la planta producida en una temporada dada, o bien, desde un punto de vista industrial la cantidad de kilogramos de racimos por planta que fueron cosechados (Maroco *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2003; 2007; Costa *et al.*, 2007; dos Santos *et al.*, 2007; Flexas *et al.*, 2009). Otro efecto importante, es la reducción de la capacidad fotosintética neta que se genera principalmente en las hojas de la vid, debido a una menor cantidad de receptores foliares (Maroco *et al.*, 2002), lo cual a su vez, tiene aristas positivas al regular el microclima de la zona frutal, y así obtener mejores beneficios en la baya (dos Santos *et al.*, 2007; Palliotti *et al.*, 2009).

Se ha descrito ampliamente que uno de los primeros procesos que es afectado por el déficit hídrico en la planta es el cierre estomático, disminuyendo de esta forma la conductancia estomática ( $g_s$ ) primeramente, lo cual restringe el agua transpirada a través de estos conductos ( $E$ ), y además genera una reducción en la asimilación neta de  $CO_2$  ( $A_N$ ), debido a una menor disponibilidad de carbono interno en las cavidades subestomáticas ( $C_i$ ) (Ghaderi *et al.*, 2007; Flexas *et al.*, 2009; Chaves *et al.*, 2010). Por otro lado, la eficiencia del uso del agua en las hojas ( $EUA$ ), tiende a ser más alto a medida que se intensifica el déficit hídrico (Cifre *et al.*, 2005; de Souza *et al.*, 2005a; Chaves *et al.*, 2007; De la Hera *et al.*, 2007; dos Santos *et al.*, 2007; Chaves *et al.*, 2010). Todo lo anterior está vinculado con una limitación del tipo estomática (Medrano *et al.*, 2002; de Souza *et al.*, 2005b; Cifre *et al.*, 2005). Sin embargo hay limitaciones del tipo no estomáticas que están muy relacionadas con el aumento gradual del estrés hídrico, y que incluso pueden inducir un aumento del  $C_i$  y la disminución de la  $EUA$  en la hoja (Medrano *et al.*, 2002; Düring, 2003; Cifre *et al.*, 2005).

A pesar de que la energía lumínica es esencial para todos los procesos fotoquímicos, altas intensidades de esta energía o exposiciones por tiempos prolongados, pueden potenciar un fotodaño de los fotosistemas y generar incluso una fotoinhibición de aquellos (Bertamini *et al.*, 2004; Goh *et al.*, 2012; Murata *et al.*, 2007). Esto puede conllevar a la generación de especies reactivas de oxígeno ( $ROS$ ) y desencadenar un daño fotooxidativo en el aparato fotosintético (Takahashi y Murata, 2008). La combinación de factores, como una alta intensidad lumínica y un estrés hídrico, se ha visto que correlaciona fuertemente con la disminución de la asimilación neta de  $CO_2$  y el aumento de la fotoinhibición (Medrano *et al.*, 2003; Palliotti *et al.*, 2009). Esta discapacidad en la eficiencia fotoquímica a nivel del fotosistema II ( $PSII$ ) es considerada una limitante no estomática (Medrano *et al.*, 2002). Aunque esto se ha visto en muchas otras especies,

*Vitis vinifera* L., está reconocida por tener una alta resistencia a la fotoinhibición, en distintos grados para cada cultivar, debido a la capacidad de recuperabilidad del rendimiento cuanto máximo del *PSII* (Hochberg *et al.*, 2012; Palliotti *et al.*, 2009; Islam y Bering, 2012; Wang *et al.*, 2012).

El estudio de la eficiencia fotoquímica a nivel del *PSII*, se realiza por medio de la energía de la fluorescencia de la clorofila (Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008). La energía lumínica que es absorbida por parte de los pigmentos fotosintéticos, puede ser canalizada en tres diferentes rutas: i) ser utilizada para los procesos fotoquímicos; ii) ser disipada en energía térmica o calórica; iii) ser re-emitada como energía fluorescente. Así por medio de la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y no-fotoquímica del *PSII* (Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008; Murchie y Lawson, 2013).

Dentro de los parámetros utilizados para este estudio se encuentran el rendimiento cuántico operacional del *PSII* ( $\Phi_{PSII}$ ), el cual mide la eficiencia fotoquímica del *PSII* o la proporción de la energía que es absorbida y que es utilizada para procesos fotoquímicos; el “quenching” o apagamiento fotoquímico ( $qP$ ), el cual indica la proporción de los centros de reacción del *PSII* que se encuentran oxidados u abiertos; el rendimiento cuántico máximo del *PSII* ( $F_v/F_m$ ), el cual indica la recuperabilidad del *PSII* a transferir energía lumínica después de oxidar completamente los *PSII* y someterlos a una alta intensidad lumínica (Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008; Murchie y Lawson, 2013). Este último permite además determinar si las plantas son fotoinhibidas, o no, luego de ser sometidas a algún evento estresante y obtener un índice de  $F_v/F_m$  menor que 0,83 (Baker, 2008). Por lo tanto, los cambios en la fluorescencia, pueden ser una herramienta útil para cuantificar la respuesta al estrés (Baker, 2008). Por último, otro parámetro derivado de este estudio es el apagamiento no fotoquímico  $NPQ$ , principalmente asociado a la liberación del exceso de energía absorbida por medio de la energía calórica (Baker, 2008; Wang *et al.*, 2009; Murchie y Lawson, 2013).

El déficit hídrico está inserto cada vez más en la vitivinicultura chilena, y se han estudiado en diversos cultivares de *Vitis vinifera* L., los efectos que tiene este sobre distintos parámetros fisiológicos pero no en el cultivar Carménère, cepa de importancia productiva en Chile.

Por lo tanto es muy importante, considerando todo lo anterior, conocer la respuesta que tiene *Vitis vinifera* L., cv Carménère frente a distintos niveles de estrés hídricos.

## **HIPÓTESIS**

A partir de los antecedentes anteriormente expuestos se ha planteado la siguiente hipótesis de trabajo:

El déficit hídrico en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère reduce la asimilación neta de CO<sub>2</sub> e induce fotoinhibición, de manera proporcional al nivel del estrés.

## **OBJETIVO**

Determinar el efecto del déficit hídrico sobre la fotosíntesis neta y la fotoinhibición.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio de estudio

El presente estudio se realizó durante la temporada de crecimiento 2011-2012 en la Viña Haras de Pirque, Fundo La Rochuela, ubicado en el Camino San Vicente- Sector Macul, en la Comuna de Pirque, Provincia Cordillera, Región Metropolitana; Chile ( $33^{\circ} 42'$  latitud sur y  $70^{\circ} 36'$  longitud oeste, altitud 671 (msnm). Este sector se encuentra bajo la denominación de origen del Valle del Maipo.

Los análisis del material vegetal fueron realizados en el Laboratorio de Fisiología del Estrés en Plantas ubicado en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

### Material biológico

Se utilizaron plantas de vid (*Vitis vinifera* L cv. Carménère) de trece años de edad, sobre pie franco, conducidas en espaldera simple y brotes en guyot doble, con orientación norte/sur, en un marco de plantación de 2 m entre hilera y 1 m sobre hilera, con un rendimiento promedio de 8 ton  $ha^{-1}$ , destinadas a la producción de vinos de alta gama. Estas plantas se encontraban en un suelo de origen coluvial de clase textural franco arcillosa. El sistema de riego fue tecnificado mediante por goteo independiente al resto del campo.

### Tratamientos y Diseño experimental

El experimento constó de 4 tratamientos, que correspondieron a distintos niveles de restricción hídrica que se lograron por medio de goteros de distinto gasto y/o combinación de estos: (T1) 1  $mm\ ha^{-1}\ h^{-1}$ ; (T2) 2  $mm\ ha^{-1}\ h^{-1}$ ; (T3) 4  $mm\ ha^{-1}\ h^{-1}$ ; (T4) 6  $mm\ ha^{-1}\ h^{-1}$ . Cada uno de estos tratamientos fue implementado en cinco plantas consecutivas de similar vigor y tamaño previamente seleccionadas, donde las 3 plantas de al medio constituyeron la unidad experimental y donde cada tratamiento fue separado por al menos 4 plantas sobre una misma hilera. Cada hilera fue designada como un bloque (cinco en total) conteniendo una repetición de cada tratamiento. Por lo tanto se constituyeron 5 repeticiones por cada tratamiento. El diseño experimental fue un diseño en bloque completamente aleatorizado.

Antes de comenzar a aplicar los tratamientos, se suprimió el riego de las plantas hasta alcanzar un potencial hídrico xilemático similar en cada una de estas (-1,2 MPa) para que se encontraran en la misma condición hídrica. Además se hicieron calicatas entre hilera comprobando que no existieran traslapes de raíces entre los tratamientos.

Los tratamientos se llevaron a cabo desde dos semanas antes de envero hasta la vendimia en un total de 100 plantas, aplicándose de acuerdo al potencial hídrico xilemático de mediodía con el

fin de lograr que el tratamiento de mayor aporte hídrico (T4) tuviera un valor cercano a  $-0,9\text{MPa}$  a lo largo de la temporada, considerado como un déficit hídrico leve (Van Leeuwen *et al.* 2009), y obtener diferentes estados hídricos en cada uno de los tratamientos. Los aportes hídricos fueron realizados una o dos veces por semana simultáneamente para todos los tratamientos.

## **Procedimiento**

Los distintos parámetros fisiológicos de potencial hídrico xilemático, asimilación neta de  $\text{CO}_2$ , conductancia estomática, transpiración de la hoja, contenido interno de  $\text{CO}_2$ , parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila y el contenido de clorofila total, fueron medidos sobre hojas maduras completamente expandidas, expuestas a la luz solar directa y representativas al total de hojas de cada tratamiento y repetición. Las mediciones se realizaron cinco veces a lo largo del día (9:00, 11:00, 13:00, 15:00 y 17:30 h), cada 15 días a lo largo de la temporada aproximadamente. A excepción del potencial hídrico xilemático, todos los parámetros fueron medidos por ambos lados de la espaldera en cada hora de medición.

Las hojas recolectadas cada 15 días, dispuestas para el análisis de pigmentos, fueron congeladas con nitrógeno líquido en campo y posteriormente almacenadas en un freezer a  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  hasta su utilización.

La recolección del material vegetal de poda fue realizada al término de la temporada de crecimiento y desarrollo de la vid, en pleno receso invernal con yemas completamente dormantes.

## **Evaluaciones**

### **Radiación, temperatura, y humedad relativa**

La radiación fotosintéticamente activa (*PAR*) se determinó mediante un radiómetro (Delta-Ohm, HD 9021), posicionando el sensor en posición horizontal (paralelo a la orientación de la hoja) y perpendicular al sol. Al mismo tiempo se midió la temperatura y la humedad relativa del aire mediante un higrotermómetro portátil (Extech 445900, USA) a una altura de 1,5 m de la superficie del suelo, simultáneamente a la radiación. Ambas mediciones se realizaron antes y después de medir los parámetros fisiológicos.

### **Potencial hídrico xilemático de mediodía**

El potencial hídrico xilemático ( $\psi_x$ ) se monitoreó por medio por la cámara de presión (Scholander *et al.*, 1965), de acuerdo a la metodología descrita por Meyer y Reicosky (1985). Las mediciones se realizaron cada semana al medio día solar (potencial hídrico mínimo a las 14 horas), por el lado de la espaldera expuesto a la luz solar. El material vegetal (hojas) se cubrió con bolsas plásticas aluminizadas durante 1 hora para poder igualar el potencial hídrico de la hoja al potencial hídrico xilemático.

## Asimilación neta de CO<sub>2</sub>, conductancia estomática, transpiración de la hoja y contenido interno de CO<sub>2</sub>

La asimilación neta de CO<sub>2</sub> ( $A_N$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ), transpiración de la hoja ( $E$ ) y contenido interno de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) se determinó simultáneamente por medio de un analizador infrarrojo de gases portátil (IRGA-CIRAS-2, PP-system, UK). Se ajustó, en el IRGA, una concentración de CO<sub>2</sub> de referencia de 360 ppm y un contenido de vapor de agua en la cámara de medición, equivalente al del aire correspondiente al momento del día.

## Parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila

La fluorescencia de la clorofila será determinado según lo descrito por los autores Kooten y Snel (1990), Brüggemann *et al.*, (1992) y Genty *et al.* (1989) y fue medida por medio de un fluorímetro de pulso modulado (Hansatech, FMS1, UK). Los parámetros obtenidos a partir de la fluorescencia de la clorofila fueron el rendimiento cuántico máximo del fotosistema II ( $F_v/F_m$ ), el rendimiento operacional del fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ ), el “quenching” o apagamiento fotoquímico ( $qP$ ) y el “quenching” o apagamiento no fotoquímico ( $NPQ$ ).

**Fotoinhibición ( $F_v/F_m$ ):** Para obtener la fluorescencia mínima ( $F_o$ ), máxima ( $F_m$ ) y variable ( $F_v$ ), hojas previamente adaptadas a la oscuridad con pinzas durante una hora, fueron sometidas a un haz de luz inicial de muy baja intensidad ( $0,1 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obteniendo  $F_o$ . Inmediatamente después se sometió a un pulso de luz saturante ( $3000 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obteniendo  $F_m$ . Por medio de la diferencia ( $F_m - F_o$ ) se calculó la variable  $F_v$ . La relación  $F_v/F_m$ , se utilizó para determinar si la muestra de hoja analizada presentaba algún grado de fotoinhibición, al resultar en un valor menor que 0,83 (Baker, 2008)

**$\Phi_{PSII}$ ,  $qP$  y  $NPQ$ :** Para obtener la fluorescencia mínima ( $F_o$ ), máxima ( $F_m$ ) y variable ( $F_v$ ) de pre-alba, hojas previamente adaptadas a la oscuridad con pinzas durante la noche anterior a la medición, fueron sometidas en pre-alba a un haz de luz inicial de muy baja intensidad ( $0,1 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obteniendo  $F_o$ . Inmediatamente después se sometió a un pulso de luz saturante ( $3000 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obteniendo  $F_m$ . Por medio de la diferencia ( $F_m - F_o$ ) se calculó la variable  $F_v$ . Luego durante el día para obtener la fluorescencia bajo luz actínica ( $F_s$ ), la máxima adaptada a la luz ( $F_m'$ ) y la mínima adaptada a la oscuridad ( $F_o'$ ), hojas previamente adaptadas a la luz, fueron iluminadas con un haz de luz actínica ( $680 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obteniendo  $F_s$  inmediatamente después se sometió a un pulso de luz saturante ( $3000 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obteniendo  $F_m'$  y por último, previamente oscureciendo con un paño negro la muestra de hoja durante 30 segundos se sometió a un haz de luz de baja intensidad ( $0,1 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obteniendo  $F_o'$ . Para determinar  $\Phi_{PSII}$ ,  $qP$  y  $NPQ$  se utilizaron las siguientes ecuaciones descritas por Maxwell y Johnson (2000):

- i)  $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$
- ii)  $qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$
- iii)  $NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$

### Concentración de clorofilas

Se determinó la concentración de clorofilas por tratamiento de acuerdo al método descrito por Lichtenthaler y Wellburn (1983) y se calculo el total de estas. Las absorbancias a  $A_{645}$  y  $A_{663}$  nm de cada muestra fueron sometidas a las siguientes ecuaciones:

$$\text{Chla } (\mu\text{g}/\text{cm}^2): [(12,25 \times A_{663}) - (2,79 \times A_{645})] \times [(700/200) \times (1,5/\text{Área Disco Hoja})]$$

$$\text{Chlb } (\mu\text{g}/\text{cm}^2): [(2,79 \times A_{663}) - (12,25 \times A_{645})] \times [(700/200) \times (1,5/\text{Área Disco Hoja})]$$

$$\text{Chl}_{\text{Total}} (\mu\text{g}/\text{cm}^2): \text{Chla} + \text{Chlb}$$

### Análisis estadístico

Los datos se analizaron por ANDEVA (análisis de varianza), y, al encontrar diferencias significativas, los promedios obtenidos fueron comparados a través de la prueba de Tukey con un 95% de confianza. Los análisis consideraron diferencias entre tratamientos a lo largo del día y a lo largo de la temporada.

El análisis estadístico se llevó a cabo empleando el software JMP versión 8 Statistical Discovery™ de SAS Institute Inc. USA y las gráficas fueron elaboradas con el Software SigmaPlot® Versión 11 de Systat Software Inc.

## RESULTADOS

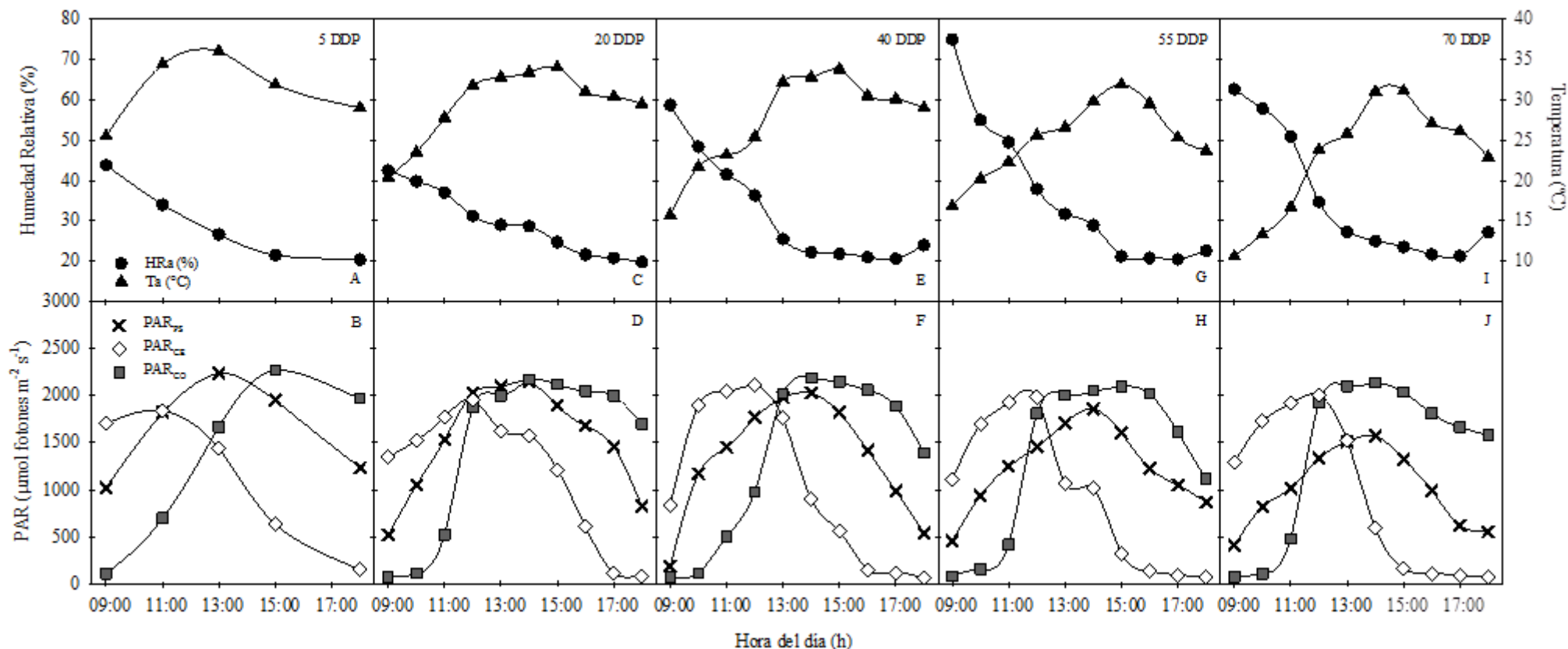
### Contexto climático de la temporada verano-otoño 2012

**Temperatura, humedad relativa ambiental y radiación solar:** La temporada de medición del año 2012 inició en el mes de febrero, correspondiente a la estación de verano, y finalizó en el mes de abril durante el otoño del mismo año. Se registraron las condiciones climáticas en la Viña Haras de Pirque ubicada en la comuna de Pirque, correspondiente a la denominación de origen del Valle del Maipo, los días 5, 20, 40, 55 y 70 después de pinta, entre las 9:00 y 18:00 h (Figura 4).

La temperatura matinal promedio, a las 9:00 h durante el verano, fue de 22,9 °C (Figuras 4A, 4C), mientras que en el otoño disminuyó a 14,3 °C (Figura 4E, 4G, 4I). La temperatura máxima siempre se registró al medio día solar (14:00 h) en cada fecha de medición. Ésta en verano fue en promedio de 34,4 °C y en otoño de 31,7 °C. Al final del día de medición, a las 18:00 h, la temperatura en verano y otoño fue de 29,2 y 25,2 °C, respectivamente.

La humedad relativa ambiental en verano fue en promedio de 43,1 % a las 9:00 h, y de 19,9 % al terminar el día de medición, a las 18:00 h (Figuras 4A, 4C), mientras que en otoño en la mañana fue de 65,1 % y en la tarde de 20,8 % (Figura 4E, 4G, 4I).

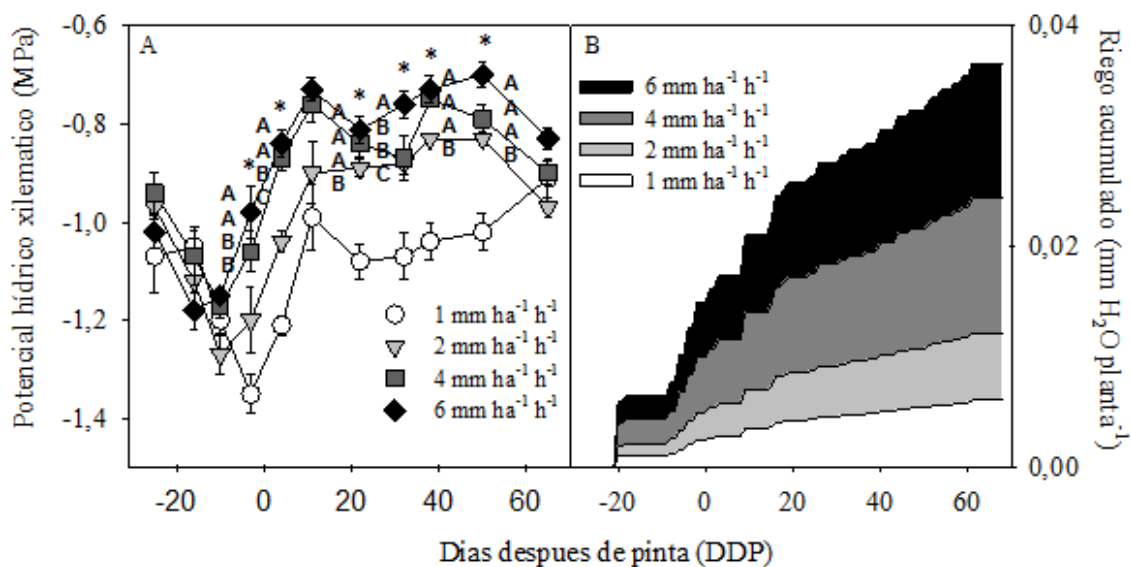
La *PAR* máxima registrada por ambos lados de la espaldera, este y oeste, y horizontal a la superficie suelo durante el verano fue en promedio de 1900, 2220 y 2195  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente (Figura 4B, 4D). Por otro lado en otoño, esta radiación fue de 2035, 2143 y 1821  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , correspondientemente al orden anterior (Figura 4F, 4H, 4J).



**Figura 4.** Parámetros climáticos. Mediciones realizadas durante la temporada de verano-otoño 2012, a lo largo del día (entre las 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 5 DDP, C-D: 20 DDP, E-F: 40 DDP, G-H: 55 DDP, I-J: 70 DDP). Temperatura ambiental ( $T_a$ ) ( $\blacktriangle$ ), humedad relativa del ambiente ( $HR$ ) ( $\bullet$ ), radiación  $PAR$  perpendicular al sol ( $PAR_{ps}$ ) ( $\times$ ) y radiación  $PAR$  captada por el lado este ( $PAR_{ce}$ ) ( $\diamond$ ) y oeste ( $PAR_{co}$ ) ( $\blacksquare$ ) de la espaldera.

## Parámetros fisiológicos de la planta

**Potencial hídrico xilemático de mediodía ( $\Psi_X$ ):** Este parámetro fue monitoreado al medio día solar (14:00 h), a lo largo de la temporada, entre los días 25 y 65 antes y después de pinta, respectivamente (Figura 5A). Además, se registró el total de agua entregada a la planta por medio del riego (Figura 5B). Las plantas que estuvieron sometidas a menores descargas de agua presentaron potenciales hídricos xilemáticos menores a las que tuvieron mayores aportes hídricos. De esta manera los distintos niveles de estrés hídrico tuvieron como resultado valores de -1,1 MPa, -1,0 MPa, -0,9 MPa y -0,83 MPa, entre envero y cosecha. En cada fecha que hubo diferencias significativas, entre los 3 DAP y 50 DDP, se logró diferenciar el tratamiento más estresado (T1) del menos estresado (T4) ( $p \leq 0,05$ ). Las principales diferencias significativas entre los tratamientos comienzan a observarse a partir de los 3 DAP, donde el tratamiento T1, con un  $\Psi_X$  de -1,35 MPa, fue menor que los tratamientos T3 y T4 ( $p \leq 0,05$ ), cuyos potenciales fueron de -1,06 MPa y -0,98 MPa, respectivamente. Posteriormente, a lo largo de las mediciones realizadas los días 4, 22, 32, 38 y 50 DDP se registró diferencias entre el T1 y el resto de los tratamientos, y sólo en la última medición de la temporada, 65 DDP, no se encontró diferencias entre estos. En la figura 5B, se observa que a medida que avanza la temporada, la acumulación del aporte hídrico por parte del sistema de riego a la planta, en  $\text{mm H}_2\text{O planta}^{-1}$ , es distinto entre cada tratamiento.



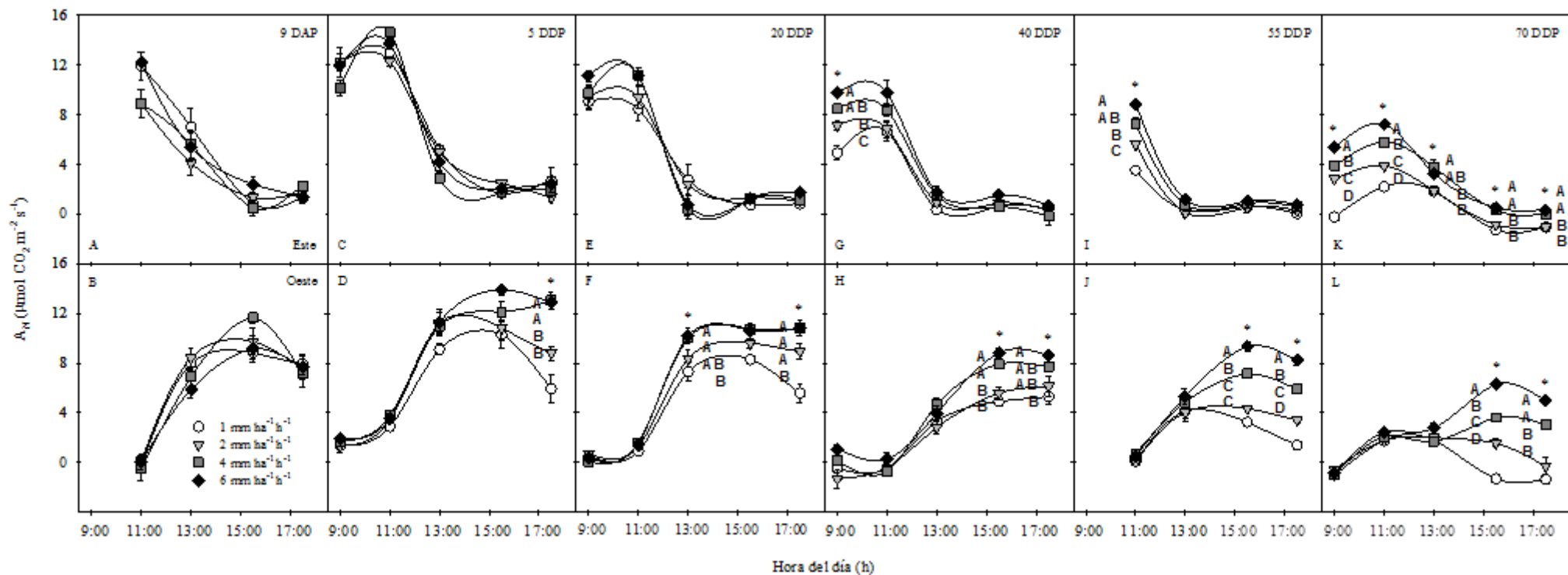
**Figura 5.** Potenciales hídricos xilemáticos y aportes hídricos acumulados. Evolución de los potenciales hídricos xilemáticos, medidos al mediodía solar, de 4 tratamientos expuestos a distintos niveles de estrés hídrico (A) y la acumulación del aporte hídrico en cada tratamiento (B) a lo largo de la temporada (entre los 25 y 65 días antes y después de pinta) en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère. T1: 1  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2: 2  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3: 4  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4: 6  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

**Asimilación neta de CO<sub>2</sub> ( $A_N$ ):** Independiente del tratamiento, la  $A_N$  fue mayor al inicio de la temporada que al final, por ambos lados de la espaldera. La  $A_N$  a lo largo del día, por el lado este de la espaldera, fue mayor en la mañana que por la tarde, y al contrario, por el lado oeste, fue menor en la mañana y aumentó paulatinamente hacia la tarde (Figura 6). Por el lado este de la espaldera, a los 40 y 55 DDP (Figura 6 G-I) se observa diferencias significativas en la  $A_N$  de los tratamientos a las 9 y 11 de la mañana, respectivamente, donde T1 registró los valores más bajos ( $4,92 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). A los 70 DDP (Figura 6 K), durante las mediciones de la mañana (9:00 h y 11:00 h), se observó diferencias en la  $A_N$  bajo los cuatro tratamientos y durante la tarde los tratamientos T1 y T2 se diferenciaron de T3 y T4 presentando valores más bajos. Por el lado oeste de la espaldera, las principales diferencias en la  $A_N$  se observaron a los 5, 20, 40, 55 y 70 DDP (Figura 6 D-F-H-J-L) en horas de la tarde (15:00 h y 17:00 h), entre el T1 y los tratamientos T3 y T4.

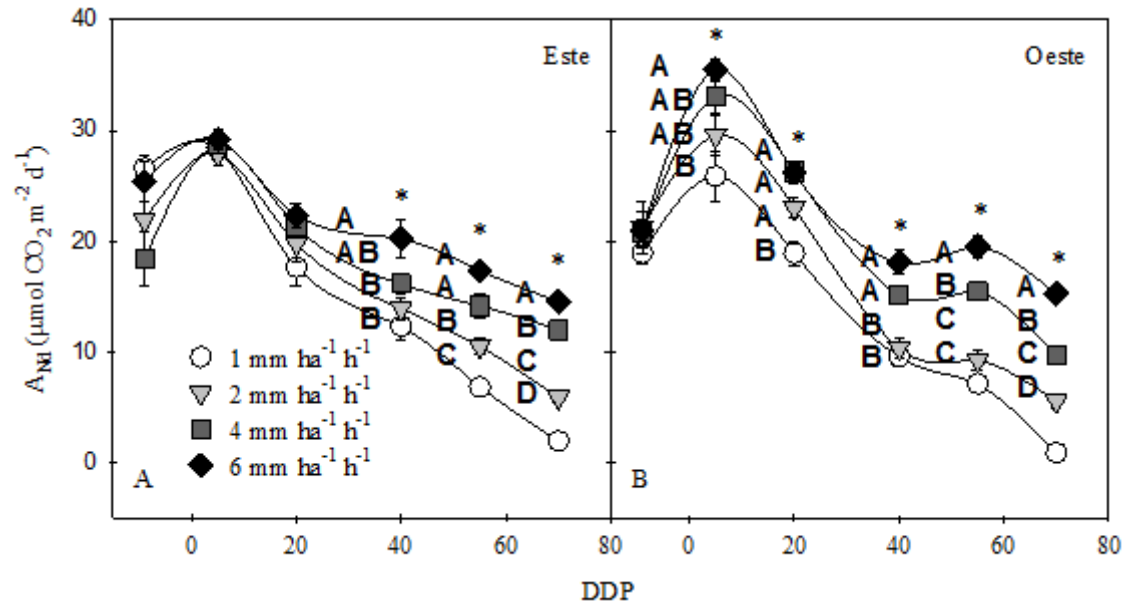
La evolución de la asimilación neta diaria ( $A_{Nd}$ ) por ambos lados de la espaldera se puede observar en la figura 7. Por la cara este de la espaldea (Figura 7A), entre los 9 DAP y 5 DDP hay un aumento paulatino del carbono diario total fijado, sin embargo, a partir de esta última fecha hasta los 70 DDP comienza un descenso en cada tratamiento. En este último intervalo las principales diferencias significativas en  $A_{Nd}$  se encontraron entre los tratamientos T4 y T1 ( $p>0,05$ ) y sólo en la última fecha de medición la  $A_{Nd}$  fue diferente entre todos los tratamientos, siendo menor en T1. Por la cara oeste de la espaldera (Figura 7B), también se observa un aumento de la actividad de la  $A_{Nd}$  entre los 9 DAP y 5 DDP, luego desciende pero esta vez hasta los 40 DDP, donde la asimilación tiene un repunte hasta los 55 DDP, y posteriormente decae su actividad hasta los 70 DDP, a excepción de T1 quien no tuvo este breve incremento. Desde los 5 DDP el T1 presentó valores significativamente menores respecto a T3 y T4 principalmente, y sólo en la última fecha la  $A_{Nd}$  fue diferente entre todos los tratamientos ( $p>0,05$ ).

**Conductancia estomática ( $g_s$ ):** En cada uno de los tratamientos, la  $g_s$  se incrementó hasta mediados de la temporada de medición, y al final de ésta se observaron las conductancias estomáticas más bajas. El comportamiento de la curva diaria por cada uno de los lados de la espaldera siguió la misma dinámica a lo largo de la temporada. Por el lado este de la planta la conductancia estomática fue mayor en las mañanas, descendiendo durante la tarde, mientras que por el lado oeste fue menor durante la mañana, aumentando en las horas de la tarde (Figura 8). Las principales diferencias en  $g_s$  se encontraron entre los tratamientos T1 y T4 desde los 20 DDP (17:00 hrs) hasta los 55 DDP (Figura 8). En la última fecha de medición, 70 DDP (Figura 8K), a las 15:00 h, se encontró diferencias entre todos los tratamientos. Por el lado oeste, a partir de los 20 DDP hasta los 70 DDP, las principales diferencias significativas se encontraron entre los tratamientos T1 y T4, donde T1 presentó los valores más bajos.

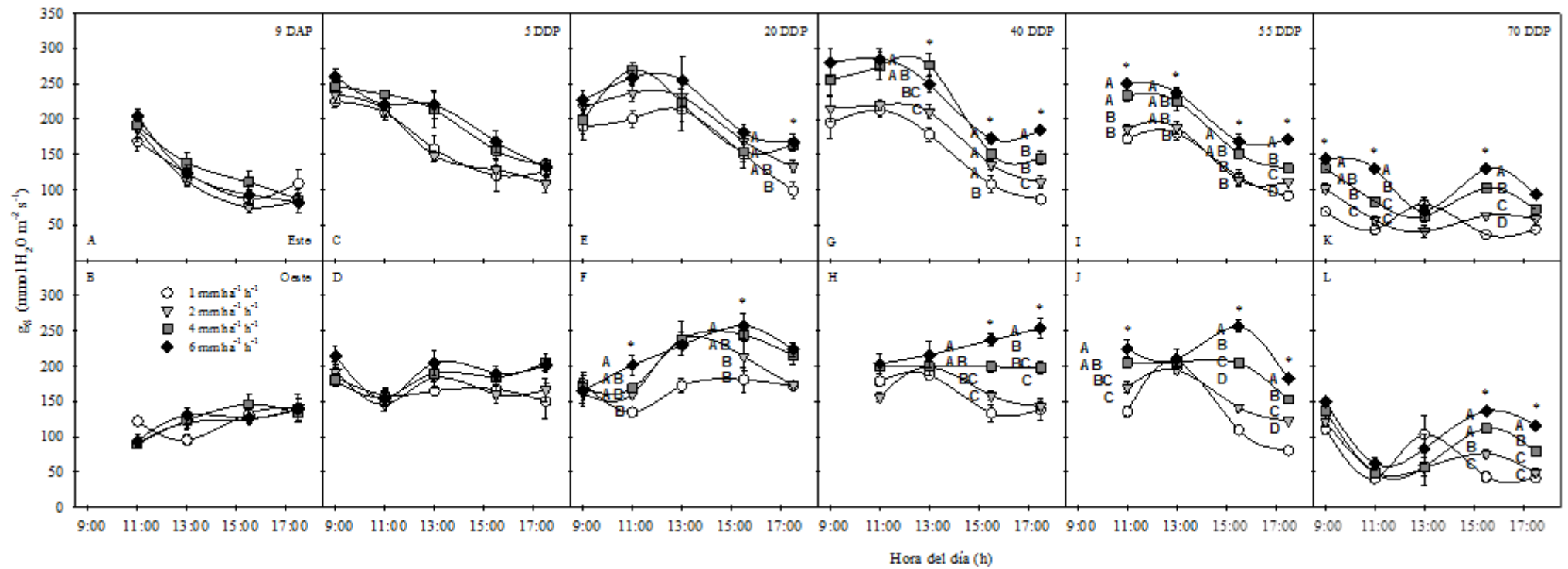




**Figura 6.** Asimilación neta de CO<sub>2</sub> ( $A_N$ ). Mediciones de  $A_N$  en  $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 9 DAP, C-D: 5 DDP, E-F: 20 DDP, G-H: 40 DDP, I-J: 55 DDP, K-L: 70 DDP) entre envero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (○), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (▼), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (■), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (◆). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

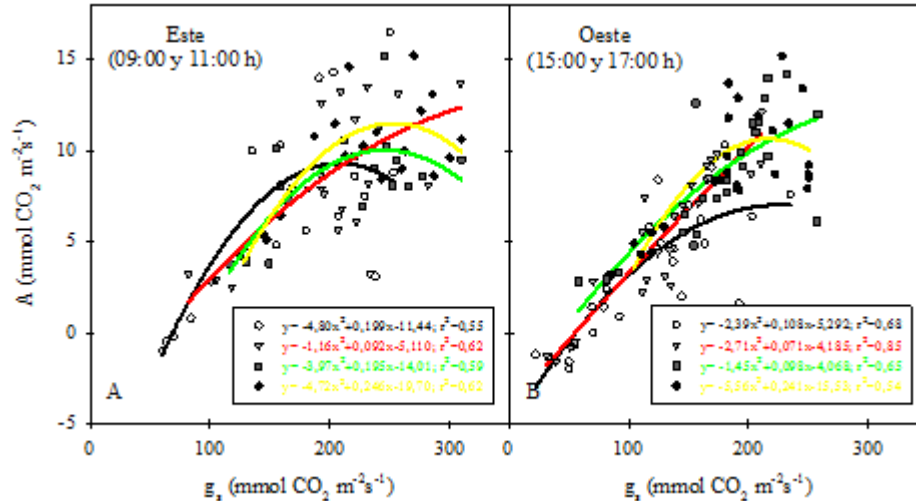


**Figura 7.** Asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> ( $A_{Nd}$ ). Evolución, en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère, de la  $A_{Nd}$  en  $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , a lo largo de la temporada, entre enero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este (A) y oeste (B) de la espaldera. T1: 1 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (○), T2: 2 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (▽), T3: 4 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (■), T4: 6 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (◆). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.



**Figura 8.** Conductancia estomática ( $g_s$ ). Mediciones de  $g_s$  en  $\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 9 DAP, C-D: 5 DDP, E-F: 20 DDP, G-H: 40 DDP, I-J: 55 DDP, K-L: 70 DDP) entre enero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídrico por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

**Relación entre la Asimilación Neta de CO<sub>2</sub> (A<sub>N</sub>) y la Conductancia estomática (g<sub>S</sub>):** Al observar la figura 9, se ve que existe una relación entre la A<sub>N</sub> y la g<sub>S</sub> para cada uno de los tratamientos, considerando todas las mediciones a lo largo de la temporada en las horas de mayor exposición solar tanto por el lado este (9:00 y 11:00 h, Figura 11A) como el lado oeste (15:00 y 17:00 h, Figura 11B). En cada una de las figuras se puede ver la asimilación neta de CO<sub>2</sub> incrementa a medida que aumenta la g<sub>S</sub>. Sin embargo a una determinada g<sub>S</sub> la A<sub>N</sub> alcanza un máximo o bien comienza a decaer. La correlación para cada tratamiento tiene los siguientes r<sup>2</sup> por el lado este y oeste, respectivamente: T1 0,55 y 0,68; T2 0,62 y 0,85; T3 0,59 y 0,65; T4 0,62 y 0,54.



**Figura 9.** Relación entre A<sub>N</sub> y g<sub>S</sub>. Cada dato muestra la asimilación neta de CO<sub>2</sub> realizada por la hoja de acuerdo a una determinada conductancia estomática, en *Vitis vinifera* L. cv. Carmenère. Esto sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos en las horas de mayor exposición solar tanto para el lado este (A) como para el lado oeste (B). T1: 1 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (○), T2: 2 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (▼), T3: 4 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (■), T4: 6 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (◆). Los r<sup>2</sup> fueron evaluados con un p ≤ 0,05.

**Transpiración de la hoja (E):** A lo largo de la temporada, E fue aumentando desde las primeras fechas de medición hasta finalizar prácticamente el verano, es decir, 20 DDP (Figura 10). A partir de las dos últimas fechas de medición se puede observar que E tuvo una tendencia a disminuir hasta final de temporada. La tendencia de la E a lo largo del día siguió un patrón único, el cual, por el lado este de la espaldera, incrementó durante la mañana hasta el mediodía, y descendió paulatinamente en la tarde. Por el contrario, por el lado oeste de la espaldera, la transpiración fue menor en la mañana y aumentó hacia las horas de la tarde. Por el lado este de la espaldera, a los 20 DDP se observan las primeras diferencias en E entre los tratamientos, donde T1 presentó una menor E respecto a los tratamientos T3 y T4. Este comportamiento se registró hasta finales de temporada. Por el lado oeste de la planta, las principales diferencias en E en los tratamientos se observaron entre T1 y T4, a partir de los 20 DDP hasta fin de temporada.

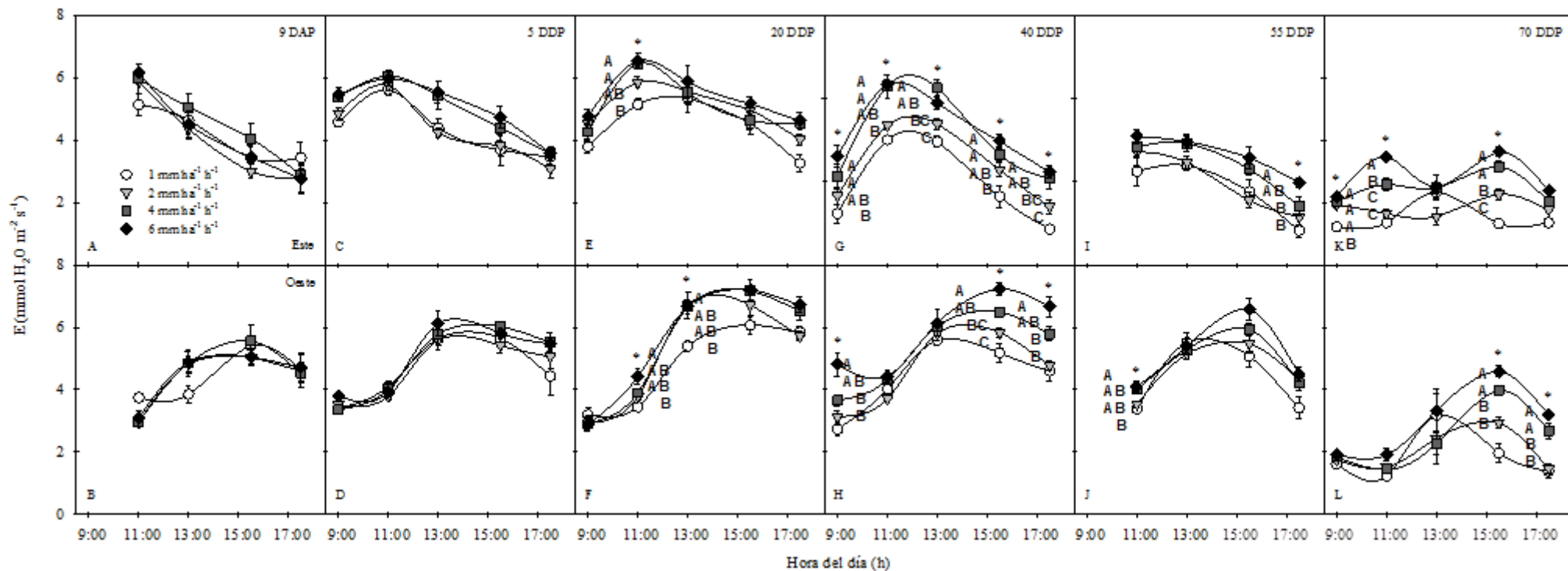
Al observar la cinética de la transpiración diaria (E<sub>d</sub>) a lo largo del ensayo (Figura 11), se puede ver que en cada uno de los tratamientos hay un aumento progresivo en este parámetro hasta la mitad de la temporada de medición, para luego disminuir hacia el final,

por ambos lados de la espaldera. Por el lado este de la espaldera se observó que las principales diferencias en la  $E_D$  estuvieron entre los tratamientos T1 y T4 a partir de los 20 DDP hasta los 55 DDP. Situación similar se observó en el lado oeste de las plantas, en donde las diferencias entre T1 y T4 se registraron a partir de la tercera fecha de medición.

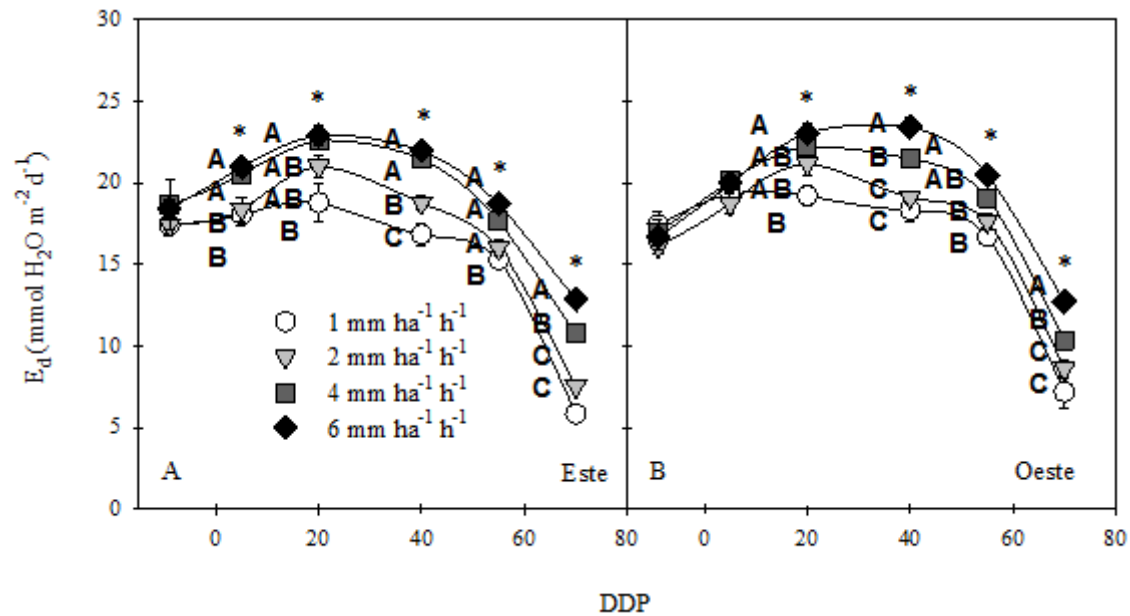
**Contenido interno de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ):** Por el lado este de la espaldera, en las primeras horas de la mañana el contenido de  $C_i$  de las hojas es menor que en las horas de la tarde (Figura 12). Las principales diferencias en el  $C_i$ , por este lado de las plantas, se observó en la última fecha de medición entre los tratamientos T1 y T4, siendo mayor el primero de ellos. En la cara oeste de la espaldera, temprano en la mañana, en ausencia de luz solar directa, se ve que la cantidad de carbono interno es mayor que en la tarde y con una leve tendencia a recuperarse hacia el final del día. A los 5, 20, 55 y 70 DDP, en la última medición del día, se observa que el  $C_i$  de T1 es mayor que el de T3 y T4.

**Eficiencia del uso del agua de la hoja ( $EUA$ ,  $A_{N/E}$ ):** La evolución de la  $EUA$  diaria de la hoja a lo largo del día es similar durante toda la temporada en cada uno de los tratamientos (Figura 13). Por la cara este de la espaldera, fue máxima en las horas de la mañana. Luego, a partir del mediodía en adelante disminuye su valor. Por este mismo lado de las plantas, a inicio de temporada, T1 presentó valores mayores que el resto de los tratamientos, mientras que hacia final de temporada el tratamiento T4 tuvo valores más altos en  $EUA$ . Por la cara oeste de la espaldera, el  $EUA$  comenzó con valores bajos en la mañana, y luego hacia la tarde paulatinamente aumentó. Las principales diferencias en  $EUA$  por este lado de las plantas, se registraron entre T1 y T4, donde T1 siempre presentó valores más bajos que el resto de los tratamientos.

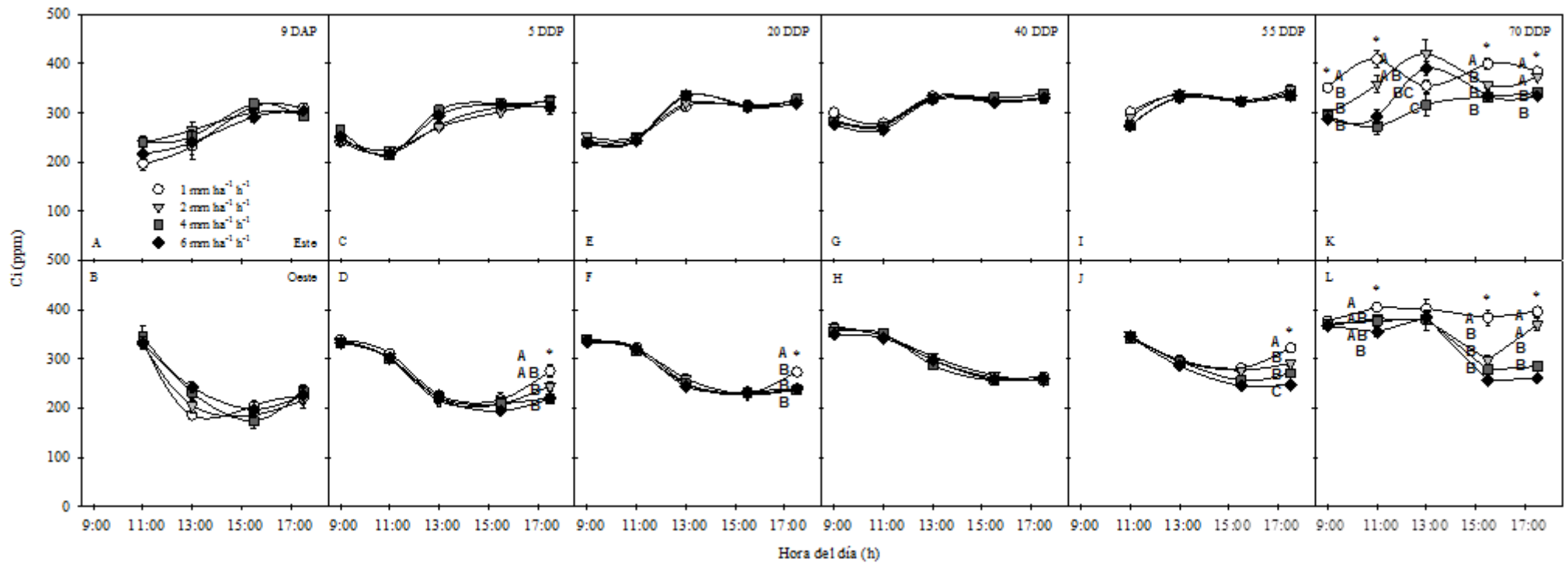
La eficiencia  $EUA$  diaria de la hoja ( $EUA_d$ ) por el lado este presentó valores altos en todos los tratamientos hasta los 5 DDP, para luego disminuir hasta los 55 DDP, mientras que a los 70 DDP, la  $EUA$  diaria presentó un leve aumento, a excepción de T4 (Figura 14). En esta última fecha de medición los tratamientos T3 y T4 alcanzaron los valores más altos, diferenciándose significativamente de T2 y T1. Por el lado oeste de la espaldera los valores más altos se registraron a los 5 DDP por todos los tratamientos, luego decayeron hasta los 40 DDP donde los tratamientos T3 y T4 se diferenciaron de T1 y T2 con valores más altos. A los 55 y 70 DDP se observó un aumento, a excepción de T1 que disminuyó en esta última fecha diferenciándose significativamente del resto de los tratamientos.



**Figura 10.** Transpiración de la hoja ( $E$ ). Mediciones de  $E$  en  $\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 9 DAP, C-D: 5 DDP, E-F: 20 DDP, G-H: 40 DDP, I-J: 55 DDP, K-L: 70 DDP) entre envero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

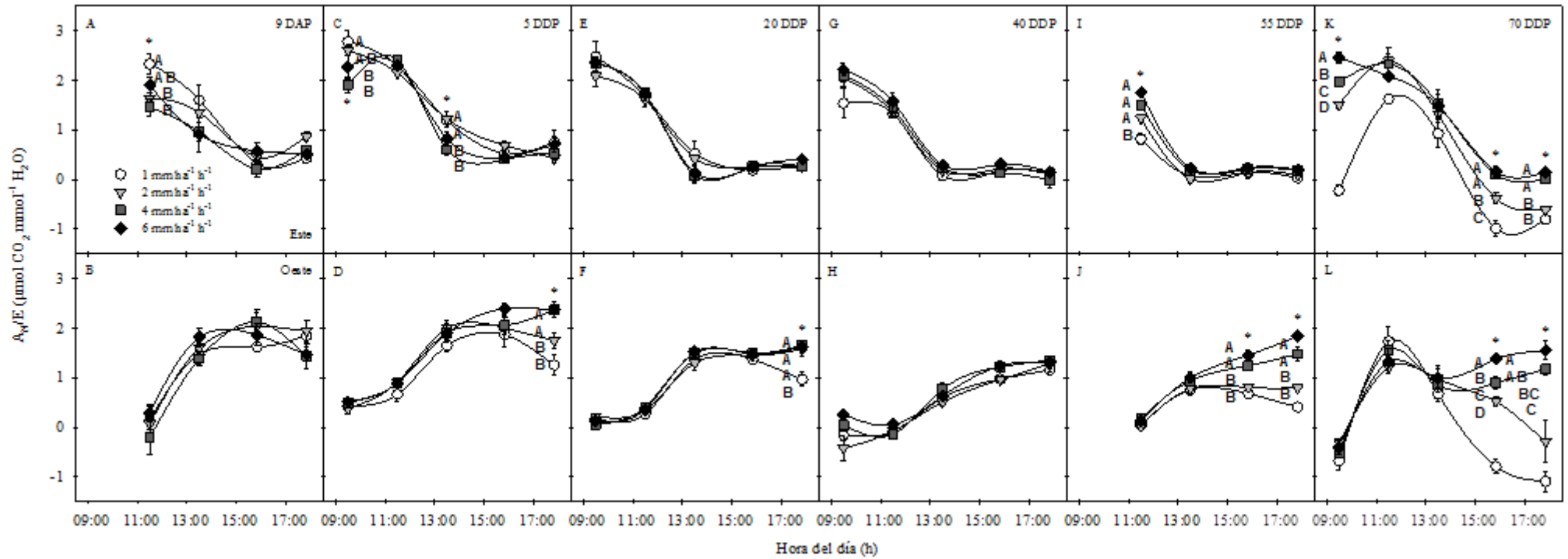


**Figura 11.** Transpiración de la hoja integrada ( $E_d$ ). Evolución, en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère, de la  $E_{Hi}$  en  $\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{d}^{-1}$ , a lo largo de la temporada, entre enero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este (A) y oeste (B) de la espaldera. T1: 1  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2: 2  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3: 4  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4: 6  $\text{mm ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

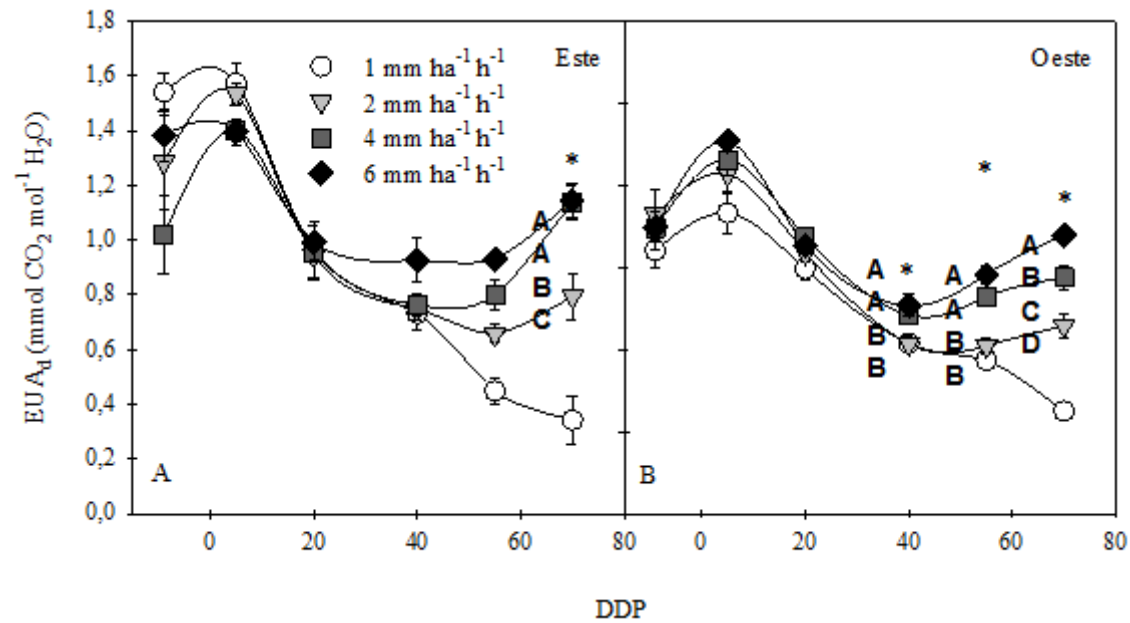


**Figura 12.** Contenido interno de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ). Mediciones de  $C_i$  en ppm, realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 9 DAP, C-D: 5 DDP, E-F: 20 DDP, G-H: 40 DDP, I-J: 55 DDP, K-L: 70 DDP) entre envero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.





**Figura 13.** Eficiencia del uso del agua de la hoja (*EUA*). Mediciones de *EUA* de la hoja en  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ , realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 9 DAP, C-D: 5 DDP, E-F: 20 DDP, G-H: 40 DDP, I-J: 55 DDP, K-L: 70 DDP) entre envero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.



**Figura 14.** Eficiencia del uso del agua integrada de la hoja (*EUAd*). Evolución, en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère, de la *EUAd* de la hoja en  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O d}^{-1}$ , a lo largo de la temporada, entre enero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este (A) y oeste (B) de la espaldera. T1: 1  $\text{mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2: 2  $\text{mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3: 4  $\text{mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4: 6  $\text{mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

## Parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila

**Rendimiento cuántico máximo del PSII ( $F_v/F_m$ ):** Por el lado este de la espaldera de las plantas, la evolución del rendimiento cuántico máximo a lo largo del día, sigue un patrón similar entre los tratamientos, con valores más altos hacia la tarde, sin diferencias significativas entre ellos (Figura 15). Por el lado oeste de las plantas, a los 20 DDP se observa una disminución en el  $F_v/F_m$  del tratamiento T1, 0.78, siendo estadísticamente diferente a T4. A los 40 y 70 DDP, los cuatro tratamientos presentaron valores inferiores a 0.8 durante todo el ciclo diario de medición y sólo T1 presentó valores menores a 0.7. Las principales diferencias significativas en estas últimas fechas de medición se encontraron entre los tratamientos T1 y T3.

**Rendimiento cuántico del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ):** La dinámica del  $\Phi_{PSII}$  El movimiento de la curva a lo largo del día, por cada lado de la espaldera tiene un comportamiento contrario al del otro (Figura 16). Por la cara este,  $\Phi_{PSII}$  fue menor mientras estuvo expuesto a la luz solar, es decir, en las horas de la mañana, mientras que en las horas de la tarde, aumentó su valor. Por el contrario, en el lado oeste,  $\Phi_{PSII}$  fue más alto en la mañana, pero cuando en la tarde fue expuesto a una luz solar directa disminuyó su valor. Por el lado este de la espaldera, en cada fecha de medición y a la hora de mayor exposición solar (11:00 h), el tratamiento T4 presentó los valores más altos, diferenciándose principalmente de los tratamientos T1 y T2. Por el lado oeste de las plantas, a los 20 DDP y a las 13:00 h el T3 alcanzó el valor más bajo diferenciándose del resto de los tratamientos. Luego, a los 55 y 70 DDP, las principales diferencias en  $\Phi_{PSII}$  se encontraron entre los tratamientos T1 y T4, a lo largo del ciclo diario de mediciones.

**Apagamiento fotoquímico ( $qP$ ):** Por el lado este de la espaldera, el valor de  $qP$  tiende a decrecer hasta las 11:00 de la mañana para luego aumentar durante la tarde (Figura 17). El tratamiento T4 se diferenció principalmente de T1 con valores más altos a las 11:00 de la mañana en todas las fechas de medición. Por el lado oeste de la espaldera los valores son altos durante la mañana y decaen a las 15:00 h, presentando una recuperación hacia las 17:00 h. Las principales diferencias significativas se observaron en este mismo intervalo de tiempo, donde T1 alcanza los valores más bajos respecto al resto de los tratamientos.

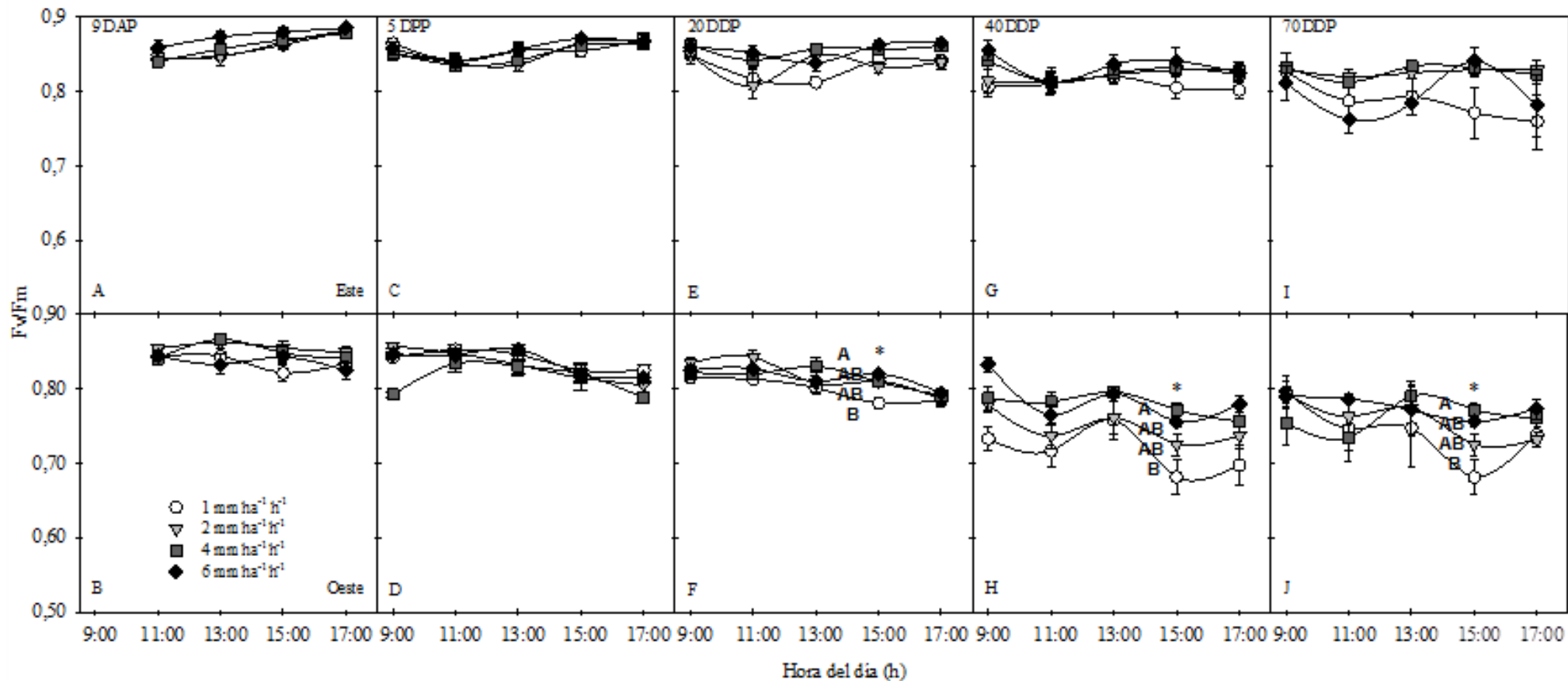
**Apagamiento no fotoquímico ( $NPQ$ ):** Por la cara este, los valores más altos de  $NPQ$  se registraron durante la mañana, para luego en la tarde descender hacia valores cercanos a cero. Por el contrario, en la cara oeste, en la mañana se observan valores muy bajos, incluso cercanos a cero, y luego aumentaron en las horas de la tarde, paralelamente a una mayor exposición de luz solar directa. Las principales diferencias significativas por el lado este de las plantas se observaron a las 11:00 h de la mañana (40, 55 y 70 DDP) entre T1 y T4, donde el primero alcanzó valores más altos. Por el lado oeste, a los 20 DDP el T2 alcanzó el valor más alto, mientras que a los 55 DDP el mayor fue T1. En la última fecha de medición T4 alcanzó el valor más bajo diferenciándose del resto de los tratamientos.

### **Concentración de clorofilas foliares**

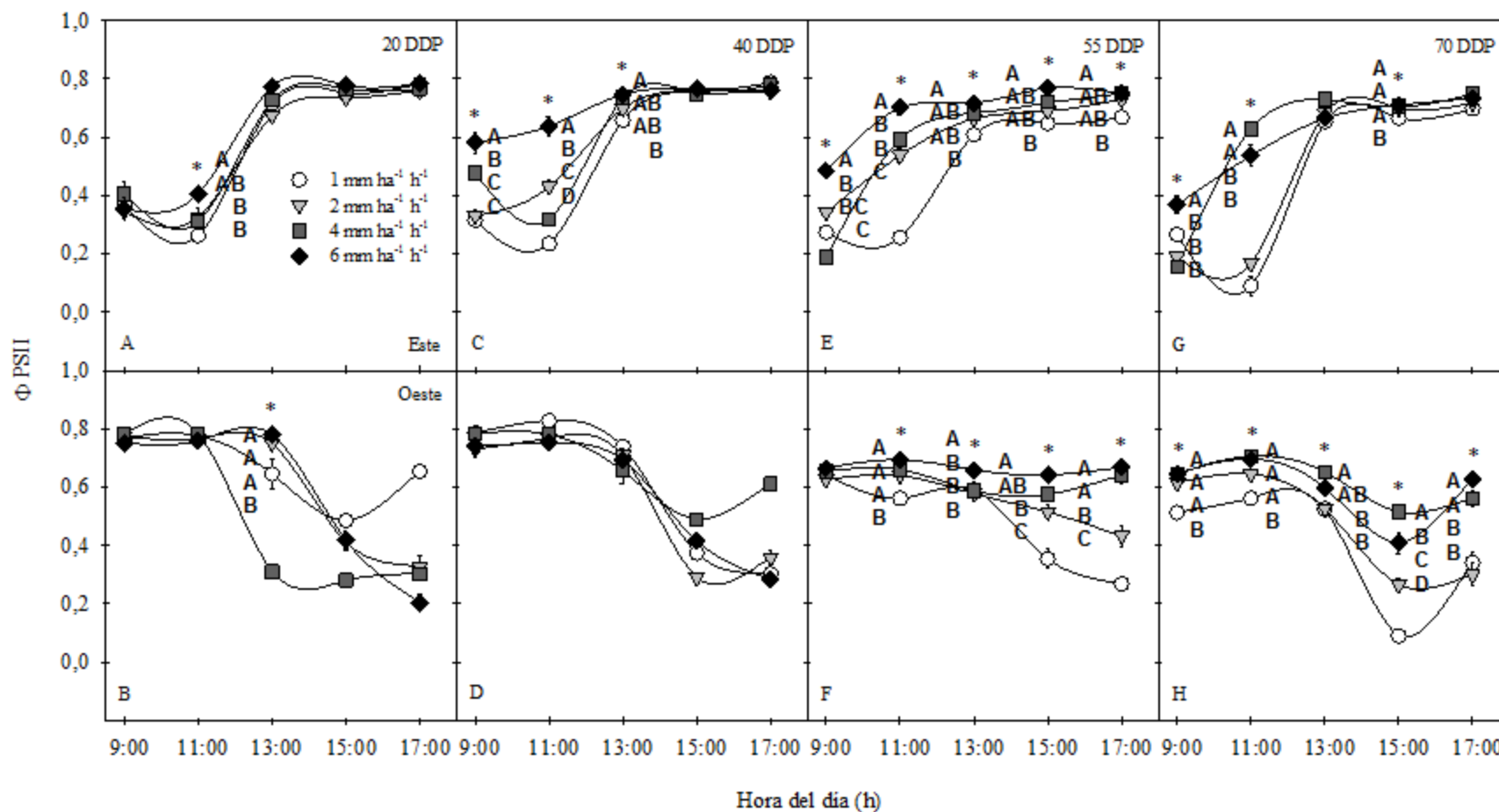
La concentración de clorofilas totales, a lo largo de la temporada, siguió un patrón similar entre los tratamientos por ambos lados de la espaldera, alcanzando la mayor concentración a los 20 DDP. Posteriormente, la concentración fue disminuyendo hasta los 70 DDP. Las principales diferencias se encontraron entre los tratamientos T1 y T4, donde T1 presentó los valores más bajos, en ambos lados de la espaldera. Hacia el final de temporada, 70 DDP, se observa que las plantas más estresadas presentaron el menor contenido de clorofilas.

### **Rendimiento peso de poda**

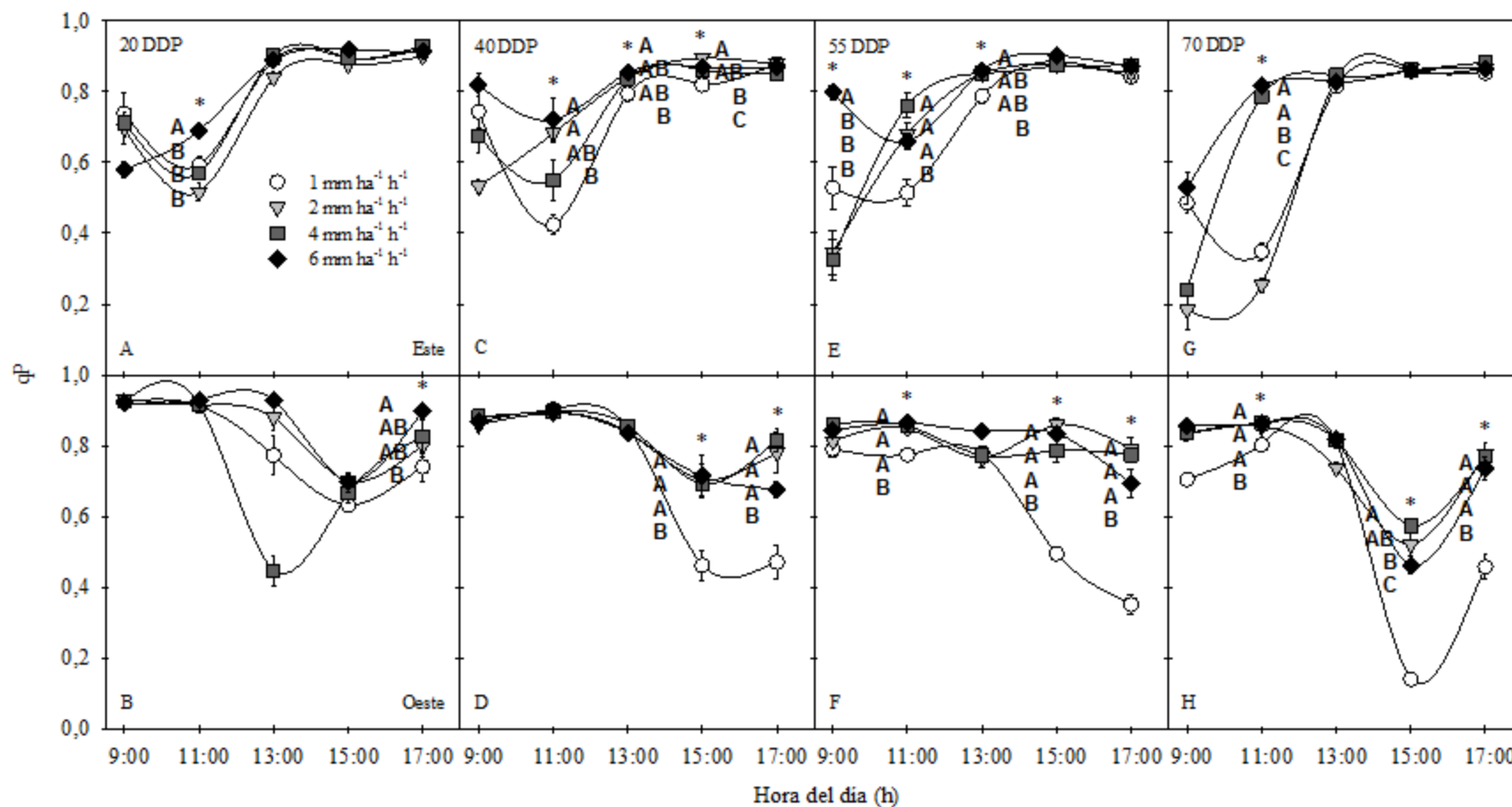
Posterior a la temporada de medición, y en pleno invierno se realizó una poda del material vegetal que creció durante la temporada del ensayo en cada uno de los tratamientos (Figura 20). Las plantas más estresadas, T1, presentaron un menor rendimiento de poda ( $270 \text{ g planta}^{-1}$ ) y se diferenciaron significativamente de las plantas provenientes de los tratamientos de menos estrés, T3 y T4 ( $400$  y  $500 \text{ g planta}^{-1}$ , respectivamente).



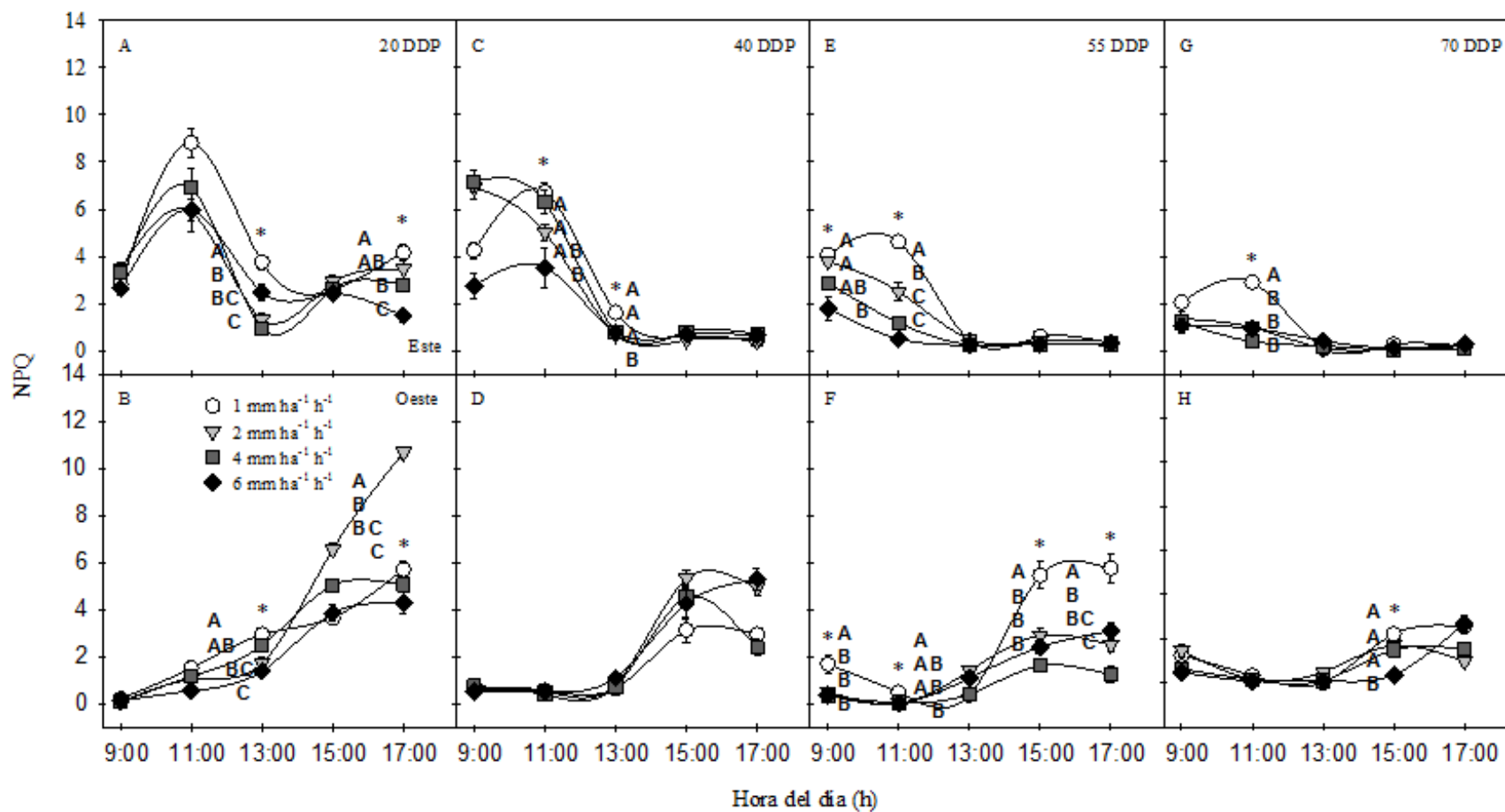
**Figura 15.** Rendimiento cuántico máximo del PSII ( $F_v/F_m$ ). Mediciones de  $F_v/F_m$ , realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 9DAP, C-D: 5 DDP, E-F: 20 DDP, G-H: 40 DDP, I-J: 70 DDP) entre envero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.



**Figura 16.** Rendimiento operacional del  $PSII$  ( $\Phi PSII$ ). Mediciones de  $\Phi PSII$ , realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 20 DDP, C-D: 40 DDP, E-F: 55 DDP, G-H: 70 DDP) entre envero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

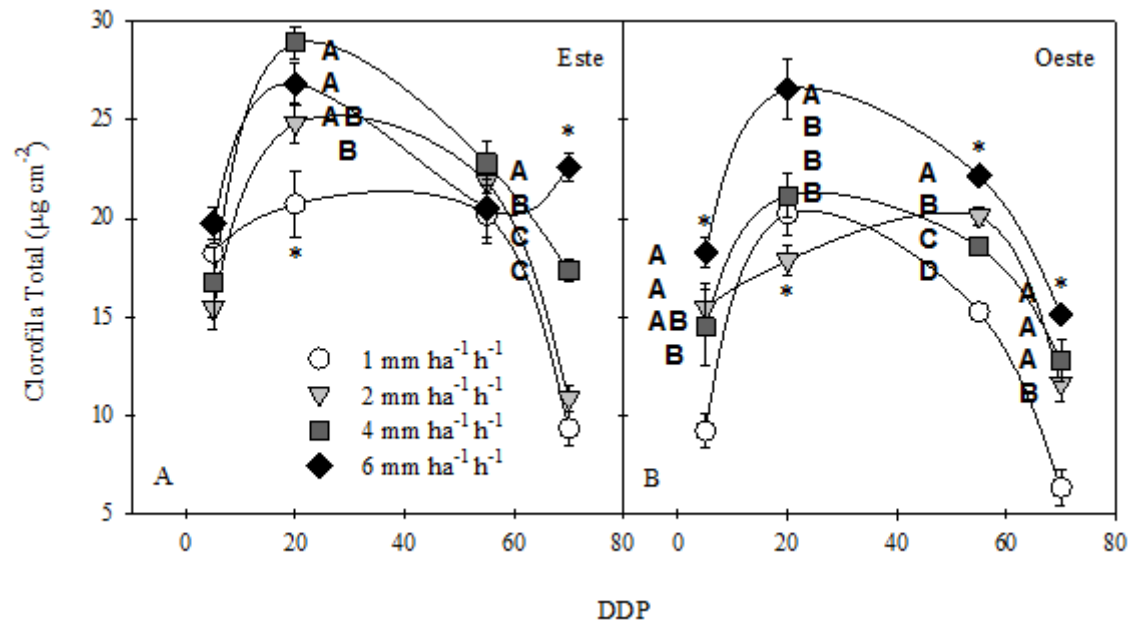


**Figura 17.** Apagamiento fotoquímico ( $qP$ ). Mediciones de  $qP$ , realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 20 DDP, C-D: 40 DDP, E-F: 55 DDP, G-H: 70 DDP) entre envero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.

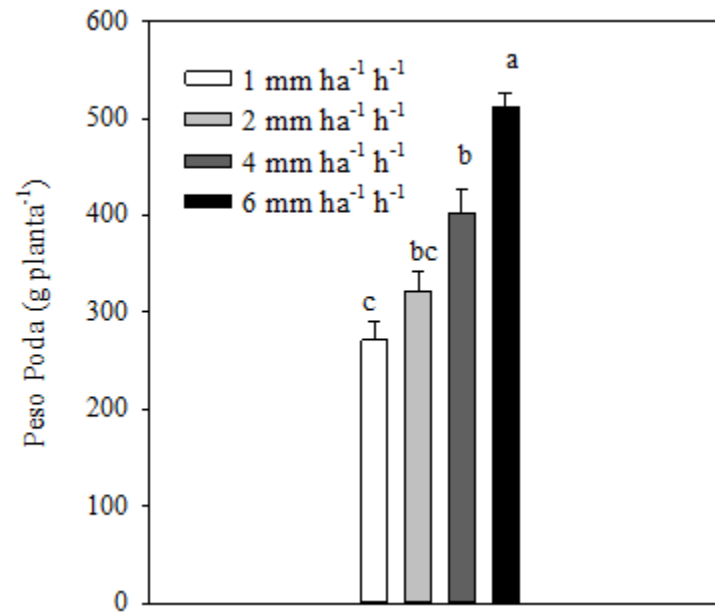


**Figura 18.** Apagamiento no fotoquímico (*NPQ*). Mediciones de *NPQ*, realizadas en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère, a lo largo del día (entre 9:00 h y 18:00 h) y a lo largo de la temporada (A-B: 20 DDP, C-D: 40 DDP, E-F: 55 DDP, G-H: 70 DDP) entre enero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este y oeste de la espaldera. T1: 1 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (○), T2: 2 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (▼), T3: 4 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (■), T4: 6 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (◆). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.





**Figura 19.** Contenido de clorofila total. Evolución del contenido de clorofila total en  $\mu\text{g cm}^{-2}$ , en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère, a lo largo de la temporada, entre enero y cosecha, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos por los lados este (A) y oeste (B) de la espaldera. T1:  $1 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\circ$ ), T2:  $2 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\nabla$ ), T3:  $4 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ), T4:  $6 \text{ mm ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ( $\blacklozenge$ ). Los asteriscos (\*) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para una misma fecha y hora, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.



**Figura 20.** Rendimiento peso de poda. Evaluación, en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère, del material vegetal podado en g planta<sup>-1</sup>, al final de la temporada de medición, en pleno receso invernal de la planta, sobre 4 tratamientos de distintos niveles de estrés hídricos. T1: 1 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (□), T2: 2 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (■), T3: 4 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (■), T4: 6 mm ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (■). Las letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, para el mismo periodo, según test de Tukey. Barras verticales representan el Error Estándar.



## DISCUSIÓN

En el presente estudio, las plantas han sido crecidas en condiciones típicas de zonas climáticas del tipo mediterráneo (Chaves *et al.*, 2010). Particularmente en el periodo de este estudio, se trató de un verano sin precipitaciones, temperaturas medianamente bajas en la mañana y muy altas durante la tarde, radiación solar de alta intensidad junto a días completamente despejados, y una humedad relativa ambiental baja en las horas de mayor exposición solar (Figura 4). La ausencia de lluvias permitió un ambiente propicio para someter a las plantas a un déficit hídrico entre envero y cosecha. En la época de otoño, las condiciones climáticas, si bien fueron menos adversas que en el verano, no hubo gran variación en la *PAR* ni en las temperaturas de la tarde. Por otro lado en las mañanas aumentó la *HR* y las temperaturas fueron cada vez más bajas a medida que avanzó la temporada (Figura 4). Sin embargo, y más importante aún, la ausencia permanente de precipitaciones en esta estación no afectó los objetivos de la investigación. Ahora bien, dado que la conducción de las hileras en el viñedo era de orientación norte-sur, y por lo tanto su exposición a la luz solar este-oeste, la máxima *PAR* se alcanzó a media mañana por el lado este, y a media tarde por el lado oeste, siendo momentos claves en los resultados de determinados parámetros.

Los distintos niveles de déficit hídricos entre envero y cosecha, se establecieron en base a los  $\Psi_X$  de mediodía sugeridos por Van Leeuwen *et al.*, (2009), y se observan en la figura 5. Este autor propone que una planta de vid está en una condición de estrés hídrico bajo los -0,9 MPa. Por otro lado, otros autores sostienen que la vid vinífera que se encuentra con el 100% de su demanda hídrica suplida, presenta un  $\Psi_X$  de mediodía entre los -0,4 y -0,8 MPa (Ferreira *et al.*, 2003). Por lo tanto, valores inferiores a -0,8 MPa, estarían representando una situación de estrés hídrico en *Vitis vinifera* L.

Las diferencias entre los  $\Psi_X$  medidos al mediodía, si bien fueron relativamente similares, resultaron en respuestas distintas en la fisiología fotosintética y en la acumulación de biomasa entre tratamientos, tales como la conductancia estomática (*g<sub>s</sub>*) y el rendimiento de poda, respectivamente. Efectivamente, los tratamientos de menor déficit hídrico resultaron en una mayor biomasa, distinto a lo que ocurrió a las plantas con una restricción hídrica mayor (Figura 11). Esto se condice con lo que establecen varios autores, los cuales señalan que los viñedos sometidos a un déficit hídrico puede perjudicar en algún grado la maquinaria fotosintética lo que podría conllevar a una inhibición del crecimiento y una menor productividad (Maroco *et al.*, 2002; Escalona *et al.*, 2003; Chaves *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2007; dos Santos *et al.*, 2007).

La asimilación neta de CO<sub>2</sub> medida durante el día (Figura 6), por el lado este de la espaldera, fue afectada por el déficit hídrico desde mitad de temporada (40 DDP), mientras que por el lado oeste a partir de los cinco días después de pinta. Un comportamiento similar al anterior se observa en la asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> (Figura 7). Esta merma en la

asimilación neta de CO<sub>2</sub>, fue debida a una disminución en la conductancia estomática en respuesta al déficit hídrico (Figura 8). Varios autores coinciden en que la primera respuesta que estaría limitando la capacidad de asimilación de la maquinaria fotosintética frente a un estrés hídrico es la disminución de la conductancia estomática debido a un proceso de cierre gradual de los estomas, restringiendo el intercambio gaseoso entre la atmósfera y la cavidad subestomática (Yardonov *et al.*, 2000; Medrano *et al.* 2002; Chaves *et al.*, 2003; Chaves *et al.*, 2010; Cifre *et al.*, 2005; Flexas *et al.*, 2009). Al analizar el comportamiento de la  $g_s$ , ésta disminuye en ciertas horas del día, indistintamente del déficit hídrico impuesto. Lo anterior se debe a la exposición que tienen las espalderas este y oeste de una misma hilera a la luz solar, ya que la apertura y el cierre estomático es en respuesta, entre otros, al estímulo dado por dicha luz en condiciones con o sin estrés (Roelfsema y Hedrich, 2005). A lo largo de la temporada, en las plantas con estrés hídrico permanente desde enero, la  $g_s$  no se vio afectada sino hasta mediados de ésta, respecto a las más hidratadas. Flexas *et al.* (2006) sugiere que puede ocurrir una aclimatación frente al estrés hídrico que se desarrolla gradualmente en periodos que comprenden semanas o meses. Bajo esta situación ocurren cambios relacionados con la inhibición del crecimiento y la osmoregulación, elementos claves en la mantención del estado hídrico de la planta, y por lo tanto en la asimilación de carbono, bajo escases de agua (Chaves *et al.*, 2010).

La disminución de la  $g_s$  por efecto del déficit hídrico, observada especialmente en las horas de mayor exposición solar, por ambos lados de la espaldera, ha sido ampliamente reportado en muchos cultivares de vid (Chaves *et al.*, 2010; Tomas *et al.*, 2014), pero no en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère el cual, aparentemente, podría tener un comportamiento estomático más bien cercanamente-isohídrica. Lo anterior va a depender de múltiples factores como el portainjerto que utilicen, las condiciones ambientales a las cuales este enfrenta, y a la intensidad y duración del estrés hídrico a la cual se sometan (Medrano *et al.*, 2003; Chalmers, 2007; Poni *et al.*, 2007; William and Baeza, 2007; Chaves *et al.*, 2010; Lovisolo *et al.*, 2010; Hochberg *et al.*, 2012; Pou *et al.*, 2012). La vid sería la única especie para la que se ha reportado una condición tanto isohídrica como también anisohídrica (Schultz, 2003) por lo que es importante poder identificar el comportamiento estomático de la variedad de estudio para la viticultura nacional.

Al observar la correlación entre  $A_N$  y  $g_s$  (Figura 9), se ve que hay un incremento de la asimilación neta a medida que la conductancia estomática aumenta, hasta un punto de saturación, el cuál es menor bajo déficit hídrico por ambos lados de las espalderas de las plantas. Por lo tanto, la  $A_N$  y la  $A_{Nd}$  fueron afectadas en primera instancia por el cierre estomático, inducido por un déficit hídrico, lo cual ha sido observado en otros estudios (Flexas *et al.*, 2002; de Souza *et al.*, 2005b).

Por otro lado, el incremento gradual de CO<sub>2</sub> interno (Figura 12) en las cavidades subestomática a medida que avanzó la temporada, independiente del nivel de déficit hídrico y, además, un mayor  $C_i$  al final del día por parte de las plantas más estresadas, responde a lo que sugieren algunos autores respecto de que este parámetro se incrementaría bajo un estrés hídrico severo (Flexas *et al.*, 2002; Medrano *et al.*, 2002; Ghaderi *et al.*, 2007; Dias and Brüggemann, 2010; Wang *et al.*, 2012). Eso sí, estos mismos autores sugieren que este fenómeno ocurre a una  $g_s$  mucho más baja de lo ocurrido en el presente estudio. Independiente de esto, es importante destacar que la  $A_N$  no estaría siendo limitada por una

falta de CO<sub>2</sub>, ya que prácticamente no hubo diferencias entre los tratamientos. Por lo tanto, considerando todo lo anteriormente señalado, es posible que la restricción de la capacidad fotosintética de las hojas, independiente del nivel del déficit hídrico aplicado, esté dada, además, por una limitación no estomática, como ha sido previamente discutido en otras investigaciones, sin obviar la limitación estomática que es el primer factor influyente (Flexas *et al.*, 2002; Medrano *et al.*, 2002; Cifre *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2012). Estas limitaciones no estomáticas han sido atribuidas a la inhibición de la actividad del PSII o a la disminución de la eficiencia de carboxilación, asociado a la inhibición de la actividad de varias enzimas en el ciclo de Calvin (Medrano *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2003; Yu *et al.*, 2009). En Flexas *et al.* (2010) sugieren que además podría existir una limitación de la fijación de CO<sub>2</sub> debido a una disminución en la conductancia del mesófilo, asociado a un colapso en una serie de procesos, inducidos por un déficit hídrico como se ha visto en otros casos (de Souza *et al.*, 2005b; Flexas *et al.*, 2002,2009).

La transpiración de la hoja diaria ( $E_d$ ) durante la temporada (Figura 11), relacionada directamente con la apertura y cierre estomático (Poni *et al.*, 2007), si bien es afectada por los diferentes déficits hídricos, cada tratamiento se mantiene estable hasta casi el final de la temporada. Diversos estudios demuestran que al someter una planta de vid, así como en otras especies, a un estrés hídrico leve, o incluso moderado, se incrementa la *EUA* de la hoja con respecto a una planta bien hidratada (de Souza *et al.*, 2005a; Tomas *et al.*, 2014). Sin embargo, bajo una situación de estrés hídrico severo la *EUA* de la hoja podría disminuir drásticamente (Zsófi *et al.*, 2008; Schultz and Stoll, 2010; Tomas *et al.*, 2014). Según Medrano *et al.*, (2002) quien caracterizó los distintos niveles de estrés hídrico en base a la  $g_s$ , entre los 50 y 150 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, dado que disminuye la  $A_N$ , se incrementa la *EUA* en las hojas, pero en algunos cultivares podría ocurrir lo contrario y decaer. En este caso, como la caída de la  $A_{Nd}$ , inducida por un déficit hídrico, fue más abrupta que de la  $E_d$  (Figura 11), resultó que la  $EUA_d$  a lo largo de la temporada fuera menor en las plantas con mayor déficit hídrico (Figura 14).

Es importante considerar que debido a que este estudio fue realizado bajo condiciones de campo, las plantas fueron sometidas de forma permanente a condiciones ambientales estresantes ya sean leves o severas, tal como lo es una alta intensidad lumínica (Palliotti *et al.*, 2009). La radiación *PAR* en que la vid, en general, deja de promover su actividad fotosintética neta, está entre los 700 a 1200 μmol fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Yu *et al.*, 2009; Keller, 2010). Esto está muy por debajo de lo que fue medido en pleno verano en el Valle del Maipo, donde hubo registros por sobre los 2200 μmol fotones m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> en días completamente despejados, incluso en pleno otoño donde la máxima radiación fue sobre los 2100 μmol fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Considerando esto, se sabe que un exceso de alta energía de radiación solar puede generar un daño en el aparato fotosintético y promover un proceso de fotoinhibición de la fotosíntesis (Bertamini *et al.*, 2004; Goh *et al.*, 2012; Murata *et al.*, 2007). Ahora bien, se ha visto que en la vid una alta radiación lumínica puede mermar la actividad fotosintética y la eficiencia máxima del *PSII* en un alto porcentaje, sin embargo su tasa de recuperabilidad puede llegar, incluso, a valores cercanos al de hojas que no fueron fotoinhibidas (Bertamini and Nedunchezian, 2004; Bertamini *et al.*, 2004; Bertamini *et al.*, 2007). Ahora si, además, se conjuga con otro factor estresante, como el déficit hídrico, esto podría afectar el potencial de recuperabilidad del *PSII* (Medrano *et al.*, 2003; Palliotti *et al.*, 2009).

La fotoinhibición de la capacidad fotosintética del cv. Carmenère, fue analizada frente a distintos niveles de estrés hídrico, por medio de la recuperabilidad del rendimiento cuántico máximo del *PSII* ( $F_v/F_m$ , Figura 15). Los resultados muestran una disminución de éste parámetro en aquellas plantas bajo mayor restricción hídrica, hacia finales de temporada y por el lado oeste de la espaldera, en las horas de mayor exposición solar, pero con una capacidad de recuperación similar al de los demás déficit en la última medición de la tarde. Lo anterior se ha observado en otras investigaciones, donde si bien ha ocurrido algún grado de fotoinhibición (distinto en cada cultivar), el  $F_v/F_m$  presenta una recuperación hacia horas de la tarde (Cifre *et al.*, 2005; Bertamini *et al.*, 2007; Zulini *et al.*, 2008; Flexas *et al.*, 2009; Guan *et al.*, 2009; Hochberg *et al.*, 2012; Palliotti *et al.*, 2009; Islam and Bering, 2012; Wang *et al.*, 2012). Esta fotoinhibición corresponde a la de tipo dinámica, la cual ha sido descrita como un proceso de regulación de la captura lumínica, y ocurre normalmente en horas del medio día, cuando las hojas están expuestas a una gran cantidad de radiación solar, pero que luego de un período de relajación el  $F_v/F_m$  logra su recuperación (Hüner *et al.*, 2002).

El rendimiento cuántico operacional del *PSII* ( $\Phi_{PSII}$ ), que indica la eficiencia con la que se transfiere la energía que es absorbida y canalizada a procesos fotoquímicos a través del *PSII*, resultó disminuido en aquellas plantas bajo un mayor estrés hídrico, en horas de mayor exposición lumínica (Figura 16). Resultados similares se han encontrado en otros estudios, donde diferentes cultivares de vid, sometidos a diferentes niveles de déficit hídrico, han presentado una disminución del  $\Phi_{PSII}$  proporcional al grado de restricción hídrica (Marcoco *et al.*, 2002; Guan *et al.*, 2004; Guan *et al.*, 2009). Según Yu *et al.* (2009), quien también observó una disminución del  $\Phi_{PSII}$  en las horas de mayor exposición solar, menciona que este fenómeno ocurre por un aumento en la expresión de los mecanismos de protección relacionados con la disipación del exceso de energía absorbida. Este último corresponde a uno de varios mecanismos de fotoprotección que mitigan el daño fotoinhibitorio sobre el aparato fotosintético (Wada *et al.*, 2003; Pastenes *et al.*, 2005; Jiang *et al.*, 2006; Takahashi and Bagder, 2011). La liberación del exceso de energía absorbida disipada en forma de energía térmica, conocido como *NPQ*, depende principalmente del ciclo de las xantofilas en las antenas colectoras o cosechadoras de luz (Misra *et al.*, 2006; Parida *et al.* 2007; Wang *et al.*, 2009; Kuczyńska *et al.*, 2012). Los resultados de la medición del *NPQ*, muestra que por ambos lados de la espaldera, bajo una condición de mayor déficit hídrico, el *NPQ* fue más alto, especialmente en las horas de mayor exposición solar. Por lo tanto, las plantas del cv. Carmenère bajo una limitación en la asimilación neta de  $\text{CO}_2$ , presentan participación del *NPQ* como mecanismo de fotoprotección frente a un proceso de fotoinhibición. Esto también ha sido evaluado por Flexas *et al.* (2002), donde a medida que incrementó el estrés hídrico, aumentó el *NPQ*.

El apagamiento fotoquímico ( $qP$ ), definido como la proporción de centros de reacción del *PSII* que se encuentran disponibles para transferir la energía de excitación, fue menor en las plantas con mayor restricción hídrica en las horas de mayor exposición solar, por ambos lados de la espaldera (Figura 17). Dicho de otra forma, el  $\Phi_{PSII}$  en las plantas con un mayor estrés hídrico estuvo limitado por una mayor proporción de *PSII* con la forma reducida de la quinona *QA* (*QA*-), lo que ocurrió en un bajo porcentaje a un nivel de estrés hídrico menos intenso. Esto es sugerido por Maroco *et al.* (2002), quien plantea que una

reducción del  $\Phi PSII$  en plantas inducidas a un déficit hídrico es asociada a una alta reducción del aceptor primario ( $QA^-$ ) de la cadena transportadora de electrones y además una baja eficiencia de los centros de reacción del  $PSII$  en estado abierto u oxidados.

La concentración de clorofilas foliares (Figura 19), fué afectado negativamente por el estrés hídrico, disminuyendo de manera similar a lo observado en otros estudios (Maroco *et al.*, 2002; Ghaderi *et al.*, 2007; Martim *et al.*, 2009; Bijanzadeh and Emam, 2010; Anjum *et al.*, 2011). La reducción de las clorofilas bajo estrés hídrico resulta en una menor cantidad de luz absorbida, disminuyendo la capacidad fotosintética (Flexas *et al.*, 2004; Reddy *et al.*, 2004; Anjum *et al.*, 2011). Sin embargo, pese a que se podría entender como una pérdida en la posibilidad de captar luz, hay autores que proponen que esta regulación de los pigmentos fotosintéticos estaría relacionada con una aclimatación de la planta para así captar menor energía lumínica (Munné-Bosch y Alegre, 2003). Por su parte Paliotti *et al.* (2009), luego de someter el cultivar Sangiovese a múltiples estreses de verano y observar que su contenido de clorofila total era menor, sugirió que esto le permitía a las hojas liberar una excesiva energía de luz absorbida, lo que a su vez le ayudaba a evitar una fotoinhibición crónica. Por lo tanto, si bien no es un mecanismo de fotoprotección reconocido como tal, la regulación del contenido de clorofilas a nivel de la hoja podría ayudar a evitar un daño irreversible en los centros de reacción del  $PSII$ .

Respecto al rendimiento de peso de poda (Figura 20), las plantas sometidas a tratamientos de menor déficit hídrico fueron capaces de acumular mayor biomasa, a diferencia de aquellas con una restricción hídrica mayor. Esto se condice con lo que establecen varios autores los cuales señalan que los viñedos sometidos a un déficit hídrico puede perjudicar en algún grado la maquinaria fotosintética lo que podría conllevar a una inhibición del crecimiento y una menor productividad (Maroco *et al.*, 2002; Escalona *et al.*, 2003 Chaves *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2007; dos Santos *et al.*, 2007).

A pesar de que la especie *Vitis vinifera* L., ha sido ampliamente estudiada en muchos de sus cultivares, la cepa Carménère es relativamente joven y hay muy poca evidencia científica sobre ella. Además, en Chile tiene una alta importancia económica, por lo tanto es nuestra responsabilidad comprender la mayor cantidad de información fisiológica que esta pueda entregar. Estudiar la variabilidad genética que tiene este cultivar y entender su capacidad de respuesta estomática frente a distintas situaciones experimentales, permitiría ubicarla como una planta iso o anisohídrica. Este es un campo de investigación significativo que se ha hecho con muchos cultivares de importancia a nivel mundial (Chaves *et al.*, 2010; Tomas *et al.*, 2014). Otro punto importante es comprender la sustentabilidad de la planta en el tiempo, y como el déficit hídrico en distintos niveles afecta la capacidad fotosintética de este cultivar, en dos o tres años consecutivos.



## CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que en *Vitis vinifera* L. cv. Carménère, bajo una condición de déficit hídrico, la principal limitante a la asimilación neta de CO<sub>2</sub> es la conductancia estomática y en menor grado un proceso de fotoinhibición de tipo dinámica.

Una importante participación del apagamiento no fotoquímico de la clorofila, *NPQ*, se observó en los tratamientos de mayor restricción hídrica, como mecanismo de fotoprotección. Este mecanismo estaría dentro de las principales formas de fotoprotección frente a un exceso de energía, mitigando el daño de la fotoinhibición.

El rendimiento cuántico operacional del *PSII* y la proporción de centros de reacción del *PSII* disponibles para la transferencia de la energía absorbida por parte de los pigmentos fotosintéticos fueron afectados negativamente. Junto a lo anterior, la concentración de clorofilas se afectó negativamente a medida que aumentó la intensidad del déficit hídrico. Esto puede ser considerado a su vez, como un mecanismo de protección, ya que restringe la energía que realmente no es capaz de utilizar el aparato fotosintético.

El comportamiento que tuvo la conductancia estomática, en *Vitis vinifera* L. cv Carménère, frente a distintos niveles de déficit hídrico permite sugerir, según este estudio en particular, que su capacidad de respuesta puede estar más acorde una planta cercanamente isohídrica. Sin embargo se debe estudiar bajo distintos contextos de ensayo para tener una conclusión más exacta.

A partir de los resultados obtenidos, podemos concluir que *Vitis vinifera* L. cv Carménère, presenta tolerancia a los distintos niveles de déficit hídricos, mediante el ajuste en su contenido de clorofilas y mecanismos de fotoprotección ligados a la disipación del exceso de energía, permitiendo amortiguar el daño fotoinhibitorio.

**LITERATURA CITADA**

- Anjum, S.A.; X.Y. Xie; L.C. Wang; M.F. Saleem; C. Man and W. Lei. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9): 2026-2032.
- Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 89-113.
- Bertamini, M. and N. Nedunchezian. 2003. Photoinhibition and recovery of photosystem 2 in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves grown under field conditions. *Photosynthetica*, 41(4): 611-617.
- Bertamini, M.; K. Muthuchelian and N. Nedunchezian. 2004. Photoinhibition of photosynthesis in sun and shade grown leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Photosynthetica*, 42(1): 7-14.
- Bertamini, M.; L. Zulini; R. Zorer; K. Muthuchelian, and N. Nedunchezian. 2007. Photoinhibition of photosynthesis in water deficit leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants. *Photosynthetica*, 45(3): 426-432.
- Bijanzadeh, E.; and Y. Emam. 2010. Effect of defoliation and drought stress on yield components and chlorophyll content of wheat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(14): 699-705.
- Brüggemann, W.; T.A.W. van der Kooij and P.R. van Hassel. 1992 Long-term chilling of young tomato plants under low light and subsequent recovery: II. Chlorophyll fluorescence, carbón metabolism and activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase. *Planta*, 186: 179-187.
- Chalmers, Y.M. 2007. Influence of sustained deficit irrigation on physiology and phenolic compounds in winegrapes and wine. PhD thesis. Adelaide, Australia: The University Adelaide. Recuperado en:  
<<http://digital.library.adelaide.edu.au/dspace/bitstream/2440/50101/1/02whole.pdf>>  
Consultado el: 12 de Abril del 2015.
- Chaves, M.M.; J.P. Maroco and J.S. Pereira. 2003. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. *Functional plant biology*, 30(3): 239-264.
- Chaves, M.M.; T.P. Santos; C.R.D. Souza; M.F. Ortuño; M.L. Rodrigues; M.C. Lopes *et al.* 2007. Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology*, 150(2): 237-252.

- Chaves, M.M.; O. Zarrouk; R. Francisco; J.M Costa; T. Santos; A.P. Regalado *et al.* 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*, 105(5): 661-676.
- Cifre, J.; J. Bota; J.M.Escalona; H. Medrano and J. Flexas. 2005. Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.): an open gate to improve water-use efficiency? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 106(2): 159-170.
- Costa, J. M.; M.F. Ortuño and M.M. Chaves. 2007. Deficit irrigation as a strategy to save water: physiology and potential application to horticulture. *Journal of integrative plant biology*, 49(10): 1421-1434.
- De la Hera, M.L.; P. Romero; E. Gomez-Plaza and A. Martinez. 2007. Is partial root-zone drying an effective irrigation technique to improve water use efficiency and fruit quality in field-grown wine grapes under semiarid conditions? *Agricultural Water Management*, 87(3): 261-274.
- de Souza, C.R.; J.P. Maroco; T.P. dos Santos; M.L. Rodrigues; C.M. Lopes; J.S. Pereira; *et al.* 2005a. Impact of deficit irrigation on water use efficiency and carbon isotope composition ( $\delta^{13}\text{C}$ ) of field-grown grapevines under Mediterranean climate. *Journal of Experimental Botany*, 56(418): 2163-2172.
- de Souza, C. R.; J.P. Maroco; T.P. dos Santos; M.L. Rodrigues; C. Lopes; J.S. Pereira; *et al.* 2005b. Control of stomatal aperture and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars. *Agriculture, ecosystems & environment*, 106(2): 261-274.
- Dias, M.C. and W. Brüggemann. 2010. Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. *Photosynthetica*, 48(1): 96-102.
- dos Santos, T. P.; C.M. Lopes; M.L Rodrigues; C.R. de Souza; J.M. Ricardo-da-Silva; J.P. Maroco; *et al.* 2007. Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines. *Scientia Horticulturae*, 112(3): 321-330.
- Düring, H. 2003. Stomatal and mesophyll conductances control CO<sub>2</sub> transfer to chloroplasts in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis-Journal of Grapevine Research*, 42(2): 65-68.
- Escalona, J.M.; J. Bota and H. Medrano. 2003. Distribution of leaf photosynthesis and transpiration within grapevine canopies under different drought conditions. *Vitis-Journal of Grapevine Research*, 42(2): 57-64.
- Ferreira, R.; G. Sellés; R. Ruiz y I. Sellés. 2003. Efecto del estrés hídrico aplicado en distintos periodos de desarrollo de la vid cv. Chardonnay en la producción y calidad del vino. *Agricultura Técnica*, 63(3): 277-286.

Flexas, J.; J. Bota; J.M. Escalona; B. Sampo and H. Medrano. 2002. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology*, 29(4): 461-471.

Flexas, J.; J. Bota; F. Loreto; G. Cornic and T.D. Sharkey. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6(3): 269-279.

Flexas, J.; J. Bota; J. Galmes; H. Medrano and M. Ribas-Carbó. 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum*, 127(3): 343-352.

Flexas, J.; M. Barón; J. Bota; J.M. Ducruet; A. Gallé; J. Galmés; *et al.* 2009. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). *Journal of Experimental Botany*, 60(8): 2361-2377.

Flexas, J.; J. Galmés; A. Gallé; J. Gulías; A. Pou; M. Ribas-Carbo; *et al.* 2010. Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1): 106-121.

Genty, B.; J.M. Briantais and N.R. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 990(1): 87-92.

Ghaderi, N.; A. Siosemardeh and S. Shahoei. 2007. The effect of water stress on some physiological characteristics in 'rashe' and 'khoshnave' grape cultivars. In International Workshop on Advances in Grapevine and Wine Research. *Acta Horticulturae*, 754: 317-322.

Girona, J.; J. Marsal; M. Mata; J. del Campo and B. Basile. (2009). Phenological sensitivity of berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15(3): 268-277.

Goh, C.H.; S.M. Ko; S. Koh; Y.J. Kim and H.J. Bae. 2012. Photosynthesis and environments: photoinhibition and repair mechanisms in plants. *Journal of Plant Biology*, 55(2): 93-101.

Guan, X.Q.; S.J. Zhao; D.Q. Li and H.R. Shu. 2004. Photoprotective function of photorespiration in several grapevine cultivars under drought stress. *Photosynthetica*, 42(1): 31-36.

Guan, X.; and S. Gu. 2009. Photorespiration and photoprotection of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) under water stress. *Photosynthetica*, 47(3): 437-444.

- 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(4): 443-452.
- Hüner, N.P.A.; A.G. Ivanov; K.E. Wilson; M. Miskiewicz and G. Öquist. 2002. Energy sensing and photostasis in photoautotrophs. *Cell and Molecular Response to Stress*, 3: 243-255
- Islam, M.T. and J.G. Berrios. 2012. Physiological behaviors and recovery responses of four galician grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars under water stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8(4): 302-321.
- Jiang, C.D.; H.Y. Gao; Q. Zou; G.M. Jiang and L.H. Li. 2006 Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1): 87-96.
- Keller, M. 2010. The science of grapevines: anatomy and physiology. Academic Press.
- Kooten, O. and J.F. Snel. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, 25(3): 147-150.
- Kuczyńska, P.; D. Latowski; S. Niczyporuk. 2012. Zeaxanthin epoxidation—an in vitro approach. *Acta Biochimica*, 59: 105-107.
- Lichtenthaler, H.K. and A.R. Wellburn. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591–592.
- Lovisolò, C.; I. Perrone; A. Carra; A. Ferrandino; J. Flexas; H. Medrano; *et al.* 2010. Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update. *Functional plant biology*, 37(2): 98-116.
- Maroco, J.P.; M.L. Rodrigues; C. Lopes and M.M. Chaves. 2002. Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought-metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Biology*, 29(4): 451-459.
- Martim, S.A.; M.P. Santos; A.L. Peçanha; C. Pommer; E. Campostrini; A.P. Viana; *et al.* 2009. Photosynthesis and cell respiration modulated by water deficit in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 21(2): 95-102.
- Maxwell, K. and G.N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345): 659-668.

- Medrano, H.; J.M. Escalona; J. Bota; J. Gulias and J. Flexas. 2002. Regulation of photosynthesis of C3 Plant in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*, 89:895-905.
- Medrano H, Escalona JM, Cifre J, Bota J, Flexas J. 2003. A ten-year study on the physiology of two Spanish grapevine cultivars under field conditions: effects of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. *Functional Plant Biology*. 30:607–619.
- Meyer, W.S., and D.C Reicosky. 1985. Enclosing leaves for water potential measurement and its effect on interpreting soil-induced water stress. *Agricultural and Forest Meteorology*, 35(1): 187-192.
- Misra, A.N.; D. Latowski and K. Strzalka. 2006. The xanthophyll cycle activity in kidney bean and cabbage leaves under salinity stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53(1): 102-109.
- Munné-Bosch, S. and L. Alegre. 2003. Drought-induced changes in the redox state of atocopherol, ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of Labiatae plants differing in carnosic acid contents. *Plant Physiology*, 131:1816–1825.
- Murata, N.; S. Takahashi; Y. Nishiyama and S.I. Allakhverdiev. 2007. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(6): 414-421.
- Murchie, E.H.; and T. Lawson. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of experimental botany*, 64: 3983-3998
- Palliotti, A.; O. Silvestroni and D. Petoumenou. 2009. Photosynthetic and photoinhibition behavior of two field-grown grapevine cultivars under multiple summer stresses. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(2): 189-198.
- Parida, A.K; V.S. Dagaonkar; M.S. Phalak; G.V. Umalkar and L.P. Aurangabadkar. 2007. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. *Plant Biotechnology Reports*, 1(1): 37-48.
- Pastenes, C.; P. Pimentel and J. Lillo. 2005. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. *Journal of Experimental Botany*, 56(411): 425-433.
- Poni, S.; F. Bernizzoni and S. Civardi. 2007. Response of “Sangiovese” grapevines to partial root-zone drying: gas-exchange, growth and grape composition. *Scientia Horticulturae*, 114(2): 96-103.

- 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.
- Reddy, A.R.; K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161: 1189–1202
- Roelfsema, M.R.G. and R. Hedrich. 2005. In the light of stomatal opening: new insights into ‘the Watergate’. *New Phytologist*, 167(3), 665-691.
- Shellie K and D.M. Glenn. 2008. Wine grape response to kaolin particle film under deficit and well-watered conditions. *Acta Horticulturae*, 792: 587-591.
- Scholander, P.F.; H.T. Hammel; E.D. Bradstreet and E.A. Hemmingsen. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148: 339-346.
- Schultz, H.R. 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell and Environment*, 26(8): 1393-1405.
- Schultz, H.R. and M. Stoll. 2010. Some critical issues in environmental physiology of grapevines: future challenges and current limitations. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1): 4-24.
- Takahashi, S.; and M.R. Badger,. 2011. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in plant science*, 16(1): 53-60.
- Tomás, M.; H. Medrano; J.M. Escalona; S. Martorell; A. Pou; M. Ribas-Carbó and J. Flexas. 2014. Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental and Experimental Botany*, 103: 148-157.
- Van Leeuwen, C.; O. Tregoat; X. Choné; B. Bois; D. Pernet and J.P. Gaudillère. 2009. Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes. *Journal International Science Vigne et du Vin*, 43(3): 121-134.
- Wada, M.; T. Kagawa and Y. Sato. 2003. Chloroplast movement. *Annual Review of Plant Biology*, 54(1): 455-468.
- Wang, L.J.; W. Loescher; W. Duan; W.D. Li; S.H. Yang and S.H. Li. 2009 Heat acclimation induced acquired heat tolerance and cross adaptation in different grape cultivars: relationships to photosynthetic energy partitioning. *Functional plant biology*, 36: 516-526.

Wang, Z.X; L. Chen; J. Ai; H.Y. Qin; Y.X. Liu; P.L. Xu; *et al.* 2012. Photosynthesis and activity of photosystem II in response to drought stress in Amur Grape (*Vitis amurensis* Rupr.). *Photosynthetica*, 50(2): 189-196.

Williams, L.E.; and P. Baeza. 2007. Relationships among ambient temperature and vapor pressure deficit and leaf and stem water potentials of fully irrigated, field-grown grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(2): 173-181.

Yordanov, I.; V. Velikova and T. Tsonev. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica*, 38(2): 171-186.

Yu, D.J.; S.J. Kim and H.J. Lee. 2009. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in field-grown grapevine cultivars. *Biologia Plantarum*, 53(1): 133-137.

Zsófi, Z.; E. Tóth; G. Váradi; D. Rusjan and B. Bálo. 2008. The effect of progressive drought on water relations and photosynthetic performance of two grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Acta Biologica Szegediensis*, 52(2): 321-322.

Zulini, L.; M. Rubinigg; R. Zorer and M. Bertamini. 2008. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv.'White Riesling'). In International Workshop on Advances in Grapevine and Wine Research. *Acta Horticulturae*, 754: 289-294.