

## Comunicaciones Orales

### **Determinación en planta entera de los efectos del alto CO<sub>2</sub>, el estrés hídrico y la fenología en los intercambios de gases en viña**

Douthe C<sup>1</sup>, Sementé L<sup>1</sup>, Pou A<sup>2</sup>, Tortosa I<sup>1</sup>, Escalona P<sup>1</sup>, Medrano H<sup>1</sup>.

*Grupo de Biología de las Plantas en Condiciones Mediterráneas, Departamento de Biología, Universidad de las Islas Baleares-INAGEA, Carretera de Valldemossa, km 7.5, 07122, Palma de Mallorca*<sup>1</sup> [cyrildouthe@me.com](mailto:cyrildouthe@me.com)

<sup>2</sup> *Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (Universidad de La Rioja, CSIC, Gobierno de La Rioja), Finca La Grajera, Ctra. de Burgos Km. 6, 26007 Logroño.*

**Palabras clave:** cambio climático, viticultura, eficiencia en el uso del agua, planta entera.

#### **RESUMEN**

En viticultura, los efectos del cambio climático, la escasez de agua y las olas de calor que acompañan al aumento del CO<sub>2</sub> son uno de los principales retos del siglo XXI, especialmente en zonas mediterráneas donde tendrá un mayor efecto en el régimen precipitaciones y en picos de altas temperaturas.

Los efectos del estrés hídrico, la temperatura y el CO<sub>2</sub> sobre la fotosíntesis y transpiración son conocidos a nivel de hoja, pero muy pocas veces al nivel de la planta entera. Habitualmente al nivel de hoja el estrés hídrico reduce los flujos de CO<sub>2</sub> y agua y aumenta la eficiencia del uso del agua (EUA), que también aumenta con la concentración de CO<sub>2</sub>, y que va reduciéndose con la edad de la hoja. En este contexto, resultados previos en planta entera no siempre se corresponden con los predecibles a partir de estudios en hoja.

El presente trabajo muestra un sistema de medida en planta entera en condiciones de campo que permite valorar los efectos de estrés hídrico ontogenia y nivel de CO<sub>2</sub> en la fotosíntesis y transpiración y en la eficiencia en el uso del agua (EUA) y abordar las causas de la discrepancia entre resultados a nivel de hoja y en planta entera.

Los resultados muestran que se pueden medir los flujos de CO<sub>2</sub> y agua al nivel de la planta entera con bastante precisión, así como los efectos del estrés, la ontogenia y los niveles de luz y CO<sub>2</sub> obteniéndose curvas de repuestas a la luz y al CO<sub>2</sub> que muestran tendencias similares a las realizadas en hoja aislada. Combinando estos flujos, se aprecia claramente una disminución de la EUA con el estrés hídrico, contraria a lo conocido a nivel de hoja. Esta controversia puede explicarse como efecto de la fuerte componente respiratoria del fruto.

## INTRODUCCIÓN

La eficiencia en el uso del agua (EUA) de las plantas puede entenderse de manera genérica como el volumen de agua que éstas necesitan consumir (evapotranspirar) para incorporar a su biomasa una determinada cantidad de carbono proveniente de la atmósfera (en forma de  $\text{CO}_2$ ). De esta manera, la eficiencia en el uso del agua de las plantas dependerá principalmente de la capacidad de optimización de los procesos de asimilación de carbono y de evapotranspiración de agua de la propia especie y de las características del ambiente en el que crece y se desarrolla la planta. Por otra parte, la EUA también dependerá de la escala a la que se considere, pues puede ser considerada a escala de cultivo o de ecosistema, a escala de planta entera y a escala de hoja.

De este modo, se han realizado varios estudios en los que se ha hecho uso de cámaras enteras para determinar la EUA a nivel de la planta como la relación entre la fijación neta total de carbono y el agua transpirada (Poni et al., 2009; Tarara et al., 2011; Escalona, 2016). Sin embargo, debido a la complejidad del dosel vegetal, la mayoría de los estudios en EUA en vid se han centrado en el nivel de la hoja ya sea intrínseco ( $\text{EUA}_i$ ,  $A_N/\text{g}_s$ ), instantáneo ( $\text{EUA } A_N/E$ ) y / o composición isotópica del carbono ( $^{13}\text{C}$ ) (Tomás et al., 2012). Con estos, se ha demostrado que en vid y en otros cultivos, factores como la exposición a la luz de la hoja y la posición en el brote, el envejecimiento de la hoja y la presencia de órganos como los frutos, brotes y troncos, dificulta la extrapolación de la EUA en hoja a todo el dosel vegetal (Intrieri et al., 1997; Poni et al., 1997; Petrie et al., 2000), resultando inferior a los valores esperados en función de los valores de EUA medidos en hoja (Escalona et al., 2016). Además, otros procesos como la pérdida de agua nocturna y la respiración (Escalona et al., 2012) o posibles cambios en la partición de la materia seca entre los diferentes sumideros (Tomás et al., 2014) puede explicar la falta de correlación frecuentemente reportada entre  $\text{EUA}_i$  y la EUA. El uso de sistemas abiertos para la medición de los flujos de vapor de agua y de  $\text{CO}_2$  a nivel de planta entera se ha convertido en una herramienta interesante para evaluar las respuestas de toda la planta a las condiciones de cambio climático, por ejemplo, alto  $\text{CO}_2$ , estrés hídrico, altas temperaturas, etc. Pero, por otro lado, una de las preocupaciones actuales de los científicos es diseñar un buen sistema de cerramiento para minimizar la perturbación del entorno natural de la planta (Intrieri et al., 1997; Poni et al., 1997; Pérez Peña y Tarara, 2004), es decir, disminuir los errores asociados con el "efecto cámara".

Para este trabajo, se ha desarrollado un sistema abierto para la medición en continuo de los flujos de vapor de agua y de  $\text{CO}_2$  a nivel de planta entera (descrito por Pérez Peña y Tarara, 2004) y se ha realizado una evaluación detallada del intercambio neto de  $\text{CO}_2$  (NCER) y la transpiración (E) a nivel de planta entera durante todo el ciclo vegetativo de la vid en condiciones de riego y estrés hídrico. Parámetros como la transpiración nocturna ( $E_{\text{night}}$ ) y la respiración nocturna (Rd), también se han considerado para evaluar la  $\text{EUA}_{\text{planta-entera}}$  y para señalar posibles problemas de integración de estos datos.

Los objetivos de este estudio fueron: (i) evaluar las fugas y las dificultades encontradas al medir valores diarios de NCER y E para identificar las mejoras necesarias para una estimación más precisa, (ii) medir la  $\text{EUA}_{\text{planta-entera}}$  en diferentes condiciones de riego, sequía, y (iii) estimar la contribución de la edad de las hojas de vid y el desarrollo de las bayas en el balance total de carbono de la planta a lo largo del ciclo fenológico de la vid.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Material vegetal y tratamientos**

El experimento se llevó a cabo en el verano de 2017 en una viña experimental plantada en 2009 con vides de Garnacha injertadas sobre el porta-injerto Richter-110. Las plantas se sometieron a dos regímenes de agua: (i) un riego moderado (I) aplicando un coeficiente de cultivo de 0.5 de evapotranspiración potencial, y (ii) sin riego (NI) (ver Escalona et al., 2016 para más detalles).

Las mediciones se llevaron a cabo en dos plantas representativas para cada etapa fenológica [tamaño guisante, riego (Julio); maduración, No riego (Agosto) y cosecha, riego (Septiembre)]. Se estudió el factor fenología comparando las sesiones de Julio y Septiembre (mismas plantas, ambas en condiciones de riego). Para el factor riego/sequia se compararon las sesiones de Agosto y Septiembre. Cada sesión de medición (para cada etapa fenológica) duró dos o tres días consecutivos.

Las condiciones ambientales fueron registradas mediante una estación meteorológica colocada en el mismo viñedo (Meteodata, 3000, Geonica). Las condiciones ambientales registradas en Julio y Agosto fueron similares, con precipitaciones <5 mm, temperaturas diurnas medias de 29.5 °C y humedad relativa de 46–48%, mientras que las mediciones en Septiembre se realizaron con mayor precipitación (11.5 mm), menores temperaturas diurnas promedio (23.8 C) y mayor humedad relativa (67.1%).

### **Medidas de intercambio de gases a nivel de planta entera.**

Para la realización de las medidas de intercambio de gases de la planta entera se construyeron y usaron dos cámaras según las indicaciones de Perez-Peña y Tarara (2004). Brevemente, estas cámaras permiten crear un habitáculo en el que se encierra una planta entera y se hace fluir aire a velocidad regulada manteniendo unas condiciones ambientales muy cercanas a las del exterior. La asimilación neta de CO<sub>2</sub> por parte de la planta (NCER, en  $\mu\text{mol CO}_2/\text{s}$ ) y la transpiración neta del dosel vegetal (E, en  $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{s}$ ) se calculó mediante el flujo entrante y los ratios de CO<sub>2</sub> y vapor de agua, respectivamente. El flujo se midió mediante un medidor de flujo (Series 641 air Velocity Transmitter, Dwyer; Indiana, USA). El aire de entrada de la cámara fue tomado de una altura de 3 metros con una chimenea de aluminio y posteriormente introducido dentro de la cámara con una turbina (S&P 500) la cual trabaja a velocidad constante. Para recoger el CO<sub>2</sub> de referencia y el de la muestra se usó una bomba de aire (TD4x2 type NA; Braisford Pumps, USA) que inyecta el aire directamente al cabezal del medidor de intercambio de gases (Li-840; Li-Cor, Inc.). Los valores de NTCR y E fueron corregidos por el área foliar total del dosel vegetal, estimada mediante la metodología propuesta por Sanchez-De Miguel et al. (2011). La temperatura dentro de la cámara también fue monitorizada con termopares tipo K (RoHS, Modelo TP-01), y comparada con la temperatura ambiente obteniendo en general un aumento de temperatura del aire en la cámara de 4-5 °C.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La tasa de fijación de CO<sub>2</sub> se vio claramente afectada por el período fenológico de la planta, como se esperaba. Cuando se mide en julio (tamaño de guisante, en plantas con riego), los flujos de CO<sub>2</sub> y agua alcanzan valores máximos que fueron de 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para el intercambio neto de CO<sub>2</sub> (NCE) y 3  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para la transpiración. Estos

flujos disminuyeron de manera importante a lo largo de la temporada, teniendo valores 3 veces más bajas en septiembre (estado cosecha, condiciones de riego). Diferentes factores pueden explicar esta disminución. En primer lugar, el efecto ontológico afecta negativamente a la actividad foliar. A envejecerse, la capacidad fotosintética baja con el tiempo. El segundo factor es el aumento de la respiración debida a la carga en fruta de la planta. Por último, se ven también afectada las variaciones diarias: mientras en julio las plantas funcionan al nivel máximo todo el día, en septiembre solo las 2-3 primeras horas del día están aprovechadas (figura 1). La sequía (medida en agosto), provocó también una bajada importante de ambos flujos de CO<sub>2</sub> y agua, y de manera más importante que el efecto fenológico (figura 1). También se puede observar que la sequía provocó el mismo cambio de la forma del ciclo diario: las plantas siendo activas solo las 2-3 primeras horas después del amanecer. También hemos confirmado los resultados obtenidos en 2014 (Pou *et al.*, 2014, pendiente de publicación), en condiciones de riego, en el mismo viñedo que el presente estudio. También, se ha cuantificado la repuesta de la fijación de CO<sub>2</sub> y de la transpiración a nivel de planta entera a las variaciones de luz (figura 2). Se observó que, en condiciones de riego, estas repuestas presentan la forma típica a nivel hoja sencilla. La sequía y la fenología cambian de manera clara la forma de estas repuestas a variaciones de luz. En estas condiciones, la tasa fotosintética y de transpiración máxima se alcanza a intensidades lumínicas de ~500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, para después bajar a intensidades más elevadas. Aquellas intensidades corresponden al final de la mañana. Esta disminución esta debida a un cierre estomático y las altas temperaturas de la tarde que aumentan la respiración foliar y del fruto, y como consecuencia baja la fotosíntesis neta. Curiosamente y al contrario de la que siempre se observa al nivel de la hoja, la eficiencia en el uso del agua (WUE en μmol CO<sub>2</sub> mmol<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O, calculada como NCE/E) disminuye claramente en condiciones de sequía. Se supone que la presencia de órganos heterotróficos como el tronco, tallos y sobre todo fruto (elementos que no están tomados en cuenta cuando se mide en hoja sencilla), pueden alterar las variaciones de WUE bajo sequía.

## CONCLUSIONES

Hemos visto que el sistema usado nos permitió producir datos robustos sobre la fotosíntesis y la transpiración al nivel de la planta entera. Condiciones de sequía y la fenología afectan claramente ambos flujos y la repuesta a variaciones de luz. Por otra parte, las variaciones de WUE debidas al estado hídrico fueron las contrarias a las observadas a nivel de una sola sencilla, debido a que los órganos heterotróficos influyen de manera importante el NCE. En el futuro se necesitará compartimentar y separar los flujos de cada tipo de órgano para poder mejorar la comprensión de las variaciones de NCE y transpiración al nivel de la planta entera.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2014-54201-C4-1-R (Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España) y Vitismart, Programa Eranet Co Found EU (INIA).

## REFERENCIAS

Escalona, J. M.; Tomas, M.; Martorell, S.; Medrano, H.; Ribas-carbo, M.; Flexas, J. (2012) Carbon balance in grapevines under different soil water supply: importance of whole plant respiration. *Aust. J. Grape Wine Res.* 18, 308-318.

Escalona, J.M., Pou, A., Tortosa, I., Hernández-Montes, E., Tomás, M., Martorell, S., Intrieri, C., S. Poni, B. Rebucci, E. Magnanini. (1997). Effects of canopy manipulations on whole-vine photosynthesis: Results from pot and field experiments. *Vitis*. 36,167-173.

Peña, J.P., Tarara, J.M. (2004) A portable whole canopy gas exchange system for several mature field-grown grapevines. *Vitis* 43, 7-14.

Petrie, P.R., Trought, M.C., Howell, G.S., Buchan, G.D., Palmer, J.W. (2009) Whole-canopy gas exchange and light interception of vertically trained *Vitis vinifera* L. under direct and diffuse light. *Am J Enol Vitic* 60, 173-182.

Petrie, P. R.; Trought, C. T.; Howell, G. S. (2000) Influence of leaf aging, leaf area and crop load on photosynthesis, stomatal conductance and senescence of grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. *Vitis*. 39, 31-36.

Poni, S., Bernizzonia, F., Civardia, S., Gattia, M., Porro, D., Caminc, F. (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). *Agric Ecosystem and Environ.* 129, 97-106

Poni, S., Magnanini, E., Rebucci, B. (1997). An automated chamber system for measurements of whole-vine gas exchange. *HortSci* 32, 64-67.

Tarara, J.M., Peña, J.E.P., Keller, M., Schreiner, R.P., Smithyman, R.P. (2011) Net carbon exchange in grapevine canopies responds rapidly to timing and extent of regulated deficit irrigation. *Funct Plant Biol.* 38, 386-400.

Tomás, M., Medrano, H., Pou, A., Escalona, J.M., Martorell, S., Ribas-Carbó, M., Flexas, J. (2012). Water - use efficiency in grapevine cultivars grown under controlled conditions: effects of water stress at the leaf and whole - plant level. *Austr J Grape Wine Res.* 18, 164-172.

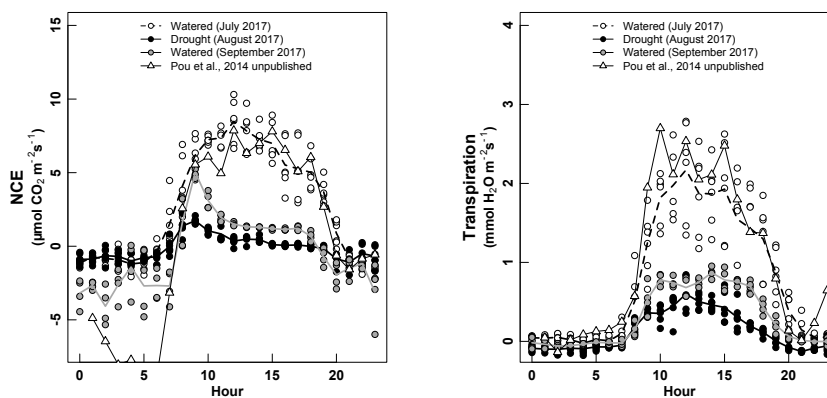


Figura 1: Intercambio neto de carbono (NCE,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y Transpiración ( $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) a nivel de planta entera, en plantas con riego medidas en julio (blanco) y septiembre (gris), plantas con sequía medidas en agosto (negro) y resultados previos en los que se usaron las mismas cámaras para medir plantas en condiciones de riego (triángulos).

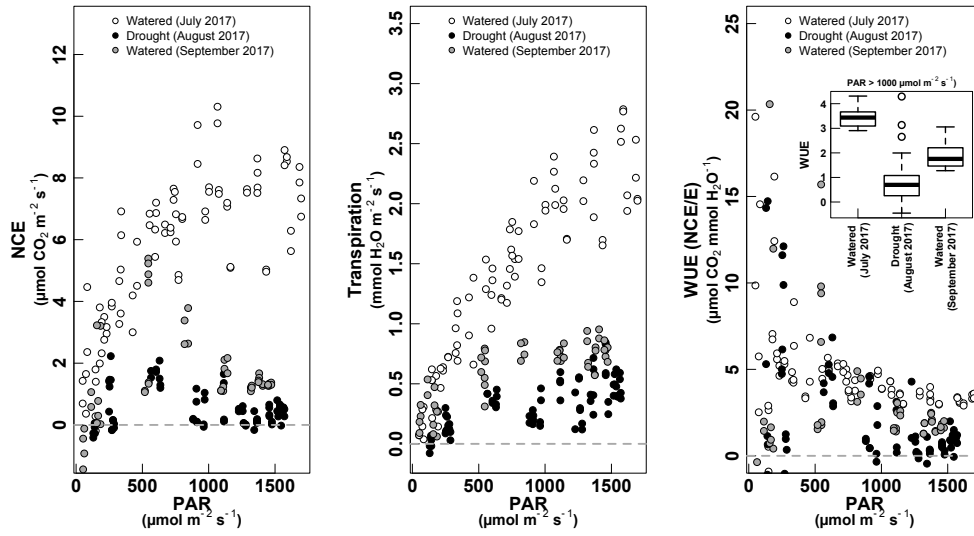


Figura 2: Respuesta de NCE y Transpiración a curvas de luz. WUE es eficiencia en el uso del agua calculada como  $\text{NCE/E}$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ). Para los tratamientos ver figura 1. La figura interna representa valores de EUA para cada tratamiento cuando  $\text{PAR} > 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .